

Academiejaar 2013 - 2014

ANALYSE VAN IN-VITROFERTILISATIE VERSUS INTRACYTOPLASMATISCHE SPERMA-INJECTIE IN ÉÉNZEELFDE COHORTE VAN EICELLEN.

**Eva HOET
Annelien STEENHOUT**

Promotor: Prof. Dr. P. De Sutter
Co-promotor: Prof. Dr. E. Van Den Abbeel

Scriptie voorgedragen in de 2^{de} Master in het kader van de opleiding

MASTER OF MEDICINE IN DE GENEESKUNDE

Academiejaar 2013 - 2014

ANALYSE VAN IN-VITROFERTILISATIE VERSUS INTRACYTOPLASMATISCHE SPERMA-INJECTIE IN ÉÉNZEELFDE COHORTE VAN EICELLEN.

**Eva HOET
Annelien STEENHOUT**

Promotor: Prof. Dr. P. De Sutter
Co-promotor: Prof. Dr. E. Van Den Abbeel

Scriptie voorgedragen in de 2^{de} Master in het kader van de opleiding

MASTER OF MEDICINE IN DE GENEESKUNDE

Deze pagina is niet beschikbaar omdat ze persoonsgegevens bevat.
Universiteitsbibliotheek Gent, 2021.

This page is not available because it contains personal information.
Ghent University, Library, 2021.

Voorwoord

Graag willen wij onze dankbaarheid uiten aan de personen zonder wiens hulp het verwezenlijken van deze thesisopdracht niet mogelijk zou zijn geweest.

Allereerst danken we onze promotor, Prof. Dr. P. De Sutter, afdelingshoofd van de afdeling ‘Reproductieve Geneeskunde’ van het Universitair Ziekenhuis Gent. Zij wierp steeds een kritische blik op de bekomen vorderingen, stuurde bij waar nodig en hield een oogje in het zeil of alles volgens tijdschema verliep. Haar bijdragen betreffende de mogelijke aanpak van de analyse waren dan ook zeer waardevol. Bovendien was zij voor ons steeds vlot beschikbaar en aanspreekbaar.

Aan onze begeleider, Prof. Dr. E. Van den Abbeel, dienstverantwoordelijke van het IVF-labo, willen we een bijzonder woord van dank richten. Hij hielp ons bij de aanvang van het werk om de opzet van de studie te begrijpen en de nodige achtergrond informatie te vergaren. Veelvuldig overleg in de laatste twee jaar was een niet te onderschatten bijdrage voor de uiteindelijke uitwerking van dit project. Telkens wanneer het noodzakelijk was elkaar te zien, werd dit mogelijk in een zeer korte tijdsspanne, wat de samenwerking erg aangenaam maakte.

Het verkrijgen van de resultaten was niet gelukt zonder de hulp van Dr. K. Tilleman, kwaliteitscoördinator op de afdeling. Zij hielp ons door de ellenlange lijst van variabelen waaruit een selectie moest worden gemaakt en bezorgde ons het grootste deel van de database. Ook was zij ons aanspreekpunt wanneer deze zomer op de afdeling zelf gewerkt diende te worden.

Prof. G. Van Maele, medewerker van de dienst Biostatistiek van de Universiteit Gent, willen we geenszins vergeten te danken. De hulp die hij heeft geboden om de toch wel moeilijke statistische analyse onder de knie te krijgen was van onschatbare waarde.

Tot slot richten we ook het woord tot onze familie en vrienden, zonder wiens morele steun dit werk niet mogelijk was geweest.

Eva Hoet
Annelien Steenhout

Gent, 3/04/2014

Inhoud

1	Abstract	1
2	Inleiding	3
2.1	Problematiek.....	3
2.2	Oorzaken van subfertiliteit	5
2.2.1	Mannelijke subfertiliteit	5
2.2.2	Vrouwelijke subfertiliteit	7
2.2.2.1	Cyclusstoornissen/ovulatiestoornissen	7
2.2.2.1.1	PCOS	7
2.2.2.2	Endometriose.....	8
2.2.2.3	Tubaire stoornissen	8
2.2.3	Externe factoren die de vruchtbaarheid verstoren	9
2.2.3.1	Roken	9
2.2.3.2	Alcoholconsumptie.....	9
2.2.3.3	Leeftijd	10
2.2.3.4	BMI van de vrouw.....	11
2.3	Behandeling van subfertiliteit	12
2.3.1	Beschrijving van de procedures	12
2.3.2	Complicaties.....	14
2.3.2.1	OHSS (Ovariëel Hyperstimulatie Syndroom).....	14
2.3.2.2	Meerlingzwangerschap.....	14
2.3.2.3	Gezondheid van kinderen na ICSI	15
2.4	Mogelijke indicaties	16
2.4.1	Mannelijke subfertiliteit	17
2.4.2	Slechte eikelkwaliteit.....	17
2.4.3	Laag eicelaantal.....	18
2.4.4	Leeftijd	19
2.4.5	PCOS.....	19
2.4.6	Endometriose.....	20
2.4.7	Tubaire stoornissen	20
2.4.8	Rookgedrag	21
2.4.9	Alcoholconsumptie.....	21
2.4.10	BMI van de vrouw.....	22
2.4.11	Onverklaarde subfertiliteit.....	23
3	Onderzoeksvragen	24
3.1.1	Hoofdonderzoeksvraag.....	24
3.1.2	Subvragen.....	24
4	Methodologie	25
4.1	Algemeen	25
4.2	Ethisch Comité	25
4.3	Literatuuronderzoek	25
4.4	Selectie	26
4.4.1	Selectie studiegroep.....	26
4.4.2	Selectie van de variabelen	27
4.5	Statistische analyse.....	28
5	Resultaten	30
5.1	Inleiding	30
5.2	Algemene bevindingen.....	30
5.3	Univariate analyse	32
5.3.1	Leeftijd patiënte en partner	32

