

**DIAGNOSTISCHE ASPEKTEN VAN IN-VITRO-FERTILISATIE
(IVF)
EN TRANSPORT VAN ONBEVRUCHTE EICELLEN VOOR IVF**

**(Diagnostic aspects of in vitro fertilization (IVF)
and transport of unfertilised eggs for IVF)**

PROEFSCHRIFT

**TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE
GENEESKUNDE
AAN DE ERASMUSUNIVERSITEIT ROTTERDAM
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
PROF. DR. A.H.G. RINNOOY KAN
EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN
DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN
OP WOENSDAG 17 SEPTEMBER 1986
DES NAMIDDAGS TE 14.00 UUR**

DOOR

JOHANNES JACOBUS VAN BEEK

Geboren te Soerabaja

PROMOTIECOMMISSIE

PROMOTOR:	PROF. DR. G.H. ZEILMAKER
PROMOTOR:	PROF. DR. A.C. DROGENDIJK
OVERIGE LEDEN:	PROF. DR. M.F. NIERMEIJER
	PROF. DR. S.W.J. LAMBERTS

Aan Marjan
en onze kinderen:
Robert
Wenneke
Froukje
Elianne

Met dank aan mijn ouders

VOORWOORD

Het in dit proefschrift beschreven onderzoek werd uitgevoerd in de gynaecologische afdelingen van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt en het Zuiderziekenhuis te Rotterdam. Centraal stond het laboratorium voor Endocrinologie, Groei en Voortplanting van de Erasmusuniversiteit.

Allen die hebben bijgedragen aan dit proefschrift wil ik hiervoor bedanken. Een aantal van hen wil ik graag met name noemen. Op de eerste plaats mijn beide promotoren: Prof. dr. G.H. Zeilmaker, die de aanzet gaf tot het onderzoek en en wiens enthousiasme en inzet bleef stimuleren. Voor zijn talrijke adviezen en aanvullingen tijdens het onderzoek en bij het schrijven ben ik hem zeer erkentelijk.

Prof. dr. A.C. Drogendijk, wiens steun en vertrouwen -die ik gedurende mijn gehele opleiding tot vrouwenarts heb ondervonden- niet alleen voor dit proefschrift van belang zijn geweest.

De leden van de promotiecommissie, prof. dr. M.F. Niermeijer, prof. dr. S.W.J. Lamberts, prof. dr. J.W. Wladimiroff en prof. dr. M.A.D.H. Schalekamp waren bereid kostbare tijd vrij te maken om dit manuscript door te nemen. Dankzij de suggesties van prof. dr. M.F. Niermeijer kon de tekst op het laatst nog belangrijk worden ingekort en verbeterd.

Dr. A. Th. Alberda leerde mij het klinische deel van de IVF. Ook nadien kon ik altijd op zijn hulp rekenen bij de uitvoering van het onderzoek. Bert, dat je bovendien paranimf wilde zijn waarderen Marjan en ik des te meer.

Alle verpleegkundigen en andere medewerkers van de poliklinieken, verpleeg- en operatieafdelingen van Dijkzigt en het Zuiderziekenhuis dank ik voor hun medewerking en inzet bij de opvang van de patiënten en de uitvoering van het onderzoek. Onder hen Ellen Pothoff, die nauwgezet alle aanmeldingen voor laparoscopische inspecties in Dijkzigt doorgaf; Jaenette Zwang, die vele malen heeft geholpen bij het aanvullen van de patiëntengegevens; Fred Meijer, die als hoofdverpleegkundige van de O.K. met enthousiasme heeft meegedacht om IVF in het Zuiderziekenhuis mogelijk te maken.

Van mijn opleiders in het Zuiderziekenhuis wil ik graag nog dr. H.T. Lim en dr. A. Verhoeff noemen. Zonder hun steun respectievelijk medewerking zou dit nooit mogelijk zijn geweest. Hetzelfde geldt voor Camilla Rijkmans-Verhamme, die naast prof. Zeilmaker een belangrijk aandeel heeft gehad in het werk op het kweeklaboratorium.

Mijn collega's in het Diakonessenhuis te Groningen dank ik voor hun medeleven en voor het administratieve werk van de praktijk, waarvan zij mij hebben vrijgehouden. Rochus, bedankt dat je daarbij ook paranimf wilde zijn.

Zonder Gijs ter Horst zou de tekst nooit op tijd met de Daisy-Wheel printer zijn uitgetypt, klaar voor de drukker.

Aan het einde, maar niet in het minst, dank ik alle patiënten die hebben meegewerkt aan dit onderzoek voor hun vertrouwen. Terwijl de IVF nog in ontwikkeling was, waren zij bereid hieraan bij te dragen.

De laatste plaats in de lijst van namen is voor diegene die alle stappen heeft begeleid. Marjan, als jij me niet zo terzijde had gestaan als je hebt gedaan, was het nooit zover gekomen.

Inhoud

	pagina
HOOFDSTUK 1. INLEIDING	
1.1. Historische achtergrond	7
1.2. Aanleiding voor het onderzoek	7
1.3. Doelstellingen van het onderzoek	10
HOOFDSTUK 2. OPZET EN UITVOERING VAN HET ONDERZOEK	
2.1. Beschrijving van de studiegroep	12
2.2. Procedure bij deelname aan de studiegroep	12
2.3. Ovulatie-inductieschema	13
2.4. Beschrijving van de follikelpunctie en in-vitro bevruchting	14
2.4.1. Klinisch deel	14
2.4.2. Instrumentarium voor follikel aspiratie	14
2.4.3. In vitro bevruchting	15
2.4.4. Cryopreservatie van 4-8 cellige embryo's	16
2.5. Definities infertiliteitsoorzaken	17
2.6. Statistiek	19
HOOFDSTUK 3. STANDAARDISERING OVULATIE-INDUCTIE EN PUNKTIETECHNIEK	
3.1. Patiëntenpopulatie	20
3.2. Correlatie tussen follikelvolumen, oöcytenopbrengst en bevruchtungskans	20
3.3. Selectie van punctienaald en vacuumdruk	21
3.4. Selectie ovulatie-inductieschema "op de kalender"	22
3.5. Bespreking	23
HOOFDSTUK 4. TRANSPORT VAN OOCYTEN VAN PERIFER ZIEKENHUIS NAAR CENTRAAL LABORATORIUM	
4.1. Vergelijking resultaten AZD-R en Zuiderziekenhuis	26
4.1.1. Beschrijving populatie	26
4.1.2. Methode	28
4.1.3. Vergelijking oöcytenopbrengst	28
4.1.4. Vergelijking van de bevruchtungskans	29
4.2. Mogelijkheden voor behandeling van infertiliteit via de in-vitro-bevruchtingsmethode in perifere ziekenhuizen rond een centraal laboratorium	30
4.2.1. Overzicht embryo-ontwikkeling en zwangerschappen in de diagnostische groep	30
4.2.2. Evaluatie echoscopische follikelmeting Zuiderziekenhuis	32

4.2.3.	Vergelijking ovulatie-inductieschema behandelingsgroep en diagnostische groep	34
4.2.4.	Eerste resultaten IVF in toeleveringsziekenhuizen	35
4.3.	Bespreking	37
HOOFDSTUK 5. DIAGNOSTISCHE BETEKENIS VAN IVF		
5.1.	Inleiding	41
5.1.1.	Patientenpopulatie	41
5.2.	Correlatie infertiliteitsoorzaak met bevruchtungskans van de oocyten	41
5.3.	Nadere analyse van de androgene factor	46
5.3.1.	Patientenpopulatie	46
5.3.2.	Invloed van verschillende semenkenmerken op de bevruchtungskans	49
5.3.3.	Correlatie tussen de hamstereiceltest en IVF	51
5.4.	Kans op zwangerschap na laparoscopie in de diagnostische groep	53
5.5.	Bespreking	55
HOOFDSTUK 6. ALGEMENE BESCHOUWING		
6.1.	Ethische aspecten	61
6.1.1.	Kans op congenitale afwijkingen	61
6.1.2.	Donor-oocyten en invriezen van embryo's	63
6.2.	Huidige stand van de techniek	64
6.2.1.	Ovulatie-inductie	64
6.2.2.	Monitoring van de cycli	66
6.2.3.	Punktietechniek	69
6.2.4.	Microchirurgie voor IVF	70
6.2.5.	Echoscopisch geleide follikelpunctie	71
6.3.	Indicaties voor IVF	72
6.4.	De waarde van de diagnostische laparoscopie	81
6.5.	Organisatie van IVF in Nederland	83
SAMENVATTING		85
SUMMARY		88
BIJLAGE 1.	Patienteninformatie Zuiderziekenhuis	91
BIJLAGE 2.	Voorstel eisen IVF-ziekenhuizen	92
LITERATUURLIJST		94
Curriculum vitae		109

Foto's omslag : links : bevruchte eicel met 2 pronuclei
rechts : 4 - cellig "embryo"

HOOFDSTUK 1

INLEIDING

1.1 Historische achtergrond

De grote vlucht die de in-vitro-bevruchting de laatste jaren heeft genomen wekt de indruk dat het om een ontdekking van recente datum gaat. Voor de ontwikkeling van de techniek bij de mens is dit juist. In 1965 berichtte Edwards voor het eerst over rijping in vitro van menselijke eicellen naast die van andere diersoorten (Edwards, 1965). De eerste zwangerschap van het Bourn Hall instituut werd beschreven in 1976, maar deze bleek in de eileider genesteld (Step toe en Edwards, 1976). De publikatie van de eerste in 1978 levend geboren reageerbuisbaby verscheen pas in 1980 (Step toe e.a., 1980). In hetzelfde jaar werd de eerste reageerbuisbaby beschreven van het Monash instituut in Melbourne (Lopata e.a., 1980), waarna het aantal vermeldingen in de wereldliteratuur snel toenam. Opmerkelijk is dat de follikelpunktietechniek zoals in 1974 door Lopata beschreven, in grote lijnen nog steeds toegepast wordt bij de laparoscopisch geleide follikelpunctie (Lopata e.a., 1974).

Ten grondslag aan de in-vitro-bevruchting bij de mens lag een lange periode van onderzoek bij proefdieren. Een uitgebreid historisch overzicht van de ontwikkelingen die uiteindelijk geleid hebben tot de geboorte van de eerste menselijke reageerbuisbaby werd recent gegeven door Westmore (1984). Slechts de hoofdlijnen zullen hier nog worden weergegeven.

In 1890 berichtte Walter Heape dat het mogelijk was een ovum van een konijnesoort in de baarmoeder van een ander konijnesoort te laten uitgroeien (Heape, 1890). Na voorbereidende experimenten met bevruchte eicellen uitgespoeld uit de oviducten van konijnen lukte het Chang in 1959 om bij het konijn voor het eerst de bevruchting in vitro te laten plaatsvinden resulterend in levend geboren nageslacht (Chang, 1959). In 1968 gelukte het om ook bij muizen levend geboren nageslacht te krijgen na in-vitro-bevruchting (Whittingham, 1968). In 1979 was succesvolle in-vitro-bevruchting inmiddels bij meer dan 10 diersoorten mogelijk gebleken (Whittingham, 1979). In hetzelfde overzicht beschrijft Whittingham de processen die plaatsvonden bij de bevruchting van de menselijke eicel en de stand van de techniek voor het invriezen van embryo's van zoogdieren. Deze

laatste werd voor het eerst in 1972 met succes uitgevoerd bij muizen (Whittingham e.a., 1972). Zeilmaker beschreef in 1979 een vereenvoudigde methode voor het invriezen van muize-embryo's (Zeilmaker en Verhamme, 1979). Met enige modificatie (Wood e.a., 1979) werd deze later met succes toegepast bij menselijke embryo's (Zeilmaker e.a., 1984). In Nederland werd het pionierswerk van de in-vitro-bevruchting bij de mens verricht door Alberda en Zeilmaker. De eerste Nederlandse reageerbuisbaby werd in mei 1983 in Rotterdam in het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-Dijkzigt geboren.

1.2 Aanleiding voor het onderzoek

Vanaf circa 1979 was het dierexperimenteel voorbereidend onderzoek in het laboratorium voor Endocrinologie, Groei en Voortplanting van de Erasmusuniversiteit, onder leiding van prof. dr. G.H. Zeilmaker, zover gevorderd dat een begin kon worden gemaakt met de klinische fase van onderzoek en behandeling. Het klinische deel stond onder leiding van dr. A.Th. Alberda. Vanaf het begin was de "reageerbuis" bevruchting ofwel in vitro fertilisatie (IVF) gericht op behandeling van infertiliteit. Dit waren patiënten met onherstelbaar beschadigde eileiders, waardoor de normale weg van het embryo naar de baarmoeder was geblokkeerd.

De techniek was nog in een vroeg stadium van ontwikkeling. Buiten Engeland waren voor 1980 nog geen geboorten na IVF bij de mens gemeld. Het aantal patiënten dat voor de methode in aanmerking kwam was beperkt. Voor de melding van de eerste zwangerschap in Nederland in 1982 via krant en televisie was zeker nog geen sprake van wachtlijsten zoals die nu het beeld beheersen. De capaciteit van het kweeklaboratorium werd lang niet ten volle benut. Het aantal problemen betreffende follikelstimulatie, punctietechniek enz., dat nog opgelost moest worden was groot. Bovendien bood IVF voor het eerst de gelegenheid om ook bij de mens zelf nadere informatie te verkrijgen over de mogelijkheid van storingen in het bevruchttingsproces bij diverse oorzaken van infertiliteit, doordat in-vitro de eicel en zaadcellen direkt bij elkaar gebracht werden. In de eerste plaats geldt dit voor de idiopathische infertiliteit, waar met huidige onderzoeksmogelijkheden geen oorzaak gevonden kon worden. Evenzeer geldt dit voor mannelijke infertiliteit en ook bij endometriose is de

de aard van de relatie tussen de afwijking en de infertiliteit nog omstreden.

Als zelfstandige verrichting werd IVF door geen enkele instantie vergoed. Ook in 1986 is de financiële vergoeding van IVF in Nederland nog steeds niet goed geregeld. Toevoeging van de follikelpunctie aan de diagnostische laparoscopie bij infertiliteitspatiënten leidde tot vergroting van het patiëntenaanbod en zo tot de mogelijkheid de methode sneller te standaardiseren en de bevruchting bij diverse infertiliteits-oorzaken te bestuderen. Deze ingreep viel, afgezien van de specifieke extra kosten die de follikelpunctie en in-vitro bevruchting met zich meebracht, binnen het bestaande vergoedingssysteem. Ook om andere redenen was het gerechtvaardigd juist deze patiëntengroep te vragen voor deelname aan de verdere ontwikkeling van de IVF:

- Aan het begin van de studie bestond uitsluitend ervaring met follikelpunctie onder geleide van de laparoscopus. Een laparoscopisch onderzoek was al geïndiceerd voor de beoordeling van het kleine bekken en doorgankelijkheid van de eileiders.

- IVF geeft aanvullende diagnostische informatie. Het optreden van een bevruchting sluit problemen bij de interactie tussen eicel en zaadcel uit. Het niet optreden van een bevruchting vraagt om nader onderzoek, alvorens hieruit vergaande conclusies getrokken mogen worden. Het is aannemelijk dat bij voldoende grote groepen van patiënten de invloeden van technische en laboratoriumvariabelen gelijkelijk verdeeld zijn, zodat conclusies getrokken kunnen worden uit een vergelijking van de verschillende infertiliteitsoorzaken.

- Indien normale embryo-ontwikkeling optreedt is er via transplantatie in principe een (kleine) kans op zwangerschap.

- De patiënten hebben een direkt belang bij de verdere ontwikkeling van IVF. Een deel van hen zal waarschijnlijk in de toekomst in aanmerking komen voor IVF behandeling.

Gestreefd werd naar een minimale belasting van de patiënten en ziekenhuis. Enerzijds diende de opnameduur van de patiënt door deelname aan het onderzoek niet langer te worden, anderzijds mocht de normale operatieplanning van het ziekenhuis zo min mogelijk worden doorkruist. Daarom werd al tijdens de menstruatie van een patiënte de datum van de diagnostische laparoscopie vastgesteld. Gezien de variatie in de spontane cyclus leek een eenvoudige follikelstimulatieprocedure van de cyclus aangewezen. De effectiviteit van een zo laag mogelijke

dosering van een oraal ovulatie-inducerend middel, clomifeen, werd hiertoe onderzocht. Het operatie (laparoscopie)-tijdstip werd hierbij steeds ruim 1 week tevoren vastgelegd.

Dit proefschrift beschrijft voornamelijk de resultaten van onderzoek van patiënten bij wie tijdens een laparoscopie in het kader van het infertiliteitsonderzoek, na verkregen toestemming, tevens een follikelpunctie werd uitgevoerd met de bedoeling eventueel verkregen eicellen in vitro te laten bevruchten door de zaadcellen van de partner. Deze groep wordt de diagnostische groep (of "neven"groep) genoemd.

1.3 Doelstellingen van het onderzoek

Op grond van de hiervoor genoemde overwegingen werden de volgende doelstellingen opgesteld:

1. Verbetering van de eicelopbrengst en bevruchtungskans per laparoscopie.

In het IVF-programma te Rotterdam werden oorspronkelijk naalden gebruikt met een binnendiameter van 1,0 mm en een vacuumdruk bij aspiratie van 200 mmHg. Wegens tegenstrijdige literatuurgegevens over de naalddiameter en vacuumdruk (Lopata e.a., 1974; Renou e.a., 1981; Jones e.a., 1982) werd de eerste studiegroep gerandomiseerd voor twee verschillende waarden van naalddiameter en vacuumdruk.

2. Evalueren van de mogelijkheden van transport van oöcyten van verschillende ziekenhuizen naar een centraal laboratorium.

Gaandeweg bleek de vraag naar IVF de actuele mogelijkheden voor follikelaspiratie in het Academisch Ziekenhuis Rotterdam te overtreffen, terwijl de optimale capaciteit van het laboratorium nog niet was bereikt. Toepassen van de punctietechniek in andere ziekenhuizen in de regio leek een oplossing. In september 1983 werd in het Zuiderziekenhuis te Rotterdam gestart met follikelpunctie en transport van de oöcyten naar het laboratorium van de EUR.

Later werd ook in het Zuiderziekenhuis begonnen met therapeutische IVF: primair bedoeld als behandeling bij een geselecteerde groep patiënten. Ter onderscheiding van de diagnostische groep wordt deze groep patiënten de behandelingsgroep genoemd.

3. Evalueren van de diagnostische mogelijkheden van IVF.

IVF werd meestal toegepast bij patiënten met tubaire infertiliteit. In 1980 werd IVF voor het eerst toegepast bij onbegrepen infertiliteit (Trounson e.a., 1980). Systematisch onderzoek naar de mogelijkheden van IVF bij andere oorzaken van (langdurige) infertiliteit dan eileiderafwijkingen was nog nauwelijks aanwezig. In de huidige studiegroep werd niet geselecteerd op infertiliteitsoorzaken anders dan azoöspermie. De resultaten werden onderling naar infertiliteitsoorzaak vergeleken.

Tot slot kunnen met behulp van de gegevens van het diagnostisch IVF-onderzoek indicaties voor IVF-behandeling worden opgesteld. Per besluit van juli 1985 zou IVF door het departement van Volksgezondheid in een aantal centra toegestaan worden. Hiermee is IVF terecht als een mogelijke behandeling van infertiliteit erkend. Vooralsnog erkent het ministerie als enige indicatie een op andere wijze niet (meer) te behandelen tubaire infertiliteit. Indicaties voor IVF dienen echter op onderzoeksgegevens gebaseerd te zijn en niet alleen op gevoelsmatige factoren. Systematisch onderzoek naar de succesansen bij andere oorzaken dan tubaire infertiliteit krijgt pas recent meer aandacht. Dit zal in de nabije toekomst des te belangrijker worden. Zoals Alberda in 1984 al meldde is vrijwel elke vorm van infertiliteit inmiddels met succes via in vitro bevruchting behandeld (Alberda, 1984). Tegelijk waar-schuwde hij voor een te snelle toepassing van de methode. Aan de andere kant is het leed voor een onvrijwillig kinderloos echtpaar niet afhankelijk van de oorzaak van de infertiliteit. Daarom dienen enerzijds loze verwachtingen voorkomen te worden, terwijl anderzijds een zinnige nieuwe behandelingsmogelijkheid niet bij voorbaat mag worden uitgesloten.

HOOFDSTUK 2

OPZET EN UITVOERING VAN HET ONDERZOEK

2.1 Beschrijving van de studiegroep

De onderzoeksperiode liep van 1 januari 1982 tot en met februari 1985. Alle betrokken patiënten waren wegens infertiliteit tevoren ingeschreven bij een gynaecologische polikliniek. Patiënten van de polikliniek van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt konden deelnemen vanaf 1-1-'82, van het Zuiderziekenhuis te Rotterdam vanaf 1-10-'83.

In principe konden alle patiënten toegelaten worden ongeacht de tot dan toe bekende oorza(a)k(en) van hun infertiliteit, met uitzondering van azoöspermie. Patiënten, die echter tevoren reeds waren behandeld via donorinseminatie (KID, 4 patiënten), konden wel worden toegelaten indien uitblijven van succes van donorinseminatie de indicatie voor nader infertiliteitsonderzoek was.

2.2 Procedure bij deelname aan de studiegroep.

Op het moment dat door de behandelend arts van het echtpaar een laparoscopisch onderzoek van de genitalia interna van de vrouw geïndiceerd werd geacht op basis van het voorafgaande infertiliteitsonderzoek werden de doelstellingen van het onderzoek aan hen uitgelegd. In een persoonlijk gesprek werden zowel de éénmaligheid van de poging tot in-vitro-bevruchting als de nog experimentele fase van het IVF onderzoek nader toegelicht. Beslissing omtrent deelname werd meestal nog niet genomen tijdens dit gesprek. In verband met het testen van de door-gankelijkheid van de eileiders bij de laparoscopie voor infertiliteit werd dit onderzoek gepland in de eerste helft van de cyclus, dat wil zeggen vóór de eisprong had plaatsgevonden. Om dit mogelijk te maken werd het moment van laparoscopie pas vastgesteld nadat patiënte telefonisch had doorgegeven wanneer weer een menstruatie was opgetreden. Tijdens dit telefoongesprek werd een eventuele deelname aan de studie pas definitief. Hierdoor was er steeds minimaal een week bedenktijd na het eerste gesprek. In het eerste jaar van het onderzoek namen naar schatting 80% van de patiënten aan wie de doelstellingen waren uitgelegd deel. Geleidelijk werd dit vrijwel 100%.

De keuze om wel of niet deel te nemen had geen invloed op de uitvoering van het laparoscopisch onderzoek zoals dat tot het moment van de studie op indicatie van infertiliteitsonderzoek werd uitgevoerd. Dit betrof totale inspectie van de genitalia interna inclusief het testen van de doorgankelijkheid van de eileiders met een waterige indigokarmijn oplossing. De follikelpunctie werd uitsluitend als een extra toegevoegd. Bij onbereikbaarheid van de ovaria of verhoogd risico bij punctie ten gevolge van adhaesies werd van punctie afgezien (8/122 patiënten = 6,5%). In geval van deelname vond tijdens de opname voor de laparoscopie nog een echoscopisch onderzoek van de ovaria plaats. Tevens vond dan nog een derde gesprek plaats om resterende vragen bij het echtpaar te beantwoorden. Tot slot werden na afloop van de procedure de resultaten met het echtpaar besproken.

2.3 Ovulatie-inductie schema

Ovulatoire cycli kunnen aanzienlijk in lengte variëren. Cycli tussen 26 en 35 dagen tonen over het algemeen een luteale fase van 10-14 dagen en behoeven in de praktijk in de regel geen ovulatie-inductie om een eisprong te bewerkstelligen. De laatste fase van de follikelgroei begint met een versnelling van de oestrogeenproductie, waardoor de plotselinge uitstorting van luteïniserend hormoon, de LH-piek, wordt geïnduceerd. De follikelsprong treedt ongeveer 24-36 uur na de oestradiolpiek en het begin van de LH-piek op. De periode gedurende welke de menselijke eicel na de follikelsprong is te bevruchten wordt geschat op 12 tot 24 uur (Speroff, 1983).

Om deze redenen was het onvermijdelijk dat in de studiegroep de cyclus moest worden "bijgestuurd" om langdurige opnames en/of serie bepalingen van hormonen te voorkomen. Hiervoor werd behandeling met clomifeen gekozen. Dit preparaat is het meest onderzochte en bij ovulatie-inductie toegepaste anti-oestrogeen. Niet alleen wordt de follikelgroei hierdoor gestimuleerd maar door te variëren met het moment van het begin van een 5-daagse clomifeenkuur zou in beperkte mate een te vroege eisprong kunnen worden voorkomen: Uit de gegevens van Wu blijkt dat de LH-piek niet eerder dan 10-13 dagen na het begin van de clomifeen-behandeling optreedt (Wu, 1977). Uit de evaluatie van Gijssler van 10 jaar clomifeen-behandeling kan worden afgeleid dat de eisprong nooit eerder dan vier dagen na inname van de laatste tablet optrad (Gijssler e.a., 1982).

De laatste fase van de eirijping werd in gang gezet met een eenmalige injectie humaan chorion gonadotrofine (HCG) om 22.00 uur op de derde dag na inname van de laatste clomifeentablet. Hierdoor werd kunstmatig een LH-piek geïnduceerd op een moment voor de verwachte spontane LH-piek, zodanig dat de follikelpunctie gepland kon worden op een normaal operatietijdstip, de ochtend van de 10e dag na het begin van de clomifeenbehandeling.

Clomifeen 50-100 mg/dag werd als 5-daagse kuur voorgeschreven, te beginnen op de 3e, 4e, 5e of 6e cyclusdag afhankelijk van de cycluslengte van de patiënte en de kalender, zodat laparoscopieën in de weekends vermeden konden worden. Het interval tussen de HCG-injectie en de follikelpunctie bedroeg circa 34 uur.

2.4 Beschrijving van de follikelpunctie en in-vitro bevruchting

2.4.1 Klinisch deel

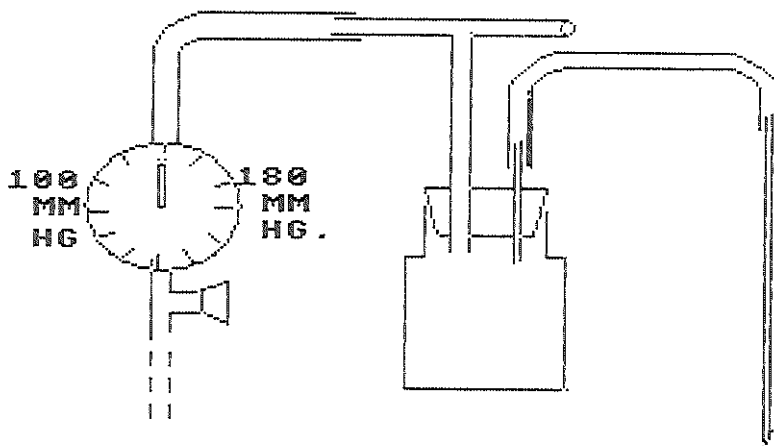
Alle patiënten uit de diagnostische of "neven"groep werden een dag voor de afgesproken laparoscopie volgens de normale routine voor dit onderzoek opgenomen en voorbereid. De laparoscopie vond als regel om 8 uur 's morgens plaats. Het voor de chromopertubage noodzakelijke instrumentarium werd eerst aangesloten. Pneumoperitoneum werd op gebruikelijke wijze aangelegd en de laparoscoop ingebracht. Lateraal in de onderbuik werd via een tweede kleine incisie een unipolaire coagulatietaal ingebracht. Met behulp van dit instrument kon via het ligamentum ovarium proprium met het ovarium worden gemanipuleerd. De punctienaald werd na een kleine incisie van de huid ter plaatse mediaan in de onderbuik ingebracht. Na aspiratie van alle zichtbare follikels werden de genitalia en buikholte geïnspecteerd en werd de chromopertubage uitgevoerd. Direct na beëindiging van de laparoscopie werd het geaspireerde follikelvocht naar het laboratorium overgebracht.

