

# Ali lahko napovemo izostanek oploditve jajčnih celic v postopkih zunajtelesne oploditve?

Can total fertilization failure be predicted in *in vitro* fertilization cycles?

Ksenija Rakić, Veljko Vlajsavljević, Milan Reljič

Oddelek za  
reproduktivno medicino  
in ginekološko  
endokrinologijo,  
Klinika za ginekologijo  
in perinatologijo,  
Ljubljanska 5, UKC  
Maribor

**Korespondenca/  
Correspondence:**  
Ksenija Rakić

**Ključne besede:**  
zunajtelesna oploditev  
(IVF), intracitoplazmatsko  
vbrizganje semenčice  
v jajčno celico (ICSI),  
izostanek oploditve,  
število jajčnih celic,  
koncentracija gibljivih  
semenčic

**Key words:**  
*in vitro* fertilization  
(IVF), intracytoplasmic  
sperm injection (ICSI),  
total fertilization  
failure, oocyte, sperm  
concentration and  
motility

**Citirajte kot/Cite as:**  
Zdrav Vestn 2011;  
80: 1-64-1-71

Prispelo: 2. nov. 2009,  
Sprejeto: 24. nov. 2009

## Izvleček

**Izhodišča:** Z raziskavo smo želeli ugotoviti dejavnike, s katerimi bi lahko napovedali postopke zunajtelesne oploditve (IVF) s povečanim tveganjem za popolni izostanek oploditve jajčnih celic (TFF).

**Metode:** Retrospektivno smo analizirali 981 hormonsko spodbujenih ciklov IVF, pri katerih smo pri aspiraciji jajčnih foliklov dobili vsaj eno jajčno celico. Postopke IVF smo razdelili v dve skupini, in sicer glede na to, ali je prišlo do oploditve jajčne celice (Skupina 1) ali pa oploditve jajčnih celic ni bilo (Skupina 2). Med skupinama smo primerjali starost bolnic, indikacije za vključitev v postopek IVF, protokole stimulacije, število jajčnih celic in kakovost semena ter ugotavljali najprimernejše napovedne dejavnike za popolni izostanek oploditve jajčnih celic (*angl.* total fertilization failure, TFF). Za analizo smo uporabili neparametrično statistiko, univariatno in multivariatno logistično regresijo ter krivuljo občutljivosti in specifičnosti (krivuljo ROC).

**Rezultati:** V 84 (8,6 %) postopkih smo ugotovili TFF. Skupina z uspešno oploditvijo jajčnih celic in skupina z TFF sta se statistično pomembno razlikovali glede starosti bolnic, števila jajčnih celic, glede koncentracije semenčic in koncentracije gibljivih semenčic. Z metodo univariatne logistične regresije smo ugotovili, da so spremenljivke trajanje spodbujanja ovulacije, število uporabljenih ampul folitropina, število jajčnih celic ter koncentracija gibljivih semenčic statistično pomembno povezane s TFF. Multivariatna logistična regresija je pokazala, da sta edina pomembna napovedna dejavnika za TFF število jajčnih celic (razmerje obetov 1,25;  $p = 0,000$ ) in koncentracija gibljivih semenčic (razmerje obetov 1,01;  $p = 0,03$ ). S številom jajčnih celic 3 ali manj lahko z 81,1-odstotno občutljivostjo in 60,0 % specifičnostjo napovemo cikle s povečanim tveganjem za TFF. Najprimernejše mejne

vrednosti koncentracije gibljivih semenčic za napoved TFF nismo uspeli določiti. Površina pod krivuljo ROC (*angl.* area under the curve, AUC) za število jajčnih celic je bila 0,754 ( $p = 0,000$ ) ter za koncentracijo gibljivih semenčic 0,631 ( $p = 0,000$ ).

**Zaključki:** Najpomembnejša napovedna dejavnika za TFF v ciklih IVF sta majhno število jajčnih celic (*angl.* poor responders) in nižja koncentracija gibljivih semenčic.

## Abstract:

**Objective:** To analyze predictors of the IVF cycles with high risk of total fertilization failure (TFF).

**Methods:** A retrospective analysis of 981 consecutive stimulated IVF cycles with successful oocyte retrieval. IVF cycles were divided into two groups. Group 1 consisted of IVF cycles with fertilization and group 2 of IVF cycles in which none of the oocytes were fertilized (TFF). The groups were compared according to female age, indications for IVF, stimulation protocol, number of oocytes and semen quality. Nonparametric statistics was used. Logistic regression and receiver operating characteristic (ROC) curve were used to determine which variables could be used to predict TFF.