5.3.2	BMI patiënte.....	33
5.3.3	Alcoholgebruik van patiënte en partner	34
5.3.4	Rookgedrag patiënte en partner.....	35
5.3.5	Vrouwelijke pathologie	36
5.3.5.1	Algemeen	36
5.3.5.2	Endometriose.....	36
5.3.5.3	Tubaire pathologie.....	37
5.3.5.4	Ovulatiestoornissen	37
5.3.5.5	PCOS.....	38
5.3.5.6	Laag eicelaantal.....	38
5.3.5.7	Kwaliteit eicellen.....	39
5.3.6	Mannelijke pathologie.....	40
5.4	Multivariate analyse	41
5.4.1	Principes van meervoudige logistische regressie	41
5.4.1.1	Doel van meervoudige analyse	41
5.4.1.2	Doel van de regressie	41
5.4.1.3	Logistische benadering.....	42
5.4.2	‘Enter’-selectieprocedure	42
5.4.2.1	Uitvoeren van de test.....	44
5.4.2.2	Modelkwaliteit	46
5.4.3	‘Forward’- en ‘Backward’-selectieprocedures.....	47
5.4.4	Interpretatie	47
6	Discussie.....	48
6.1	Oriëntatie van het onderzoek.....	48
6.2	Studiedesign	49
6.2.1	Sterktes.....	49
6.2.2	Zwaktes	50
6.3	Bespreken resultaten	52
6.3.1	Algemeen	52
6.3.2	Indicaties	53
6.3.2.1	Leeftijd	53
6.3.2.2	Levensstijlfactoren	54
6.3.2.3	Vrouwelijke pathologie	56
6.3.2.4	Lage ovariële respons en eicelkwaliteit	57
6.3.2.5	Mannelijke subfertiliteit	58
6.4	Aanbevelingen.....	59
6.5	Conclusie.....	59
7	Bibliografie.....	60
8	Appendices	I
	Appendix I: Variabelen in de database	I
	Appendix II: WHO criteria normaal semen	II
	Appendix III: ‘Forward’- en ‘Backward’-selectieprocedures van multivariate analyse.....	III
	Appendix IV: Goedkeuring ethisch comité.....	V
	Appendix V: Invuldocument eerste aanmelding op de dienst.....	IX

1 Abstract

Onderzoeksvraag: Bestaan er patiëntgerelateerde determinerende factoren die kunnen voorspellen welke fertiliteitbehandeling (conventionele IVF, ICSI of *IVF versus ICSI*) bij een koppel het meest is aangewezen?

Conclusie: Koppels met mannelijke subfertiliteit (<19miljoen beweeglijke zaadcellen) en koppels waarvan de partner ouder is of gelijk aan 32 jaar, zouden volgens deze studie meer baat hebben bij ICSI dan bij IVF. Voor wat betreft alle andere fertiliteitindicaties (paternaal/maternaal rookgedrag en alcoholconsumptie, maternaal BMI en leeftijd, endometriose, tubaire pathologie, PCOS, ovulatiestoornissen, eicelkwaliteit en gecollecteerd eicelaantal) is er nog onvoldoende bewijs om de ene behandeling boven de andere te kiezen, waardoor de *IVF versus ICSI*-strategie bij deze gevallen voorlopig de meest adequate behandelingsoptie is.

Wat is reeds gekend? Ernstige mannelijke subfertiliteit vormt stevast als enige een indicatie voor ICSI. Voor wat betreft alle andere mannelijke en vrouwelijke fertiliteitindicaties is tot op heden nog geen consensus bereikt. Vandaar dat frequent de *IVF versus ICSI*-strategie wordt aangewend in geval van twijfel en om totaal fertilisatiefalen te vermijden.

Studiedesign, grootte en duur: Een retrospectieve cohortestudie van 187 *IVF versus ICSI*-cycli. Hierbij werd een totaal van 2511 eicellen gecollecteerd, waarvan 1282 eicellen werden toebedeeld aan IVF en 1229 aan ICSI, waarvan 978 eicellen daadwerkelijk werden geïnjecteerd voor ICSI. Via univariate en multivariate analyse werden associaties onderzocht tussen de patiëntgerelateerde factoren en de uitkomsten van de *IVF versus ICSI*-behandeling. Als outcomevariabele werd het fertilisatiepercentage van IVF uitgezet t.o.v. het fertilisatiepercentage van ICSI en vervolgens gedichotomiseerd naar ≥ 1 of <1 .