2.4.2 Instrumentarium voor follikelaspiratie

In figuur 1 wordt de schematische opstelling getoond van het instrumentarium voor het opvangen van de follikelvloeistof. De punctienaalden waren door de Centrale Research Werkplaats van de Erasmus Universiteit Rotterdam (EUR) gemaakt van nauwe roestvrij

stalen buisjes. De lengte was 30 cm, de binnendiameter 1.0 of 1.34 mm. Bijbehorende buitendiameters waren 1.4 respectievelijk 1.9 mm.

Figuur 1: Schematische weergave van de opstelling voor follikelaspiratie



Op het moment dat de follikel door de operateur wordt aangeprikt, wordt door de assistent het open uiteinde van het glazen T-stuk met de vinger afgesloten. De ingestelde vacuümdruk komt op het systeem en het follikelvocht wordt in het glazen flesje opgevangen.

De follikelvloeistof werd opgevangen in een glazen gesteriliseerd flesje (aanvankelijk Jenaglas, later een gesteriliseerd B-counter telpotje). Per follikel werd van flesje gewisseld. De flesjes werden afgesloten in een speciaal daarvoor gemaakte doos getransporteerd. Te sterke afkoeling werd door een mantel van tot 37 graden Celsius verwarmde paraffine voorkomen.

2.4.3 *In-vitro-bevruchting*

Het gebruikte kweekmedium bestond o.a. uit een gemodificeerde zoutoplossing volgens Earle, wekelijks vers bereid en opgeslagen bij vier graden Celsius (Alberda, 1983). Monsters werden geregeld getest op het vermogen een- of tweecellige muize-embryo's zich verder te laten ontwikkelen. Voor de

preïncubatie en in-vitro-bevruchting bij de mens wordt het medium verrijkt met 15% geïnactiveerd patiënteserum. Oöcyten werden geïsoleerd uit de follikelvloeistof en zo nodig gewassen in kweekmedium om contaminerende erythrocyten te verwijderen. Vervolgens werden de oöcyten geplaatst in 0.1 ml kweekmedium onder een laagje minerale olie (Squibb) in een plastic kweekbakje (Falcon 3033/Corning 25010). De oöcyten werden gedurende ca 5 uur gepreïncubeerd in een vochtige atmosfeer met een mengsel van 5% CO₂ en lucht.

Het semen van de echtgenoot/partner werd direct na liquefactie 3 maal gewassen en gecentrifugeerd bij 200 x g om het semenplasma te verwijderen. De pellet werd geïncubeerd in 0,3 ml kweekmedium tot het moment van bevruchting. Na een preïncubatie van minimaal 5 uur werden circa 100.000 beweeglijke zaadcellen toegevoegd aan de oöcytenkweek. Aanvankelijk werd de eicel na 24 uur onderzocht op het verschijnen van pronuclei. Na enkele maanden werd pas na 40 tot 48 uur een inspectie uitgevoerd om mogelijke manipulatieschade aan de zygote te voorkomen.

2.4.4 Cryopreservatie van 4-8 ellige embryo's

Al voor de aanvang van deze studie werd bij de behandelingsgroep van het Academisch Ziekenhuis te Rotterdam geen chromopertubage meer uitgevoerd bij de laparoscopie. Immers de patienten die hiervoor in aanmerking kwamen waren bekend met onherstelbaar beschadigde eileiders. De mogelijkheid van een nadelig effect van chromopertubage op de innesteling leek waarschijnlijk maar was niet bewezen. Bij proefdieren was cryopreservatie van embryo's succesvol gebleken (Whittingham e.a., 1972; Wilmut, 1972), maar het was bij de mens nog niet geprobeerd. Door verdere ontwikkeling van deze techniek voor toepassing bij de mens zouden -indien voldoende embryo's ontstaan- een aantal hiervan opgeslagen kunnen worden voor transplantatie in een volgende cyclus. Voor de patienten uit de diagnostische groep vormde chromopertubage een wezenlijk onderdeel van het onderzoek tijdens de laparoscopie. Om deze redenen werden -volgens een tevoren vastgestelde procedure (2.6)- embryo's afwisselend in dezelfde cyclus getransplanteerd of tijdelijk opgeslagen in vloeibare stikstof voor transplantatie in een volgende cyclus. Indien (echt)paren de voorkeur gaven aan transplantatie in dezelfde cyclus werd

hieraan gehoor gegeven. Dit kwam slechts enkele malen voor. Aan het einde van de onderzoeksperiode per februari 1985 was verdere ontwikkeling van de cryopreservatietechniek nog gaande. Voor zover de techniek in de studiegroep is toegepast worden de resultaten besproken.

2.5 Definities infertiliteitsoorzaken

Voor de indeling naar infertiliteitsoorzaken werden alle resultaten van de tot dusverre gangbare onderzoeken, inclusief de bevindingen bij de laparoscopie, betrokken.

-Tubaire factor: Het voorkomen van adhaesies, behalve bij endometriose, werd altijd beschouwd als een tubaire factor, aangezien dit wijst op een doorgemaakte ontsteking. Het is bekend dat in dergelijke gevallen ook bij behoud van doorgankelijkheid van de eileiders vaak afwijkingen in het tuba-epitheel gevonden worden (Nordenskjold en Ahlgren, 1983; Vasquez e.a., 1983; Henry-Suchet e.a., 1985). Alle patiënten met een eileideroperatie in de anamnese werden beschouwd als patiënten met in elk geval een tubaire factor, ongeacht het aspekt van de tubae bij laparoscopie. Bij deze patiënten was minstens 2 jaar na de operatie geen zwangerschap opgetreden.

-Endometriose: Adhesies ten gevolge van endometriose werden niet als tubaire factor genoteerd, tenzij er ook duidelijke aanwijzingen bestonden voor een (doorgemaakt) ontstekingsproces. De groep "endometriose" omvat alle graden van ernst van de aandoening (The American Fertility Society, 1979). Het aantal patiënten in deze serie was te klein voor een nadere opsplitsing. De diagnose was in alle gevallen op grond van de laparoscopische bevindingen bevestigd.

-Mannelijke factor: Het semen werd beoordeeld op aantal, vorm en beweeglijkheid van de spermatozoa. De semenanalyses vonden plaats in verschillende laboratoria, in de respectievelijke ziekenhuizen. Dit leidde tot onvermijdelijke verschillen in interpretatie. In de semenanalyses van het Dijkzigt ziekenhuis werden de lepto-vormen meegerekend met de normale vormen. In het Zuiderziekenhuis werden de leptovormen niet afzonderlijk vermeld. Daarnaast verschillen semenanalyses ook zelf aanzienlijk in de tijd (Tjoa e.a., 1982; Mortimer e.a., 1983). Om deze redenen werden de normaal-grenzen ruim gekozen : minstens 20 miljoen spermatozoa/ml, meer dan 30% normale vormen en/of minder dan 60% terato-vormen en een beweeglijkheid van tenminste 30%. Gezien de subjectiviteit in de beoordeling en

afhankelijkheid van factoren als temperatuur en duur van transport van het zaadmonster werd hier geen onderscheid gemaakt naar de kwaliteit van beweeglijkheid. Bovendien waren bij afwijkende semenuitslagen meestal tenminste twee semenanalyses bekend. Voor de beoordeling werden deze uitslagen gemiddeld.

-Cervicale factor: In de samenlevingstest werd gelet op aantal propulsief bewegende spermatozoa per gezichtsveld van een objectief 40x. Bij beoordeling 8-12 uur na coïtus werd bij een gemiddelde van minstens twee propulsieve spermatozoa per veld, objectief 40x, de test als normaal beschouwd (Speroff, 1983). Het cervixslijm werd beoordeeld op Spinnbaarheid, helderheid en varenvorming. Indien de samenlevingstest negatief was, werd geverifieerd of deze bij herhaling op verschillende momenten in de cyclus verricht was. Indien de semenanalyse afwijkend was werd een negatieve samenlevingstest primair toegeschreven aan een androgene factor. Indien in die gevallen ook het cervixslijm suboptimaal was werd als tweede oorzaak een cervicale factor genoteerd. Bij herhaalde negatieve samenlevingstesten of schudfenomeen behoorde een onderzoek naar sperma-antistoffen in het serum (Friberg-test) tot de routine in beide ziekenhuizen. Bij de patiënten die aan deze studie deelgenomen hebben waren nimmer sperma-antistoffen in het serum gevonden. Kruistesten tussen cervixslijm en semen werden niet routinematig uitgevoerd.

-Ovariële factor: De cyclus werd geëvalueerd met een basale temperatuurcurve en/of minstens 1 progesteronbepaling in de tweede helft van de cyclus. Een herhaald bifasisch verloop met een normale cyclusduur tussen 26 en 35 dagen en/ of een progesterongehalte van minstens 25 nmol/l in de tweede cyclushelft werden als bewijs van een normale ovulatoire cyclus beschouwd. Bij verdenking op een ovulatiestoornis was verdere hormonale analyse uitgevoerd. Voordat een dergelijke patiënte werd aangemeld voor laparoscopie had met progesteronbepaling gecontroleerde ovulatie-inductie gedurende minstens een half jaar niet tot zwangerschap geleid.

-Meerdere factoren: Indien meer dan één fertiliteitsremmende factor aanwezig was, werd op grond van een individuele afweging van de ernst van de aandoeningen een onderverdeling gemaakt in een "hoofd-oorzaak" en "nevenoorzaken". Aangezien dit een persoonlijke beoordeling betreft is bij de resultaatbespreking zowel het voorkomen van een bepaalde infertiliteitsoorzaak in "zuivere" vorm vermeld als het voorkomen daarvan in combinatie met andere infertiliteitsoorzaken.

-Onbegrepen infertiliteit: Infertiliteit werd als idiopathisch of onbegrepen beschouwd indien, op grond van temperatuurcurve en progesteronbepaling, semenanalyse en samenlevingstest, hysterosalpingogram en laparoscopische inspectie volgens bovenvermelde criteria, geen oorzaak kon worden gevonden. Daarnaast moest ongewenste kinderloosheid minimaal twee jaar bestaan.

2.6 Statistiek

Vergelijkingen tussen groepen werden uitgevoerd middels chi-kwadraat analyse of kxr tabellen. Voor kleine getallen werd de test van Fisher toegepast.

Voor de standaardisering van de punctietechniek werd gerandomiseerd. Om bij niet te grote aantallen patiënten een evenwichtige randomisatie te verkrijgen werden via de afdeling statistiek van de EUR in totaal 60 kaarten in gesloten enveloppen afgegeven. Van iedere der vier mogelijke combinaties waren 15 kaarten in willekeurige volgorde gerangschikt. Op de ochtend van laparoscopie werd volgens nummering een kaart geopend. Voor de vergelijking tussen directe embryotransplantatie na diagnostische laparoscopie met chromopertubage en transplantatie na opslag in vloeibare stikstof werd het beleid gebonden aan de dag van laparoscopie. Na operatie op een maandag of dinsdag werd teruggeplaatst in dezelfde cyclus. Embryo's van laparoscopieën op donderdag of vrijdag werden opgeslagen in vloeibare stikstof met het doel deze later in een "onberoerde" cyclus te transplanteren. Op woensdagen werd afgewisseld. De dag waarop laparoscopie werd gepland was direct afhankelijk van de eerste dag van de laatste menstruatie en de cyclus van patiënte, die beide buiten de beïnvloeding van de onderzoekers lagen.

HOOFDSTUK 3

STANDAARDISERING OVULATIE-INDUCTIE EN PUNKTIETECHNIEK

3.1 Patiëntenpopulatie

De patiënten uit de eerste fase van het onderzoek waren uitsluitend afkomstig van de gynaecologische polikliniek van het AZR-D, waar zij waren ingeschreven voor infertiliteits-onderzoek. De eerste fase werd gestart in januari 1982 en beëindigd in februari 1983. In totaal gaven 56 patiënten, die in deze periode een laparoscopie zouden ondergaan toestemming voor laparoscopie met follikelpunctie en éénmalige poging tot in-vitro-bevruchting. Bij acht patiënten bleek door adhaesies punctie van de ovaria niet mogelijk en/of verantwoord. Eénmaal mislukte een punctie door een zuiver technische factor. Driemaal had reeds ovulatie plaats gevonden zonder dat verdere follikels aanwezig waren. Driemaal waren naast een vers C. rubrum nog wel één of meerdere follikels aanwezig. Van de 44 patiënten bij wie punctie kon worden uitgevoerd was 20 maal een eileider-afwijking de enige of veruit de belangrijkste oorzaak. Deze patiënten bleken achteraf gelijkelijk over de 4 verschillende punctiegroepen verdeeld te zijn (5 per groep). Voor de overige fertiliteitsfactoren was nadere beschouwing van de verdeling over de groepen nog niet zinvol wegens te kleine aantallen.

3.2 Correlatie tussen follikelvolumen, oöcytenopbrengst en bevruchtingskans

Tabel I toont het verband tussen oöcytenopbrengst en bevruchtingskans van de oöcyt in verhouding tot het follikelvolumen. Overigens nam de bevruchtingskans per patiënt van gemiddeld 39% (zie tabel III) toe tot gemiddeld 60 respectievelijk 62% in 1983 en 1984. Gedeeltelijk zal dit het gevolg zijn geweest van de selectie van de beste naald en druk combinatie uit deze gegevens. Daarnaast zal in het algemeen "toename van ervaring" zowel klinisch als van het laboratorium hierin meegespeeld hebben. Het belang van deze tabel is -nog altijd- dat ook uit de kleine follikels te bevruchten oöcyten verkregen kunnen worden.

TABEL I

Oöcytenopbrengst en bevruchtungskans in relatie tot het follikelvolumen bij 44 patiënten

Follikelvolumen	a)			b)		
	Oöcytenopbrengst			Bevruchting in vitro		
	Aantal			Aantal		
	follikels	eicellen	%	eicellen	bevrucht	%
≥ 5 ml	37	28	76%	28	14	50%
1-5 ml	50	33	66%	33	11	33%
≤ 1 ml	30	13	43%	13	1	8%

a) = p kleiner dan 0.001 voor trend

b) = p kleiner dan 0.01 voor trend

3.3 Selectie van punktienaald en vacuumdruk

Naast de opbrengst van oöcyten is het belangrijk dat deze onbeschadigd zijn. Dit wordt mogelijk weerspiegeld in het wel of niet optreden van een bevruchting na aspiratie. Een bevruchting hangt echter van meer factoren af. De gegevens werden voor de statische vergelijking gecorrigeerd voor verschillen in verdeling van follikelvolumina tussen de groepen (zie tabel I). Zoals eerder vermeld waren ook de diverse oorzaken van infertiliteit gelijkelijk verdeeld voor zover te beoordelen (3.1). Als criterium voor bevruchting gold het verschijnen van twee pronuclei 1 dag na operatie. Met opzet werd hier nog niet de ontwikkeling tot een embryo (4-8 cellig) gekozen. Evenals het klinische deel van de in-vitro-bevruchting was ook het laboratorium nog in een vroege ontwikkelingsfase. Hoe vroeger het bevruchtingskenmerk des te geringer kon de invloed van laboratoriumvariabelen zijn op de uitkomsten.

De resultaten zijn samengevat in tabel II. Voor de 1.0 mm (binnendiameter) naald bleek de vacuumdruk bij het opzuigen

van de follikels zeer belangrijk. Bij voldoende zuigdruk kunnen echter dezelfde oöcyten opbrengsten verkregen worden als bij gebruik van de dikkere naald. Wat betreft de kwaliteit van de oöcyten (bevruchtungskans) kon geen significant verschil worden aangetoond. Wel is er een trend ten gunste van de naald met 1.34 mm binnendiameter.

TABEL II

Oöcytenopbrengst en bevruchtungskans in verhouding tot naalddiameter en zuigkracht bij 44 patiënten

Binnendiameter van de naald	Vacuumdruk	Oöcyten opbrengst eicellen/follikels (%)	Bevruchtungskans embryo's/eicellen (%)
		a)	
1.0 mm	100 mm Hg	11/31 (33%)	2/11 (18%)
1.0 mm	180 mm Hg	22/26 (85%)	6/22 (28%)
1.34 mm	100 mm Hg	21/29 (72%)	9/21 (43%)
1.34 mm	180 mm Hg	20/31 (69%)	9/20 (45%)

2

a) = Significant verschillend volgens de X-methode t.o.v. alle drie andere combinaties van naalddiameter en vacuumdruk (gecorrigeerd voor verschillen in follikelvolumedistributie tussen de groepen).

3.4 Selectie van ovulatie-inductieschema "op de kalender"

Clomifteen 50 mg tabletten werden voorgeschreven om de kans op bevruchtbare oöcyten bij laparoscopie op een vooraf afgesproken tijdstip te vergroten (hoofdstuk 2). Gestart werd met een dosis van 100 mg per dag gedurende 5 opeenvolgende dagen. Aangezien het merendeel der patiënten spontaan ovulatoire cycli toonden ontstond de vraag of de dosering niet verlaagd kon worden. Precies halverwege de eerste fase van de studie werd de clomifeendosis gehalveerd tot 1 tablet per dag.

Tabel III geeft de resultaten weer. Alleen de toename van het aantal corpora rubra bij laparoscopie na verlaging van de dosis clomifeen was significant. Het aantal bevruchte oöcyten en het aantal patiënten met 1 of meer bevruchte oöcyten verschilde niet.

TABEL III

Oöcytenopbrengst en bevruchtungskans in verhouding tot de voorgeschreven clomifeendosering (5 dagen)

Clomifeen dosis/dag	Aantal Patiënten	a)		b)	
		Aantal C. Rubra	Oöcyten opbrengst	Bevruchtungen Oöcyten	patiënten
100 mg	20	0	33	9	7
50 mg	26	6	38	17	11

a) = Significant volgens test van Fisher : $p < 0.05$

b) = niet significant

3.5 Bespreking

In de eerste serie van de diagnostische groep werd een verband gevonden tussen de bevruchtungskans van een eikel en de grootte van de follikel waaruit deze afkomstig was. Een correlatie tussen follikelvolumen en oöcyten "oogst" werd ook door anderen gevonden. Quigley en medewerkers (1982) toonden in een overzicht over dit onderwerp bij follikeldiameters van 15 (1.7ml) en 20 (4.2ml) mm vergelijkbare resultaten. Een follikelvolumen groter dan 4.2 ml gaf binnen de Rotterdamse studie een oöcytenopbrengst van 60% tegenover 57% in de studie van Quigley. In overeenstemming met Lopata (1974) werd door Quigley een kritische ondergrens aangehouden, beneden welke waarde een follikel niet meer werd geaspireerd. In de eigen studie van 1982 werd echter bij 3 van de 44 patiënten embryo-ontwikkeling gezien van oöcyten afkomstig uit follikels onder de 15 mm grens van Quigley.

Vele soorten naalden met verschillende vacuumdrukken zijn in de literatuur vermeld. In de eerste publikaties werden over het algemeen 20 gauge (ca. 0,6 mm binnendiameter) naalden met 200 mmHg vacuüm gebruikt (Lopata e.a., 1974; Trounson e.a., 1980). Geleidelijk aan werd de naalddiameter groter en de toegepaste vacuümdruk lager. De eerste uitgebreide studie over dit onderwerp is van Renou en medewerkers (1981). Stalen naalden met binnendiameters van 1,4 en 2,2 mm en een naald met tefloncoating met binnendiameter van 1,0 mm werden vergeleken. Afgaand op de morfologie en opbrengst van de eicellen werden de beste resultaten verkregen met de naald met tefloncoating en binnendiameter van 1,0 mm. De auteurs gaven de voorkeur aan een vacuümdruk van 100 boven 200 mmHg. Ook Lopata wisselde later van naald en druk. Bij de melding van zijn eerste succesvolle zwangerschap met deze methode in 1980 was een naald met 1,4 mm binnendiameter en met 100 mmHg zuigdruk gebruikt. Kerin en medewerkers vermeldden het gebruik van 1,3 mm naalden (1981). In Norfolk werd succes geboekt met naalden met een binnendiameter van 1,2 mm (Jones e.a., 1982). Evenals Renou (1982) werd nu een Teflon binnen-coating toegepast om -op theoretische gronden- de mogelijkheid van verlies van oöcyten en/of cumulusmateriaal in de naald te voorkomen. De eigen resultaten gaven betere opbrengsten te zien met de 1,34 mm naald dan met een diameter van 1,0 mm. Het grootste voordeel van de 1,34 mm naald is de onafhankelijkheid van de vacuümdruk over een groot traject. Met een dunnere naald kan eenzelfde oöcytenopbrengst verkregen worden, maar de vacuümdruk heeft hier een grotere invloed op.

Het gebruik van een zo dun mogelijke naald is van belang bij follikelpuncties onder plaatselijke verdoving zoals de echoscopisch geleide follikelpunctie. Deze techniek werd het eerst beschreven door Lenz en Lauritsen (1982). Zij gebruikte hiervoor naalden met een binnendiameter van 0,6 mm (19 gauge) en 0,7 mm (18 gauge). In Rotterdam wordt voor de echoscopische follikelpuncties de 1,0 mm naald met de hoge vacuümdruk gebruikt. De echopunctie werd in het AZR-D nader ontwikkeld onder leiding van Van Gent en wordt hier verder niet besproken.

Aan een naald met een teflonbinnenlaag is in Rotterdam nooit behoefte geweest. Met de toepassing van de huidige naalden zonder Teflon zijn de succespercentages in de zogenaamde behandelingsgroep vergelijkbaar met die van andere centra: rond 20% zwangerschappen (Alberda en Zeilmaker, persoonlijke mededeling).

De eerste succesvolle zwangerschap beschreven door Edwards en Steptoe werd verkregen vanuit een spontane cyclus (Steptoe e.a., 1980). Om het juiste moment van follikelpunctie te kunnen bepalen was patiënte indertijd enkele dagen in de kliniek opgenomen. De meeste centra pasten echter al vroeg een vorm van ovulatie-inductie toe. Dit had op de eerste plaats tot doel de opbrengst aan oöcyten per laparoscopie te verhogen. Trounson gebruikte als eerste hiervoor clomifeen (1980). Jones en Mettler kwamen in een vergelijkende studie tot de conclusie dat Humegon/Pregnyl inductie duidelijk betere resultaten gaf dan de monitoring van spontane cycli (Jones e.a., 1982; Mettler e.a., 1982). Kemeter en Feichtinger verkregen met een clomifeen-HCG schema eveneens betere resultaten dan met niet gestimuleerde cycli (1982). Daarnaast bestudeerden zij de serumprogesteronspiegels in de tweede helft van de cyclus. Bij stimulatie werden naar verwachting hogere progesteronwaarden verkregen. Van mogelijk nog groter belang was hun bevinding dat het uitvoeren van de follikelpunctie geen nadelige effecten had op de luteale fase. De progesteronwaarden waren normaal, zowel bij spontane als bij gestimuleerde cycli.

In het huidige onderzoek werd ovulatie-inductie toegepast om betere controle over de cyclus te verkrijgen. (zie hoofdstuk 2). Bij 50 mg/dag werden meer corpora rubra gezien dan bij 100 mg maar het aantal bevruchte oöcyten en het aantal patienten met tenminste 1 bevruchte eicel verschilde niet. Mogelijk werden met de 100 mg clomifeen, met dit tijdschema, meer "onrijpe" eicellen verkregen waardoor de bevruchtingspercentages toch weer gelijk werden. Quigley e.a. (1982) gebruikten 150 mg clomifeen per dag met vergelijkbare resultaten als in Rotterdam (56 versus 60%). De resultaten uit eigen onderzoek en literatuurgegevens leidden voor de diagnostische groep tot de keuze van 50 mg clomifeen per dag.

HOOFDSTUK 4

TRANSPORT VAN OÖCYTEN VAN PERIFEEER ZIEKENHUIS NAAR CENTRAAL LABORATORIUM

4.1 Vergelijking resultaten AZR-D - Zuiderzh. Rotterdam

De in-vitro-fertilisatietechniek was vanaf 1983 te Rotterdam (EUR) voldoende gestandaardiseerd om een redelijke kans (ongeveer 10%) op zwangerschap te geven voor een geselecteerde groep patiënten. Het patiëntenaanbod was groter dan de capaciteit voor follikelaspiratie op de afdeling gynaecologie van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt, terwijl voldoende laboratoriumfaciliteiten beschikbaar waren (Laboratorium voor endocrinologie, groei en voortplanting van de EUR). Toepassing van de follikelpunctie in regionale ziekenhuizen werd daarom overwogen. Het Zuiderziekenhuis te Rotterdam was via een B-opleiding geaffiliëerd met de afdeling gynaecologie van het AZD. Door deze affiliatie ontstond vanaf augustus 1983 de mogelijkheid de in het AZD verkregen ervaring over te brengen naar het Zuiderziekenhuis tijdens de opleidingsfase als gynaecoloog van de auteur. De al bestaande interesse in infertiliteitsbehandeling aldaar (dr. H.T. Lim en dr. A. Verhoeff) vormde een goed klimaat voor de in-vitro-bevruchting. Er was al een vrij omvangrijke populatie infertiliteitspatiënten ingeschreven. Onderzoek naar de mogelijkheden van transport van oöcyten voor IVF naar een centraal laboratorium werd zo bereikbaar.

4.1.1 Beschrijving populatie

Beide ziekenhuizen volgden hetzelfde protocol (zie hoofdstuk 2) bij patiënten, die tijdens het infertiliteitsonderzoek in aanmerking kwamen voor een laparoscopische inspectie en daarbij de mogelijkheid kregen tevens een follikelpunctie te laten doen. De informatie van het eerste gesprek werd schriftelijk samengevat (Bijlage 1). Het experimentele karakter in dit stadium van het onderzoek werd hierin nog eens benadrukt. Het onderzoek werd beëindigd per 1 februari 1985. Tijdens de onderzoeksperiode werd een gestandaardiseerde ovulatie-inductie en follikelpunctiemethode in beide klinieken gehandhaafd.

TABEL IV

Vergelijking samenstelling van de "nevengroep" populaties van Dijkzigt en Zuiderziekenhuis

Vermoedelijke hoofdoorzaak van onvruchtbaarheid	Aantal patiënten Dijkzigt	Aantal patiënten Zuiderzh.	Totaal
Tubair	39 (53%)	12 (37.5%)	51 (48%)
Androgeen	12 (16.5%)	6 (19%)	18 (17%)
Idiopathisch	9 (12.5%)	6 (19%)	15 (14.5%)
Endometriose	9 (12.5%)	4 (12.5%)	13 (12.5%)
Ovariëel	3 (4%)	2 (6%)	5 (5%)
Cervicaal	1 (1.5%)	2 (6%)	3 (3%)
Totaal	73	32	105

Tabel IV toont de opbouw van de patiëntengroepen uit het AZR-D en Zuiderziekenhuis over de onderzoeksperiode, onderverdeeld naar infertiliteitsoorzaak. Indien meerdere factoren een rol leken te spelen werd voor de tabel een afweging gemaakt van de meest uitgesproken factor. De patiënten bij wie geen oöcyten verkregen zijn, werden hier buiten beschouwing gelaten, aangezien bij hen geen sprake kon zijn van transport van ova. Deze patiënten staan wel vermeld bij de bespreking van de diagnostische aspecten van de in-vitro-bevruchting in hoofdstuk vijf. In totaal werd bij 105 patiënten in de onderzoeksperiode bij punctie minstens 1 oöcyt verkregen. In de groep tubaire infertiliteit zijn de verschillen tussen Dijkzigt en het Zuiderziekenhuis het grootst. Ook dit verschil is bij chi-kwadraat toetsing niet significant.