**Result(s):** TFF appeared in 84 (8.6 %) cycles. There were statistically significant differences in female age, number of oocytes, total and motile sperm concentration between the groups. Univariate logistic regression analysis showed significant prediction of TFF by duration of stimulation, number of ampoules used, number of oocytes and motile sperm concentration. According to multivariate analysis, the only two variables that can predict TFF are the number of oocytes (OR 1.25,  $p = 0.000$ ) and motile sperm concentration (OR 1.01,  $p = 0.03$ ). With ROC

analysis we have determined that the number of oocytes and motile sperm concentration have good predictive value for TFF. The most appropriate cut-off value for number of oocytes was 3, with 81.1 % sensitivity and 60.0 % specificity. We did not manage to define appropriate cut-off value, which could predict TFF for motile sperm

concentration. The area under the curve (AUC) for number of oocytes was 0.754,  $p = 0.000$  and for motile sperm concentration 0.631,  $p = 0.000$ .

**Conclusion(s):** According to our results, TFF in IVF cycles can be predicted only by low number of oocytes (poor responders) and lower motile sperm concentration.

## Uvod

Popolni izostanek oploditve jajčnih celic (Total Fertilization Failure- TFF) je neželeni izid postopkov oploditve z biomedicinsko pomočjo (OBMP). Pogosteje pričakujemo takšen izid pri klasičnem postopku zunajtelesne oploditve (*angl. in vitro fertilization*, IVF). O njem govorimo, ko se ne oplodijo jajčne celice, pridobljene s punkcijo foliklov. Pojavlja se v 1–2 % vseh postopkov IVF in je pogostejši pri parih, pri katerih je prisotna moška neplodnost.<sup>1</sup> Pogostost TFF v primeru moške neplodnosti se giblje med 4 in 50 % in je odvisna od kakovosti semena.<sup>2</sup> Zato je pri težji obliki moške neplodnosti v postopku OBMP smiselno uporabiti metodo vbrižganja semenčice v citoplazmo jajčne celice (*angl. Intracytoplasmic Sperm Injection*, ICSI), saj se tako v večini primerov izognemo izostanku oploditve.<sup>3,4</sup> Pogostnost TFF je višja tudi v primeru nepojasnjene neplodnosti (med 10 in 30 %) kar lahko preprečimo z uporabo metode ICSI.<sup>5</sup> Ker je metoda ICSI povezana s potencialnimi tveganji, je potrebno natančno opredeliti indikacije za njeno uporabo. Zato je smiselno ugotavljati prognostične dejavnike za prepoznavanje parov, pri katerih obstaja povečano tveganje za pojav TFF, in pri njih uporabiti metodo ICSI. Napovedni dejavniki za TFF v literaturi niso jasno opredeljeni, zato smo želeli z analizo naših postopkov IVF ugotoviti dejavnike, s katerimi bi lahko z visoko verjetnostjo napovedali TFF in pravočasno postavili indikacijo za ICSI.