Deelnemers/materialen, klinisch kader en methodes: Koppels dewelke in hun eerste poging een *IVF versus ICSI*-behandeling ondergingen binnen de Afdeling Reproductieve Geneeskunde van het Universitair Ziekenhuis Gent en dit binnen de periode van Augustus 2010 tot Januari 2013. Er werd geen gebruik gemaakt van donorsperma, TESE of MESA.

Resultaten: De kans dat betere fertilisatiepercentages worden bereikt met ICSI dan met IVF is groter bij koppels met mannelijke subfertiliteit (<19 miljoen beweeglijke zaadcellen) ($\bar{a}OR=2.358$, $P<0.05$) en bij koppels waarvan de man ouder is dan 31 jaar ($\bar{a}OR=2.389$, $P<0.05$). In de groep waar ICSI betere fertilisatiepercentages bereikt dan IVF bevindt zich ruim 11% meer mannelijke subfertiliteit ($P<0.05$). Het TFF bij mannelijke subfertiliteit was 28.6% na conventionele IVF in vergelijking met 8.6% na ICSI. Er bevinden zich bovendien 20% meer mannen met een leeftijd boven 31 jaar in de groep waar ICSI betere

fertilisatiepercentages bereikt dan IVF ($P < 0.05$). Het TFF in de groep waar de mannelijke partner 32 jaar of ouder is, bedroeg 19.3% bij IVF (i.t.t. 7.4 % bij mannelijke partners <32 jaar) en slechts 3.4% bij ICSI. Voor alle andere variabelen in de studie kon geen enkele relatie met de uitkomsten van IVF en ICSI worden aangetoond.

Limitaties: Zoals bij de meeste retrospectieve studies moet het risico op bias d.m.v. zelfrapportage en het verlies aan power door lage steekproefaantallen en ontbrekende waarden in acht genomen worden. De meeste ‘confounders’ konden worden geanalyseerd en werden dus adequaat weggewerkt uit de analyse. Daarnaast werden harde eindpunten zoals zwangerschapsuitkomsten en het aantal levendgeborenen niet bestudeerd.

Bredere implicaties van resultaten: De algemene bevindingen waren in overeenstemming met met de literatuur. Mogelijke grenswaarden zoals in deze studie werden echter nooit eerder bepaald en zullen dus a.d.h.v. verder onderzoek moeten worden bevestigd voordat deze aanbevelingen kunnen worden toegepast in de algemene praktijk.

Sleutelbegrippen: ICSI, IVF, ‘IVF versus ICSI’, medisch begeleide voortplanting (MBV), roken, alcohol, BMI, leeftijd, endometriose, tubaire pathologie, PCOS, eicelkwaliteit, spermakwaliteit, eicelaantal.

2 Inleiding

2.1 Problematiek

Maar liefst één vierde tot één zesde van de paren met een zwangerschapswens ervaren hierbij problemen (1). Het aantal koppels dat hiermee te kampen heeft wordt wereldwijd geschat op 70 miljoen (2). Slechts 15% hiervan zoekt medische hulp (1,3,4). Dat dit niet alleen fysiek, maar ook mentaal zeer ingrijpend kan zijn, hoeft geen verdere uitleg. De belangrijkste oorzaak van de toenemende subfertiliteit is de stijgende leeftijd waarop vrouwen zwanger wensen te worden. De laatste 30 jaar steeg de leeftijd van primiparae met vijf jaar (van 24 naar 29 jaar) (5).

Infertiliteit en subfertiliteit, als termen om de problematiek te beschrijven, worden in de literatuur regelmatig door elkaar gebruikt. Nochtans is een goede definitie van beide termen een belangrijk klinisch gegeven (2). De World Health Organisation (WHO) spreekt over subfertiliteit indien een spontane zwangerschap uitblijft na één jaar of langer, ondanks een regelmatige en onbeschermd coïtus (6,7). Nochtans is dit voor discussie vatbaar, immers de demografische term ‘infertiliteit’ (onvruchtbaarheid) impliceert eigenlijk dat het ontegensprekelijk vast staat dat de patiënt geen nakomelingen kan krijgen, ondanks medische hulp (lees steriel). Epidemiologische/klinische definities zijn eerder gebaseerd op een variabele duur van ‘*Time to Pregnancy*’ om fertiliteit te definiëren en dus kan worden uitgedrukt als een kans per cyclus (1,2). *C.Gnot et al. (2005)* die dit probleem aankaart, verstaat eerder onder infertiliteit dat de kans op een spontane zwangerschap in de toekomst quasi nihil is, maar dat deze groep wel baat heeft bij medisch ingrijpen, wat deze definitie dus klinisch meer relevant maakt; en onder subfertiliteit elke vorm van verminderde vruchtbaarheid, waarbij de natuurlijke ‘time to pregnancy (TTP)’ abnormaal lang duurt (>12 maanden) (3). Vanuit klinisch standpunt wordt verderop enkel gebruik gemaakt van de term subfertiliteit, met name als de zwangerschap uitblijft na één jaar regelmatig onbeschermd coïtus.