4.1.2 Methode

Het ovulatie-inductieschema was gestandaardiseerd op 50 mg clomifeen per dag gedurende 5 opeenvolgende dagen, zoals besproken in paragraaf 2.3. Een eenmalige HCG-injectie van 10.000 E werd i.m. toegediend ca 34 uur vóór laparoscopie. Bloed voor oestradiolbepalingen werd niet routinematig afgenomen bij patiënten van de diagnostische groep. Immers het moment van follikelpunctie lag voor deze patiëntengroep reeds twee weken tevoren vast. Alleen bij patiënten met een primaire cyclusstoornis kon van de clomifeendosis afgeweken worden. De dosis werd dan zoveel opgehoogd als bij voorafgaand onderzoek nodig was gebleken om een ovulatoire cyclus te verkrijgen, tot maximaal 150 mg/dag.

Voor de follikelpuncties werden uitsluitend naalden gebruikt met een binnendiameter van 1.34 mm. De vacuumdruk lag tussen 100 en 180 mmHG. Transport van de oöcyten vond plaats direct aansluitend aan de laparoscopie in een door paraffine van 37 graden Celsius verwarmde doos. Het transport van ziekenhuis naar laboratorium werd in Dijkzigt verzorgd door de arts, die de punctie had uitgevoerd. In het Zuiderziekenhuis werd de transportdoos door de echtgenoot of partner van patiënte overgebracht, direct aansluitend aan de laparoscopie.

Transplantatie van in het laboratorium ontstane embryo's vond in voorkomende gevallen altijd plaats in Dijkzigt. Een dunne flexibele catheter met zij- of eindopening werd door een stuggere buitencatheter (Medalab BV, Leiden) door het cervixkanaal ingevoerd in het corpus uteri. Op 6 cm van het eind van de catheter was een markering aangebracht ter controle. Het (De) embryo('s) werd(en) ingebracht in 50% geëquilibreerd patiënteserum, verkregen van patiënte voor de operatie. Na de introductie van het embryo in circa 50 microliter medium met behulp van een op de catheter aangesloten 1ml spuit, werd gecontroleerd of het embryo niet in de catheter was achtergebleven. Patiënte bleef nadien een half tot heel uur liggen in Trendelenburg, waarna zij naar huis ging zonder verder speciale instructies.

4.1.3 Vergelijking oöcytenopbrengst

Ondanks in principe overeenkomende methodes waren kleine verschillen tussen de ziekenhuizen bij de follikelpuncties

Zuiderziekenhuis met het voor handen zijnde materiaal worden uitgevoerd. Alleen de punktiernaalden, de flesjes en het opzetstuk voor de flesjes waren afkomstig uit Dijkzigt (zie fig 1, hoofdstuk 2.4.2). Om na te gaan in hoeverre dit een rol zou kunnen spelen bij verdere vergelijking van de resultaten tussen Dijkzigt en het Zuiderziekenhuis werden de oöcytenopbrengsten per patiënt tussen de ziekenhuizen vergeleken. Tabel V toont dat deze niet verschilden. Er behoeft derhalve in de verdere beschouwing geen rekening gehouden te worden met detailverschillen in uitvoering van de follikelpunctie in beide ziekenhuizen.

TABEL V

Vergelijking techniek Dijkzigt-Zuiderzh. : Oöcytenopbrengst.

		Aantal oöcyten/patiënt	
	Aantal patiënten	Aantal oöcyten	$\bar{X} \pm S.D.$
Dijkzigt	73	123	1.7 $\pm$ 0.9
Zuiderzh.	32	60	1.8 $\pm$ 1.1

4.1.4 Vergelijking van de bevruchtungskans

Essentiëel voor het behandelen van infertiliteit in perifere ziekenhuizen middels in-vitro-bevruchtig na transport van de oöcyten over langere afstand is dat de bevruchtungskans van de oöcyt door dat transport niet daalt. De gegevens (tabel VI) tonen dat de kans op bevruchting van de oöcyten van vrouwen behandeld in het Zuiderziekenhuis gelijk was aan die vanuit het AZR-D. De maximale transporttijd vanuit het Zuiderziekenhuis was 45 minuten, vanuit Dijkzigt circa 15 minuten. Aangezien geen nadelige invloed kon worden aangetoond werd afgezien van een meer gedetailleerde analyse van fysische en chemische veranderingen die tijdens het transport zouden kunnen optreden.

TABEL VI

Invloed van het transport van oöcyten van het Zuiderziekenhuis naar de Erasmusuniversiteit: bevruchtungskans in de diagnostische groep.

	a)		a)	
	Patiënten met		Bevruchte eicellen	
	bevruchte eicellen/totaal (%)		/totaal (%)	
Dijkzigt	43/73	(59%)	56/123	(46%)
Zuiderziekenhuis (inclusief transport)	20/32	(62%)	27/60	(45%)

a) = Twee pronuclei na 24 uur of delingsstadia na 48 uur.

4.2 Mogelijkheden voor behandeling van infertiliteit via de in-vitro-bevruchting methode in perifere ziekenhuizen rond een centraal laboratorium

Uit het voorbereidend onderzoek bij de diagnostische laparoscopieën is in de eerste plaats gebleken dat de follikelpunctie met bijbehorende voorbereiding goed uit te voeren is in een middelgroot zogenaamd "perifeer" ziekenhuis. Ten tweede bleek dat het transport van de oöcyten tussen het perifere ziekenhuis en centraal laboratorium geen nadelige invloed had op de bevruchtungskansen van de oöcyten. Hiermee waren de condities aanwezig voor de laatste fase van het onderzoek naar de mogelijkheden de in-vitro-bevruchtigsmethode ook werkelijk als behandeling in perifere klinieken toe te passen. Niet de bevruchting in vitro zelf maar een zwangerschap bij de patiënte is het uiteindelijke doel van de IVF.

4.2.1 Overzicht embryo-ontwikkeling en zwangerschappen in de diagnostische groep

In de zogenaamde "nevengroep" was de in-vitro-bevruchting geheel ondergeschikt aan de overige diagnostische aspecten van de laparoscopie. Dit uitte zich al in de toepassing van een

gestandaardiseerd en zo laag mogelijk gedoseerd ovulatie-inductieschema bij deze patienten. Daarnaast vond echter bij iedere laparoscopie ook chromopertubage plaats ter beoordeling van de doorgankelijkheid van de eileiders. Dit betekende ten eerste manipuleren aan de cervix met sondering van de uterus. Ten tweede werd een indigo-karmijnoplossing in het corpus uteri gespoten, langs het endometrium waarin zich enkele dagen later eventueel een teruggeplaatst embryo (4-8 cellig) zou moeten nestelen. In de beginfase van de IVF in Rotterdam was nimmer een zwangerschap opgetreden bij embryo terugplaatsing kort na een chromopertubage (Alberda, persoonlijke mededeling). Gezien de ontwikkelingsfase van de in-vitro-bevruchting methode op dat moment kon dit ook aan vele andere omstandigheden liggen dan aan de chromopertubage zelf. Een verband hiermee was echter niet onaannemelijk. Het enige alternatief voor de patienten in de diagnostische groep was tijdelijke opslag van eventuele ontstane embryo's in diep gevroren toestand met terugplaatsing in een volgende cyclus. Deze methode stond eveneens in de kinderschoenen. Ook de patienten uit de diagnostische groep wilden in principe zwanger worden. Om na te kunnen gaan welke methode -direkte terugplaatsing of tijdelijke opslag- bij deze patienten, die zich vrijwillig beschikbaar stelden voor verdere ontwikkeling van de IVF, het meeste succes zou bieden werden de beide mogelijkheden willekeurig verdeeld. Het te volgen beleid werd gekoppeld aan de dag van laparoscopie, die door toeval bepaald werd (hoofdstuk twee).

De resultaten staan weergegeven in tabel VII en figuur 2. In totaal gaven 122 patienten over genoemde periode in beide ziekenhuizen tezamen, toestemming voor follikelpunctie tijdens de diagnostische laparoscopie. Zeventien maal kon geen oöcyt verkregen worden, waarvan 8x door onbereikbaarheid van de ovaria, 6x door ovulatie kort voor de laparoscopie zonder verdere follikels, 1x door falen van de techniek (verstopte naald) en ondanks wel aanwezige follikels 2x. Vooral in de beginfase kwam meermalen voor dat na bevruchting (2 pronuclei) er geen normale doorgroei optrad tot 4-8 cellig embryo (63 versus 52). Het uiteindelijke aantal doorgaande zwangerschappen na embryo transfer was slechts twee. Bij geen van de patienten bij wie een terugplaatsing had plaatsgevonden in dezelfde cyclus trad zwangerschap op. In de groep met tijdelijke opslag van de embryo's bestond een groot verlies aan embryo's na ontdooien. Uit elf terugplaatsingen van ontdooide embryo's ontstonden echter twee zwangerschappen in de diagnostische groep.

Tabel VII

De totale patiëntenpopulatie met ovulatie-inductie "op de kalender" en follikelaspiratie met de 1.34mm naald en 100-180mmHg vacuumdruk

	Patiënten		Oöcyten
Totaal	122	(100%)	
Succesvolle punctie	105	(86%)	183
Bevruchting in vitro	63	(52%)	83
Embryo	52	(43%)	67
ingevroren:	:34		:44
direkte E.T.:	:18		:23
E.T.	29	a) (24%)	39 a)
na invries:	:11		:16
direkte E.T.:	:18		:23
Graviditeit	2	(1,6%)	2
na invries:	:2		:2
na direkte E.T.:	:0 b)		:0 b)

a) Zes embryo's van 5 patienten na invriezen nog niet ontdood.

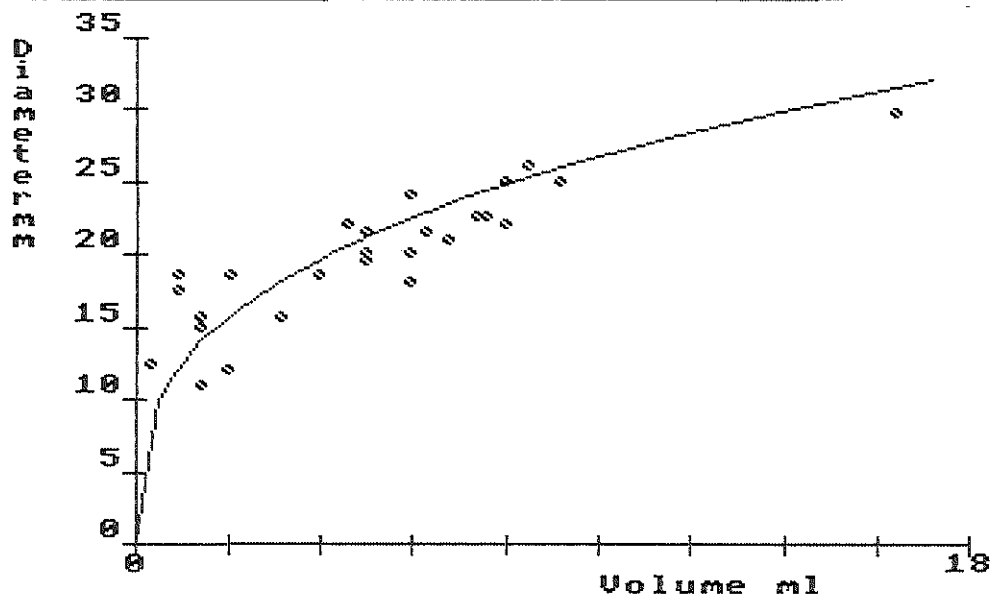
b) Eenmaal luteale fase van 28 dagen, geen zwangerschapstest.

4.2.2 Evaluatie echoscopische follikelmeting Zuiderziekenhuis

Indien in-vitro-bevruchting wordt toegepast voor behandeling van infertiliteit moet zowel de kans op onvoldoende follikelontwikkeling als op spontane ovulatie voor de laparoscopie tot een minimum worden teruggebracht. Het standaard ovulatie-inductieschema voldoet dan niet meer (6/122x had ovulatie reeds plaatsgevonden voor de laparoscopie) en het moment van laparoscopie dient individueel te worden bepaald. Echoscopie vormt een hoeksteen voor het bepalen van het juiste moment van de HCG-injectie en daarmee het moment van de laparoscopie. Voor inzicht in en verdere ontwikkeling van de

echoscopische follikelmetingen in het Zuiderziekenhuis werd in de periode okt.'83 tot mei '84 ca 16 uur voor laparoscopie een echoscopisch onderzoek van de ovaria verricht. In totaal kwamen in deze periode 21 patiënten voor laparoscopie. Tweemaal was echoscopie tevoren niet mogelijk (weekend). Eénmaal waren de follikelvolumina na punctie niet gemeten. De echoscopie werd uitgevoerd met een Sector scan (Kretz) en ultrageluidsnelheid van 5 MHz. Uit de grootste longitudinale en grootste transversale diameter van de follikels werd een gemiddelde diameter bepaald. Meting in drie richtingen nam veel tijd in beslag en gaf bij herhaling binnen enkele minuten ter controle op nauwkeurigheid steeds wisselende waarden. Oorzaak hiervan was een snelle voortgaande afplatting van de follikels door toenemende blaasvulling tijdens de metingen.

Figuur 2. Correlatie echoscopische follikelmeting en follikelvolumen bij follikelpunctie 15 uur later, diagnostische groep Zuiderziekenhuis.



Figuur 2 toont de correlatie tussen de verwachte en bij laparoscopie gevonden follikelvolumina. De doorgetrokken lijn vertegenwoordigt de berekende correlatie tussen echoscopische diameter en werkelijk follikel volume. Alle follikels groter dan 2.5 ml (vanaf ca 17 mm diameter) werden gezien. Het moment van HCG-injectie bij ovulatie-inductie voor in-vitro-bevruchting ligt vanaf het moment dat een of meer follikels een diameter van

17mm of meer bereikt heeft. In de regel is de spontane LH-piek dan nog niet begonnen (Robertson e.a., 1979; Lachlan e.a., 1981). Dit wordt bovendien via LH bepaling in de urine voorafgaand aan de HCG-injectie geverifieerd.

4.2.3 Vergelijking ovulatie-inductieschema behandelingsgroep en diagnostische groep

Evenals in de diagnostische groep vond bij de behandelingsgroep alleen een poging tot in-vitro-bevruchting plaats indien om andere redenen een laparoscopie was geïndiceerd. De behandelingsgroep bestond echter uit geselecteerde patiënten, die over het algemeen al vele jaren infertiliteitsonderzoek en behandeling achter de rug hadden. De behandelingsmethoden tot dusverre toegepast hadden geen succes gehad. Meest voorkomende indicatie was afsluitende laparoscopie in verband met uitblijven van zwangerschap 2 of meer jaren na tubachirurgie. Daarnaast konden ook patiënten in behandeling genomen worden die zich meldden of verwezen werden voor een "second opinion" na langdurige infertiliteitsbehandeling op andere gronden dan niet succesvolle tubachirurgie. Voor deze groep patiënten betekende de in-vitro-bevruchting methode ook werkelijk een nieuwe kans op een zwangerschap, groter dan de te verwachten kans op alsnog spontaan optreden van een zwangerschap. In 1980 meldde Trounson voor het eerst dat bij een aantal patiënten meer dan 1 embryo werd teruggeplaatst (Trounson e.a., 1980). Algemeen is inmiddels erkend dat de kans op zwangerschap voor de patiënt stijgt naarmate meer embryo's worden getransplanteerd (Jones e.a., 1982; Wood en Trounson, 1984). De bovengrens wordt bepaald door het risico op een overstimulatiesyndroom en op meerlingzwangerschappen.

Derhalve werd voor de "behandelings"groep een ovulatie-inductieschema gekozen, gericht op gecontroleerde overstimulatie. Het clomifeen-humegon schema dat door Alberda en medewerkers al voor dit doel met succes was toegepast in het Academisch Ziekenhuis werd overgenomen. De clomifeen werd in dezelfde dosering van 50 mg/dag gedurende 5 dagen al gestart op de 2-3e cyclusedag. Direct aansluitend werd de stimulatie voortgezet met humegon-injecties van 150 E/dag. Op geleide van de echoscopische follikelgroei werd de duur van de humegon-behandeling bepaald. Zodra een of meerdere follikels de diameter van 18 mm overschreden had, werd de HCG-injectie toegediend om 22.00 u. dezelfde avond. Indien op grond van LH-bepalingen in

de urine de spontane LH-piek reeds was begonnen werden opname en laparoscopie geannuleerd. Patiënten waren tevoren over deze situatie ingelicht. Als laatste controle vond in de behandelingsgroep maximaal een uur voor de laparoscopie een echoscopisch onderzoek plaats, ter uitsluiting van te vroege ovulatie.

De verschillen in ovulatie-inductie tussen behandelingsgroep en diagnostische groep staan samengevat in tabel VIIIA. In totaal werden tijdens de onderzoeksperiode 13 patiënten geselecteerd voor de behandelingsgroep. Tijdelijk werd van patiënten uit beide groepen bloed afgenomen voor oestradiolbepaling in het serum op de dag van de HCG-injectie (Laboratorium voor Endocrinologie, Bergwegziekenhuis, dr. W. Schopman en dr. W.H.L. Hackeng). Vanwege de kosten werden geen seriebepalingen uitgevoerd. Het moment van HCG-injectie en laparoscopie werd nooit bepaald op geleide van de oestradiolbepalingen maar was geheel afhankelijk van het echoscopische beeld. Bij HCG-injectie in het weekend werd dan ook afgezien van oestradiolbepaling, waarvan de uitslag pas na punctie binnen zou komen. In totaal werden bij 8 van de 13 patiënten aanvullende hormoonbepalingen ingezet. Onder dezelfde condities werden tienmaal bij de diagnostiegroep dezelfde bepalingen ingezet. De oestradiolwaarden voor de HCG-injectie waren in de behandelingsgroep significant hoger dan in de diagnostische groep (Wilcoxontest, $p < 0.05$). Vergelijkbaar met de verdubbeling van het oestradiolgehalte was de eicelopbrengst in de behandelingsgroep ruim tweemaal zo hoog als in de diagnostische groep (tabel VIIIB). De progesterongehalten in het serum op de vijfde dag na punctie toonden een verschuiving maar het verschil was niet significant. Het aantal bloedmonsters voor progesteronbepaling was erg klein. Aan patiënte werd niet gevraagd alleen voor een progesteronbepaling in het weekend terug te komen. Door de organisatie van de follikelpuncties viel de vijfde dag na laparoscopie vaak in het weekend.

4.2.4 Eerste resultaten IVF in toeleverings "ziekenhuizen"

Tabel VIIIB toont een vergelijking van de klinische resultaten van de behandelings- en diagnostische groep. Bij geen van de laparoscopieën met een individueel aangepast ovulatie-inductieschema was tevoren ovulatie opgetreden. Wel was tweemaal op verdenking van ovulatie bij echoscopie een uur tevoren, de laparoscopie geannuleerd en werd later een nieuwe cyclus

TABEL VIII

Vergelijking Behandelings- en Diagnostiegroep Zuiderziekenhuis.
mei-augustus 1984.

A. Ovulatie inductie schema

	Behandelingsgroep	Diagnostiegroep
Ovulatie inductie	Clomifeen 5x50mg a) HMG 150E/d 3-5dagen HCG 10.000E	Clomifeen 5x50mg HCG 10.000E 4e dag na laatste clomid
Oestradiol in serum op moment van HCG.	$\bar{x} = 3.1 \text{ nmol/l}$ (1.9-5.5 nmol/l) (n=8)	$\bar{x} = 1.6 \text{ nmol/l}$ (0.43-3.1 nmol/l) (n=10)
Progesteron 5e d na laparoscopie	$\bar{x} = 128.8 \text{ nmol/l}$ (31-386 nmol/l) (n=8)	$\bar{x} = 82.9 \text{ nmol/l}$ (17-198 nmol/l) (n=10)

a) = Op geleide van echoscopie: Tot 1 of meer follikels 18 mm.

Voor HMG variërend van 3-7 dagen te beginnen aansluitend aan de clomid.

B. Klinische Resultaten

	behandelingsgroep	diagnostiegroep
Aantal patiënten	13	38
Aantal oöcyten	47	63
	a)	
Aantal embryo's	20	26
Pat. met minstens 1 oöcyt	13 (100%)	26 (84%)
	a)	b)
Pat. met minstens 1 embryo	11 (85%)	18 (47%)
	c)	
Graviditeiten chemisch	1	-
klin. abortus	1	-
doorgaande		
zwangerschap	1	-

a) = Eenmaal wel bevruchting maar polyspermie na lang interval tussen spermaproductie en laparoscopie (56 uur): geen normale embryo-ontwikkeling en transplantatie.

b) = Bij 9 patiënten terugplaatsing in dezelfde cyclus; 9x embryo('s) ingevroren: 4x reïmpantatie in latere cyclus, 5x desintegratie van embryo('s) na ontdooien.

c) = 12 dagen overtijd en verhoogd serum HCG gehalte.

gestart. Beide patiënten hadden een dubieuze verhoging van LH in de urine op moment van HCG injectie (50E/L, HI-Gonavis). Bij een derde patiënte met deze LH-titer in de urine waren nog geen tekenen van ovulatie en vond laparoscopie wel doorgang. Deze patiënten waren allen tevoren op de hoogte van de kans op annuleren van de laparoscopie op het laatste moment. Bij een LH-titer in urine van 25E/L had nooit een vroege ovulatie plaatsgevonden. Tweemaal was de titer 100E of meer per liter. Bij beide patiënten was de grootste follikel 20-21mm 'smorgens. Vanwege de operatietijdindeling konden de laparoscopieën alleen 'smorgens vroeg uitgevoerd worden. De HCG-injectie kon derhalve ook bij deze twee patiënten niet eerder dan 22.00 u 's-avonds gegeven worden. De ovulatie werd echoscopisch bevestigd en de laparoscopie werd bijtijds geannuleerd. Het aantal embryo's per verkregen oöcyt was in de behandelingsgroep niet hoger maar het aantal patiënten met minstens één embryo was wel significant hoger dan in de diagnostische groep ($p < 0.05$). Eénmaal trad geen normale embryo-ontwikkeling ten gevolge van polyspermie. De echtgenoot van deze patiënte kon pas na circa 50 uur een zaadmonster inleveren. Bij de tweede patiënte uit de behandelingsgroep bij wie de eicellen niet bevrucht werden, was sprake van langdurige onbegrepen infertiliteit (7 jaar). In totaal waren bij deze patiënte 3 naar microscopische beoordeling goed lijkende oöcyten verkregen. Het echtpaar zag van verdere diagnostiek met behulp van een hamstereicelpenetratietest af. Bij de resterende 11 patiënten werden 20 embryo transfers uitgevoerd. Deze vonden plaats in het Academisch ziekenhuis Dijkzigt om transport van de embryo's zo kort mogelijk te houden. In totaal ontstonden drie aantoonbare zwangerschappen, waarvan een zich volledig normaal ontwikkelde. Inmiddels is hieruit bij 38 weken een gezonde zoon geboren.

4.3 Bespreking

De resultaten van de diagnostische groep infertiliteitspatiënten van Dijkzigt en van het Zuiderziekenhuis tonen dat de follikelstimulatie en de follikelpunctie kunnen worden uitgevoerd in een "perifeer" ziekenhuis zonder verlies van opbrengst of bevruchtungskans van de verkregen oöcyten door transport van de eicellen naar een centraal laboratorium. Vergelijkbare ervaringen werden ook opgedaan in Parijs (Plachot, Mandelbaum e.a., 1984). Met een schema gebruik makend van clomifteen-Humegon/HCG werd daar een bevruchtingspercentage per oöcyt van

circa 75% gehaald met embryo transfer rond 60%, ongeacht transport. De Rotterdamse percentages zijn wat lager met 42% transfer van de oöcyten (20/47, tabel VIIIB) bij de toepassing van een clomifeen-Humegon/HCG schema als bij de Parijse ziekenhuizen. Een directe verklaring voor deze verschillen is niet te geven. In beide gevallen werden de gepunkteerde follikels door de echtgenoot/partner in een eenvoudig systeem vervoerd, gericht vooral op het beperken van temperatuursverlies tijdens transport. De oöcyten werden in Rotterdam vervoerd in de eigen follikelvloeistof zonder toevoegingen. In de Parijse ziekenhuizen werd voor transport medium toegevoegd. De exacte mate van temperatuurverlies en mogelijke veranderingen in pH van de follikelvloeistof werden echter niet geverifieerd in Rotterdam. Ph-veranderingen in de follikel vloeistof waren enkele malen gecontroleerd bij transport van Dijkzigt naar het laboratorium. Over deze korte afstand werden geen groter pH verschillen waargenomen dan 0.03 (niet gepubliceerde gegevens van bepalingen bij 3 afzonderlijke patiënten). De transportmethode in Rotterdam is inmiddels gewijzigd om met name het temperatuursverval te beperken (De potjes met follikelvloeistof worden direkt tegen het lichaam gedragen). Anderszins omvatte het Rotterdamse materiaal op de dertien patiënten 4 patiënten met andere infertiliteitsoorzaken dan eileiderafwijkingen. Op grond van al vele jaren bestaande infertiliteit e.c.i. (2x) of androgene factor (2x) waren deze patiënten toch opgenomen in de behandelingsgroep om deze voorlopig laatste kans van de patiënten zo optimaal mogelijk te benutten. Desalniettemin werd embryotransfer uitgevoerd bij 85%.

Na beëindiging van de onderzoeksperiode per 1 maart '85 werd de behandelingsgroep van het Zuiderziekenhuis te Rotterdam nog verder uitgebreid. Inmiddels werd deze methode met eiceltransport na punctie ook met succes toegepast in het Diaconessenhuis te Voorburg (dr. C.A.M. Jansen) en in de beginfase van het IVF-project van het Academisch ziekenhuis Leiden (Dr. T.C.M. Trimbos en E. Mendels). In Leiden ontstonden op deze wijze de eerste twee zwangerschappen na IVF van deze kliniek. De resultaten van het Zuiderziekenhuis en het Diaconessenhuis tot en met 31 augustus 1985 werden reeds besproken in het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde (v.Beek e.a., 1986).

TABEL IX

IVF-resultaten met de transportmethode: behandelingsgroep t/m
31 augustus 1985.

	Zuiderziekenhuis Rotterdam, Lap.scopie a) Tubaire inf. Totale groep		Diaconessenhuis Voorburg, Echopunctie (Tubaire inf.alleen)	Totaal
Patiënten	10	17	4	21
Behandelde cycli	11	18	6	24
Oöcyten	53 (4.8)	71 (3.9)	16 (2.7)	87 (3.6)
Bevruchting	28 (2.5)	34 (1.9)	9 (1.5)	43 (1.8)
Patiënten met reïmplantatie	8 (80%)	12 (71%)	4 (100%)	16 (76%)
Totaal embryo reïmplantaties	25 (2.3)	30 (1.7)	9 (1.5)	39 (1.6)
Gravida	2	4	1	5 (24%)
Abortus	1	2	-	2
Doorgaande zwangerschap	1	2	1	3 (14%)

a) = Bij idiopathische infertiliteit en androgene factor werd eerst een hamster-eicel-penetratie-test verricht.

Tussen haakjes: aantal per behandelingscyclus resp. percentage per patiënt.

Voetnoot: Inmiddels zijn tot 15 mei 1986 eenendertig zwangerschappen ontstaan na transport van onbevruchte eicellen uit 120 behandelingen (26%). Vijfentwintig zwangerschappen ontwikkelden zich tot heden voorspoedig (21%). Zie ook tabel XXI, hoofdstuk 6,3.

Tabel IX toont de resultaten in uitgewerkte vorm. Een van de doorgaande zwangerschappen van het Zuiderziekenhuis was ontstaan bij de nog beperkte groep patiënten met langdurige infertiliteit zonder eileiderbeschadiging (totaal 7 patiënten). Tot en met 31 december 1985 zijn uit beide ziekenhuizen tezamen 11 zwangerschappen ontstaan uit 55 behandelingscycli van 44 patiënten (20 respectievelijk 25%). Van de zes zwangerschappen van het Diaconessenhuis Voorburg eindigde een in een spontane

abortus in het eerste trimester. In het Zuiderziekenhuis gebeurde dit bij twee van de vijf zwangerschappen. De kans op een doorgaande zwangerschap na eiceltransport uit deze ziekenhuizen over 1985 bedroeg daarmee 14% per behandelingscyclus en 18% per patiënt. Tezamen met de twee zwangerschappen uit Leiden zijn derhalve tot en met eind 1985 tien doorgaande zwangerschappen (voorbij het eerste trimester) ontstaan na transport van eicellen over langere afstand.