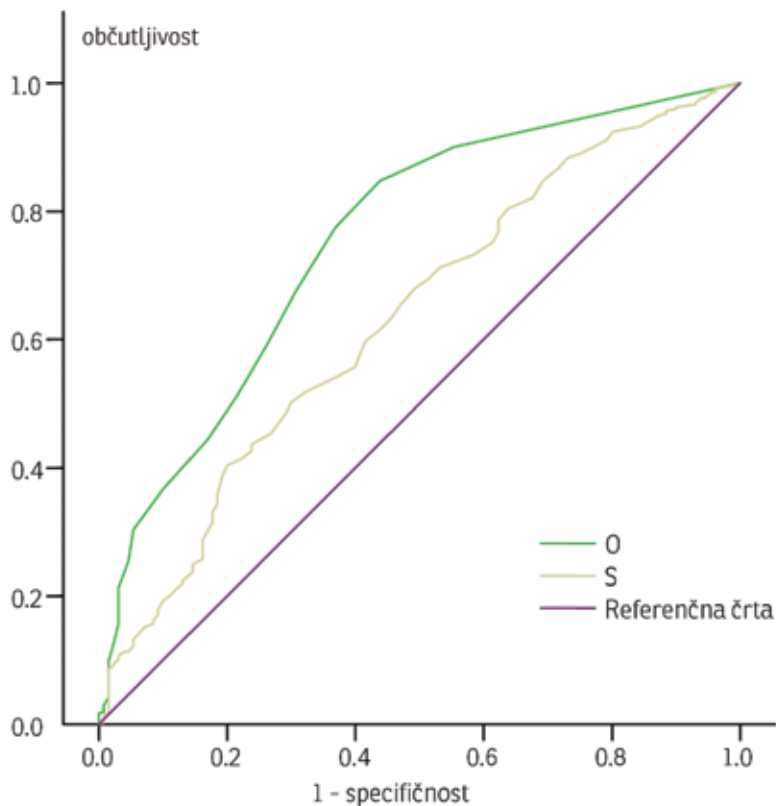
## Material in metode

Retrospektivno smo analizirali 981 zaporednih ciklov IVF, pri kateri smo razvoj foliklov spodbujali z gonadotropini in pri aspiraciji jajčnih foliklov dobili vsaj eno

jajčno celico. V analizo smo vključili tudi 33 postopkov IVF, pri katerih je bila sicer predvidena uporaba metode ICSI, vendar so jo pari odklonili. Povprečna starost bolnic je bila  $32,74 \pm 4,42$  leta. Indikacije za vključitev v IVF postopek so bile tubarni dejavnik neplodnosti (61,4 %), nepojasnjena neplodnost (19,9 %), ovarijski dejavnik (6,5 %), endometriozna (5,0 %) in uterini dejavnik (3,8 %). V 2,4 % je bila indikacija kombinirana. Pri moških je bila v 96,3 % prisotna normozoospermija, pri 1,9 % normoastenozoospermija, v 1,7 % lažja oligozoospermija in v 0,1 % težka oligozoospermija. V obdobju, zajetem z analizo, ni bilo pomembnih sprememb v klinični in laboratorijski obravnavi parov v postopkih IVF. Postopke IVF smo razdelili v dve skupini glede na to, ali je prišlo do oploditve jajčne celice (Skupina 1) ali smo ugotovili TFF (Skupina 2).

## Protokol IVF

Vse bolnice so začele z jemanjem hormonskih kontracepcijskih tabletk (HKC), ki vsebujejo 0,03 mg etinilestradiola in 0,075 mg gestodena ( Femoden®-Schering AG ) med 1. in 7. dnevom menstruacije. Bolnice so prejemale HKC najmanj 18 in največ 35 dni. Sedem dni pred zadnjo tabletko smo pri 77,9 % začeli z dajanjem agonistov sproščevalcev gonadoliberinov (GnRHa) in s tem povzročili desenzibilizacijo hipofize. V 43,8 % smo uporabili triptorelin (Diphereline®-Ipsen Pharma) , v 24,6 % goserelein (Zoladex®-AstraZeneca) in v 9,5 % buserilin (Suprefact®). V preostalih 22,1 % smo prežgodnji vrh LH preprečevali z uporabo antagonistov sproščevalcev gonadoliberinov (Cetrotide®-AstaMedica/Serono). Rast foliklov smo spodbujali z rekombinantnim folitropinom (rFSH) oziroma s humanim menopavzalnim gonadotropinom



**Slika 1:** Krivulja ROC za število jajčnih celic (O) in koncentracijo gibljivih semenčic (S).

(hMG) 5 dni po zadnji tabletki HKC. Razvoj jajčnih foliklov smo sledili z ultrazvokom. Ko so folikli dosegli povprečni premer vsaj 18 mm, smo vbrizgali 6500 IE humanega horionega gonadotropina (hCG) ali 250 mcg rekombinantnega hCG. Aspiriranje jajčnih celic smo opravili pod nadzorom ultrazvoka 35–37 ur po dajanju hCG.

### Postopki v laboratoriju

Na dan punkcije so moški oddali seme po masturbaciji. Pred tem so imeli 2- do 5-dnevno spolno abstinenco. Analizo semena so naredili najkasneje 1 uro po izlivu. Po utekočinjenju semena smo naredili mikroskopsko analizo semenskega izliva in določili: volumen ejakulata, skupno koncentracijo semenčic in koncentracijo gibljivih semenčic. Vzorec semenskega izliva smo obdelali po klasičnem laboratorijskem postopku osamitve gibljivih semenčic s plavanjem v čist medij (*angl.* swim up), s katerim smo odstranili semensko plazmo in osamili gibljive semenčice. Po laboratorijski obdelavi smo pripravljene vzorce ponovno pregledali pod mikroskopom. Mejna koncentracija semenčic za vključitev v postopek IVF je

bila >5 milijonov na mililiter. Vsak cumulus oophorus z jajčno celico smo osemnili v posodico s gojiščem in dodali 150.000 do 200.000 gibljivih semenčic. Uspešnost oploditve smo ocenjevali pod mikroskopom pri 200-kratni povečavi 18 do 20 ur po osemnitvi. Normalna oploditev je bila potrjena, če sta bila prisotna dva pronukleusa.