De processen die leiden tot fertilisatie vormen een zeer complex geheel waardoor bevruchting niet zo evident is als wordt vermoed. Per cyclus heeft een koppel immers slechts 25 % kans om zwanger te raken. In fysiologische omstandigheden bestaat er een sterke controle en regulatie van verscheidene processen om een zwangerschap tot stand te brengen (zie tabel 1) (8,9).

Tabel 1 Voorwaarden welke voldaan moeten zijn voor een succesvolle bevruchting.

Voorwaarden voor fertiliteit
Productie van gameten d.w.z. oögenese en spermatogenese
Expulsie van gameten d.m.v. ovulatie en ejaculatie
Migratie of samenkomst van eicel en zaadcel
Binnendringen van zaadcel in eicel
Migratie en nidatie van blastocyst in de uterus

Het valt niet te verwonderen dat door een stoornis in slechts één van deze processen het hele systeem als een kaartenhuisje in elkaar valt. De oorzaken van subfertiliteit worden hieronder stap voor stap uiteengezet. Deze kunnen zowel bij de vrouw als bij de man maar ook tegelijkertijd voorkomen, elk goed voor zo'n 30%. Bij de overige 10 % wordt er geen verklaring gevonden. Dit wordt idiopathische subfertiliteit genoemd (1,10).

De reproductieve geneeskunde is een relatief jonge tak in het medische landschap. Wereldwijd maken jaarlijks ongeveer 40 miljoen koppels hiervan gebruik. De laatste decennia kende een evolutie aan Medisch Begeleide Voortplantingstechnieken (MBV)¹, wat ook duidelijke richtlijnen i.v.m. indicaties vereist. Met de geboorte van Louise Brown in 1978, de allereerste conventionele IVF-baby, werd meteen de grondslag gelegd voor de kunstmatige voortplantingstechnieken (1,5). Sinds 2003 is het aantal conventionele IVF-behandelingen in België sterk toegenomen. Mogelijks is dit het gevolg van een drempelverlaging voor deze behandeling en/of door een toename van het indicatiespectrum voor conventionele IVF (11). In 1992 werd de ICSI-techniek geïntroduceerd met als doel koppels met ernstige mannelijke subfertiliteit te behandelen. Wereldwijd betekende ICSI een ware 'boost' voor de reproductieve geneeskunde met als gevolg dat ICSI vandaag wordt toegepast voor een verscheidenheid aan fertiliteitindicaties. Beide technieken zullen verder uitgebreid besproken worden.

¹ Assisted Reproductive Technology (ART) (Eng.)

2.2 Oorzaken van subfertiliteit

2.2.1 Mannelijke subfertiliteit

In slechts 20% van de gevallen is een mannelijke factor alleen verantwoordelijk voor subfertiliteit (10). Mannelijke subfertiliteit kan verschillende oorzaken hebben. Wanneer de oorzaak testiculair van aard is, ontstaat er een probleem in de spermatogenese, wat kan leiden tot niet-obstructieve azoöspermie, oligozoöspermie, asthenozoöspermie, teratozoöspermie of een combinatie (OAT) (zie onderstaande tabel 2) (1,12).

Tabel 2 Terminologie betreffende de spermakwaliteit.

Term	Beschrijving
Oligozoöspermie	Spermaconcentratie <20 miljoen/ml
Asthenozoöspermie	<50% spermatozoa met een voorwaartse progressie <25% spermatozoa met snelle progressie
Teratozoöspermie	<4 % spermatozoa met een normale morfologie
Oligoasthenoteratozoöspermie (OAT)	Een verstoring van alle voorgaande variabelen
Azoöspermie	Geen spermatozoa in het ejaculaat. Er zijn twee vormen, een obstructieve en een niet-obstructieve vorm.
Motiliteit	Klasse A Snelle progressieve motiliteit Klasse B Trage progressieve motiliteit Klasse C Geen progressieve motiliteit, ter plaatse beweeglijk Klasse D Immotiliteit

Een verstoorde spermatogenese kan het gevolg zijn van een varicocoele (meest frequent), maar ook van chemo- en radiotherapie, genetische afwijkingen, toxische omgevingsfactoren en mineraal- en vitaminedeficiënties. Bij post-testiculaire oorzaken is er geen probleem met de spermakwaliteit zelf maar kunnen de zaadcellen de mannelijke tractus niet verlaten t.g.v. obstructie (obstructieve azoöspermie) of tengevolge van bv. een ejaculatiestoornis (1,10,12). De spermacellen kunnen ook beschadigd of gehinderd worden in de vrouwelijke tractus (13). Er dient ook aandacht te worden besteed aan het bestaan van antispermatozoa-antistoffen (ASA), die zowel bij de man als bij de vrouw kunnen voorkomen en een andere mogelijke oorzaak van verminderde vruchtbaarheid kunnen zijn. Dit is echter meestal beperkt (1,10). De precieze oorzaak van deze antilichamen is niet duidelijk maar een associatie wordt gezien met varicocoele en cryptorchidie (1). Zeer zelden ligt een endocriene afwijking aan de basis van dit probleem met secundaire aantasting van de spermatogenese. In de helft van de gevallen is er geen duidelijke verklaring voorhanden en wordt de subfertiliteit bestempeld als