De getallen stemmen redelijk overeen met de resultaten van de behandelings groep van Dijkzigt over 1985: 26 zwangerschappen (inclusief abortus) op 166 follikelpukties (Zeilmaker, Alberda, persoonlijke mededeling). Internationaal zijn deze percentages goed vergelijkbaar met zowel de gegevens van Quigley e.a. uit 1984 (2/17 patiënten met clomid-humegon/HCG schema met doorgaande zwangerschap) als met die van Yuen et al. gebruik makend van een schema voor gecontroleerde overstimulatie met alleen humegon/HCG (2/18=11%) (Yuen e.a., 1985). Bij Quigley en Yuen was echter geen sprake van een verlengde transporttijd. Ook in de grote centra als Norfolk (19% zwangerschap incl. abortus per cyclus) en Melbourne (17.8% zwangerschap incl. abortus) lagen de percentages tot voor kort niet veel hoger (Jones e.a., 1984; Wood en Trounson, 1984).

HOOFDSTUK 5

DIAGNOSTISCHE BETEKENIS VAN IVF

5.1. Inleiding

Door het ontbreken van selectiecriteria bevatte de diagnostische groep alle mogelijke oorzaken van infertiliteit inclusief zogenaamde idiopathische infertiliteit. Alleen azoöspermie kon vooraf worden uitgesloten. Aangezien laparoscopie meestal een vrij late stap is in het infertiliteitsonderzoek vond wel een zekere uitschifting plaats naar langer durende infertiliteit. Patiënten met ovulatiestoornissen zijn relatief ondervertegenwoordigd, daar deze over het algemeen goed te behandelen zijn en de fase van laparoscopie niet bereiken. Door deze selectie worden patiënten met moeilijk behandelbare oorzaken geconcentreerd. Juist voor hen is het van belang te weten of hun infertiliteit ook met de in-vitro-bevruchting methode te behandelen zal zijn.

5.1.1 Patiëntenpopulatie

In dit hoofdstuk worden de IVF resultaten besproken van de gehele diagnostische patiëntengroep uit het Dijkzigt ziekenhuis en Zuiderziekenhuis te Rotterdam over de periode oktober '82 - februari '84. Zoals aangetoond in hoofdstuk 3 en 4 kunnen de patiënten uit beide ziekenhuizen als een grote groep beschouwd worden. De populatie werd reeds beschreven in hoofdstuk 4.1.1 en betrof 105 patiënten. Bij allen vond ovulatie-inductie "op de kalender" plaats met clomifeen 50 mg/dag gedurende 5 dagen. De verschillende infertiliteitsoorzaken werden in hoofdstuk 2 reeds gedefinieerd.

5.2 Correlatie infertiliteitsoorzaak met bevruchtungskans van de oocyten

Tabel X toont in de eerste plaats dat de bevruchtungskans bij onbegrepen infertiliteit in deze patiëntengroep even groot is als de gemiddelde kans op bevruchting bij een wel aantoonbare infertiliteitsoorzaak. Zodra er echter sprake is van meer dan 1 fertiliteitsremmende factor neemt de bevruchtungskans aanzienlijk af.

In tabel XI worden de infertiliteitsoorzaken nader beschouwd. De "van ouds" bestaande eerste indicatie voor in-vitro-bevruchting, zuivere tubaire infertiliteit toont het hoogste percentage bevruchtingen per patiënt. Ook bij andere infertiliteitsoorzaken worden echter hoge bevruchtingspercentages gevonden. De verschillen in bevruchtungskans bij de "zuivere" infertiliteitsoorzaken zijn niet significant (2x2 tabel). Mogelijk hangt dit samen met de nog kleine aantallen. Immers worden alle patiënten bij wie een androgene factor meespeelde beschouwd dan is de bevruchtungskans wel significant lager dan in de totale groep bij wie een tubaire oorzaak aanwezig was.

TABEL X

Bevruchtungskans van de oöcyten bij onbegrepen infertiliteit, bij het voorkomen van 1 infertiliteitsfactor in zuivere vorm en bij combinaties van factoren.

	Aantal pat.	Pat. met bevruchte oöcyt(en)
		a)
Idiopathisch	15	10 (67%)
Totaal patiënten met 1 mannelijke of vrouwelijke factor	65	45 (69%)
		b)
Meerdere oorzaken tegelijktijd	25	8 (32%)

a) = Niet significant ten opzichte van patiënten bij wie 1 oorzaak voor de infertiliteit gevonden was (2x2 tabel).

b) = Significant verschillend ten opzichte van patiënten bij wie 1 oorzaak voor de infertiliteit aantoonbaar was: $P=0.002$ (2x2 tabel). $P=0.08$ ten opzichte van idiopathische infertiliteit.

TAB XI.

Bevruchtungskans per infertiliteitsoorzaak in de diagnostische laparoscopiegroep (105 patiënten).

Oorzaak	Aantal patiënten met minstens 1 bevruchte oöcyt	
	a) "Zuiver"	b) "Totaal"
Tubair	31/39 (79%)	35/55 (64%)
Idiopathisch	10/15 (67%) ^{c)}	—
Endometriose	5/7 (71%)	9/17 (53%) ^{c)}
Ovariëel	2/4	3/7
Cervicaal	1/3	1/5
Semenafwijkingen ^{e)}	6/12 (50%) ^{c)}	11/31 (35%) ^{d)}

a) = Uitsluitend genoemde vruchtbaarheidsremmende factor was aanwezig. Geen andere oorzaken.

b) = Alle patiënten waarbij genoemde vruchtbaarheidsremmende factor aanwezig was, al dan niet in combinatie met andere factoren.

c) = Niet significant ten opzichte van tubaire infertiliteit (2x2 tabel).

d) = Significant verschillend ten opzichte van de tubaire infertiliteitsgroep in dezelfde kolom.

e) = <20 miljoen per ml. en/of <30% normaal gevormde en/of <30% bewegende spermatozoa.

In tabel XII wordt de invloed van de tubaire en androgene factor nader beschouwd. Patiënten met uitsluitend een tubaire factor werden als referentie genomen (79% bevruchting). Zoals ook in tabel XI is getoond, ligt het percentage bevruchtingen wat lager als ook de patiënten bij wie tevens andere factoren meespelen worden meegerekend (64%). Het verschil is op deze aantallen echter niet significant. Indien alle patiënten tezamen worden genomen bij wie in elk geval geen tubapathologie aantoonbaar was, bleek het percentage wel significant lager (54%). In sterkere mate gold dit voor alle patiënten tezamen bij wie tevens een androgene factor aanwezig was (35% en 45%).

TAB XII.

Vergelijking van de invloed van androgene en tubaire factoren op de bevruchtungskans.

Oorzaak	Aantal patiënten met minstens 1 bevruchte eicel	Significantie vlgs 2x2 tabel
Alleen tubafactor	31/39 (79%)	
Totaal patiënten met een tubafactor	35/55 (64%)	NS
Totaal patiënten zonder een tubafactor	27/50 (54%)	$P < 0.02$
Totaal patiënten met een androgene factor	11/31 (35%)	$P < 0.001$
Totaal patiënten zonder androgene factor	51/74 (69%)	NS
Totaal patiënten met tubafactor zonder androgene factor	33/44 (75%)	NS
Totaal patiënten zonder een tubafactor zonder androgene factor	18/30 (60%)	NS
Totaal patiënten zonder een tubafactor met androgene factor	9/20 (45%)	$P < 0.01$
Totaal met een tuba- en een androgene factor	2/11 (18%)	a) $P = 0.001$

a) = met Yates correctie

De patiëntengroep die zich kenmerkte door het ontbreken van een androgene factor scoorde even goed als de totale groep met een tubafactor (69% tegenover 64%). Indien uit de totale groep met tubapathologie de patiënten met ook een androgene factor verwijderd werden, bleek het bevruchtingspercentage van deze groep weer geheel te stijgen tot het niveau van de patiënten met alleen tubaire infertiliteit (van 64 naar 75%). Aangezien de verschillen tussen deze groepen niet significant zijn kunnen hieruit nog geen conclusies getrokken worden. Anders ligt dit bij de patiënten zonder een tubafactor. Wanneer deze groep van 50 patiënten wordt opgesplitst in een groep zonder en met een vermoede androgene factor blijkt alleen de groep met een androgene factor weer significant te verschillen van de patiënten met zuivere tubaire infertiliteit (45 tegen 79%).

Afzonderlijke beschouwing van endometriose, ovariële- en cervicale factor is bij deze aantallen patiënten nog niet mogelijk (tabel XI). Vooralsnog lijkt het uitsluitend voorkomen van endometriose geen invloed te hebben op de bevruchtungskans van de eicellen. De patiënten met een cervicale factor uit deze serie hadden allen geen of nauwelijks cervixslijm (hardnekkige cervicitis of status na herhaalde conisatie). Sperma-antilichamen in het serum waren bij geen van deze patiënten aanwezig. De eventuele invloed van immunologische factoren op de bevruchtungskans kon in dit onderzoek niet worden beoordeeld.

Toch lijkt het meespelen van een androgene factor bij combinaties van infertiliteitsoorzaken niet de enige reden dat de bevruchtungskans bij deze groep zoveel lager is (zie tabel X). Uit tabel XIII blijkt namelijk dat ook indien geen androgene factor aanwezig was bij combinaties van infertiliteitsoorzaken slechts bij twee van de zes patiënten bevruchtelingen optraden. Hoewel de bevruchtungskans per oöcyt wel wat hoger lag indien geen androgene factor aanwezig was, waren er geen significante verschillen tussen de groepen. Combinaties van infertiliteitsoorzaken zonder androgene factor kwamen echter weinig voor. De conventionele semenkenmerken correleren ook onvolledig met fertiliteit (Aitken, 1983). Mogelijk bevinden zich onder de mannen met als normaal beoordeelde semenanalyses toch mannen met een gestoorde fertiliteit.

Tabel XIII

Bevruchtungskans bij combinaties van infertiliteitsoorzaken met en zonder androgene factor.

	Bevruchtungskans	
	Per patiënt	Per oöcyt
Met androgene factor	6/19 (32%)	7/35 (20%)
factor		
Zonder androgene	2/6 (33%)	4/13 (30%)
factor		

Concluderend is mannelijke (in)fertiliteit de belangrijkste factor voor het slagen van bevruchting in-vitro. De kans op mannelijke infertiliteit is het hoogst bij het ontbreken van afwijkingen aan de eileiders door ontsteking of endometriose.

5.3 Nadere analyse van de androgene factor

Volgens de literatuur speelt een androgene factor bij circa 40% van de echtparen met vruchtbaarheidsstoornissen een rol (Speroff, 1983). Theoretisch biedt in-vitro-bevruchting goede perspectieven bij anderszins moeilijk te behandelen mannelijke infertiliteit. Immers voor een in-vitro-bevruchting worden slechts circa 100- tot 500.000 spermatozoa geïncubeerd per verkregen eikel. Een slechte beweeglijkheid van de zaadcellen zou van geringer belang kunnen zijn indien zaad en eicellen direkt bijeen worden gebracht. Uit bovenstaande is echter gebleken dat de androgene factor toch een significant negatieve invloed heeft op de bevruchtungskans in vitro. Dit is reden de verschillende semenfactoren aan een nadere analyse te onderwerpen.

5.3.1 *Patiëntenpopulatie*

Wegens variaties in semenbeoordelingen tussen laboratoria werden alleen semenanalyses van de laboratoria van het

Dijkzigtziekenhuis en het Zuiderziekenhuis voor verdere bewerking gebruikt (zie hoofdstuk 2.5, "mannelijke factor"). Daarnaast werden uitsluitend semenanalyses van minder dan twee jaar voor laparoscopiedatum in het onderzoek betrokken. Tabel XIV toont dat bij 72 van de 105 patiënten bij wier partner 1 of meer oöcyten verkregen waren aan deze condities werd voldaan. Indien meerdere semenanalyses van dezelfde patiënt voldeden aan genoemde beoordelingscriteria werd het gemiddelde van de semenanalyses aangehouden voor verdere bewerking. Dit was het geval bij het merendeel van de patiënten met een androgene factor (23/31). Bij 8/31 semenanalyses met 1 of meer afwijkende waarden was slechts één recente semenanalyse uit de eigen laboratoria bekend. Zesmaal was bij deze patiënten alleen sprake van een teratospermie (meer dan 60%), 1x van uitsluitend een lage beweeglijkheid (25%) en 1x van een laag aantal zaadcellen (8 miljoen/ml) bij goede beweeglijkheid en meer dan de helft normale vormen. Indien het semen geen afwijkingen toonde was over het algemeen slechts één semenanalyse bekend.

De vier patiënten bij wie al langere tijd KID werd toegepast buiten beschouwing gelaten, waren er 29 patiënten van wie geen recente en/of in eigen ziekenhuis herhaalde semenanalyse aanwezig was. Zesmaal betrof dit patiënten die een relaparoscopie ondergingen wegens uitblijven van zwangerschap twee of meer jaar na tubachirurgie. De semenanalyses waren niet herhaald. Driemaal was er sprake van een verzoek tot "second opinion" wegens onbegrepen infertiliteit. Tweemaal was blijkens gegevens van elders het semen wel als "normaal" te beschouwen. Eénmaal werd dit echter blijkbaar zonder meer aangenomen op grond van de verwijzing van een collega-gynaecoloog, die de diagnose onbegrepen infertiliteit had gesteld zonder ook de semengegevens in concreto door te geven. Bij de in-vitro-bevruchting werden 20 miljoen bewegende spermatozoa/ml geteld. Driemaal bestond er een vermoede androgene infertiliteit op grond van de wel genoteerde aantallen spermatozoa (1,8-3 respectievelijk 6- en 10 miljoen spermatozoa/ml). De semengegevens tijdens de in-vitro-bevruchting gevonden stemden hiermee overeen. Van de zeventien resterende patiënten waren uitsluitend eileiderafwijkingen bekend. Tienmaal waren wel volledige semenanalyses van andere laboratoria of oudere van eigen laboratoria aanwezig. Zevenmaal ontbrak echter iedere vermelding van een semenanalyse, zodat hier uitsluitend afgegaan kon worden op de semenkenmerken tijdens de in-vitro-bevruchting.

TABEL XIV.

Overzicht van de preoperatief bekende semengegevens in de diagnostische patiëntengroep.

Totaal patiënten		105
KID patiënten	4	
Alleen semenanalyse van elders of meer dan 2 jaar oude semenanalyses :	13	
status na tubaplastiek	6x	
idiopathisch	2x	
tubapathologie	5x	
Incomplete semenanalysegegevens van elders, niet herhaald :	3	
androgeen	2x	
androgeen + tubapathologie	1x	
tubapathologie	5x	
Geen exacte semenanalysegegevens voor de laparoscopie bekend :	8	
idiopathisch	1x	
a)		
tubapathologie	7x	_____+
Totaal		33

Totaal patiënten met maximaal 2 jaar oude semenanalyses bepaald in Dijkzigt of Zuiderziekenhuis :		72

a) = Op grond van de gegevens bij de in-vitro-bevruchting werd bij 1 patiënt alsnog een androgene factor als medeoorzaak voor de infertiliteit genoteerd.

Op grond van deze gegevens bleek éénmaal sprake van een onvermoede androgene factor (minder dan één miljoen motiele spermatozoa/ml). Ondanks een vier jaar eerdere normale semenanalyse werd alsnog bij dit echtpaar een androgene factor als medeoorzaak naast de aanwezige eileiderpathologie genoteerd.

De echtgenoten van de andere zes patiënten van wie geen semenkenmerken bekend of genoteerd waren voor de laparoscopie toonden de volgende scores in de semen-monsters tijdens de in-vitro-bevruchting: 15-, 20-, 25 à 50-, 40-, 60- en 80 miljoen beweeglijke spermatozoa/ml. Gezien de eerdergenoemde criteria voor de semenanalyses was bij deze patiënten geen reden alsnog een androgene factor aan te nemen. Aangezien bewerking van de semenanalysekenmerken uitsluitend op semenanalyses uit eigen laboratoria werd uitgevoerd werden ontbrekende semenanalyses van elders niet opgevraagd.

5.3.2 Invloed van verschillende semenkenmerken op de bevruchtungskans

Tabel XV toont de bevruchtungskans uitgedrukt als het aantal patiënten met tenminste 1 bevruchte oöcyt in relatie tot de verschillende semenkenmerken. In overeenstemming met de bevinding dat alleen de androgene factor een significante belemmering van de bevruchting in vitro is, verschilt de bevruchtungskans bij normaal semen (d.w.z. alle oorzaken behalve androgeen) niet significant van die bij zuivere tubaire infertiliteit (zie tabel XI, $P=0.40$). Indien de semenanalyses verder worden opgesplitst blijkt alleen een te laag percentage normaal gevormde spermatozoa (teratospermie) significant te verschillen. Toch is het waarschijnlijk dat teratospermie alleen niet de enige factor is die de bevruchtungskans bepaalt. Een nadeel bij de beoordeling van de gegevens van tabel XV is dat meermalen de semenanalyses op meer dan 1 kenmerk afwijkingen lieten zien. Tienmaal waren twee kenmerken onder de gestelde norm en driemaal waren alle drie de kenmerken verlaagd. Deze aantallen zijn te klein voor nadere opsplitsing. Toch zou verschil kunnen bestaan tussen een teratospermie bij 30 dan wel bij 120 miljoen spermatozoa/ml. Op dezelfde wijze zou het kunnen uitmaken of de het percentage beweeglijke spermatozoa hierbij 10 of 50% is. Om de invloed van de verschillende factoren op elkaar nader te kunnen beoordelen werd de bevruchtungskans gecorreleerd aan de concentratie normaal gevormde spermatozoa en aan het totale aantal beweeglijke spermatozoa per ml. De samenhang tussen deze semenkenmerken staat weergegeven in figuur 3. Alleen voor het aantal normale spermatozoa per ml. was een trend zichtbaar ($P=0.08$ volgens de toets voor verloop van kansen). Het percentage beweeglijke spermatozoa lijkt prognostisch een minder belangrijke factor.

TABEL XV.

Kans op bevruchting bij diagnostische IVF poging in relatie tot preoperatieve semenkwaliteiten (n=72).

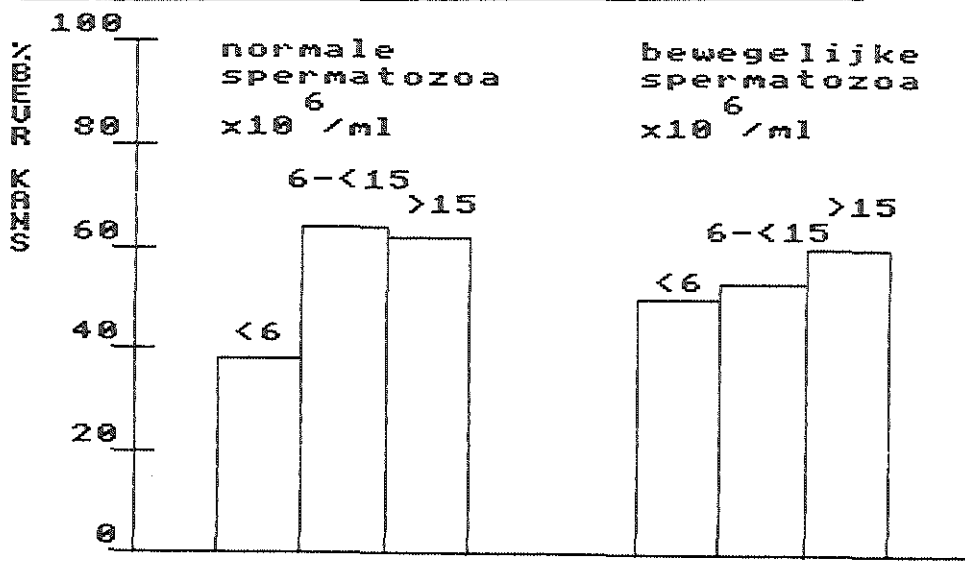
		b)	
	Bevruchtungskans	Statistiek	
a)			
Normaal semen	28/41 (68%)		
c)			
<20 miljoen	6/15 (40%)	P = 0.10	
c)			
<30% normale vorm	9/23 (39%)	P = 0.045	
c)			
<30% motiel	4/9 (44%)	P = 0.36	

a) = >20 miljoen/ml, >30% normale vorm, >30% motiel.

b) = P-waarde volgens 2x2 tabel voor $\alpha=0.05$

c) = Naast dit kenmerk kunnen 1 of beide andere kenmerken verlaagd zijn.

Figuur 3: De bevruchtungskans per patiënt in de diagnostische IVF-groep in relatie tot de concentratie normale spermatozoa en tot de concentratie beweeglijke spermatozoa van de preoperatieve semenanalyses (n=72).



5.3.3 *Correlatie tussen hamstereiceltest en IVF*

Gaandeweg is duidelijk geworden dat de tot dusverre toegepaste criteria van semenonderzoek niet toereikend zijn voor een werkelijk adequate voorspelling van de kans op in-vitro-bevruchting bij semenafwijkingen. Zo werd bij een patiënt met een bij herhaling ernstige oligospermie (minder dan 5 miljoen/ml) met een motiliteit van 15% en een aantal normale vormen onder de 30% toch een bevruchting met normale doorgroei tot een 8-cellig stadium verkregen. Helaas bleek het embryo de invriesperiode niet goed doorstaan te hebben zodat het niet tot embryotransplantatie kon komen. Zoals uit voorgaande grafieken en tabellen te lezen was zijn er meer van dergelijke voorbeelden in de diagnostische groep.

Vanwege de beperkingen van de conventionele parameters zijn en worden nieuwe testen geëvalueerd. In plaats van "statische" gegevens zoals aantal en vorm worden hier vooral functies van de zaadcellen getest die van belang zijn voor het bevruchtend vermogen. Een voorbeeld hiervan is de "hamstereiceltest" (HET) (Yanagimachi e.a., 1976; Aitken, 1983; Rogers, 1985). Het vermogen van zaadcellen zonder acrosoom om een zóna-vrije hamstereicel te kunnen binnendringen wordt daarbij onderzocht (zie ook: proefschrift J. Cohen). Cohen vond destijds slechts een matige correlatie met mannelijke vruchtbaarheid. Verdere verbetering was mogelijk door standaardisatie en gebruik van ander medium (Zeilmaker en Rijkmans, 1986). Thans is criterium voor een positieve test een bevruchting van minstens 10% van de hamstereicellen.

Tijdens de onderzoeksperiode werd de hamstereiceltest nog slechts incidenteel uitgevoerd bij negen patiënten in de diagnostische groep: Tweemaal bij idiopathische en zevenmaal bij een door androgene factoren bepaalde infertiliteit. Retrospectief werd bij een aantal patiënten aan het eind van de onderzoeksperiode alsnog een hamstereiceltest gedaan. Het betrof patiënten met een androgene factor als mogelijke infertiliteitsoorzaak en patiënten bij wie de IVF test negatief was gebleken. Controles waren semen-monsters van een aantal echtgenoten van patiënten met uitsluitend afwijkingen van de eileiders. Medewerking aan het onderzoek was gering, vooral als het laparoscopisch onderzoek langer geleden was en/of de duur van de infertiliteit langer was. Meermalen had het echtpaar voor henzelf een lange periode van onderzoeken en behandelingen met deze "laatste" laparoscopie en éénmalige IVF-poging afgesloten. Verder aandringen voor deelname aan nog een test leek niet

gepast. In totaal werden bij 26 patiënten van de diagnostische groep één of meer hamstertesten uitgevoerd. De resultaten staan weergegeven in tabel XVI.

Tabel XVI

Correlatie Hamstereiceltest (HET) en het in-vitro-fertilisatie (IVF) resultaat in de diagnostische groep.

Oorzaak van de infertiliteit	Totaal aantal pat.	Pos HET	Pos IVF	Neg HET	Neg IVF
Zuiver tubair	6	5	3	1	1
b)					a)
Androgeen	11	5	1	6	5
Idiopathisch c)					
en endometriose	9	5	0	4	4
	26	15	5	11	10 a)

a)= 1x wel bevruchting maar stagnatie in twee-cellig stadium

b)= Deel van de patiënten opgeroepen ivm een negatief IVF resultaat

c)= Alle patiënten opgeroepen ivm een negatief IVF resultaat

Het aantal positieve HET testen blijkt driemaal zo groot als het aantal positieve in-vitro-fertilisaties (IVF-testen) van menselijke eicellen. Daarentegen blijkt dat bij de 11 negatieve hamstertesten in geen van de gevallen een normale embryo-ontwikkeling werd waargenomen. Bij 1 patiënte werd een tweecellig stadium gezien, dat zich niet verder ontwikkelde. De getoonde verschillen zijn echter niet significant bij deze kleine aantallen. Zoals in vorige alinea uiteengezet vormen deze patiënten geen representatieve steekproef uit de diagnostische groep. Verder prospectief onderzoek naar de mogelijke betekenis van de hamstertest bij de selectie van patiënten voor IVF-programma's werd daarom uitgevoerd (Zeilmaker, 1986).

De conclusie kan worden getrokken dat alleen een negatieve hamstertest prognostische betekenis heeft ten aanzien van de bevruchtungskans in IVF-programma's. Bij de hamstereiceltest wordt alleen het vermogen getest van de zaadcellen om met de eicellen te fuseren. Bij de IVF-test moet de zaadcel tevens de cumulus en zôna pellucida penetreren. Voorts zou het verschil in het aantal voor bevruchting beschikbare eicellen kunnen bijdragen: circa 20-30 bij de hamstertest tegen 1-5 bij de IVF-test. Uit tabel XVII blijkt echter dat het aantal eicellen in de IVF-test geen invloed had op de kans op bevruchting van tenminste 1 eicel. Indien meerdere eicellen verkregen worden zouden meer embryo's kunnen ontstaan wat om andere redenen in de IVF-behandeling gunstig is. Zuiver als test van het bevruchtend vermogen van dit zaadmonster onder deze omstandigheden maakt het niet uit hoeveel eicellen bij de follikelpunctie verkregen zijn. Blijkbaar kan op basis van 1 eicel bij IVF een betrouwbare indruk verkregen worden.

Tabel XVII

Correlatie tussen het aantal eicellen per follikelpunctie en de kans op tenminste 1 bevruchte eicel per patiënt.

Aantal oöcyten	Androgene factor		Totaal
	aanwezig	afwezig	
1	5/15(33%)	29/42(69%)	34/57(60%)
2	2/6 (33%)	14/19(74%)	16/25(64%)
> 2	4/10(40%)	9/13 (69%)	13/23(56%)

5.4. Kans op zwangerschap na laparoscopie in de diagnostische groep

Aan het einde van de onderzoeksperiode, 28 februari 1985, werden alle statussen gecontroleerd op het verdere verloop na de laparoscopie met follikelpunctie. Het tijdsinterval sinds laparoscopie varieerde van 0 - 37 maanden met een gemiddelde van

15.2 maanden. Achtmaal vond op een later tijdstip tubachirurgie plaats. Het aantal is te klein en de follow-up te kort om hier een verder oordeel over te geven. Van de resterende 97 patiënten werden in de vervolgperiode 8 patiënten alsnog zwanger. Tweemaal was dit het gevolg van een tweede poging tot in-vitro-bevruchting als patient in de behandelingsgroep. Slechts zesmaal trad een spontane zwangerschap op bij de overige 95 patiënten (6.3%). Op een totaal van ca. 1450 maanden follow-up is dit een gemiddelde kans van 4 promille per maand. Om deze cijfers enigszins met de literatuur te kunnen vergelijken werd tevens nagegaan hoelang de infertiliteit al bestond. Patiënten met een refertilisatieverzoek buiten beschouwing latend was bij 66 patiënten retrospectief nog na te gaan hoe lang het onderzoek had geduurd voordat de laparoscopie werd uitgevoerd. Dit varieerde van 9 maanden tot 12 jaar met een gemiddelde van 40,9 maanden. Bij de overige patiënten was het niet mogelijk nauwkeurig vast te stellen hoe lang de infertiliteit voor de start van het onderzoek had geduurd. Algemeen geldt dat kinderwens een jaar moet bestaan alvorens infertiliteits-onderzoek te starten. Een laparoscopisch onderzoek wordt globaal een jaar na de start van het infertiliteitsonderzoek uitgevoerd.