### Statistična analiza

Med skupinama smo primerjali značilnosti bolnikov in postopkov. Primerjali smo starost bolnic, indikacije za vključitev v postopek IVF, protokole stimulacije, število v postopku IVF pridobljenih jajčnih celic in analizo semenskega izliva na dan aspiriranja jajčnih foliklov. Za primerjavo skupin smo uporabili deskriptivno statistiko, Mann-Whitneyev U-test za zvezne spremenljivke in test hi-kvadrat za frekvenčno-distribucijske spremenljivke. Z metodo univariatne logistične regresije smo ugotavljali povezanost možnih napovednih dejavnikov z odsotnostjo oploditve. Spremenljivke, ki so bile statistično pomembno povezane z TFF, smo še vključili v model multivariatne logistične regresije. Za testiranje ustreznosti modela smo uporabili Hosmer-Lemeshow test. Krivuljo občutljivosti in specifičnosti (*angl.* receiver operating characteristic curve, ROC) smo naredili pri spremenljivkah, ki so bile značilno pomembne za izostanek oploditve. Ocenili smo pomen napovednih dejavnikov in mejne vrednosti, s katerimi najbolj napovemo TFF. Statistično analizo smo naredili s programom SPSS 15.0. Za statistično značilnost smo postavili mejo  $p < 0,05$ .

### Rezultati

Analizirali smo 981 ciklov IVF. V Skupino 1 (cikli, pri katerih je bila prisotna normalna oploditev) je bilo uvrščenih 897 ciklov, v skupino 2 (cikli TFF) pa 84 (8,6 %). Najvišji delež TFF je bil v skupini parov z nepojasnjeno neplodnostjo (Tabela 1).

Med skupinama ni bilo značilne razlike v trajanju spodbujanja (10,80 dni oziroma 10,79 dni,  $p = 0,776$ ), prav tako ne v protokolu spodbujanja in glede uporabe GnRH. Tabela 2 prikazuje značilnosti obeh skupin

**Tabela 1:** Delež ciklov z izostankom oploditve (TFF) po posameznih indikacijah za vključitev v postopek IVF.

Indikacija za IVF	Število TFF ciklov (št. ciklov IVF)	TFF(%)
Nepojasnjena neplodnost	26 (188)	13,8
Tubarni dejavnik	43 (599)	7,2
Endometrijoza	4 (50)	8,0
Ovarijski vzrok	5 (72)	6,9
Uterini dejavnik	4 (39)	10,3
Moški faktor	2 (33)	6,0
Skupaj	84 (981)	8,6

ter njihovo primerjavo. Vsi napovedni dejavniki se med skupinama statistično značilno razlikujejo.

Z metodo univariatne logistične regresije smo ugotovili, da so spremenljivke trajanje stimulacije, število porabljenih ampul, število pridobljenih jajčnih celic ter koncentracija gibljivih semenčic statistično pomembno povezane s TFF. Z multivariatno logistično regresijo pa smo ugotovili, da sta med njimi pomembna napovedna dejavnika TFF le dva, in sicer število jajčnih celic ter koncentracija gibljivih semenčic (Tabela 3).

Ustreznost testa smo preverili s Homer-Lemenshowim testom ( $p = 0,963$ ). Razmerje obetov za uspešno oploditev je tako večje pri večjem številu jajčnih celic in višji koncentraciji gibljivih semenčic. S krivuljo občutljivosti in specifičnosti (*angl.* receiver operating characteristic curve, ROC) smo ugotovili, da so tri jajčne celice najprimernejše mejno število jajčnih celic za predvidevanje nastanka TFF, ki ima občutljivost 81,1 % in specifičnost 60,0 %. Iz naših podatkov nismo mogli določiti mejne vrednosti koncentracije gibljivih semenčic, ki bi predvidela TFF in zagotovila visoko specifičnost in občutljivost. Ugotovljene vrednosti so bile blizu referenčne črte krivulje ROC, kar pomeni, da niso boljše od ugibanja. Površina pod krivuljo ROC (AUC) za število jajčnih celic je bila 0,754 ( $p = 0,000$ ), za koncentracijo gibljivih semenčic pa 0,631 ( $p = 0,000$ ) (Slika 1).