‘idiopathisch’ of ‘onverklaard’, hoewel een genetische achtergrond hier wellicht een centrale rol speelt (1,10,13). Mogelijke oorzaken zijn voor de volledigheid nog eens opgelijst in bijgevoegde tabel 3.

Tabel 3 Mannelijke dysfunctie.

Mogelijke oorzaken van mannelijke subfertiliteit	
Pre-testiculair (endocriene afwijkingen)	<ul style="list-style-type: none"> - Kallmann-syndroom met hypogonadotroop hypogonadisme - Prader-Willi-syndroom - Hypofyseadenoom
Testiculair (Spermatogenese)	<ul style="list-style-type: none"> - varicocele (meest frequent), cryptorchidie, orchitis parotidea ('bof'), torsio testis - chemo- en radiotherapie - genetische afwijkingen (bv Sertoli-'cell only'-syndroom, Klinefelter-syndroom) - toxische omgevingsfactoren (pseudo-oestrogenen, oplosmiddelen, alcohol, tabak, medicatie, drugs, benzenen, kwik, ...) - deficiënties (zink, selenium, foliumzuur).
Post-testiculair	<ul style="list-style-type: none"> - ejaculatiestoornissen en erectiestoornissen: neurologisch, diabetes (retrograde ejaculatie), psychogeen <p>Obstructieve azoöspermie:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Congenitaal: afwezigheid van vas deferens of epididymis - Verworven: postinfectieuze obstructie van mannelijke afvoerwegen (Neisseria gonorrhoeae) of na vasectomie <p>Verminderd vermogen om tegen cervixslijm op te zwemmen door:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Antispermatozoa-antistoffen (ASA) bij man of vrouw (= immunologische subfertiliteit) - Dismucorroe, cervixstenose (in se geen mannelijke pathologie maar verstoort wel functie van de zaadcellen) <p>Stoornis in receptiviteit van cervixslijm of ontoegankelijkheid van baarmoederholte (in se geen mannelijke pathologie, maar verstoort wel functie van de zaadcellen)</p> <ul style="list-style-type: none"> - IUD - Asherman-syndroom

Zoals in de inleiding aangehaald, verstaat men onder subfertiliteit een gedaalde vruchtbaarheid t.g.v. een abnormale spermakwaliteit na semenanalyse. Een eenduidige definitie van mannelijke subfertiliteit is in de literatuur niet voorhanden. Een veel gebruikte parameter is de 'Total Motile Sperm Count' (TMSC), dewelke het aantal beweeglijke zaadcellen in het spermastaal voorstelt. Deze term wordt verder in de 'Methodologie' uiteengezet. Ook de WHO stelde referentiewaarden op voor semenanalyse a.d.h.v. uitgebreid onderzoek (14) (zie appendix). Enkele studies gebruiken al eens de term 'bordeline sperma', d.w.z. kwaliteit van de zaadcellen dewelke net onder de referentiewaarden vallen (15).

2.2.2 Vrouwelijke subfertiliteit

2.2.2.1 *Cyclusstoornissen/ovulatiestoornissen*

Ovulatiestoornissen of cyclusstoornissen maken ongeveer 20 % uit van de oorzaken van subfertiliteit (10). Stoornissen in de ovulatie kan in eerste instantie te wijten zijn aan een probleem van de hypothalamo-hypofysaire as. Door de stoornis in de secretie van GnRH² door de hypothalamus of in de secretie van FSH en LH door de hypofyse, komen de folliculogenese en de ovulatie in het gedrang, met een oligo- of amenorroe als gevolg. Kenmerkend is ook de lage oestrogenproductie, waardoor het endometrium immatuur blijft. Dit kan rechtstreeks het gevolg zijn van genetische stoornissen in de ontwikkeling van dit secretoir systeem, maar ook metabole oorzaken zoals een te laag vetgehalte (anorexia nervosa) of een hyperprolactinemie kunnen mede oorzaak zijn van een verstoring in de as. Uiteraard is er in de behandeling hier geen plaats voor geassisteerde reproductieve technieken. De behandeling is eerder gericht op de oorzaak, bijvoorbeeld gewichtstoename, pulsatiele GnRH-therapie en oestrogensubstitutietherapie (1,10). Een tweede belangrijke oorzaak van ovulatiestoornissen is een disfunctie van de ovaria. Dit wordt in eerste instantie gezien bij de intrede van de menopauze, een fysiologisch verouderingsproces, waarbij het reserve van de primordiale follikels geleidelijk aan uitgeput geraakt. Een pathologische vorm van deze depletie van de follikels, is de premature menopauze of de primaire ovariële insufficiëntie (POI), waarbij er reeds op jonge leeftijd (vóór 40 jaar) onvoldoende primordiale follikels aanwezig zijn. Een ander mogelijk probleem dat zich kan voordoen t.h.v. de ovaria is een overproductie van androgenen (hyperandrogenisme). Een zeer frequente oorzaak hiervan is het polycysteus-ovariumsyndroom (PCOS) dewelke we nader zullen beschrijven (1,10).