Tabel XVIII

Voorspellende waarde IVF aangevuld met HET op toekomstige zwangerschap.

(Uitgezonderd tubaplastiek of hernieuwde IVF in later stadium)

	Aantal patiënten	Spontaan gravida na diagnostische IVF	Totale kans op spont.zw.schap
IVF negatief	20	0	) 1/30 (3%)
IVF negatief + HET negatief	10	1	
IVF positief	51	3	) 5/65 (8%)
IVF negatief			
maar	14	2	
HET positief			

Tabel XVIII geeft de correlatie aan tussen de uitslag van de "IVF-test" eventueel aangevuld met de hamster-eiceltest en het verdere verloop. De vooruitzichten, hoewel voor alle patiënten beperkt, lijken voor patiënten met een positieve IVF-test c.q. bij neg IVF-test met een positieve hamstertest toch wat gunstiger dan bij negatieve testen. De verschillen zijn echter niet significant. Uit de laatste regel van tabel XVIII blijkt dat een eenmalig negatieve IVF-test echter nog niet beslissend is indien tevoren een positieve hamstereiceltest werd gevonden.

5.5 Bespreking

Onze resultaten van de diagnostische groep tonen dat behalve bij patiënten met eileiderafwijkingen ook bij andere infertiliteitsoorzaken een praktisch vergelijkbare bevruchtungskans van de oöcyten wordt gevonden. Zuivere tubaire infertiliteit geldt zeker internationaal niet meer als de enige indicatie voor IVF. Toepassingsmogelijkheden van IVF bij diverse infertiliteitsoorzaken werden eerder besproken door Wood en Trounson (1984). Zwangerschappen zijn inmiddels opgetreden bij vrijwel alle vormen van vrouwelijke en mannelijke vruchtbaarheidsstoornissen (Jan Palfijn symp, 1985). De meeste studies betreffen één of twee infertiliteitsgroepen. Een systematische vergelijking van in-vitro-bevruchting bij verschillende infertiliteitscategorien binnen één centrum en zonder selectie van de patiënten vond tot heden nog niet plaats. Toch is dat nodig om selectiecriteria te kunnen opstellen van patiënten die in aanmerking zouden komen voor IVF. Daarnaast is het nodig de kans dat alsnog een spontane zwangerschap optreedt te vergelijken met de kans op zwangerschap bij IVF. Hoofdstuk zes gaat hierop in bij "indicaties voor IVF".

De hoogste zwangerschapspercentages na IVF gelden vooral voor patiënten met eileiderpathologie die overal nog steeds bovenaan de indicatielijsten voor IVF staan. Ook in de hier getoonde diagnostische groep is de bevruchtungskans per oöcyt met 79% het grootst voor patiënten met eileiderpathologie.

Het zwangerschapspercentage voor in-vitro-bevruchting is geleidelijk gestegen tot 10-20% intakte tot à terme komende zwangerschappen per cyclus (Jones e.a., 1984; Wood e.a., 1984). De resultaten van de behandelingsgroep uit Dijkzigt tonen een met de literatuur vergelijkbare stijging van 12,5% in 1984 tot

15.5% in 1985 (incl. abortus). De zwangerschapspercentages na eiceltransport vanuit het Zuiderziekenhuis en het Diaconessenhuis te Voorburg liggen met 18% per patiënt respectievelijk 14% per cyclus (excl. abortus) in dezelfde orde van grootte (Hoofdstuk 4). Evenals de aangehaalde cijfers van Jones en Wood uit 1984 betreffen de cijfers van Dijkzigt en de perifere ziekenhuizen rond Dijkzigt het totaal van uitgevoerde behandelingen. Dit omvat zowel de laparoscopische als echoscopische puncties en betrof merendeels, maar niet uitsluitend, patiënten met eileiderafwijkingen. Deze percentages kunnen in de toekomst waarschijnlijk nog verder stijgen door toename van het aantal patiënten bij wie per behandelingscyclus meerdere embryo's kunnen worden teruggeplaatst en door vooruitgang van de invries- en ontdooitechnieken van embryo's (Wood en Trownson, 1985). In een recente maar kleine serie van 25 patiënten met uitsluitend tuba-afwijkingen uit Bourn Hall werd al een percentage doorgaande zwangerschappen per laparoscopie van 32% (8 patiënten) genoemd (Fishel e.a., 1984).

Idiopathische infertiliteit werd gedefiniëerd als een minstens 2 jaar bestaande ongewenste kinderloosheid zonder aanwijsbare oorzaak. De eerste onderzoeken naar de mogelijkheden van IVF bij idiopathische infertiliteit leken te wijzen op duidelijk slechtere resultaten in vergelijking tot de tubaire infertiliteitspatiënten (Trownson e.a., 1980; Lopata e.a., 1980). Toch bevonden zich onder de eerste 9 zwangerschappen na IVF in Melbourne twee en mogelijk zelfs drie patiënten met idiopathische infertiliteit. Later meldden Wood en Trownson dat de zwangerschapscijfers van patiënten met idiopathische infertiliteit nauwelijks meer verschilden van die van de patiënten met eileiderpathologie (Wood en Trownson, 1984). In overeenstemming met de literatuur was in de hier beschreven Rotterdamse studie de bevruchtungskans van de eicellen bij onbegrepen infertiliteit nauwelijks lager dan bij zuiver tubaire infertiliteit. Het verschil was niet significant. Inmiddels werden in het Zuiderziekenhuis te Rotterdam patiënten met idiopathische infertiliteit in beperkte mate opgenomen in het IVF-programma. (van Beek e.a., 1986). Een zwangerschap resulteerde, maar eindigde in een spontane abortus. Vooralsnog bestaat toch de indruk dat bij langdurige onbegrepen infertiliteit de kans op een voldragen zwangerschap toch wat lager is dan bij zuivere tubaire infertiliteit. Ook het zwangerschapspercentage dat in 1985 door de groep uit Melbourne werd opgegeven lag ondanks eerdere berichten toch wat lager dan bij tubaire infertiliteit: 12 versus 20% (Speirs, 1985).

Waarschijnlijk bestaat de groep onbegrepen infertiliteit deels uit patiënten met microscopische eileiderbeschadigen en deels uit patiënten met een verminderd bevruchtend vermogen van het zaad ondanks normale morfologische kenmerken. Tjiam en medewerkers vonden een verhoogde incidentie van antistoffen tegen gonorrhoea en mycoplasma hominis bij patiënten met onbegrepen infertiliteit (Tjiam e.a., 1985). De mogelijke betekenis van de hamstereicelpenetratietest voor een nader onderverdeling van de groep onbegrepen infertiliteit zal verderop worden besproken.

Voor patiënten met endometriose ligt de indicatie voor IVF-behandeling nog minder duidelijk. Wardle en medewerkers vonden een bevruchtungskans van eicellen van patiënten met milde tot matige endometriose van 33% tegenover 67% bij patiënten met tubaire infertiliteit en 63% bij patiënten met onbegrepen infertiliteit (Wardle e.a., 1985). In de Rotterdamse studie is de bevruchtungskans van eicellen van patiënten met endometriose niet significant verminderd. Patiënten met endometriose werden zwanger via IVF (Wood en Trounson, 1984) maar zij komen weinig voor in IVF-programma's. Een zwangerschapspercentage na IVF-behandeling van patiënten met endometriose is tot heden alleen bekend uit Melbourne (Speirs, 1985). Dit percentage lag met 15,4% slechts weinig lager dan de 20% die inmiddels bij patiënten met uitsluitend eileiderafwijkingen was bereikt.

Naast het uitsluitend voorkomen van eileiderpathologie is het ontbreken van een androgene bijdrage aan de infertiliteit van het paar de belangrijkste factor gebleken voor de kans op succes via in-vitro-bevruchting. In de hier beschreven diagnostische patiëntengroep was naast de spermaconcentratie vooral het aantal afwijkend gevormde zaadcellen (teratospermie) van belang. Vanaf 6 miljoen normale spermatozoa per ml bleef het bevruchtingspercentage van de eicellen gelijk (60-64%). Beneden deze concentratie lag het bevruchtingspercentage onder de 40%. In Bourn Hall daarentegen bleek behalve de spermaconcentratie vooral een laag percentage bewegelijke spermatozoa (asthenospermie) van prognostische betekenis voor de bevruchtungskans van de eicellen (Cohen e.a., 1985). De normaalgrenzen van de semenkenmerken verschilden echter aanzienlijk. Zo werd in de studie van Cohen en medewerkers een spermaconcentratie van minder dan 10 miljoen per ml pas als abnormaal (oligospermie) aangeduid, terwijl pas bij minder dan 20% bewegelijke spermatozoa werd gesproken van asthenospermie en pas bij

minstens 80% afwijkende vormen van teratospermie. Teratospermie kwam in de serie van Cohen et al. nauwelijks voor (4/41), terwijl in de eigen serie asthenospermie juist in de minderheid was (9/31 patiënten met semenafwijkingen). In het onderzoek van de Kretser en medewerkers was de bevruchtingskans bij ernstige (minder dan 20% beweegelijk) en matige (20-40% beweegelijk) asthenospermie praktisch gelijk maar lag met 65% wel lager dan het gemiddelde bevruchtingspercentage van 75% van het totale IVF-programma (de Kretser e.a., 1985). Bij het voorkomen van teratospermie werd door de Kretser et al. een opvallend hoog bevruchtingspercentage gevonden (95%). De grens voor teratospermie werd hier echter getrokken bij 50% afwijkend gevormde spermatozoa. De oorzaak voor de verschillende conclusies zou kunnen liggen in een verschillende interpretatie van de conventionele parameters. Zowel Cohen et al. als de Kretser et al. vonden een afnemende bevruchtingskans naarmate meer dan 1 semenkenmerk afwijkend was. In het laatstgenoemde onderzoek nam het bevruchtingspercentage af van 67% bij 1 afwijkend semenkenmerk tot 58% bij storing op 2 punten terwijl het percentage tot 9% gedaald was indien alle drie semenkenmerken abnormaal waren. Evenals in het eigen onderzoek konden echter bevruchtingen voorkomen bij opvallend slechte semenanalyses. De semenanalyses van deze patiënten hadden bij herhaling duidelijke afwijkingen getoond.

Afgezien van de noodzaak zaadonderzoeken bij herhaling te laten uitvoeren is er behoefte aan nieuwe testen om die patiënten te selecteren die in aanmerking zouden kunnen komen voor IVF. De hamstereiceltest lijkt vooralsnog de meest aangewezen aanvullende test. Een uitgebreid overzicht van het ontstaan en de ontwikkeling van de hamstereiceltest werd recent gegeven door Rogers die hierin zelf een belangrijk aandeel had (Rogers, 1985). Wolf en medewerkers waren de eersten die een vergelijkend onderzoek tussen IVF en de hamstereiceltest publiceerden (Wolf e.a., 1983). Alle vrouwen hadden ernstige eileiderbeschadigingen en het semen van alle mannen was volgens de tot heden gebruikelijke parameters normaal. Meermalen kwam het voor dat bij een positieve hamstertest geen bevruchting van de menselijke eicellen werd verkregen. De auteurs veronderstelden dat een aantal van de menselijke eicellen mogelijk nog onrijp waren. Anderszins is een in-vitro-bevruchting van een menselijke eicel complexer dan de penetratie van zaadcellen bij minstens 10% van 20-30 zona-vrije hamstereicellen. Ook in de eigen studie bleek dat de hamstertest sneller een positief resultaat gaf dan de IVF-test. Het maakte hierbij niet uit

hoeveel menselijke eicellen bij de punctie verkregen waren. Dit zou betekenen dat of bij de oogst van slechts 1 eicel steeds de rijpste is verkregen of dat de rijpheid van de eicellen voor het IVF resultaat toch maar een beperkte rol speelt. Het feit dat uit kleine follikels meermalen goed fertiliseerbare eicellen worden verkregen (hoofdstuk 2) lijkt ook te wijzen op slechts een beperkte betekenis van het begrip "rijpe eicel". Omgekeerd werd bij twee van de achttien patiënten met een bevruchting in vitro van de eicellen van de echtgenote een negatieve hamstertest gevonden (11%). In het eigen onderzoek kwam dit bij 1/11 patiënten met een negatieve IVF-test voor. Uit verder prospectief onderzoek in Rotterdam bleek dit echter toch uitzondering (Zeilmaker, 1986). Bij de interpretatie van de hamstertest moet er rekening mee gehouden worden dat ook een lage hamstereicelpenetratie kan leiden tot in-vitro-bevruchting en normale doorgroei van het embryo (Ausmanas e.a., 1985).

Geconcludeerd kan worden dat een positieve hamstertest geen garantie is voor een bevruchting via de IVF-methode maar dit lijkt wel een goede voorwaarde voor patiënten die in aanmerking willen komen voor IVF. Een negatieve test dient in elk geval éénmaal herhaald te worden of moet samengaan met een negatieve IVF-test tijdens de laparoscopische inspectie gedurende het infertiliteitsonderzoek uitgevoerd. Een negatieve IVF-test na een positieve hamstertest dient echter ook herhaald te worden (tabelXVIII: 2 van de 14 patiënten met een negatieve IVF-test na positieve hamstertest werden later spontaan zwanger).

De overige infertiliteitsoorzaken, te weten ovulatiestoornissen en de cervicale factor, kwamen te weinig voor om afzonderlijk te kunnen beoordelen. Niet te behandelen anovulatie kan alleen in aanmerking komen voor eiceldonatie. Dit valt buiten het kader van dit hoofdstuk. Wat betreft het "luteinized unruptured follicle" (LUF) syndroom hebben recente onderzoeken aangetoond dat hier in feite geen sprake is van een syndroom maar van LUF-cycli. Kerin vond in een prospectief onderzoek bij 66 patiënten 9x een LUF-cyclus (4.9%). Slechts bij 1 patiënte kon een 1x herhaling van een LUF-cyclus worden vastgesteld in 4 opvolgende cycli (Kerin e.a., 1983). Daly en medewerkers vonden bij patiënten met onbegrepen infertiliteit bij slechts 9% aanwijzingen voor een LUF-cyclus en namen geen herhaling in volgende cycli waar (Daly e.a., 1985). Dit lijkt derhalve geen verklaring voor infertiliteit van langere duur en geen indicatie voor IVF.

Het voorkomen van een cervicale factor bij infertiliteit wordt geschat op maximaal 10% (Speroff, 1983). Gedeeltelijk

omvat dit patiënten met sperma-antilichamen, gedeeltelijk patiënten bij wie geen of zeer taai cervixslijm wordt geproduceerd. Oorzaken hiervan zijn meestal infectie, hoge cryocoagulaties en/of conisatie. Het voorkomen van sperma-antilichamen in semen of mucus wordt geschat op ruim 5% (Ingerslev, 1980). In de serie van Ingerslev werden bij 2.2% van de patiënten sperma-antistoffen in het serum van de vrouw aangetroffen. Bij verder onderzoek bleek dit in minder dan 1% de spermapenetratie van cervixslijm te beïnvloeden. Indien sperma-antilichamen bij infertiliteit een rol spelen ligt de oorzaak meestal bij de man. Wood en Trounson konden in hun boek *Clinical in Vitro Fertilization* in 1984 wel embryo-ontwikkeling maar nog geen zwangerschappen melden bij het voorkomen van sperma-antilichamen (p31). Uit Bourn Hall zijn inmiddels twee zwangerschappen gemeld bij mannen met sperma-antilichamen (Cohen e.a., 1985). De Kretser en medeauteurs vermeldden een bevruchtingspercentage van 53% (normaal gemiddeld 75%) bij patiënten met sperma-antilichamen. In de diagnostische groep waren nimmer sperma-antistoffen aangetoond of vermoed op grond van de samenlevingstesten. In de behandelingsgroep van het Zuiderziekenhuis was één van de zwangerschappen ontstaan bij een patiënt met uitsluitend cervicale infertiliteit na vroegere conisatie (v.Beek e.a., 1986). Het voorkomen van sperma-antilichamen bij dit echtpaar was niet onderzocht maar het semen toonde geen afwijkingen die hierop zouden kunnen wijzen.

HOOFDSTUK 6

ALGEMENE BESCHOUWING

6.1 Ethische aspecten

De ethische discussie rond in-vitro-bevruchtingen is onder te verdelen in een morele en een meer biologische kant. Beiden zijn van even groot belang en hangen uiteraard samen. Hoewel de bedoelingen tegengesteld zijn, komt evenals bij abortus bij de in-vitro-bevruchting de vraag vanaf welk moment er sprake is van menselijk leven. Het juiste antwoord op deze vraag zal nooit gevonden worden, aangezien dit mede zaken als gevoel en geloof betreft. Het belang van zo'n discussie is vooral bij te dragen tot het ontwikkelen en handhaven van normen en regels voor zorgvuldig handelen en voorkomen van misbruik. Wegens de omvang ervan wordt deze discussie hier niet verder besproken. De biologische aspecten kunnen de basis zijn voor de morele discussie. Dierexperimentele gegevens en een overzicht van potentiële risico's van IVF werden eerder door de Rotterdamse groep beschreven (Zeilmaker en Alberda, 1982). Een recent overzicht vindt men bij Pike (Pike, 1984) en wordt hier kort samengevat.

6.1.1 *Kans op congenitale afwijkingen*

Ondanks de vorderingen en uitgebreidere toepassing van IVF zijn nog vele risico's onbekend. Een kritisch overzicht als dat van Blandau zou nu echter anders geschreven zijn (Blandau, 1980). Het optreden en onderkennen van fragmentatie in plaats van of bij celdeling in vitro is inmiddels dusdanig bekend dat ieder laboratorium wel beschikt over een reeks voorbeelden uit eigen waarneming. De talloze geboortes na IVF van gezonde kinderen tonen dat normale embryo-ontwikkeling in vitro goed reproduceerbaar is. De twijfel van Blandau (1980) over de toepasbaarheid van IVF werd zo in 5 jaar achterhaald. Een aantal van zijn overige vragen bleef bestaan: Ondanks normale ontwikkeling, zichtbaar onder de lichtmicroscop, kunnen embryo's intracellulair afwijkingen van de ultrastructuur

vertonen (Sathananthan en Trounson, 1982). Ook het voorkomen van meerdere pronuclei in de bevruchte eicellen kan tot een normaal lijkende morula aanleiding geven (Angell e.a., 1983; v. Blerkom e.a., 1984). Naast de aanwezigheid van enkele abnormale blastomeren kunnen in een 8-12 cellig embryo normale blastomeren voorkomen. Ondanks 25% abnormale blastomeren kunnen zich toch normale embryo's en zwangerschappen ontwikkelen (v. Blerkom e.a., 1984).

Onderzoek van de eicel 24 uur na bevruchting kan de aanwezigheid van een abnormaal aantal pronuclei aantonen. Dit betekent echter extra manipulatie met het embryo om dit zichtbaar te kunnen maken, terwijl de kans dat een triploid embryo bij terugplaatsing ook leidt tot de geboorte van een -ernstig afwijkend- kind uiterst klein is : Schlesselman (1979) toonde aan dat 99.3-99.5% van de chromosomale afwijkingen in de conceptus worden geëlimineerd door middel van spontane abortus en/of foetale dood. Bij spontane abortus van een op normale wijze (in-vivo) ontstane zwangerschap 2 tot 7 weken na de bevruchting bleek 66% een abnormaal karyotype te hebben. Dit nam af tot 23% bij 8-12 en tot 5% bij meer dan 16 weken graviditeit. Bij de "normale" zwangerschap bedraagt het abortuspercentage in totaal circa 15%. In zijn overzicht beschreef Pike (1984) slechts een enkel voorbeeld van chromosomale afwijkingen na IVF. In geen van de gevallen betrof dit een levensvatbare foetus. Wel is het aantal abortus na in vitro fertilisatie aanzienlijk verhoogd. Terwijl het zwangerschapscijfer in Norfolk in 1984 gestegen was tot 19% eindigde 33% (35/105) van deze zwangerschappen in een spontane abortus (Jones e.a., 1984). Uit de doorgaande zwangerschappen waren tot eind 1983 43 levensvatbare kinderen geboren. Het percentage "klinische" zwangerschappen in Bourn Hall was van 16.5% in 1980 gestegen tot bijna 30% in 1983 maar het abortuspercentage varieerde van 25-35% (Edwards en Steptoe, 1983). De leeftijd en obstetrische voorgeschiedenis bleken hierbij van grote invloed. Ook in een recent overzicht van het het beloop van 244 zwangerschappen na IVF uit 8 centra was 27% geëindigd in een spontane abortus (Lancaster e.a., 1985). Het gemiddelde geboortegewicht van de kinderen uit de doorgaande zwangerschappen was lager dan in de "normale" populatie. Dit werd veroorzaakt door het vaker voorkomen van een premature geboorte en door het grote aantal meerlingzwangerschappen (22%). Wat betreft de sex ratio en het aantal aangeboren afwijkingen

was er geen verschil tussen de IVF-groep en de overige pasgeborenen. Vergelijkbare grote studies betreffende de kans op congenitale afwijkingen zijn in de komende jaren te verwachten. Vooralsnog zijn er geen aanwijzingen dat aangeboren afwijkingen na IVF meer voorkomen dan in de "normale" populatie.

In hoeverre chromosoomafwijkingen voor de verhoogde abortusfrequentie na de reageerbuisbevruchting verantwoordelijk zijn, is eerst te bepalen door chromosoomonderzoek van al het abortusmateriaal. Van de twee spontane abortus onder patiënten in de behandelingsgroep van het Zuiderziekenhuis (tot en met 31 augustus 1985) was éénmaal chromosoomonderzoek mogelijk (uitslag: 46XX, normaal vrouwelijk)

Uit dierproeven bleek geen verhoogd risico op genetisch bepaalde afwijkingen door bevruchtingen in vitro (Austin, 1973; Zeilmaker en Alberda, 1982). Toch geeft dit nog onvoldoende zekerheid. Het blijft vooralsnog zeer belangrijk alle aangeboren afwijkingen bij kinderen na IVF te registreren en te vergelijken met cijfers uit de gehele bevolking.

6.1.2 Invriezen van embryo's en donoroöcyten

Angst voor genetische experimenten, zoals cloning, bepalen voor een groot deel de houding ten opzichte van andere toepassingsmogelijkheden van IVF. De mogelijkheid van genetische manipulaties is nog voornamelijk science-fiction. Gezien snelheid van ontwikkelingen is wel het moment gekomen voor nadere bezinning en stellen van ethische grenzen.

Invriezen van embryo's en gebruik van donoroöcyten zijn feitelijk geen genetische experimenten te noemen. In het eerste geval gaat het om tijdelijke opslag van reserve-embryo's voor een tweede kans op zwangerschapsinductie, bijvoorbeeld in een niet door hormonen of andere manipulaties beïnvloede cyclus. In het tweede geval wordt een "overtollige" onbevruchte eicel beschikbaar gesteld aan een ander paar. Het verschilt daarmee niet wezenlijk van spermadonatie. Aangezien op deze wijze het doorgeven van een erfelijke aandoening bij één van de ontvangende partners voorkomen kan worden zou men van een "indirekt" genetisch ingrijpen kunnen spreken. Er is echter geen sprake van een direkt veranderen van genen of chromosomen. Pré-natale diagnostiek met vruchtwaterpunctie of vlokkentest is

een vergelijkbaar indirect ingrijpen in het doorgeven van genetische afwijkingen. Dit is in de westerse maatschappij algemeen geaccepteerd.

Eén en ander betekent niet dat geen nadere afspraken meer gemaakt hoeven te worden. Discussie is gaande over de juiste handelwijze bij embryo's die overblijven nadat een zwangerschap is opgetreden bij de "ouders" van de eicel en zaadcellen. Tot heden is het Rotterdamse standpunt dat de beslissing hierover in de eerste plaats bij het (echt)paar lag. Wel lijkt het redelijk een termijn te stellen aan het bewaren van embryo's. Terwijl er nog vele onbekende factoren zijn bij de directe terugplaatsing van embryo's, geldt dat des te meer na langere bewaartijd van embryo's. Dit alles zal men tevoren met het (echt)paar dat zich aanmeldt voor IVF willen bespreken. Een schriftelijke toelichting of zoals in het buitenland vaak wordt toegepast, een "informed consent", is in afwachting van de verdere maatschappelijke ontwikkelingen onontbeerlijk. Zo kan men onduidelijkheden voorkomen bij patiënt en behandelingsteam ten aanzien van wat zal gebeuren als eicellen en/of embryo's "overblijven" na IVF ten behoeve van het betreffende (echt)paar.

6.2 Huidige stand van techniek

6.2.1 *Ovulatie-inductie*

Edwards en Steptoe bereikten de eerste succesvolle in-vitro-bevruchting en embryo transplantatie na punctie van één oöcyt in een spontane cyclus (Steptoe e.a., 1980). Een beheerste vorm van ovariële overstimulatie bleek te leiden tot een hoger percentage zwangerschappen (Trounson e.a., 1981; Jones e.a., 1982; Feichtinger e.a., 1983). Hierdoor werd het mogelijk meerdere embryo's te transplanteren, waardoor de kans op zwangerschap per behandelingscyclus cumulatief toenam. De bovengrens wordt bepaald door een toenemende kans op meerlingzwangerschappen. Mogelijk neemt deze kans ook toe naarmate de ervaring met de in-vitro-bevruchtingsmethode van een centrum groter wordt. In Melbourne was het aantal meerlingzwangerschappen dermate gestegen was dat het aantal embryo's dat per cyclus werd getransplanteerd geleidelijk weer was teruggebracht tot twee, maximaal drie embryo's (Trounson, 1985).

Diverse medicamenten en schema's zijn in de loop der jaren uitgetest. Van de spontane cyclus zijn Edwards en Steptoe overgegaan op clomifeeninductie. In hun centrum waren de zwangerschapscijfers na follikelstimulatie met 50 of 100 mg clomifeen hoger dan bij toepassing van hogere doses clomifeen of combinaties met HMG (Edwards en Steptoe, 1983). Ook nadien vond men daar nog goede resultaten met een clomifeen schema. Bij 25 patiënten met tuba-afwijkingen vond 19 maal embryo transfer plaats. Negen zwangerschappen ontstonden, waarvan 1 aborteerde (Fishel e.a., 1984).

In het Monash instituut te Melbourne werd aanvankelijk tot 150 mg clomifeen gegeven gedurende 5 dagen met een HCG-injectie op geleide van echoscopie en hormonale parameters. Bij de eerste 103 pogingen werden 9 zwangerschappen verkregen, waarvan twee spontaan aborteerden (Wood e.a., 1981). Tesaamen met deze eerste groep patiënten toonde een later overzicht tot en met 1983 een zwangerschapspercentage van 17.8% per cyclus (Wood e.a., 1984). Het follikel-stimulatie schema was echter in 1981 gewijzigd. Toevoeging van HMG aan de clomifeen of gebruik van HMG alleen gaf een met een factor drie toegenomen zwangerschapspercentage (Wood en Trounson, 1984, p62) vergeleken met alleen clomifeen. Dit werd veroorzaakt door een toename van de oöcytenopbrengst bij gelijkblijvende bevruchtungskans per oöcyt. Dit wees erop dat door de HMG toevoeging doorgroei mogelijk werd van een aantal follikels die anders atretisch werden. Vargyas en medewerkers verdeelden 105 patiënten in drie groepen: clomifeen, HMG en een combinatie van clomifeen met HMG. Hoewel de follikelontwikkeling en de bevruchtungskans van de oöcyten het grootst was bij het gecombineerde schema waren de zwangerschapscijfers vergelijkbaar. (Vargyas e.a., 1984). De groep in Norfolk is nooit van de HMG toepassing afgeweken. Tot en met 1983 waren 105 zwangerschappen verkregen in 560 behandelingscycli bij 319 patiënten (Jones e.a., 1984).