## Razpravljanje

Neoplojenost jajčnih celic (TFF) ugotavljajo pri 1–2 % vseh ciklov IVF.<sup>1</sup> Pogostejša je v tistih ciklih IVF, kjer sta prisotni moški vzrok neplodnosti in pri parih z nepojasnjeno neplodnostjo. Vemo, da je za preprečevanje TFF v primeru moške neplodnosti, učinkovita metoda in metoda prve izbire zdravljenje z ICSI.<sup>6</sup> Po nekaterih študijah pa bi TFF lahko preprečili z uporabo metode ICSI tudi pri drugih indikacijah za zdravljenje neplodnosti.<sup>5</sup> Visoka uspešnost te invazivne metode nas nedvomno lahko vodi k pretirani uporabi. V zadnjem poročilu EIM (European IVF Monitoring) v letu 2004 so več kot 50 % vseh ciklov OBMP v Evropi naredili z metodo ICSI (ICSI 59,3 %, IVF 40,7 %), med njimi le 50 % zaradi moške neplodnosti. Ker je metoda ICSI povezana s tveganji, ki jih še ne poznamo v celoti, je potrebno natančno opredeliti indikacije. Med tveganji je potrebno omeniti večje število kromosomskih napak po uporabi metode ICSI v primerjavi z metodo IVF.<sup>7</sup> Z našo raziskavo smo želeli ugotoviti, ali obstajajo napovedni dejavniki, s katerimi bi lahko z visoko verjetnostjo predvideli TFF v ciklih IVF. Pri teh parih bi lahko uporabili metodo ICSI kot zdravljenje prve izbire in na ta način preprečili TFF. Naši rezultati so glede pogostosti pojavljanja TFF v skladu z že objavljenimi podatki. Ugotovili so, da je povprečna pojavnost TFF 10,6 %; najvišja je v prvem ciklu IVF, in sicer 12,3 %, sledita drugi (8,9 %) in tretji (7,5 %).<sup>8</sup> Pri parih, kjer sta bili indikaciji za zdravljenje neplodnosti nepojasnjena neplodnost ali tubarna neplodnost z

**Tabela 2:** Primerjava značilnosti bolnic in postopkov med skupinama.

Spremenljivka	Skupina 1 mediana (min–max)	Skupina 2 mediana (min–max)	P-vrednost
Starost bolnic	33,00 (21 – 44)	34,00 ( 22 – 43)	< 0,05
Število jajčnih celic	7,00 (1 – 47)	4,00 (1 – 21)	0,000
Konc. gib. semenčic x 10 <sup>6</sup>	40,00 (5.0 – 170.0)	30,00 (5.0 – 112.0)	0,000
Skupna konc. sem. x 10 <sup>6</sup>	64,00 ( 5.0 – 300.0)	50,00 ( 9.0 – 202.0)	0,000
Število ampul	28,00 (0 – 60)	30,00 (16 – 73)	< 0,05

normozoospermijo, se je TFF pojavil v 22 % oziroma 11 %.<sup>6,9</sup> V naši raziskavi smo pri primerjavi postopkov IVF s fertilizacijo in postopkov IVF, pri katerih je nastopil TFF, ugotovili, da se skupini statistično značilno razlikujeta v starosti bolnic, številu porabljenih ampul, številu jajčnih celic, koncentraciji gibljivih semenčic ter v skupni koncentraciji semenčic, le dva parametra pa sta značilna napovedna dejavnika TFF, in sicer število jajčnih celic in koncentracija gibljivih semenčic. Glede na našo analizo starost bolnice ni napovedni dejavnik za TFF, čeprav bi ga pričakovali. Možno bi bilo, da se vpliv starosti kaže v manjšem številu aspiriranih jajčnih celic. Podobno kot drugi avtorji<sup>8</sup> smo ugotovili, da je pomemben napovedni dejavnik za TFF koncentracija gibljivih semenčic, vendar nismo mogli določiti meje, pri kateri bi lahko z visoko občutljivostjo in specifičnostjo napovedali uspešno oploditev oziroma TFF. Najverjetnejša se zdi razlaga, da smo se v večini primerov odločali za postopke IVF pri normalnem spermogramu. Če bi se pogosteje odločali za postopke IVF tudi pri lažjih oblikah moške neplodnosti, bi morda to mejo lažje določili. Vendar tudi že objavljene študije drugih avtorjev, ki so v raziskavo vključili večji delež primerov z moškim vzrokom neplodnosti, niso razjasnile te dileme. Tako sta odsotnost ali izjemno nizko število napredujoče gibljivih semenčic zelo dobra dejavnika za napoved TFF ob dejstvu, da je stopnja oploditve pri programu ICSI 63,4 %, pri programu IVF pa le 22,9 %.<sup>10</sup> TFF so v tej raziskavi potrdili v skoraj 50 % ciklov IVE.<sup>10</sup> O podobnih rezultatih glede pogostosti TFF v primeru moške neplodnosti poročajo tudi Van der Westerlaken s sodelavci.<sup>11</sup> Pri proučevanju vpliva gibljivosti semenčic na oploditev so ugotovi-