2.2.2.1.1 PCOS

Het polycysteus-ovariumsyndroom of PCOS gaat gepaard met hirsutisme (klinisch hyperandrogenisme), amenorroe (oligo- of anovulatie) en dus subfertiliteit met een typische polycysteuse ovariële morfologie. Een overproductie van androgenen uit de ovaria ligt hier aan de basis van het probleem (zie verder) (1,16). Het is de meeste voorkomende endocriene stoornis van het reproductief systeem bij de vrouw met een prevalentie van 5-10% in de algemene bevolking (10,16). Verschillende hypothesen in verband met de oorzaak van subfertiliteit door PCOS worden geformuleerd. Intrinsieke eigenschappen van de eicel, zoals abnormale expressie van groeifactoren (o.a. GDF-9) en abnormale enzymactiviteit, worden geacht hierin een rol te spelen, dewelke ook mogelijks overerfbaar zijn. Daarnaast werden ook

² GnRH: Gonadotropine-‘Releasing’ Hormoon (GnRH) (Eng.)

extrinsieke factoren zoals een hypersecretie van LH (luteïniserend hormoon) en een hyperinsulinemie als oorzaken beschreven. Dit leidt tot een rechtstreekse overproductie van androgenen en dus een abnormale folliculogenese en verminderde eicel- en embryokwaliteit als gevolg (1). De eerstelijnsbehandeling gebeurt met clomifeencitraat. Een deel van de patiënten zal echter ook beroep moeten doen op ART.

2.2.2.2 Endometriose

Endometriose is een aandoening waarbij functioneel endometriaal weefsel zich buiten de uterus bevindt, vnl. in het kleine bekken waaronder de ovaria. Symptomatie is vnl. dysmenorroe, chronische onderbuikpijn en subfertiliteit (1,17). De ernst kan zeer sterk variëren, gaande van kleine vergroeiingen, waarbij de pelviene organen nagenoeg onaangetast blijven, tot grote zgn. endometriomata (ovariële cysten) en uitgebreide adhesies tussen pelviene organen. Endometriose komt voor bij ongeveer 10% van de vrouwen in de reproductieve fase en bij 50% van de vrouwen met subfertiliteit (1,17). Deze aandoening is sterk oestrogenafhankelijk en komt daarom ook voornamelijk voor op reproductieve leeftijd. Het ontstaansmechanisme van endometriose is nog steeds gebaseerd op talrijke hypothesen, waaronder de retrograde menstruatietheorie van Sampson. Deze stelt dat er tijdens de menstruatie retrograad, via de uterus en eileiders, endometriale cellen naar de buikholte worden gebracht en zich aldus daar inplanten. Zoals eerder aangegeven wordt endometriose niet zelden gekenmerkt door subfertiliteit. De precieze oorzaak hiervan is nog niet helemaal duidelijk. Bij een ernstige vorm van endometriose kunnen adhesies en cysten t.h.v. van de ovaria en eileiders vanzelfsprekend de ovulatie en de pick-up ernstig in het gedrang brengen. Maar ook lichtere vormen worden geassocieerd met subfertiliteit, wat doet vermoeden dat ook een gedaalde eicelkwaliteit geassocieerd kan zijn met endometriose (1,18).

2.2.2.3 Tubaire stoornissen

De functie van de tuba kan worden verstoord door een totale of partiële obstructie. Totale obstructie is het gevolg van o.a. een urogenitale infectie (vnl. Chlamydia), pelviene chirurgie na bv. ectopische zwangerschap of congenitale anomalie. Daarnaast kan de 'pick-up' functie van de tuba worden verstoord door adhesies (bv. endometriose) waardoor de tuba verkleeft met de bekkenwand. Aangezien het transport van zaadcel, eicel en zygote en de samenkomst van eicel en zaadcel plaats vindt in de ampulla van de tuba, wordt dit fertilisatieproces bijgevolg gehinderd bij een afsluiting van de eileider (1,10).