Concluderend lijkt het gebruikte follikelstimulatieschema niet van doorslaggevende betekenis (clomifeen-HMG of HMG alleen). Een bijkomende moeilijkheid is dat niet altijd duidelijk is in hoeverre zwangerschapspercentage per gestarte of alleen per werkelijk uitgevoerde behandelingscyclus wordt opgegeven. Evenmin is altijd duidelijk hoeveel van de opgegeven zwangerschappen ook werkelijk tot de geboorte van een levensvatbaar kind leidden. De verschillen tussen de diverse centra en schema's lijken echter gering.

In Rotterdam werd voor de diagnostische groep een clomifeenschema gekozen. Voor de behandelingsgroep werd aanvankelijk gekozen voor een combinatie van clomifeen met HMG. Getoond werd dat de oöcytenopbrengst zowel als de bevruchtungskans hierdoor toenamen (tabel 8). Dit stemt overeen met eerder genoemde literatuur (o.a. Wood en Trounson, 1984). Verder zijn de diagnostische en behandelingsgroep uit de eigen studie niet vergelijkbaar. Behalve de grotere oöcytenopbrengst kan het achterwege laten van manipulaties aan de uterus bij laparoscopie en de aanpassing van de duur van de follikelstimulatie en het moment van follikelpunctie aan de echoscopische follikelgroei bijgedragen hebben aan het hogere zwangerschapspercentage van de behandelingsgroep: 2/105 voor de diagnostische groep tegen 5/24 in de behandelingsgroep. Het clomifeen-HMG schema van de behandelingsgroep was overgenomen uit het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt, waar een toenemend zwangerschapspercentage werd gevonden, vergelijkbaar met de literatuur (paragraaf 5.4).

Een nieuwe ontwikkeling is de toepassing van zuiver FSH vermengd met HMG (Muasher e.a., 1985). In het Diaconessenhuis te Voorburg, als onderdeel van het Rotterdamse IVF-centrum, zijn de resultaten met een dergelijke combinatie vooralsnog veelbelovend (Jansen, persoonlijke mededeling). De belangrijkste winst is hier wellicht een verbeterde opbouw van het endometrium.

6.2.2 *Monitoring van de cycli*

Echoscopische follikelmetingen en hormoonbepalingen in serum of urine vormen de steunpilaren bij de follikelstimulatie en het bepalen van het moment van follikelpunctie. De techniek van de echoscopische follikelmeting werd vooral ontwikkeld door Hackelöer bij spontane cycli. (Hackelöer e.a., 1978/1979). Nadien zijn vele studies gevolgd (overzicht bij Leerentveld e.a., 1983). De maximale préovulatoire follikeldiameter bij een spontane cyclus varieerde bij de meeste auteurs van 20 tot 25 mm. De meettechniek zowel als de gebruikte apparatuur speelt hierbij een rol. Daarnaast kunnen adhesies en adipositas de nauwkeurigheid van de meting beïnvloeden. De patiënten in de studie van Leerentveld waren afkomstig van de diagnostische groep uit Dijkzigt, waarbij de follikelgroei volgens een vast schema werd gestimuleerd met clomifeen en HCG (hoofdstuk twee).

De resultaten bij dezelfde patiëntengroep uit het zuider-ziekenhuis toonden dat vanaf 2.5 ml inhoud goed betrouwbare follikelmetingen konden worden uitgevoerd (fig 3). Zoals gebleken in de beginfase van het onderzoek werden vooral uit de grotere follikels de meeste te bevruchten eicellen verkregen (Hoofdstuk 3, tabel I). Recent werd door Simonetti en medewerkers een verband tussen follikelgrootte en kwaliteit van de eicel aangetoond door niet bevruchting maar het ontstaan van een zwangerschap te relateren met de follikelgrootte (Simonetti e.a., 1985). Dit was mogelijk door evaluatie van zwangerschappen na enkelvoudige embryo transfer. Met follikelstimulatie met gonadotrofinen was het gemiddelde follikelvolumen van rijpe oöcyten 2.7 ml. Bij kleinere follikelvolumes werd de kans op spontane abortus groter respectievelijk trad geen bevruchting meer op. In de eigen studie werd wel meermalen bevruchting en doorgroei waargenomen tot 8-cellig stadium ook bij eicellen van follikels kleiner dan 2 ml (15.5mm). Slechts 1x betrof dit een follikel kleiner dan 1ml. Ook anderen vonden dat rijpe eicellen verkregen werden uit follikels tussen 0-1.99 ml (Wood en Trounson, 1984). Zes procent van het aantal rijpe eicellen was van dergelijke kleine follikels afkomstig. De meeste rijpe eicellen werden verkregen uit follikels met volumina tussen 2 en 10 ml.

Hoewel bij de bepaling van het moment van HCG-injectie of punctie de kleinste follikels niet van belang zijn lijken er ook geen overwegende argumenten om niet alle bij laparoscopie zichtbare follikels te punkteren. Wel lijkt het van belang het follikelvolumen in de overweging te betrekken indien geselecteerd moet worden tussen embryo's voor transplantatie.

Een aantal groepen vergeleken hormonale bepalingen met de echoscopische bevindingen. Planning van opname voor follikelpunctie gebeurde soms op geleide van oestrogenenbepalingen in urine (Lachlan e.a., 1981), maar meestal op geleide van oestradiolbepalingen in serum (Smith e.a., 1980; Quenan e.a., 1980; Kerin e.a., 1981). Oestrogenbepalingen geven echter bij gestimuleerde cycli met de ontwikkeling van multi-pele follikels, zoals bij IVF, geen informatie over aantal en afzonderlijke grootte van de follikels. De stijging van oestradiol voorafgaande aan de LH-piek kan wel informatief zijn bij het bepalen van het beste moment voor de HCG-injectie in gestimuleerde cycli. Retrospectief werd een zwangerschaps-

percentage van 31% gevonden bij HCG-injectie op de zesde dag na begin van de oestradiolstijging tegenover 21 respectievelijk 14% indien de HCG injectie gegeven was op de vijfde dan wel zevende dag (Levrán e.a., 1985). Er was geen significant verschil in aantal en grootte van de follikels van de 5-7e dag, zodat op grond van deze gegevens met de echo alleen de optimale dag voor HCG niet bepaald zou kunnen worden.

Het is nog de vraag of dit patroon van oestradiolstijging en follikelontwikkeling ook geldt bij andere dan met gonadotrofine gestimuleerde cycli en de studie moet nog bevestigd worden door prospectief onderzoek. IVF-zwangerschappen in het AZD bleken ontstaan te zijn bij sterk uiteenlopende préovulatoire oestradiolwaarden (persoonlijke mededeling). In de behandelingsgroep van het Zuiderziekenhuis in Rotterdam en het Diakonessenhuis te Voorburg werd uitsluitend afgegaan op de echoscopische follikelgroei. De resultaten zijn vergelijkbaar met de literatuur. Wel werd in alle gevallen via LH-bepaling in de urine een spontane LH-piek uitgesloten. Deze bepaling is relatief goedkoop en kan ook in perifere ziekenhuizen eenvoudig worden uitgevoerd. Bovendien blijven voor onderscheid tussen cystes, hydrosalpinx en groeiende follikels altijd herhaalde echoscopische metingen nodig.

Dat herhaalde echoscopieën vervroegde ovulatie kunnen veroorzaken (Testart e.a., 1982) werd door ons niet bevestigd. Mogelijk komt dit omdat wij LH-bepalingen in urineporties vóór de HCG-injectie verrichtten. Indien het LH-gehalte in de laatste urine voor de HCG injectie niet hoger was dan 25 E/l werd nooit vervroegde ovulatie waargenomen. Bij 100E/L of meer was dit beide malen het geval. Bij 50E/L werd 2x wel en 1x geen ovulatie gezien. Ovulatie kon door een laatste echo 1 uur voor de laparoscopie worden aangetoond of uitgesloten, zodat de laparoscopie nog bijtijds kon worden geannuleerd (niet gepubliceerd).

Nieuw is de bepaling van oestradiol in speeksel (Belkien e.a., 1985). Bij 23 patiënten werd een goede correlatie beschreven tussen serum- en speekseloestradiol. Dit zou patiënte vele bloedafnames kunnen besparen. De concentratie van oestradiol in speeksel ligt echter meer dan 50 maal zo laag als in serum, waardoor de nauwkeurigheid verminderd kan worden.

6.2.3 Punktietechniek

De optimale naalddiameters en vacuumdrukken bij follikelaspiratie zijn door verschillende onderzoekers getest (hoofdstuk drie en overzicht bij Wood en Trounson, 1984). De meeste centra gebruiken thans naalden van 1.0-1.4 mm binnendiameter, meestal met een Tefloncoating (Monash, Bourn Hall en Norfolk universiteit). Groter zijn de verschillen in de methode van aspiratie: Jones e.a. gebruikten een naald van 1.2mm binnendiameter, terwijl de follikelvloeistof door een assistent met een injectiespuit werd opgezogen (Jones e.a., 1982). Andere centra, waaronder Rotterdam, gebruiken een vacuumsysteem met een zijopening, die op signaal van de operateur door de assistent met de vinger wordt afgesloten; Wood en Trounson gebruiken een door een voetschakelaar bediend systeem om iedere vertraging bij aspiratie te voorkomen.

Verdere verhoging van de eicelopbrengst is mogelijk door naspoelen van de follikels. Bij de eerste 58 zwangerschappen in het Monash instituut waren slechts 53% van de eicellen verkregen met de follikelvloeistof. Drieëntwintig procent werd met de eerste spoeling opgezogen en 94% bij de 2e-4e spoeling. (Wood en Trounson, 1984: p79). Twaalf zwangerschappen waren ontstaan na transfer van 1 embryo. Tweemaal was de eicel afkomstig uit de eerste en tweemaal uit de tweede spoeling. De eicellen die met spoeling verkregen worden kunnen dus ook tot zwangerschap leiden. Ook ander centra pasten deze techniek toe b.v. met een naald met dubbel kanaal en een vacuumdruk van 20 mm Hg, leidend tot 61% eicelopbrengst per follikel in spontane cycli (Mettler e.a., 1982). Anderen spoelden één of twee grote follikels na indien geen eicellen werden gevonden in het eerste aspiraats, via een naald met een enkel kanaal en hernieuwd aanprikken van de follikels voor vulling met spoelvloeistof (Quigley e.a., 1982). Meestal kan dit via dezelfde opening. Een dubbelkanaalsnaald heeft als nadeel het risico op follikelscheur bij eerste aanprikken door de grotere naalddiameter; overloop van follikelvocht in de buikholte kan volgen. Wood en Trounson prefereren daarom een naald met enkel kanaal.

De follikels waren in onze diagnostische patiëntengroep niet nagespoeld. Het zou een langere narcoseduur betekenen en extra

manipulatie met de kans op complicaties als bloeding in de follikel. Echter van naspoeling werden nog geen complicaties gemeld. Mogelijk wegen dus de voordelen van naspoelen van de follikels op tegen de (theoretische?) nadelen bij infertiliteitsbehandeling via IVF.

6.2.4 *Microchirurgie voor IVF*

Als de kans op zwangerschap toeneemt met het aantal teruggeplaatste embryo's kunnen adhaesies een beperkende factor zijn indien zij de toegankelijkheid van de ovaria belemmeren. In de diagnostische patiëntengroep kon 8/122 maal geen punctie worden uitgevoerd op grond van uitgebreide adhaesievorming (hoofdstuk 5). Tijdens de experimentele fase van ons onderzoek werd bij deze patiënten geen adhaesiolysis gedaan. Indien IVF echter de enige behandelingsmogelijkheid voor de infertiliteit van zo'n patiënte is, kan laparoscopische adhaesiolyse overwogen worden. Bij uitgebreide afwijkingen zoals na recidiverende infecties, herhaalde eileideroperaties of uitgebreide endometriose werd door sommigen voorafgaand aan IVF een adhaesiolyse per laparotomie verricht, evt. met salpingectomie en ovarium-suspensie (Winston, 1984; Garcia e.a., 1985; Cohen e.a., 1985). Bij de meeste van deze patiënten (aanvankelijk afgewezen voor IVF wegens uitgebreide adhaesies in het kleine bekken) ontstonden zo vergelijkbare zwangerschapskansen als bij patiënten met goed toegankelijke ovaria.

Niet iedere patiënte met uitgebreide adhaesies komt in aanmerking voor voorbereidende microchirurgie. In één serie kwamen slechts 39/54 patiënten in het IVF-programma (Garcia e.a., 1985). Bij 4 patiënten traden opnieuw ernstige adhaesies op. In een andere serie werden slechts 22/68 patiënten met uitgebreide adhaesies geopereerd (Cohen e.a., 1985). Een grote groep patiënten komt dus niet in aanmerking voor verdere IVF-behandeling. Ook na microchirurgie -indien mogelijk- moet zwangerschapskans na IVF worden afgewacht. Er zijn echter nieuwe hoopgevende ontwikkelingen zoals echoscopische follikelpunctie langs vaginale weg, waardoor in toenemende mate de voorbereidende microchirurgie zal vervallen (Dellenbach, 1985).

6.2.5 Echoscopisch geleide follikelpunctie

Echoscopisch geleide follikelpunctie werd voor het eerst beschreven in 1982 (Lenz en Lauritsen, 1982). Nadat bij gevulde blaas de ovaria met follikels waren geïdentificeerd, werden met een naald door de blaas heen de follikels aangeprikt en leeggezogen. De eicelopbrengst was 52% per follikel en 57% per patient. Het succes van laparoscopische eicelaspiratie (tenminste 1 eicel) varieerde van 61-81% in 1981-82 (Mettler e.a., 1982; Quigley e.a., 1982; Jones e.a., 1982). De eigen studie (67% in de diagnostische groep) was hiermee vergelijkbaar. Transvesicale en laparoscopische (trans-abdominale) follikelpunctie kregen in de loop der jaren vergelijkbare eicelopbrengsten (Wickland, 1985). Hij had een eicelopbrengst van 0.84 per follikel bij echopunctie tegen 0.90 bij laparoscopie. Het zwangerschapspercentage per embryo terugplaatsing was hierbij gestegen van 2/29 in 1981 tot 16% respectievelijk 13% in 1984 en 1985. Vergelijkbare ervaringen werden gemeld door Lewin en medeauteurs (Lewin e.a., 1985).

Echoscopische punctie is -met ervaring- even succesvol als de laparoscopische. De echoscopische punctie biedt als voordelen o.a.: algehele anaesthesie is niet nodig; patiënte kan dezelfde dag weer naar huis; daarnaast is echoscopie toch al een zeer belangrijk voor de controle van de ovulatie-inductie. IVF zal hierdoor gemakkelijker herhaald kunnen worden in volgende cycli wat de kans op zwangerschap per patient zal verhogen. De methode is inmiddels veilig gebleken. Het nadeel dat de overige buikorganen niet geïnspecteerd kunnen worden is niet van belang bij toepassing van IVF na zorgvuldig vooronderzoek op de gebruikelijke methode.

Nieuwe ontwikkelingen zoals transvaginale (Nisand, 1985; Kemeter en Feichtinger, 1985) of transurethrale echoscopisch geleide puncties (Parsons e.a., 1985) lijken de echoscopische punctietechniek nog verder te verbeteren. Doordat naald en echoscoop van elkaar gescheiden zijn is steriliteit bij de ingreep eenvoudiger te handhaven. De blaas hoeft vaak niet (transvaginale punctie) of slechts éénmaal gepasseerd te worden (transurethrale methode). Dit vermindert de pijnlijkheid en de kans op bloedingen in de blaas na afloop van de punctie. Bij de transvesicale punctie wordt de blaaswand altijd tweemaal gepasseerd. Bovendien blijken de ovaria beter toegankelijk bij vaginale of transurethrale punctie. Dit geldt vooral wanneer een

of beide ovaria in het cavum Douglasi liggen of lateraal tegen de bekkenwand ten gevolge van adhaesies in het kleine bekken. De behoefte aan voorbereidende microchirurgie bij uitgebreide adhaesies in het kleine bekken zal hierdoor waarschijnlijk tevens afnemen.

6.3 Indicaties voor IVF

In het interimadvies van de Gezondheidsraad inzake in vitro fertilisatie van 10 oktober 1984 werd nog uitsluitend gesproken over patiënten met onherstelbare eileiderbeschadiging. Inmiddels zijn zwangerschappen beschreven bij vrijwel elke vorm van infertiliteit (Wood en Trounson, 1984). Tabel XIX is een samenvatting van de bevruchtungskansen van eicellen bij de verschillende infertiliteitscategorïën in de diagnostische groep. Alleen het gelijktijdig voorkomen van meerdere fertiliteitsremmende factoren en ernstige oligo-teratospermie gaf ook in vitro een duidelijk verlaagde bevruchtungskans. Gegevens over de zwangerschapskans per cyclus bij verschillende infertiliteitsoorzaken zijn inmiddels uit Melbourne bekend (Speirs, 1985). Bij tubapathologie was het zwangerschapspercentage inmiddels 20% per cyclus, bij endometriose 15.4% en 12% bij echtparen met onbegrepen infertiliteit. Echter, om vast te stellen of en op welk moment infertiliteitspatiënten in aanmerking komen voor de reageerbuis methode moet een afweging gemaakt worden tussen de kansen op een zwangerschap en kosten van IVF ten opzichte van de kosten en mogelijkheden van andere behandelingen.

Het nut van in-vitro-bevruchting voor patiënten die geen eileiders of onherstelbaar beschadigde eileiders hebben hoeft geen betoog. Moeilijker wordt het voor minder ernstige eileiderbeschadigingen. De eileiderchirurgie heeft de laatste 10 jaar aanzienlijke vooruitgang geboekt met de invoering van electromicrochirurgische technieken, de microscoop en de steeds fijnere en indifferente hechtmaterialen (Winston, 1981). Toch lijken ook hier nu de grenzen van het mogelijke gehaald. Een recente vergelijking tussen CO₂-laser en de microdiathermische techniek bij salpingostomieën (Tulandi e.a., 1984) toonde dat alleen het interval tussen operatie en zwangerschap was verkort. De percentages intrauteriene zwangerschappen lagen voor beide technieken even boven de 20%

Tabel XIX

Selectie criteria voor IVF behandeling.

Gunstige factoren	Kans op a) Bevruchting	Ongunstige factoren	Kans op a) Bevruchting
b)			
Zuiver Tubair	79%	Combinaties van factoren inclusief androgene factor	32%
Endometriose	71%	Combinaties van factoren zonder androgene factor.	33%
Idiopathisch	67%	c)	
c)		Semen factoren:	
> 5×10^6 normale spermatozoa/ml	60%	< 5×10^6 normale spermatozoa/ml	31%
> 10×10^6 normale spermatozoa/ml	67%		

a) = Bepaald in de "diagnostische" groep met vast, op normale OK tijden gericht, ovulatie inductie schema met clomifeen 5x1 tab/dag en eenmalige HCG-injectie ca 34 uur voor laparoscopie. Per patiënt 1 of meer bevruchte oöcyten.

b) = Tuba afwijkingen uitsluitend ten gevolge van endometriose werden niet beschouwd als meerdere factoren maar als een vorm van zuiver endometriose.

c) = Bij semen analyses met $> 20 \times 10^6$ /ml, $> 30\%$ normale vorm en $> 30\%$ motiliteit was de bevruchttings kans 68%, ongeacht de oorzaak van de infertiliteit.

met een EUG (extra-uteriene graviditeit) percentage van 6.9%. Deze cijfers zijn representatief voor salpingostomie en salpingolyse. Hogere cijfers tot 44% zijn slechts mogelijk bij verdere selectie van patiënten (Rosenborg e.a., 1982). Ook deze laatste groep bereikt echter een succespercentage van rond de 20% bij afgesloten tubae door ontsteking.

Het is thans niet meer de techniek maar de mate van intrinsieke beschadiging van de eileiders die verdere verhoging van de succespercentages in de weg staat. Het interval tussen salpingostomie en zwangerschap in deze recente literatuurgegevens was gemiddeld 6,5 maand. De meeste zwangerschappen ontstonden binnen twee, vrijwel alle binnen vier jaar. Voor hersteloperaties na sterilisatie liggen de kansen beter. Indien end-end anastomoses mogelijk zijn worden zwangerschapspercentages van gemiddeld 60% bereikt (Gomel, 1980; Grunert e.a., 1981). Voor sterilisaties door middel van clips (Hulka/Filshie) of ringen (Fallope) liggen de cijfers gunstiger dan na diathermie of de methode van Pomeroy en de kansen zijn het slechts indien bij sterilisatie fimbriëctomie werd uitgevoerd (Paterson, 1985).

Tabel XX toont een overzicht van de kosten van IVF en tubachirurgie. De exacte hoogte van de afzonderlijke bedragen kan variëren, bijvoorbeeld door verschillen in prijzen van ligdagen tussen ziekenhuizen. Wel is vergelijking van de kosten van verschillende behandelingen mogelijk en geeft de tabel een richtlijn voor verdere beschouwingen van de kostenfactor. Als uitgangspunt is de berekening genomen voor de behandeling met de reageerbuismethode via laparoscopische punctie zoals in het interimadvies van 1984 (pag 71). Kort weergegeven vormt dit de eerste kolom van tabel XX. De echoscopische puncties (transvesicaal of transvaginaal) is kostenbesparend, omdat algehele narcose niet nodig is, waardoor de opnameduur bekort wordt. Wel blijft observatie gedurende meerdere uren na de punctie nodig (dagbehandeling). Voor de patiënt is herhaling van de behandeling minder belastend. Dit verhoogt de totale kans op zwangerschap en vermindert de spanning verbonden aan de behandeling. De resultaten van echoscopische puncties zijn thans vergelijkbaar aan die van de laparoscopische puncties.

Tabel XX

Overzicht kosten IVF en tubachirurgie uitgaande van de berekening voor de laparoscopische follikelpunctie uit het interimadvies van de gezondheidsraad, oktober 1984.

	IVF-behandeling lap.scopie/echopunctie		Tubachirurgie wegens ontsteking of endometriose
I Intake	f 208,-	/ 208,-	208,-
II Préoperatief			
-extra consulten	362,50	/ 362,50	—
-3x echoscopie a)	503,-	/ 503,-	—
incl. extra kosten			
-laboratorium			
sperma onderzoek	34,-	/ 34,-	34,-
hormoon bepalingen a)	425,-	/ 425,-	65,- (progesteron)
pre-operat. routine	35,-	/ 35,-	35,-
III Operatief	b)	c)	d)
opname	1553,-	/ 125,-	5178,-
ingreep OK tarief		/ 565,- e)	565,-
Specialist	328,25	/ 328,- f)	549,80
Anaesthesie		—	338,40
IV KweekLaboratorium	554,-	/ 554,-	—
V Terugplaatsing	436,-	/ 436,-	—
	<u>+</u>	<u>+</u>	<u>+</u>
Totaal:	f 4439,-	f 3575,-	f 6973,-

a)= extra kosten t.g.v. cito-bepalingen + materiaalverlies en onregelmatigheidstoelag.

b)= 3 ligdagen à f 517,80

c)= 24-uurs tarief.

d)= 10 ligdagen à f 517,80

e)= O.K. tarief 2.

f)= Hier is vergelijking gemaakt met code 6951, dubbelzijdige adnex-operatie. Wat betreft tijdsduur, materiaalkosten enz. hiermee overeenkomend.

Tabel XXI

Resultaten van de behandelingsgroep van het Rotterdamse IVF-centrum van 1 oktober 1985 tot en met 15 april 1986 (niet gecorrigeerd voor bijzondere gevallen en hogere leeftijden).

Toeleverings- ziekenhuis	Aantal behandelingen	Aantal zwangerschappen (%)	Doorgaande a) zwangerschappen (%)
Dijkzigt	136	26 (19%)	21 (15.4%)
Diakonessenhuis Voorburg	47	14 (30%)	12 (26%)
Zuiderziekenhuis Rotterdam	16	4 (25%)	3 (19%)
Franciscus GH Rotterdam	5	0	-
Geldrop	1	1	0
AZ Leiden	9	2 (22%)	2 (22%)
Totaal	214	47 (22%)	38 (18%)

a) = Totaal 7x abortus (15%) en 2x EUG (4%). Onder de doorgaande zwangerschappen zijn 5 tweeling- en 2 drielingzwangerschappen en 1 vierlingzwangerschap.

Naarmate meer behandelingen per patiënt toegestaan worden zullen de totale kosten stijgen. De gemiddelde kosten per kind worden echter niet hoger zolang de kans op zwangerschap per opvolgende behandelingscyclus gelijk blijft. Daarom zijn, vanuit kosten oogpunt, de gemiddelde kosten per kind dat na de behandeling is geboren een goede maat om infertiliteits-

behandelingen te vergelijken. Muasher en medewerkers vonden geen verschil in de kans op zwangerschap tussen patiënten die voor het eerst aan het IVF-programma deelnamen en patiënten die al eerder een follikelpunctie hadden ondergaan die niet had geleid tot een zwangerschap (Muasher e.a., 1985). Ook Speirs meldde bij patiënten met tubapathologie een constante toename van het aantal zwangerschappen in elk geval tot en met 4 behandelingscycli met het eerder genoemde zwangerschapspercentage van 20% per cyclus (Speirs, 1985).

Tabel XXI geeft een overzicht van de behandelingsgroep van het Rotterdamse IVF-centrum van begin oktober 1985 tot en met medio april 1986. Gemiddeld ontstonden over deze periode per behandeling 18% doorgaande zwangerschappen. Dit betrof patiënten met zowel tubaire als niet tubaire bevruchtingsstoornissen. Direkte vergelijking tussen de ziekenhuizen wordt bemoeilijkt door verschillen in de voorselectie van patiënten voor IVF-behandeling. In elk geval blijkt dat ook bij transport van onbevruchte eicellen over grotere afstanden (langere transportduur) dan van Zuiderziekenhuis naar de EUR, de zwangerschapskans niet vermindert (Diakonessenhuis Voorburg, AZ Leiden).

Dit betekent dat de reageerbuismethode steeds meer de plaats van de tubachirurgie kan innemen. Uit tabel XXII blijkt dat de toegenomen zwangerschapskans tot circa 20% IVF via echoscopische punctie de voorkeursbehandeling kan maken voor patiënten met eileiderafwijkingen ten gevolge van salpingitis. Wel zijn er dan voldoende faciliteiten voor IVF nodig. Immers de kans op zwangerschap na hersteloperatie wegens hydrosalpingen varieert van 0-44% (gemiddeld 20%) afhankelijk van het aspekt van de eileiders. Bij een zwangerschapskans van 20% per cyclus wordt via de reageerbuismethode een zwangerschapspercentage gehaald van 49% ($20 + 0.8 \times 20 + 0.64 \times 20\%$) na drie behandelingscycli. De gemiddelde kostprijs per doorgaande zwangerschap na een reageerbuisbehandeling via echoscopische punctie is dan gelijk aan de gemiddelde kosten van een zwangerschap na tubachirurgie met 40% succeskans. Bovendien wordt deze 40% na tubachirurgie alleen gehaald bij de dunwandige hydrosalpingen. Na vier cycli bedraagt het zwangerschapspercentage na IVF 59%, waarmee het gemiddelde zwangerschapscijfer benaderd wordt van hersteloperaties na sterilisatie van de vrouw. De gemiddelde prijs van een doorgaande zwangerschap na operatief herstel van een sterilisatie, indien mogelijk, is voorlopig echter nog lager

dan met de IVF-methode. Duidelijker wordt dit nog indien sterilisatie was uitgevoerd met clips of ringen, waarbij het succes van operatie tot 80% kan oplopen. Uiteraard zijn na succesvolle tubachirurgie in principe meerdere zwangerschappen mogelijk zonder verdere behandeling. Daarnaast is de emotionele belasting met IVF-behandeling geconcentreerd in enkele maanden, terwijl deze bij tubachirurgie over enkele jaren gespreid kan zijn. Dit kan zowel een voordeel als een nadeel zijn.