li, da je v primeru astenozoospermije visok delež izostanka oploditve v IVF ciklih, in sicer 50 %. V nobeni od omenjenih raziskav niso uspeli določiti mejne vrednosti semenjskih parametrov, ki bi lahko bili napovedni dejavniki za izostanek oploditve. Raziskave, ki so bile narejene pred uvedbo metode ICSI, so pokazale, da je bila pri parih, ki so v prejšnjem ciklu IVF imeli TFF, v naslednjem zaporednem ciklu IVF uspešna oploditev v 80 % primerov.<sup>12,13</sup> Iz tega so sklepali, da vzrok za TFF v ciklih IVF ni vedno le moški dejavnik neplodnosti. Vprašanje pa je, ali bi bila metoda ICSI primerna kot prva metoda izbire tudi pri drugih indikacijah, kot sta manjše število jajčnih celic in nepojasnjena neplodnost. V naši raziskavi smo ugotovili najvišji delež TFF v skupini parov z nepojasnjeno neplodnostjo. V študiji, ki so jo naredili Hershlag in sodelavci,<sup>5</sup> so primerjali metodi IVF in ICSI v skupini z mejnimi vrednostmi analize semenskega izliva (t. i. borderline semena) in v skupini z nepojasnjeno neplodnostjo. Ugotovili so, da v skupini z nepojasnjeno vzrokom neplodnosti dosežemo statistično značilno višjo stopnjo oploditve z metodo ICSI v primerjavi z metodo IVF (stopnja oploditve ICSI 65,3 %, IVF 48,1 %). Ni pa bilo statistično značilne razlike v skupini parov z mejnimi vrednostmi analize semenskega izliva (en ali več parametrov med normalno in patološko vrednostjo, tj. število semenčic 5–10 x 10<sup>6</sup>/ml, 20 %–30 % gibljivih semenčic, 5 %–15 % semenčic normalne morfologije z normalnim akrosomom, 20 %–50 % podolgovatih semenčic in 20 %–50 % imunsko odzivnih na protitelesa IgG). Prišli so do zaključka, da bi uporaba metod IVF in ICSI pri parih, kjer je prisotna nepojasnjena neplodnost, pripomogla k znižanju stopnje TFF.<sup>5</sup> Ne vemo

**Tabela 3:** Rezultati univariatne in multivariatne analize za napoved popolnega izostanka oploditve jajčnih celic (TFF) (OR – razmerje oboev, CI – interval zaupanja, vrednost P–p).

Spremenljivke	Univariatna analiza			Multivariatna analiza		
	OR	95 % CI	P	OR	95 % CI	P
Starost bolnice	0,95	0,9–1,00	0,08			
Trajanje stimulacije	1,08	1,03–1,15	0,003			
Število ampul	1,02	1,00–1,04	0,03			
Število jajčnih celic	1,22	1,13–1,32	0,001	1,25	1,15–1,36	0,000
Konc. gibljivih semenčic	1,01	1,00–1,02	0,036	1,01	1,00–1,03	0,03
Skupna konc. semenčic	1,01	0,99–1,014	0,085			