2.2.3 Externe factoren die de vruchtbaarheid verstoren

2.2.3.1 Roken

Grote epidemiologische studies toonden reeds aan dat het rookgedrag van de vrouw en/of van haar partner een invloed heeft op het fysiologisch fertiliteitproces (19). Mogelijks is zo'n 13% van de subfertiliteit geassocieerd met rookgedrag (20,21). Er is sprake van een nefaste invloed op de hormoonregulatie, de hypothalamo-hypofysaire as en de functie van de tuba, uterus en placenta. Bovendien zijn de vrouwelijke en mannelijke gametogenese zeer gevoelig voor beschadiging door tabaksrook, aangezien de chemicaliën via de bloedbaan de reproductieve organen bereiken en aldaar accumuleren (20). Er zijn verschillende aanwijzingen dat componenten uit tabaksrook (o.a. zuurstofradicalen, carcinogenen) mutaties in het DNA en chromosomale schade in deze gameten maar ook in het embryo kunnen berokkenen met alle gevolgen van dien (20,22). De normale folliculogenese en de spermatogenese zijn hierdoor verstoord met subfertiliteit als gevolg. De schadelijke stoffen in tabaksrook zouden bovendien de ovariële follikeldepletie bespoedigen, waardoor de menopauze één tot vier jaar eerder intreedt (20,21,22). Ook bij de man zijn er aanwijzingen dat spermamotiliteit, -concentratie, -morfologie en de mogelijkheid tot capacitatie inferieur zijn ten opzichte van niet-rokers (21,22). Verder is het belangrijk te vermelden dat zowel actief als passief roken een invloed heeft op de subfertiliteit (21). Passief roken wordt zeer vaak over het hoofd gezien in studies omdat deze risicofactor veel moeilijker te achterhalen is. Bovendien mag men niet uit het oog verliezen dat ook zgn. 'confounders' geassocieerd met het roken (o.a. alcoholgebruik, lage socio-economische status) een belangrijke bijdrage leveren aan de resultaten in studies, wat het onderzoek naar het effect van roken op de fertiliteit bemoeilijkt. Kenmerkend is ook dat het schadelijk effect van roken dosisdependent is (22).

2.2.3.2 Alcoholconsumptie

Zeker is dat alcohol teratogeen is maar over de effecten van alcoholgebruik op de fertiliteit is er geen eenduidigheid (7). Onderzoek naar deze effecten wordt immers bemoeilijkt door o.a. het veelvuldig gebruik van heterogene classificaties voor alcohol, door de regelmatige aanwezigheid van 'confounders' (bv. roken) en door onderschatting van de gegevens uit zelfrapportage (23,24). Overmatig alcoholmisbruik heeft zonder twijfel een slechte invloed op de vrouwelijke en mannelijke fertiliteit. Over het effect van matige en milde alcoholconsumptie (zoals de meerderheid van de Westerse bevolking nuttigt) is echter nog weinig bekend. Interessant hierbij is dat ook kleine hoeveelheden alcoholgebruik (1

consumptie per week) wellicht reeds van negatieve invloed zijn en dat er mogelijks ook sprake is van een dosis-responsrelatie tussen alcoholconsumptie en de mate van subfertiliteit. Om deze redenen wordt sterk aanbevolen om elk gebruik van alcohol te mijden van vóór het moment van conceptie tot na de bevalling en borstvoeding (7,23,24,25,26). Voor wat betreft de invloed op de vrouwelijke fertiliteit, doen studies vermoeden dat matig alcoholgebruik is geassocieerd met een stoornis in de folliculogenese, anovulatie (amenorroe), dysmenorroe, premenstrueel syndroom, menorrhagie, vroegere menopauze en endometriose (23). Mogelijks is een verstoorde hormonale bloedspiegel, vnl. van oestradiol en progesteron, één van de oorzaken. Alcohol zou immers een stijging van oestradiol bestendigen, met een suppressie van de FSH-secretie als gevolg, dewelke op zijn beurt de folliculogenese en ovulatie onderdrukt (7,23,26). *Hakim et al.(1998)* toonden zelfs aan dat de kans op conceptie per cyclus met meer dan 50% werd gereduceerd door het consumeren van alcohol in vergelijking met totale alcoholabstinentie (23). Op basis van dierenexperimenteel onderzoek zijn er aanwijzingen dat alcohol de functie van de meiotische spoelfiguur in het gedrang brengt met foutieve segregatie van chromosomen in de eicel tot gevolg. Bevruchting van zulke eicellen resulteert in aneuploidie van het embryo waardoor de kans op spontane abortus tijdens het eerste trimester sterk toeneemt. Daarnaast zou er een bijkomend toxisch effect zijn van alcohol op de implantatie van de blastocyst met afwezige deciduareactie (7,23,26,27). Bij de man zou alcoholconsumptie geassocieerd zijn met testiculaire atrofie, impotentie, een gedaald libido, lagere spermacentratie, abnormale morfologie en gedaalde spermamotiliteit (23,26).