De kans op zwangerschap in de "normale" populatie is 12-20% per cyclus (Cooke, 1981). Dat hogere zwangerschapspercentages mogelijk zijn dan "spontaan in de natuur" is bekend bij behandeling met luteïniserend hormoon-releasing hormoon (LH-RH) (Miller e.a., 1983; Berg e.a., 1983; Hurley e.a., 1984). Het succespercentage van IVF is nog steeds in stijgende lijn, zodat in de toekomst ook bij spijt na sterilisatie de rol van IVF groter zou kunnen worden (zie tabel XXII).

Tabel XXII.

Gemiddelde kosten per zwangerschap na IVF behandeling en na tubachirurgie

methode	Kosten voor de gezondheidszorg bij een gemiddelde kans op een doorgaande zwangerschap van				
	10%	20%	40%	60%	80%
IVF laparosc.punctie f	45.000,-	22.500,-	(11.250,-)		
echoscop.punctie f	35.750,-	17.875,-	(8940,-)		
Tubachirurgie f		34.850,-	17.425	11.620,-	8715,-

Tabel XXIII geeft een overzicht van indicaties voor IVF zoals deze volgens de in dit proefschrift besproken argumenten zouden gelden. Voor onbegrepen infertiliteit, patiënten met endometriose en bij semenafwijkingen is het moeilijker een kosten-baten analyse te geven dan bij de tuba-afwijkingen. Voor deze groepen gaat het om een extra kans op een zwangerschap waar tot heden de mogelijkheden ophielden. Hier kan een vergelijking gemaakt worden met patiënten met moeilijk te behandelen ovulatiestoornissen. Waar eerst alleen ovulatie-inductie met

Aanvullende onderzoeken zoals hysteroscopie (Snowden e.a., 1984) of tubacatheterisatie (Nordenskjöld e.a., 1983) verhogen de kans op het vinden van onverwachte uteriene en tubaire afwijkingen.

Naast het vinden van anatomische afwijkingen biedt laparoscopie -door toevoeging van een follikelpunctie zoals hier beschreven- de gelegenheid informatie te verkrijgen over de bevruchtungskans tussen de eicel en de zaadcel. Zoals besproken in hoofdstuk vijf geeft een positieve IVF-test meer informatie dan de hamstertest, die wel de mogelijkheid van fusie van eicel en zaadcel laat zien maar niet in staat is problemen bij de penetratie van de zona pellucida vast te stellen.

Hoewel het nut van diagnostische laparoscopie bij infertiliteitspatiënten vaststaat, levert dit bij een deel van de patiënten geen nieuwe gezichtspunten op. De effectiviteit van de diagnostische laparoscopie zal belangrijk kunnen toenemen door -ook in perifere ziekenhuizen- IVF eraan toe te voegen (in samenwerking met een centrum). Samen met andere onderzoeken als hysteroscopie en hamstertest kan zo een moderne diagnostiek en behandeling van onbegrepen infertiliteit gerealiseerd worden. Echoscopische follikelpuncties en IVF-behandeling zullen toch voorafgegaan moeten worden door laparoscopische inspectie omdat echoscopie alleen, niet zo'n gedetailleerde inspectie van de buikorganen toelaat. Concentratie van alle diagnostische laparoscopieën in centrumziekenhuizen is onmogelijk qua werkbelasting en onwenselijk omdat daarmee infertiliteitsbehandeling van de overige gynaecologie zou worden losgemaakt.

Een alternatief voor verruiming van de diagnostische IVF is alle patiënten met of zonder eileiderafwijkingen die 2 tot 4 jaar na de afsluitende laparoscopie niet zwanger zijn geworden tenminste 1x in een centrum een IVF-behandeling te laten ondergaan, eventueel aangevuld met een hamstertest, alvorens te beslissen over een indicatie voor verdere IVF-behandelingen. Door echter de IVF-test te combineren met de diagnostische laparoscopie voor infertiliteit in perifere ziekenhuizen met transport van onbevuchte eicellen kunnen de kosten laag gehouden worden.

De uiteindelijke keuze de diagnostische laparoscopie wel of niet uit te breiden met een diagnostische IVF-test zal afhangen van politieke, ethische en financiële overwegingen. Momenteel is er nog een groot tekort aan behandelingsmogelijkheden met een grote "inhaalbehoefte". Naar verwachting zal echter over een

niet zichtbare beschadiging van het tuba-epitheel is serologisch onderzoek op gonorrhoea en chlamydia gewenst (Tjiam e.a., 1985).

Dat endometriose vaker voorkomt bij infertiliteitspatiënten werd ook recent nog weer bevestigd (Strathy e.a., 1982). Hoe de mildere vormen van endometriose de fertiliteit beïnvloeden is nog niet duidelijk. De kans op een spontane zwangerschap of na geringe bij laparoscopie uitgevoerde ingrepen is ongeveer 40% voor lichte tot matige endometriose (Sulewski e.a., 1980). Na Danazol behandeling worden voor matige endometriose zwangerschapspercentages tot bijna 60% opgegeven en voor ernstige endometriose nog percentages boven de 30% na een gecombineerde chirurgische en hormonale behandeling (Ronnberg e.a., 1984). Het interval tussen einde behandeling en zwangerschap was daarbij 6.7 resp 6.9-11.7 maanden gemiddeld voor matige en ernstige endometriose. Hiervan uitgaande zal endometriose niet primair in aanmerking komen voor in-vitro-bevruchting. Indien langere tijd na voltooiën van de andere behandelingsvormen van endometriose zwangerschap uitblijft lijkt er voor deze patiënten wel alsnog een indicatie voor IVF, bijvoorbeeld na een interval van 2(-4) jaar na staken van therapie.

Ondanks de toegenomen kennis van mannelijke infertiliteit is het aantal behandelingsmogelijkheden nog steeds beperkt. Een overzicht van talloze behandelingen geeft Hargreave (1983). Alleen bij hormonale stoornissen heeft een medicamenteuze behandeling zin. Clomifeen is vrijwel het enige middel dat, hoewel ook omstreden, nog toegepast wordt ter verbetering van semenkwaliteiten bij normale gonadotrofinespiegels (Sorbie en Perez-Marrero, 1984). Bijkomende argumenten voor behandeling zijn "tijd te winnen" of om een periode te overbruggen naar donorinseminatie of adoptie. Nieuwere vormen van behandeling zoals met LH-RH lijken even teleurstellend (Dony, 1985). Uitgezonderd bij afsluitingen in de zaadleiders, toxische stoffen of duidelijke hormonale stoornissen lijkt geduld de belangrijkste behandeling voor mannen met verminderde semenkwaliteiten. Voor de patiënten zoals in de diagnostische groep was de kans op een spontane zwangerschap inmiddels aanzienlijk afgenomen. Van de 95 patiënten waarvan het verdere verloop na de diagnostische laparoscopie bekend was, werden slechts 6 zwanger. Hieronder waren twee patiënten met een androgene factor. Op een totaal van 33 paren met een androgene factor in deze studie komt dat overeen met 6%.

Hoewel de mogelijkheden van IVF bij mannelijke infertiliteit ook beperkt zijn, worden de kansen wel vergroot. Een recente studie in Bourn Hall toonde dat embryo transfer mogelijk was bij driekwart van de vrouwen die wegens mannelijke infertiliteit in het IVF-programma waren opgenomen (bevruchting met zaad van de eigen echtgenoot). Eén derde hiervan werd zwanger (Cohen e.a., 1985). Het is dus belangrijk om bij langerdurende mannelijke infertiliteit via aanvullend onderzoek kansrijkere groepen op te sporen. Beschouwing van de afzonderlijke semenparameters van herhaalde semenanalyses is een eerste aanzet hiertoe. In geval beide partners onvruchtbaar blijken, zou het gebruik van donorzaad bij IVF nog voor een aantal patiënten uitkomst kunnen bieden (Cohen e.a., 1985). In onze diagnostische groep kwam donorinseminatie in-vitro slechts bij 4 patiënten voor, zodat deze gegevens niet verder konden worden uitgewerkt.

6.4 De waarde van de diagnostische laparoscopie

De diagnostische laparoscopie is vaak een afsluitende procedure in het onderzoek van echtparen met vruchtbaarheidsstoornissen. De afwijkingen die daarbij het meest worden vastgesteld zijn eileiderpathologie en endometriose. Naar schatting is endometriose de enige afwijking bij 6-15% van de infertiele echtparen (Spangler e.a., 1971); andere studies geven percentages tot 48% (Drake en Grunert, 1980). Afwijkingen aan de eileiders komen naar schatting voor bij 30-50% van de vrouwen met infertiliteit, terwijl het totale percentage afwijkingen in het kleine bekken geschat wordt op 50% (Speroff, 1983, p 469 en 483). Veelal zal al een vermoeden bestaan op eileiderafwijkingen op grond van het hysterosalpingogram (HSG). Laparoscopisch kon men in 84% een op het HSG vermoede eileiderafwijking bevestigen, terwijl bij 13% van de patiënten met een normaal HSG bij laparoscopie toch een afwijking werd gevonden (Snowden e.a., 1984). Laparoscopie leidde bij circa 15% van de patiënten tot een verandering van de mening over de eileiders. In een Scandinavische studie bestond bij 55% van de patiënten met afwijkingen bij laparoscopie tevoren geen verdenking hierop (Nordenskjöld en Ahlgren, 1983). De overeenstemming betreffende de doorgankelijkheid van de eileiders tussen HSG en laparoscopie bedroeg 71%. In een recent onderzoek bij 128 patiënten werden vergelijkbare resultaten verkregen (Ismajovich e.a., 1986).

clomifeen en gonadotrofines aanwezig was, gaf later de behandeling met LH-RH nieuwe mogelijkheden. Een behandeling met de LH-RH pomp kost aan medicament, hormonale en echoscopische controles en gebruik van disposable materiaal tegen de f 3000,- per maand. Dit wordt door het ziekenfonds op indicatie vergoed. De pomp die voor meerdere patiënten achtereenvolgens te gebruiken is kost afhankelijk van het merk ook nog eens 3000 tot 4400 gulden. Wat dat betreft is IVF geen uitzonderlijk dure behandeling.

Tabel XXIII

Indicaties voor IVF, gebaseerd op gegevens t/m begin 1986.

Oorzaak van infertiliteit (andere pathologie uitgesloten)	Aanvullende condities
eileiderpathologie	onherstelbaar: direkt
na vroegere tubachirurgie	2-4 jaar nadien zonder zwangerschap
na salpingitis	voorkeur boven tubachirurgie
na sterilisatie	na clips of ring tubachirurgie 1e keus na coagulatie afhankelijk van letsel
idiopathisch	2-4 jyr bestaand ondanks behandeling
endometriose a)	positieve hamster- en/of IVF-test bij
mannelijke factor	eerdere diagnostische laparoscopie.

a) = Bij prioriteitstelling rekening houdend met de gemiddelde resultaten van herhaalde semenanalyses: bevruchtungskans per eicel is bij < 6 miljoen normale spermatozoa per ml slechts 4/10 van de kans bij uitsluitend tubopathologie.

De diagnose idiopathische of onbegrepen infertiliteit (zie beschouwing in hoofdstuk vijf) kan eerst gesteld worden als de cyclus geëvalueerd is met herhaalde progesteronbepalingen in de luteale fase en als de follikelontwikkeling tenminste éénmaal echoscopisch vervolgd is. Daarnaast moet via de hamstertest of de IVF-test gebleken zijn dat het zaad kan bevruchten (Burslem en Osborn, 1986). Wegens de mogelijkheid van macroscopisch

aantal jaren IVF een normaal onderdeel van de infertiliteitsbehandeling (en onderzoek) zijn.

6.5 Organisatie van IVF in Nederland

De adviescommissie van de Gezondheidsraad ging in 1984 al uit van maximaal drie behandelingen per patiënt (p.43). Uitgaande van circa 1800 nieuwe patiënten per jaar met ongewenste kinderloosheid ten gevolge van tubapathologie kwam zij in haar berekeningen uit op de behoefte aan 2000-2500 behandelingen per jaar. Door de snelheid van de ontwikkelingen, waarvan het einde waarschijnlijk nog niet bereikt is, zijn deze berekeningen achterhaald. Een poliklinische IVF-dagbehandeling kan een lagere drempel hebben dan tubachirurgie. Het percentage patiënten dat opteert voor een dergelijke IVF-behandeling kan hierdoor wel eens groter zijn dan in geval van tubachirurgie. Daarnaast treedt een verschuiving op in de indicaties van tubachirurgie naar IVF. De toegenomen bekendheid van IVF en het stijgende succes zal dit effect waarschijnlijk nog versterken. Tevens is duidelijk geworden dat ook andere oorzaken van infertiliteit dan tubapathologie via de reageerbuismethode (alsnog) behandeld kunnen worden. De schatting door de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG) van de behoefte aan IVF behandelingen van 7000 per jaar lijkt gezien de huidige gegevens een betere raming dan de oorspronkelijke 2500. (brief NVOG aan commissie KID/IVF Gezondheidsraad, dd. 31 juli 1984).

Indien men dit over vijf centra zou willen verdelen betekent dit 1400 behandelingen per jaar per centrum. Dergelijke aantallen lijken alleen haalbaar in uitsluitend op IVF gespecialiseerde centra. Op grond van de Rotterdamse ervaringen lijkt voor een academisch ziekenhuis in Nederland dat zijn brede oriëntering wil behouden een aantal van 300-400 behandelingen haalbaar. Dit zou neerkomen op 20 centra. Met de acht academische ziekenhuizen en Tilburg zouden er momenteel 9 centra zijn die, in verschillend stadium van ontwikkeling, zelfstandig zouden kunnen gaan werken. Het is de vraag of al deze centra een zelfde aantal behandelingen per jaar zouden moeten verwerken. Ieder laboratorium maakt een ontwikkelingsfase door om tot goede resultaten te komen. Ook de organisatie binnen een ziekenhuis zal moeten groeien. Daarbij geldt nog steeds dat de capaciteit van een laboratorium groter is dan die van een ziekenhuis. Een

betere benutting van de capaciteit van een laboratorium leidt tot een snellere ontwikkeling van de vaardigheid en verbeteringen van de methode en handhaving van de kwaliteit. Het is de dan ook de vraag of de nadruk moet blijven liggen op de nabijheid van laboratorium en ziekenhuis. Dit bevordert de versnippering van laboratoria en zal waarschijnlijk de controle op experimenten met embryo's moeilijker maken.

Aangezien is gebleken dat transport van onbevuchte eicellen over zekere tijdsperiode niet nadelig is voor de bevruchtungskans van de eicellen (Plachot e.a., 1984; v. Beek e.a., 1986; Jansen e.a., 1986) is een uitbreiding van de capaciteit van IVF-behandelingen door overdracht van een deel van de behandeling naar een ziekenhuis in de omgeving van het centrum de meest voor de hand liggende oplossing. Uiteraard dienen ook aan dergelijke ziekenhuizen eisen gesteld te worden om kwaliteit van handelen te waarborgen. Een voorstel van eisen voor een "toeleveringsziekenhuis" is als bijlage 2 toegevoegd. Eerste uitgangspunt is nauwe samenwerking en geregeld overleg met de werkgroep van het centrumziekenhuis. Ten tweede dient er ter plaatse behoefte te bestaan aan uitbreiding van de klinische capaciteit zodanig dat in het toeleveringsziekenhuis voldoende puncties kunnen worden uitgevoerd om de ervaring op peil te houden. De kwaliteit van handelen kan via het kweeklaboratorium worden getoetst aan de hand van de zwangerschapspercentages per behandeling. Door zowel het aantal toegestane IVF-behandelingen per centrum aan te passen aan de capaciteit en ontwikkelingsfase van een centrum en via de mogelijkheid een deel van de behandeling onder strikte voorwaarden uit te besteden aan een perifeer ziekenhuis ontstaat een flexibel systeem dat handhaving van de kwaliteit waarborgt en zich steeds kan aanpassen aan de behoefte ter plaatse. De samenwerking in Rotterdam van het Zuiderziekenhuis en later ook het Diaconessenhuis met het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt geeft een goed voorbeeld van de mogelijkheden van een dergelijke opzet.

Tenslotte zijn alle ramingen over het aantal behandelingen per jaar niet meer dan ruwe schattingen. IVF zal in de toekomst steeds meer een normale behandeling van infertiliteit worden. Door een goede organisatie zullen de kosten van deze behandelingen in elk geval gedeeltelijk teruggehaald kunnen worden door besparing op behandelingen die anders met een lagere succeskans voortgezet zouden worden.

SAMENVATTING

Dit proefschrift beschrijft een onderzoek van de reageerbuis-bevruchtingsmethode, ook wel in-vitro-fertilisatie of IVF genoemd, bij patiënten die op grond van het voorafgaande infertiliteitsonderzoek in aanmerking kwamen voor een diagnostische laparoscopie. Aansluitend werd gestart met behandeling van echtparen met een langer dan twee jaar durende infertiliteit via de IVF-methode met transport over de weg van onbevuchte eicellen van het Zuiderziekenhuis te Rotterdam naar het laboratorium voor Endocrinologie, Groei en Voortplanting van de Erasmusuniversiteit te Rotterdam.

In hoofdstuk 1 worden na een inleiding over de historie van de IVF de uitgangspunten van het onderzoek aangegeven. Belangrijk daarbij waren het vroege ontwikkelingsstadium van de techniek, de onvolledige benutting van de capaciteit van het kweeklaboratorium en het ontbreken van een goede financiële regeling voor de IVF-behandeling in Nederland. Als doelstellingen van het onderzoek werden bepaald: 1. Evalueren van enkele parameters ter verbetering van de eicelopbrengst en bevruchtungskans per laparoscopie. 2. Evalueren van de mogelijkheden van transport van oöcyten van meerdere ziekenhuizen naar een centraal laboratorium. 3. Evalueren van de diagnostische mogelijkheden van IVF.

In hoofdstuk 2 worden de opzet en uitvoering van het onderzoek besproken. De studiegroep, de klinische voorbereiding, de follikelpunktiemethode en de eicelkweek in het laboratorium worden nader toegelicht. De argumenten om een deel van de ontstane embryo's tijdelijk in te vriezen voor transplantatie in een volgende cyclus in plaats van direkt terug te plaatsen in de cyclus waarin de diagnostische laparoscopie plaats vond, staan hier vermeld. Vervolgens worden de definities van de infertiliteitsoorzaken, zoals voor dit onderzoek gehanteerd, beschreven. Tot slot worden de gebruikte statistische methoden aangegeven.

In hoofdstuk 3 worden de eerste resultaten van het onderzoek besproken. De ovulatie-inductiemethode en follikelpunktietechniek worden voor de diagnostische patiëntengroep gestandaardiseerd. Op grond van de resultaten wordt voor alle patiënten in de diagnostische groep voor de verdere duur van het onderzoek de follikelgroei gestimuleerd met clomifteen 50mg per dag gedurende vijf aaneenvolgende dagen. Gemeten naar eicel-

opbrengst en bevruchtungskans wordt voortaan voor follikelpunctie tijdens laparoscopie de voorkeur gegeven aan een naald met een binnendiameter van 1,34mm. De resultaten verkregen met deze naald blijken over een traject van 100-180mmHg onafhankelijk van de gekozen druk voor follikelaspiratie.

Hoofdstuk 4 behandelt het onderzoek naar de mogelijkheden om het klinische deel van de IVF-behandeling, tot en met de follikelpunctie, in een perifere kliniek toe te passen door transport van de onbevuchte eicellen naar een centraal laboratorium voor verdere behandeling. Getoond wordt dat het transport van de eicellen tot maximaal drie kwartier de bevruchtungskans van de eicellen niet beïnvloedt. De embryo-ontwikkeling, het aantal embryotransplantaties -eventueel na tijdelijke opslag in vloeibare stikstof- en de kans op zwangerschap in de diagnostische groep van Dijkzigt en het Zuiderziekenhuis tezamen worden besproken. Tenslotte wordt een aanzet gemaakt met de IVF-behandeling in perifere ziekenhuizen met transport van eicellen. Tot en met 31 december 1985 zijn op deze wijze in Rotterdam in totaal 14 zwangerschappen ontstaan waarvan drie aborteerden in het eerste trimester. De resultaten zijn in overeenstemming met een onderzoek van transport van eicellen -tot circa 2 uur- in Parijse ziekenhuizen.

In hoofdstuk 5 wordt nagegaan of er verband bestaat tussen de bevruchtungskans van eicellen en de oorzaak van de verminderde vruchtbaarheid zoals gevonden bij patiënten uit de diagnostische groep. Het vermoeden op het bestaan van een androgene oorzaak heeft de grootste voorspellende waarde voor de bevruchtungskans van de eicellen. De kans op het bestaan van een mannelijke factor is het grootst bij het ontbreken van eileiderafwijkingen ten gevolge van infectie of endometriose. Het belangrijkste kenmerk met voorspellende waarde van de semenanalyses uit dit onderzoek bleek het voorkomen van teratospermie. De verschillen met en tussen twee andere onderzoeken naar de invloed van de verschillende semenkenmerken op de bevruchtungskansen van eicellen in-vitro worden nader besproken. De hamstereiceltest is een waardevolle aanvulling van de semenanalyses.

Hoofdstuk 6 geeft een algemene beschouwing van de literatuur over IVF tot en met begin 1986. Als grondslag voor ethische discussies worden de mogelijke biologische risico's van IVF besproken. Tot heden zijn er geen aanwijzingen dat de kans op aangeboren afwijkingen na IVF verhoogd is. Vervolgens wordt

de huidige stand van de IVF-methode besproken. Het zwangerschapspercentage per IVF-behandeling is momenteel rond de twintig procent en lijkt nog in stijgende lijn. Het abortuspercentage vormt nog een groot probleem. Echoscopische follikelpunctie lijkt in toenemende mate de laparoscopische punctie te gaan verdringen. Op grond van de literatuur en de resultaten van het eigen onderzoek worden criteria opgesteld voor behandeling van infertiliteit via de IVF-methode. Voor eileiderafwijkingen wordt een afweging gemaakt tussen de kosten van IVF en tubachirurgie. Voor de overige infertiliteitsoorzaken wordt een afweging gemaakt van de kansen op zwangerschap met en zonder IVF na verloop van verschillende tijdsperiodes. Tot slot wordt de waarde van de diagnostische laparoscopie opnieuw bezien en wordt een voorstel gedaan voor de organisatie van IVF in Nederland. Kweeklaboratoria spelen hierin een centrale rol. Door uitbreiding van de klinische capaciteit via perifere ziekenhuizen mogelijk te maken kunnen laboratoria beter benut worden, is controle op de resultaten en handelingen met embryo's eenvoudiger en ontstaat een flexibel systeem dat zich aan een wisselende behoefte kan aanpassen. Bovendien kan IVF hierdoor dichterbij de patiënt gebracht worden en een normale plaats innemen tussen andere infertiliteitsbehandelingen.

SUMMARY

This thesis describes a study of the test-tube fertilization method, also known as in-vitro fertilization or IVF, in patients who came into consideration for laparoscopic diagnosis on the basis of prior infertility examination. Hereafter, IVF therapy was started for couples with a history of infertility of over two years with road transport of unfertilized ova from the Zuider Hospital in Rotterdam to the Laboratory for Endocrinology, Development and Propagation at the Erasmus University, also in Rotterdam.

Following an introduction concerning the history of IVF, chapter I describes the situation which forms the basis for this study. The early developmental stage of the technique, incomplete use of the capacity of the culture laboratory and lack of adequate financial arrangements for IVF-treatment in the Netherlands were the main factors which led to this study. Subsequently the objectives of this study are given: 1. Evaluation of certain parameters for improvement of the ovum yield and increase of the chances of fertilization by the laparoscopic method. 2. Evaluation of the transport possibilities of oocytes from various hospitals to the central laboratory. 3. Evaluation of the diagnostic possibilities for IVF.

Chapter II covers the methodology and organisation of the study: The study group, the clinical preparations, the follicle puncture method and the ovum culture in the laboratory. The arguments in favour of temporary freezing of some of the embryos obtained, for transplantation during a following cyclus, instead of during the cyclus in which the diagnostic laparoscopy was carried out are mentioned here. Thereafter, the causes of infertility on which this study is based are described. The statistic methods used are indicated at the end of this chapter.

In chapter III, the first results of the study are discussed. The ovulation induction method and the follicle puncture technique are standardized for the patient group. On the basis of the results, the follicle growth in all patients in the diagnostic group was stimulated for the further duration of the study using 50mg of clomiphene administered daily over five

consecutive days. From then on, an injection needle with an inner diameter of 1.34 mm was preferred for follicle puncture during laparoscopy, assessed on the basis of ovum yield and fertilization chances. The results obtained with this needle appeared to be independent of the selected follicle aspiration pressure over a range of 100-180 mmHg.

Chapter IV concerns a study of the possibilities for carrying out the clinical part of the IVF-treatment, including follicle puncture, in a peripheral hospital with transport of the unfertilized ova to a central laboratory for further processing. It was found that ovum transport up to a maximum of three quarters of an hour had no effect on fertilization chances. Embryo development, the number of embryo transplantations, in some cases after temporary storage in liquid nitrogen and the chance of pregnancy in the diagnostic group at the Dijkzigt Hospital and at the Zuider Hospital are discussed together. Finally, a start was made with IVF-treatment in peripheral hospitals with ovum transport. Up to December 31st, 1985, 13 pregnancies resulted in Rotterdam of which three ended in spontaneous abortion during the first trimester. These results correspond to a study carried out in Paris hospitals with ovum transport of up to two hours.

Chapter V covers investigation of a possible connection between the fertilization chances for ova and the causes of diminished fertility as found in the diagnostic group. A surmise concerning the existence of an androgenic cause has the greatest prognostic value for the chance of fertilization of the ovum. The chance that a male factor exists is the greatest in cases where there are no abnormalities of the oviduct resulting from infection or endometriosis. For prognostic purposes, the most important element in the semen-analysis in this study appeared to be the presence of teratospermia. The differences between this and two other studies and between these two studies, which concern the influence of the various semen-characteristics on the fertilization chances of ova in-vitro, are discussed in detail. The hamster-test is a valuable supplement to semen-analyses.

Chapter VI contains a general survey of the literature on IVF up to the beginning of 1986. The possible biological risks of IVF are discussed as a basis for ethical discussion. Up to the present, there have been no indications that the risk of congenital abnormalities is increased by IVF. A discussion of

the present situation of the IVF-method follows. The pregnancy percentage for IVF-treatment is presently around 20% and appears to be rising. The abortion percentage still constitutes a serious problem. Echoscopic follicle puncture appears to be substituting laparoscopic puncture with increasing frequency. Criteria for treatment of infertility by the IVF-method are given on the basis of the literature and the results of this study. In cases where oviduct abnormalities are present, the costs of IVF are weighed off against those of tubo-surgery. For the other causes of infertility, an assessment is made of the chances of pregnancy with and without IVF, after various time intervals. Finally, the value of diagnostic laparoscopy is again reviewed, together with a proposal for the organisation of IVF in the Netherlands. Culture laboratories play a prime role here. By extending clinical capacity via peripheric hospitals, the laboratories can be more efficiently used, control of results and processing of embryos is simplified and a flexible system results which can easily adapted to requirements. Furthermore, IVF can be brought closer to the patient and can thus assume a normal place among other types of infertility treatment.