pa še, ali obstajajo razlike v uspešnosti med cikli IVF in ICSI v primeru, ko gre za mejne vrednosti analize semenskega izliva (mejne oblike moške neplodnosti). Nekateri avtorji predlagajo kombinacijo postopkov IVF in ICSI v diagnostične namene.<sup>10</sup> Naši rezultati kažejo, da je napovedni dejavnik za TFF tudi število pridobljenih jajčnih celic pri aspiraciji foliklov. Ugotovili smo, da so tri jajčne celice najprimernejša mejna vrednost števila jajčnih celic za napoved TFF (z občutljivostjo 81,1 % in s specifičnostjo 60,0 %). Tudi druge študije ugotavljajo, da je število jajčnih celic lahko napovedni dejavnik za TFF, tako v ciklih IVF kot v ciklih ICSI.<sup>14</sup> V postopku zunajtelesne oploditve dobimo jajčne celice iz foliklov različne velikosti in zrelosti. Zrelost jajčnih celic je opredeljena le na podlagi ocene celic kompleksa cumulusa in jajčne celice. Pogosto lahko opazimo, da nekatere od jajčnih celic iz hormonsko spodbujanih ciklov, kljub vbrizganju hCG ne uspejo jedrno dozoreti. Razlog za nezrelost jajčnih celic ob punkciji je lahko prezgodnje vbrizganje hCG, predvsem v ciklih z enim vodilnim in več manjšimi folikli. Iz podatkov mnogih raziskav pa je razvidno, da je le 80 do 90 % jajčnih celic po aspiraciji foliklov jedrno zrelih (v metafazi II), torej primernih za oploditev.<sup>15,16</sup> To je lahko eden od razlogov, da je večja verjetnost za izostanek oploditve v IVF ciklih, kjer po aspiriranju foliklov dobimo malo število jajčnih celic. Drugi možni vzrok je na ravni interakcije med semenčico in jajčno celico. Po inseminaciji jajčnih celic v ciklu IVF veliko število neoplojenih jajčnih celic ne vsebuje jedra semenčice,<sup>17,18</sup> kar kaže na to, da je vzrok za izostanek oploditve

jajčne celice tudi nesposobnost prodora semenčice v jajčno celico. Ostali možni dejavniki za izostanek oploditve jajčne celice so še defekt oblikovanja pronukleusa, neuspešno aktiviranje jajčne celice,<sup>19</sup> neprimerna stimulacija jajčnikov v ciklu in neustrezni pogoji v laboratoriju.<sup>3</sup> Slednja dejavnika sta naključna in se ne ponavljata.

Repping in sodelavci so določili dva napovedna modela, na podlagi katerih bi se lahko odločali o metodi zdravljenja neplodnosti z metodo IVF ali z metodo ICSI. Njihovi rezultati so pokazali, da v primeru, ko pred začetkom cikla IVF še nimamo postavljene indikacije za ICSI, lahko počakamo na dan aspiriranja foliklov, ko bo znano še število dobljenih jajčnih celic, tako da se o metodi odločimo tudi na podlagi tega rezultata.<sup>8</sup> Vendar pa nova priporočila ESHRE (European Society of Human Reproduction) omenjajo, da uspešnost metode ICSI ni boljša od IVF, ko ni prisotna moška oblika neplodnosti.<sup>20</sup> Po njihovem mnenju potrebne so še nadaljnje študije pri parih s slabim odgovorom jajčnikov na hormonsko spodbujanje rasti foliklov in s slabo kakovostjo jajčnih celic.

## Zaključek

Ugotovili smo, da lahko TFF najboljše napovemo s številom jajčnih celic, pridobljenih ob punkciji foliklov, ter s koncentracijo gibljivih semenčic. Na osnovi rezultatov naše raziskave lahko zaključimo, da se v primerih, ko se ne moremo odločiti o metodi zdravljenja neplodnosti z biomedicinsko pomočjo (IVF ali ICSI) pred začetkom

postopka, lahko odločimo na dan punkcije foliklov. Takrat bomo poleg koncentracije gibljivih semenčic imeli še podatek o številu pridobljenih jajčnih celic. Priporočamo, da metodo ICSI uporabimo v ciklih, ko ob nižji koncentraciji gibljivih semenčic ugotovimo tudi slabo odzivnost jajčnika na spodbujanje (*angl.* poor responders), tj. število jajčnih celic tri ali manj.

## Uporabljene kratice

- AUC – površina pod krivuljo ROC
- EIM – Pregled uspešnosti postopkov IVF v Evropi (European IVF Monitoring)
- ESHRE – Evropsko združenje za humano reprodukcijo in embriologijo
- GnRH $\alpha$  – agonisti sproščevalcev gonadoliberinov
- hCG – humani horionski gonadotropin
- HKC – hormonske kontracepcijske tablete
- hMG – humani menopavzni gonadotropin
- ICSI – intracitoplazmatsko vbizganje semenčice v jajčno celico
- IVF – oploditev *in vitro*
- TFF – popolni izostanek oploditve jajčnih celic po IVF
- OBMP – oploditev z biomedicinsko pomočjo
- OCC – cumulus oophorus z jajčno celico
- rFSH – rekombinantni folikle stimulirajoči hormon
- krivulja ROC – krivulja občutljivosti in specifičnosti

## Literatura

1. Ola B, Afnan M, Sharif K, Papaioannou S, Hammadieh N, Barrat CLR. Should ICSI be treatment of choice for all cases in –vitro conception? *Hum Reprod* 2001; 16: 2485–90.
2. Elizur SE, Levron J, Seidman DS, Kees S, Levran D, Dor J. Conventional *in vitro* fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for sibling oocytes in couples with mild oligoteratoasthenozoospermia and couples with normal sperm. *Fertil Steril* 2004; 82: 241–3.
3. Staessen C, Camus MM, Clasen K, De Vos A, Van Steirteghem A. Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in sibling oocytes from couples with tubal infertility and normozoospermic semen. *Hum Reprod* 1999; 10: 2474–9.
4. Tournaye H, Liu J, Nagy Z, Joris H, Wisanto A, Bonduelle M, et al. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI): the Brussels experience. *Reprod Dev* 1995; 7: 269–78.
5. Hershlag, A, Paine T, Kvapil G, Feng H, Napolitano B. *In vitro* fertilization-intracytoplasmic sperm injection split: an insemination method to prevent fertilization failure. *Fertil Steril* 2002; 77: 229–32.
6. Alboghar MA, Mansour RT, Serour GI. Prospective controlled randomized study of *in vitro* fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in the treatment of tubal factor infertility with normal semen parameters. *Fertil Steril* 1996b; 66: 753–6.
7. Aytöz A, De Catte L, Camus M, Bonduelle M, Van Assche E, Liebaers I, et al. Obstetrical outcome after prenatal diagnosis in intracytoplasmic sperm injection pregnancies. *Hum Reprod* 1998; 13: 2958–61.
8. Repping S, van Weert J, Mol BWJ, de Vries JWA, van der Veen F. Use of the total motile sperm count to predict total fertilization failure in *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 2002; 78: 22–8.
9. Ruiz A, Remhi J, Minguez Y, Guanes PP, Simon C, Pellicer A. The role of *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection in couples with unexplained infertility after failed intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1997; 68: 171–3.
10. Verheyen G, Tournaye H, Staessen C, De Vos A, Vandervorst M, Van Steirteghem A. Controlled comparison of conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in patients with asthenozoospermia. *Hum Reprod* 1999; 14: 2313–9.
11. van der Westerlaken LAJ, Naaktgeboren N, Verburg H, Dieben S, Helmerhorst FM. Conventional *in vitro* fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in patients with borderline semen: a randomized study using sibling oocytes. *Fertil Steril* 2006; 85: 395–400.
12. Molloy D, Harrison K, Breen T, Hennesy J. The predictive value of idiopathic failure to fertilize on the *in vitro* attempt. *Fertil Steril* 1991; 56: 285–9.
13. Lipitz S, Rabinovici J, Goldenberg M, Bider D, Dor J, Mashiach S. Complete failure of fertilization in couples with mechanical infertility: implications for subsequent *in vitro* fertilization cycles. *Fertil Steril* 1994; 61: 863–9.

14. Flaherty SP, Payne D, Matthews CD. Fertilization failures and abnormal fertilization after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod Suppl* 1998; 13: 155–64.
15. Rattanachaiyanont M, Leader A, Leveille MC. Lack of correlation between oocyte-corona complex morphology and nuclear maturity of oocytes collected in stimulated cycles for ICSI. *Fertil Steril* 1999; 71: 937–40.
16. Laufer N, Tarlatzis BC, DeCherney AH, Masters JT, Haseltine FP, MacLusky N, et al. Asynchrony between human cumulus-corona cell complex and oocyte maturation after human menopausal gonadotropin treatment for *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 1984; 42: 366–72.
17. Wall MB, Marks K, Smith TA, Gearon CM, Muggleton-Harris AL. Cytogenetic and fluorescent in-situ hybridization chromosomal studies on *in vitro* fertilized and Intracytoplasmic sperm injected »failed-fertilized« human oocytes. *Hum Reprod* 1996; 11: 2230–8.
18. Edirisinghe WR, Murch A, Junk S, Yovich JL. Cytogenetic abnormalities of unfertilized oocytes generated from in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a double-blind study. *Hum Reprod* 1997; 12: 2784–91.
19. Mahutte NG, Arici A. Failed fertilization: it is predictable? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15: 211–8.
20. The ESHRE Capri Workshop Group. Intracytoplasmic sperm injection in 2006: Evidence and Evolution. *Human Reprod Update* 2007; 13: 515–26.