(Patiënteninformatie Zuiderziekenhuis)

Geachte mevrouw,

Bijgaand treft u een overzicht aan van de data i.v.m. de voorbereiding op de laparoscopische inspectie waarbij, naast het beoordelen van de baarmoeder en eileiders, ook geprobeerd zal worden een "eitje" op te vangen voor bevruchting buiten de baarmoeder. De kans op het aantreffen van een goed "eitje" is ongeveer 75%, mits het onderstaande schema wordt opgevolgd (zonder dit schema is de kans aanzienlijk kleiner). Bevruchting met een normale doorgroei vindt plaats (tot dusverre) bij ongeveer 40% van de patiënten. Door het lot zal dan bepaald worden of directe terugplaatsing (2-3 dagen na de laparoscopie) dan wel tijdelijke opslag van het bevruchte "eitje" zal plaatsvinden. In het laatste geval zal het "eitje" worden teruggeplaatst op een nader uitgezocht moment in een volgende cyclus, die niet "verstoord" is door een voorafgaand onderzoek onder narcose. Voor de terugplaatsing wordt het eitje opnieuw gecontroleerd. Alleen indien het aan alle eisen voldoet zal hiertoe worden overgegaan.

Welk van beide mogelijkheden de grootste kans op een zwangerschap geeft is niet bekend en een succespercentage valt (nog) niet te geven. Wel zult u er van uit moeten gaan dat de kans klein is en dat uw deelname er in de eerste plaats toe zal leiden dat de methode verbeterd en in de toekomst uitgebreider toegepast kan worden.

De bevruchting vindt plaats in het laboratorium van Prof. Zeilmaker in de medische faculteit. Eventuele terugplaatsing gebeurt poliklinisch en (vooralsnog) in het Dijkzigtziekenhuis. In principe zal dit wel gebeuren door, of in aanwezigheid van, een van onze eigen artsen (A. Verhoeff of J.J. van Beek). Uiteraard blijft het onderzoek van de baarmoeder en eileiders in alle gevallen voorop staan in deze fase van het onderzoek naar de reden van de ongewenste kinderloosheid.

Hoogachtend,

Eisen aan de IVF-centra te stellen, volgens interimadvies aan de gezondheidsraad, 10-10-1984 (hoofdstuk 5).

Centrum ziekenhuis

Behandelingsteam:

- academicus met ervaring in kweken van pre-implantatie-embryo's en ervaring in het beoordelen van embryonale ontwikkelingsstadia.
- 3 gynaecologen met goede kennis van voortplantingsendocrinologie voor adequate follikelstimulatie en vertrouwd met laparoscopie en echoscopie; tenminste 40 puncties per gynaecoloog per jaar.
- een ervaren tubachirurg met oog op de indicatiestelling.
- een endocrinoloog
- een klinisch geneticus
- een obstetricus
- een deskundige op psychosociaal gebied voor begeleiding en vervolgonderzoek
- een ziekenhuiscommissie medische ethiek

Conditie:

- goed uitgerust IVF-laboratorium (basis uitrusting aangegeven).
- wetenschappelijke bewerking van het verkregen materiaal.
- richtlijnen ten aanzien van indicatie en techniek in overleg met toeleverende gynaecologen
- tenminste 120 behandelingen per jaar
- na aanloopfase ca 20% geboorten per 3 behandelingen (ca 7% per behandelingscyclus)

Voorstel eisen voor een "toeleveringsziekenhuis":

- tenminste 1 gynaecoloog met goede kennis van infertiliteitsonderzoek en behandeling als coördinator van de handelingen, die zich zodanig vrij kan maken dat ca. 40 behandelingen per jaar uitgevoerd kunnen worden (ca. 400 werkuren, ca. 20% van de werktijd).

- waarnemingsregeling voor het praktische gedeelte van de behandeling.
- ervaring met echoscopische follikelmeting en punctie
- oestradiol en LH-bepaling
- medisch ethische commissie
- periodiek overleg met werkgroep in het centrumziekenhuis: indicaties, taakverdeling, (veranderingen in de te volgen techniek), resultaten.
- na aanloopfase een met het centrumziekenhuis vergelijkbaar zwangerschapspercentage.
- op grond van eigen populatie infertiliteitspatiënten of die van het meest nabij gelegen IVF-centrum behoefte aan uitbreiding van de (klinische) capaciteit.

LITERATUUR

AITKEN J, 1983

The zona-free hamster egg penetration test. uit "Male Infertility",
Ed. T.B. Hardgreave, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
Tokyo. pag 75

ALBERDA ATH, ZEILMAKER GH, 1983

In-vitro-bevruchting en embryotransplantatie bij de behandeling van
infertiliteit.
Fert Informatorium IV-1400-1

ALBERDA ATH, 1984

In vitro fertilisatie. uit "Fertiliteitsonderzoek en behandeling
anno 1984". Eds. Slager en van Dop, Jos Mathot BV, Haarlem

ANGELL RR, AITKEN RJ, LOOK v. PFA e.a., 1983

Chromosomal abnormalities in human embryos after in vitro
fertilization.
Nature 303: 336

AUSMANAS M, TURECH RW, BLASCO L e.a., 1985

The zona-free hamster egg penetration assay as a prognostic
indicator in a human in vitro fertilisation program.
Fertil Steril 43: 433

AUSTIN C, 1973

Embryonic transfer and sensitivity to teratogenesis.
Nature 244: 333

BEEK v JJ, VERHOEFF A, JANSEN CAM e.a., 1986

In-vitro-bevruchting, samenwerking tussen perifere ziekenhuizen en
een centraal laboratorium.
Ned Tijdschr Geneesk 130: 638

BELKIEN LD, BORDT J, MOLLER P e.a., 1985

Estradiol in saliva for monitoring follicular stimulation in an in
vitro fertilization program.
Fertil Steril 44: 322

BERG D, MICKAN H, MICHAEL S e.a., 1983

Ovulation and pregnancy after pulsatile administration of
gonadotropin releasing hormone.
Arch Gynecol 233:205

- BLANDAU RJ, 1980
In vitro fertilization and embryo transfer.
Fertil Steril 33: 3
- BLERKOM v. J, HENRY G, PORRECO R, 1984
Preimplantation human embryonic development from polypronuclear
eggs after in vitro fertilization
Fertil Steril 41: 686
- BURSLEM RW, OSBORN JC, 1986
Unexplained infertility.
Br Med J 292: 576
- COHEN J, 1982
Interactie tussen menselijke zaadcellen en hamstereicellen.
Proefschrift, Rotterdam 1982
- COHEN J, EDWARDS RG, FEHILLY CB e.a., 1985
In vitro fertilization: a treatment for male infertility.
Fertil Steril 43: 422
- COHEN J, EDWARDS RG, FEHILLY CB e.a., 1985
In vitro fertilization using cryopreserved donor semen in cases
both partners are infertile.
Fertil Steril 43: 570
- COHEN J, SERKINE AM, SOLAL e.a., 1985
Results of surgery designed to prepare for in vitro fertilization.
J Gynecol Obstet Biol Reprod 14: 223
- CHANG MC, 1959.
Fertilization of rabbit ova in vitro.
Nature 184: 406
- DALY DC, SOTO-ALBORS C, WALTERS C e.a., 1985
Ultrasonographic assessment of luteinized unruptured follicle
syndrome in unexplained infertility.
Fertil Steril 43: 62
- DELLENBACH P, NISAND I, MOREAU L e.a., 1985
Transvaginal sonographically controlled follicle puncture for
oocyte retrieval
Fertil Steril 35:489

LITERATUUR

DIZEREGA GS, HODGEN GD, 1981

Luteal phase dysfunction infertility: a sequel to aberrant folliculogenesis.

Fertil Steril 35: 489

DONY JMJ, 1985

Idiopathic oligospermia, endocrinological and therapeutical aspects.

Proefschrift, Nijmegen 1985.

DRAKE TS, GRUNERT GM, 1980

The unsuspected pelvic factor in the infertility investigation.

Fertil Steril 34: 27

EDWARDS RG, 1965.

Maturation in vitro of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes.

Nature 208: 349

EDWARDS RG, STEPTOE PC, 1983

Current status of in-vitro fertilisation and implantation of human embryos.

The Lancet, 3 dec.: 1265

ENGLERT Y, ROGER M, BELAISEN-ALLART J e.a., 1984

Delayed appearance of plasmatic chorionic gonadotropin in pregnancies after in vitro fertilization and embryo transfer.

Fertil Steril 42: 835

FEICHTINGER W, KEMETER P, SZALAY S, 1983

The morphological, endocrine and technical factors considered in relation to the result of embryo reimplantation in human uteruses

J Gynecol Obstet Biol Reprod 12: 643

FISHEL SB, EDWARDS RG, PURDY JM, 1984

Analysis of 25 infertile patients treated consecutively by in vitro fertilization at Bourn Hall.

Fertil Steril 42: 191

GARCIA JE, JONES HW Jr, ACOSTA AA e.a., 1985

Reconstructive pelvic operations for in vitro fertilization.

Am J Obstet Gynecol 153: 172

- GLAZENER CMA, BAILEY I, HULL MGR, 1985
Effectiveness of vaginal administration of progesterone.
Br J Obstet Gynecol 92: 364
- GOMEL V, 1980
Microsurgical reversal of female sterilization: a reappraisal.
Fertil Steril 33: 587
- GRUNERT GM, DRAKE TS, TAKAKI NK, 1981
Microsurgical reanastomosis of the fallopian tubes for reversal of
sterilization.
Obstet Gynecol 58: 148
- GLUSLER M, MARCK CHM, MISHELL DR e.a., 1982
A decade experience with an individualized clomiphene treatment
regime including its effects on the postcoital test.
Fertil Steril 37: 161
- HACKELOER BJ, ROBINSON HP, 1978
Ultraschalldarstellung des wachsenden follikels und corpus luteum
im normalen physiologischen zyklus.
Geburtshilfe Frauenheilkd 38: 163
- HACKELOER BJ, FLEMING R, ROBINSON HP e.a., 1979
Correlation of ultrasonic and endocrinologic assessment of human
follicular development.
Am J Obstet Gynecol 135: 122
- HARGREAVE TB (editor), 1983
Male Infertility.
Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo
- HEAPE W, 1890.
Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova
within a uterine foster-mother.
Proc Roy Soc Lond : 457
- HENRY-SUCHET J, LOFFREDO V, TESQUIER L e.a., 1985
Endoscopy of the tube (=tuboscopy): Its prognostic value for
tuboplasties.
Fertil Steril 16: 139

LITERATUUR

HURSLEY DH, BRIAN R, OUTCH K e.a., 1984

Induction of ovulation and fertility in amenorrhoeic women by pulsatile low-dose gonadotropin-releasing hormone.

N Engl J Med 310: 1069

INGERSLEV HJ, 1980

Spermagglutinating antibodies and sperm penetration of cervical mucus from infertile women with sperm agglutinating antibodies in serum.

Fertil Steril 34: 561

ISMAJOVICH B, WEXLER S, GOLAN A e.a., 1986

The accuracy of hysterosalpingography versus laparoscopy in evaluation of infertile women.

Int J Gynaecol Obstet 24: 9

JONES HW, ANDREWS MC, JONES GS e.a., 1982

The program for in vitro fertilization at Norfolk.

Fertil Steril 38: 14

JONES HW Jr, ACOSTA AA, DOWELL Mc JS e.a., 1984

Three years of in vitro fertilization at Norfolk.

Fertil Steril 1984 42: 836

KEMETER P, FEICHTINGER W, NEUMARK J e.a., 1982

Influence of laparoscopic follicular aspiration under general anaesthesia on corpus luteum progesterone secretion in normal and clomiphene-stimulated cycles.

Br J Obstet Gynaecol 89: 948

KEMETER P, FEICHTINGER W, 1985

Experiences in IVF.

Proceedings of the VIth Jan Palfijn symposium, MTP Press London in press

KERIN JF, EDMONDS DK, WARNES GM e.a., 1981

Morphological and functional relations of Graafian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements.

Br J Obstet Gynaecol 88: 81

- KERIN JF, KIRBY C, MORRIS D e.a., 1983
Incidence of the luteinized unruptured follicle phenomenon in cycling women.
Fertil Steril 40: 620
- KRETZER de DM, YATES C, KOVACS GT, 1985
The use of IVF in the management of male infertility.
uit "Clinics in obstetrics and gynaecology" 12/4: 767
- LACHLAN J, O'HERLIHY C, BOULT LJ e.a., 1981
Ultrasound in an in vitro fertilization program.
Fertil Steril 35: 25
- LANCASTER PAL, JOHNSTON WIH, WOOD C e.a., 1985
Pregnancy outcome after in vitro fertilization.
Br Med J, 291: 1160
- LEERENTVELD RA, GENT I v, ALBERDA ATH e.a., 1983
Assessment of follicular development in clomiphene induced cycles by means of ultrasound and laparoscopy: A comparative study.
Ultrasound in Med Biol 9: 595
- LEETON J, TROUNSON A, JESSUP D e.a., 1982
The technique for human embryo transfer.
Fertil Steril 38: 156
- LENTON EA, LANDGREN BM, SEXTON L, 1984
Normal variation in the length of luteal phase of the menstrual cycle: Identification of the short luteal phase.
Br J Obstet Gynecol 91: 685
- LENZ S, LAURITSEN JG, 1982
Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization.
Fertil Steril 38: 673
- LEVLAN D, LOPATA A, NAYUNDER PL e.a., 1985
Analysis of the outcome of in vitro fertilization in relation to the timing of human chorionic gonadotropin administration by the duration of estradiol rise in stimulated cycles.
Fertil Steril 44: 335

LITERATUUR

- LEWIN A, MARGALIOTH EJ, RABINOWITZ R e.a., 1985
Comparative study of ultrasonically guided percutaneous aspiration with local anaesthesia and laparoscopic aspiration of follicles in an in vitro fertilization program.
Am J Obstet Gynecol 151: 621
- LOPATA A, JOHNSTON IWH, LEETON JF e.a., 1974
Collection of human oocytes at laparoscopy and laparotomy
Fertil Steril 25: 1030
- LOPATA A, JOHNSTON IWH, HOULT LJ e.a., 1980
Pregnancy following intrauterine implantation of an embryo obtained by in vitro fertilization of a preovulatory egg.
Fertil Steril 33: 117
- LOUMAYE E, VAEI Th, THOMAS K, 1985
Premature spontaneous LH surge during follicular growth stimulation for IVF.
Proceedings of the Vith Jan Palfijn symposium, MTP Press London in press.
- METTLER L, SEKI M, BAUKLOK V, 1982
Human ovum recovery via operative laparoscopy and in vitro fertilization.
Fertil Steril 38: 30
- MILLER DS, REID RR, CETEL NS e.a., 1983
Pulsatile administration of low-dose gonadotropin-releasing hormone. Ovulation and pregnancy in women with hypothalamic amenorrhoea.
J Am Med Ass 250: 2937
- MORTIMER D, TEMPLETON AA, LENTON EA e.a., 1983
Annual Patterns of human sperm production and semen quality.
Arch Androl 10: 1
- MUASHER SJ, GARCIA JE, ROSENWAKS Z, 1985
The combination of follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin for the induction of multiple follicular maturation for in vitro fertilization.
Fertil Steril 44: 62

- NISAND I, 1985
Transvesical pick-up procedures.
Proceedings of the Vith Jan Palfijn symposium, MTP Press London
- NORDENSKJOLD F, AHLGREN M, 1983
Laparoscopy in female infertility. Diagnosis and prognosis for subsequent pregnancies.
Acta Obstet Gynecol 62: 609
- PARSONS J, BOOKER M, GOSWAMY R e.a., 1985
Oocyte retrieval for in-vitro fertilisation by ultrasonically guided needle aspiration via the urethra.
The Lancet, may 11: 1976
- PATERSON PJ, 1985
Factors influencing the success of microsurgical tuboplasty for sterilization reversal.
Clin Reprod Fertil 3: 57
- PIKE IL, 1984
Biological risks of in vitro fertilization and embryo transfer.
Clinical In Vitro Fertilization, Springer Verlag, Berlin p137.
- QUENAN JT, O'BRIAN GD, BAINS LM e.a., 1980
Ultrasound scanning of ovaries to detect ovulation in women.
Fertil Steril 34: 99
- QUIGLEY MM, WOLF DP, MAKLAD NF e.a., 1982
Follicular size and number in human in vitro fertilization.
Fertil Steril 38: 678
- QUIGLEY MM, SCHMIDT CL, BEAUCAMP PJ e.a., 1984
Enhanced follicular recruitment in an in vitro fertilization program: clomiphene alone versus a clomiphene/human menopausal gonadotropin combination.
Fertil Steril 42: 25
- RENOU P, TROUNSON AO, WOOD C e.a., 1981
The collection of human oocytes for in vitro fertilization I. An instrument for maximizing oocyte recovery rate.
Fertil Steril 35: 409

LITERATUUR

- ROBERTSON RD, PICKER RH, WILSON PC e.a., 1979
Assessment of ovulation by ultrasound and plasma estradiol determinations.
Obstet Gynecol 54:686
- ROGERS BJ, 1985
The sperm penetration assay: its usefulness reevaluated.
Fertil Steril 43: 821
- RONNBERG L, JARVINEN PA, 1984
Pregnancy rates following various therapy modes for endometrioses in infertile patients.
Acta Obstet Gynaecol Scand 63, suppl: 69
- ROSENBORG L, TRONSTAD SE, SPOULAND G e.a., 1982
Results of electromicrosurgery in 78 women for correction of infertility: a two-center comparative study.
Infertility 5: 25
- SATHANANTHAN AH, TROUNSON AO, 1982
Ultrastructure of cortical granule release and zona reaction in monospermic and polyspermic human ova fertilized in vitro.
Gamete Res 6: 225
- SCHLESSELMAN JJ, 1979
How does one assess the risk of abnormalities from human in vitro fertilization.
Am J Obstet Gynecol, 135: 135
- SIMONETTI S, VEECK LL, JONES HW Jr 1985
Correlation of follicular fluid volume with oocyte morphology from follicles stimulated by human menopausal gonadotropin.
Fertil Steril 44: 177
- SMITH DH, PICKERS RH, SINOSICH e.a., 1980
Assessment of ovulation by ultrasound and estradiol levels during spontaneous and induced cycles.
Fertil Steril 33: 387

- SNOWDEN EU, JARRETT JC, DAWOOD HY, 1984
Comparison of diagnostic accuracy of laparoscopy, hysteroscopy and hysterosalpingography in evaluation of female infertility.
Fertil Steril 41: 709
- SORBIE PJ, PEREZ-MARRERO R, 1984
The use of clomiphene citrate in male infertility.
The J of Urology 131: 425
- SPANGLER DB, JONES GS, JONES HW Jr, 1971
Infertility due to endometriosis.
Am J Obstet Gynecol 109: 850
- SPEROFF L, GLASS RH, KASE NG, 1983
"Clinical Gynecologic Endocrinology & Infertility", 3e editie.
Williams & Wilkins Co, Baltimore
- SPEIRS A, 1985
Female indications.
Proceedings of the Vth Jan Palfijn symposium, MTP Press London
- STANGER JD, YOVICH JL, 1985
Reduced in-vitro fertilization of human oocytes from patients with raised basal luteinizing hormone levels during the follicular phase.
Br J Obstet Gynecol 92: 385
- STEPTOE PC, EDWARDS RG, 1976
Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy
Lancet i: 880
- STEPTOE PC, EDWARDS RG, PURDY JM, 1980
Clinical aspects of pregnancies established with cleaving embryos grown in vitro.
Br J Obstet Gynaecol 87: 757
- STRATHY JH, MOLGAARD CA, COULAM CB e.a., 1982
Endometriosis and infertility: a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women.
Fertil Steril 38: 667

LITERATUUR

- STRICKLER RC, CHRISTIANSON C, CRANE JP e.a., 1985
Ultrasound guidance for human embryo transfer.
Fertil Steril 43: 54
- SULEWSKI JM, CURCIO FC, BRONITSKY C e.a., 1980
The treatment of endometriosis at laparoscopy for infertility.
Am J Obstet Gynecol 138: 128
- TESTART J, THEBAULT A, FRYDMAN R, 1982
Premature ovulation after ovarian ultrasonography.
Br J Obst Gynaecol 89: 694
- THE AMERICAN FERTILITY ASSOCIATION, 1979
Classification of endometriosis.
Fertil Steril 32: 633
- TJAM KH, ZEILMAKER GH, ALBERDA ATH e.a., 1985
Prevalence of antibodies to Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoea and Mycoplasma hominis in infertile women.
Genitourinary Medicine 61: 175
- TJOA WS, SMOLENSKY MH, HSI BP e.a., 1982
Circannual rhythm in human sperm count revealed by serially independent sampling.
Fertil Steril 38: 454
- TRIMBOS-KEMPER TCM, TRIMBOS JB, v HALL EV, 1985
Adhesion formation after tubal surgery: results of eight-day laparoscopy in 188 patients.
Fertil Steril 43: 395
- TROUNSON AO, LEETON JF, WOOD C e.a., 1980
The investigation of idiopathic infertility by in vitro fertilization.
Fertil Steril 34: 431
- TROUNSON AO, LEETON JF, WOOD C e.a., 1981
Pregnancies in human by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle.
Science 212: 285

- TULANDI T, FARAG R, MCINNES A e.a., 1984
Reconstructive surgery of hydrosalpinx with and without the carbon dioxide laser.
Fertil Steril 42: 839
- VARGYAS JM, MORENTE C, SHANGOLD G e.a., 1984
The effect of different methods of ovarian stimulation for human in vitro fertilization and embryo replacement.
Fertil Steril 42: 745
- VASQUEZ G, WINSTON RML, BROSENS IA, 1983
Tubal mucosa and ectopic pregnancy.
Br J Obstet Gynecol 90: 468
- WARDLE PG, MITCHELL JD, McLAUGHLIN EA e.a., 1985
Human in-vitro fertilization and sperm-mucus penetration; endometriosis and unexplained infertility.
Abstracts and programme of the first meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology, p30
- WESTMORE A, 1984
uit "Clinical In Vitro Fertilization", Eds Wood and Trounson
Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo
- WHITTINGHAM DG, 1968
Nature 220:592
- WHITTINGHAM DG, LEEBO SP, MAZUR P, 1972
Survival of mouse embryos frozen to -196 and -269 C.
Science 178: 411
- WHITTINGHAM DG, 1979
In-vitro fertilization, embryo transfer and storage.
Br Med Bulletin 35: 105
- WHITTINGHAM DG, WOOD MJ, FARRAUT J e.a., 1979
Survival of frozen mouse embryos after rapid thawing from -196 C.
J Reprod Fertil 56: 11
- WICKLAND M, 1985
Transvesical pick-up procedures.
Proceedings of the Vith Jan Palfijn symposium, MTP Press London
in press

LITERATUUR

WILMUT I, 1972

The effect of cooling rate, warming rate, cryoprotective agent and stage of development on survival of mouse embryos during freezing and thawing.

Life Sciences 11: part II

WINSTON RML, 1981

Progress in tubal surgery. uit "Clinics in obstetrics and gynaecology" vol 8, no 3: 653 WB Saunders company Ltd, London.Philadelphia.Toronto

WINSTON RML, MARGARA RA, HILLIER SG, 1984

Technique and results of ovarian microsurgery in preparation for in vitro fertilization.

Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol 18: 381

WOLF DP, SOKOLOSKI JE, QUIGLEY MM, 1983

Correlation of human in vitro fertilization with the hamster egg bioassay.

Fertil Steril 40: 53

WOOD C, TROUNSON AO, LESTON JF e.a., 1981

A clinical assessment of nine pregnancies obtained by in vitro fertilization and embryo transfer.

Fertil Steril 35: 502

WOOD C, TROUNSON AO, 1984

Clinical in vitro fertilization.

Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo

WOOD C, DOWNING B, TROUNSON A e.a., 1984

Clinical implications of developments in in vitro fertilization.

Br Med J 289: 978

WOOD C, TROUNSON A, 1985

Current state and future of IVF. uit "Clinics in obstetrics and gynaecology" vol 12, no 4: 753

WB Saunders company London Philadelphia Toronto

WU CH, 1977

Plasma hormones in clomiphene citrate therapy.
Obstet Gynecol, 49: 443

YANAGIMACHI R, YANAGIMACHI H, ROGERS BJ, 1976

The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment
of the fertilizing capacity of human spermatozoa.
Biol Reprod 15: 471

YUEN BH, PRIDE SM, ROWE TC e.a., 1985

Comparison of the outcome ovulation induction therapy in an in
vitro fertilization program employing a low dose and individually
adjusted high dose schedule of human menopausal gonadotropins.
Am J Obstet Gynecol 151: 172

YOVICH JL, STANGER JD, YOVICH JM e.a., 1984

Assessment and hormonal treatment of the luteal phase of in vitro
fertilization cycles.
N.Z. J Obstet Gynecol 24: 125

YOVICH JL, STANGER JD, YOVICH JM e.a., 1985

Hormonal profiles in the follicular phase, luteal phase and first
trimester pregnancies arising from in-vitro fertilization.
Br J Obstet Gynaecol 92: 374

YOVICH JL, MCCOLM SC, YOVICH JM e.a., 1985

Early luteal serum progesterone concentrations are higher in
pregnancy cycles.
Fertil Steril 44: 185

ZEILMAKER GH, VERHAMME CPM, 1979

A simplified method for freezing mouse embryos.
Cryobiology 16: 6

ZEILMAKER GH, ALBERDA ATH, 1982

Some observations on human oocyte maturation and fertilization and
a consideration of the risks involved in employing the technique of
in vitro fertilization.
uit: Follicular maturation and ovulation. Proceedings of the IVth
Reinier de Graaf symposium, Excerpta Medica Amsterdam. p305

LITERATUUR

ZEILMAKER GH, ALBERDA ATh, GENT I van e.a., 1984

Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos.
Fertil Steril

ZEILMAKER GH, RIJCKMANS CPMP, 1986

Experience with the hamster test in an IVF laboratory.
Int J Androl, in press

Curriculum vitae

Naam: Johannes Jacobus van Beek, Hans
Geboortedatum: 4-9-1951
Geboorteplaats: Surabaia (Indonesie)

Opleiding.

1969 : Diploma Gymnasium B,
Christelijk Gymnasium te Utrecht.
24-10-1975: Artsexamen aan de Erasmusuniversiteit te Rotterdam.
1-8-1984 : Registratie als gynaecoloog.

Aanvullende opleiding.

20-6-1977 : C-diploma stralenbescherming, Leiden.

Werkzaamheden.

1971-1974 : hulpverpleger studententeam, afd. traumatologie AZR-Dijkzigt
1972-1973 : 2/10 studentenassistent afd. celbiologie en Histologie o.l.v.
Dr. W.B. van Muiswinkel. Hoofd Prof. Dr. O. Vos.
1975-1978 : Wetenschappelijk ambtenaar, Laboratorium voor Experimentele
Chirurgie, Hoofd Prof Dr. D.L. Westbroek.
Onderwerp: tumorimmunologie.
1978-1979 : Militaire dienst: Militair geneeskundige dienst Rotterdam.
1979-1984 : Opleiding tot specialist in verloskunde en gynaecologie:
1-8-'79 tot 1-4-'80 : Zuiderziekenhuis (Dr. F.B. Lammes,
R.C.P.A. van Mryden en Mw. G.J.M. Ras-Zeylmans)
1-4-'80 tot 1-8-'83 : Academisch Ziekenhuis Rotterdam
(Prof Dr. A.C. Drogendijk, Prof. Dr. H.C.S. Wallenburg en
Prof. Dr. J.W. Wladimiroff)
1-8-'83 tot 1-8-'84 : Zuiderziekenhuis Rotterdam (Dr. H.T. Lim,
Dr. M. van Lent, Mw. G.J.M. Ras-Zeylmans en Dr. A. Verhoeff)
Van het einde van de opleiding tot 1-11-'84 werkzaam als A.G.N.I.O. in
het Zuiderziekenhuis.

Huidige functie.

Sedert 1-11-'84: Vrouwenarts, Diakonessenhuis te Groningen, in maatschap
met collegae J. van der Meer, M.L. Morssink en R.A. Weenhoff.