2.2.3.3 Leeftijd

Het is algemeen aanvaard dat de vruchtbaarheid van de vrouw daalt met toenemende leeftijd, vnl. na de leeftijd van 40 jaar. De ovariële reserve begint immers sneller te dalen vanaf de leeftijd van 35 jaar tot ze uiteindelijk uitgeput geraakt bij de intrede van de menopauze, meestal rond de leeftijd van 50 jaar (28). Hierdoor verandert het endocrien milieu rond de eicel t.g.v. de gedaalde negatieve feedback naar de hypofyse. Dit laatste, samen met een accumulatie van oxidatieve stress t.h.v. de eicel over de jaren resulteert in een daling van de mitochondriale functie en genomische stabiliteit. Dit heeft op zijn beurt een weerslag op de meiotische spoel en chromosoomsegregatie met mogelijks aneuploidie (vnl. trisomieën) tot gevolg. Daarnaast zou ook de receptiviteit van het endometrium dalen met de leeftijd als gevolg van bv. voorgaande infecties met cumulatieve beschadiging van het tuba-endotheel en endometrium, gedaalde vasculaire perfusie van het endometrium en een verhoogde incidentie

van uterusmyomen. De genetische afwijkingen in de eicel en een gedaalde receptiviteit zorgen ervoor dat de kans op implantatie daalt en de kans op spontane abortus stijgt (28,29). Wat de leeftijd van de partner betreft, zouden de spermaconcentratie, -motiliteit en -morfologie vanaf de leeftijd van 45 jaar achteruitgaan (30,31). Recent onderzoek heeft echter aangetoond dat de totale spermaproductie (zaadcelaantal) reeds begint te dalen vanaf 35 jaar, wat zich vermoedelijk ook uit in een gedaalde zwangerschapskans (32).

2.2.3.4 BMI van de vrouw

Op vlak van gewicht staat het vast dat zowel ondergewicht als overgewicht bij de vrouw van negatieve invloed kunnen zijn op haar fertiliteit. Subfertiliteit is frequent voorkomend bij vrouwen met overgewicht (BMI >25). Het ontstaansmechanisme is vermoedelijk een verstoring in de hypothalamo-hypofysaire as met dus afwijkende secretie van gonadotrofines en een verstoord hormonaal milieu (1,10,33). Dit laatste valt te verklaren doordat overgewicht frequent gepaard gaat met insulineresistentie, dewelke resulteert in een gestegen testosteronconcentratie door zijn effect op de lever.³ Deze hyperandrogene status interfereert met de folliculogenese en ovulatie met subfertiliteit als gevolg. Tijdens het eerste trimester van de zwangerschap bestaat er een verhoogde kans op minder goede implantatie van de blastocyst en endometrium door abnormale interactie. In het tweede en derde trimester van de zwangerschap kunnen complicaties optreden dewelke te wijten zijn aan de metabole status van de moeder zoals zwangerschaps- en obstetrische complicaties (miskraam, vroeggeboorte, pre-eclampsie, sectio) en aan een abnormale foetale ontwikkeling (bv. macrosomie) (33,34,35). Daarnaast moet worden opgemerkt dat PCOS frequent gepaard gaat met overgewicht en obesitas, waardoor rekening moet worden gehouden met PCOS als mogelijke ‘confounder’ voor zwangerschapsuitkomsten. Nochtans tonen studies aan dat de gedaalde zwangerschapskans, die wordt gezien bij overgewicht en obesitas, niet uitsluitend te wijten is aan PCOS (33). Deze co-existentie is er immers niet vanwege een causaal verband maar omdat gewichtstoename PCOS tot expressie kan brengen (1). Bij vrouwen met een te laag vetgehalte wordt de hypothalamo-hypofysaire as stilgelegd volgens een ‘fysiologisch’ beschermingsmechanisme (33,1,10). Door hormonale depletie uit het vetweefsel (o.a. leptine), wordt de secretie van GnRH en gonadotrofines niet meer in stand gehouden met anovulatie tot gevolg. Deze situatie komt uiteraard voor bij eetstoornissen maar het grootste deel van deze groep bevat vrouwen met een mild tekort aan vetweefsel door een combinatie van streng diëten en gedreven sporten (1,10).

³ Hyperinsulinemie resulteert in een gedaalde aanmaak van SHBG (Sex Hormone Binding Globuline) in de lever.

2.3 Behandeling van subfertiliteit

Onder de kunstmatige voortplantingstechnieken (MBV) wordt verstaan: ‘het manipuleren van gameten of embryo’s door deze uit hun natuurlijke omgeving te halen met als doel de subfertiliteit van het koppel te behandelen’ (1). Hiervan zijn de in-vitrofertilisatie (conventionele IVF) en de intracytoplasmatische sperma-injectie (ICSI) de bekendste. Andere voorbeelden zijn de intra-uteriene inseminatie (IUI), GIFT⁴ en ZIFT⁵, dewelke buiten het kader van dit werk vallen. Hieronder volgt een beschrijving van de procedures van conventionele IVF en ICSI en mogelijke complicaties.

2.3.1 Beschrijving van de procedures

De eerste stap in de behandeling van subfertiliteit is een gecontroleerde ovariële hyperstimulatie. Dit heeft als doel meerdere follikels tot verdere rijping aan te zetten waardoor de kans op zwangerschap zienderogen stijgt. Om een premature LH-piek te voorkomen tijdens deze stimulatie, dient men GnRH-antagonisten of -agonisten toe te dienen. De agonisten binden op de hypofysaire receptoren en stimuleren aanvankelijk de secretie van LH en FSH (‘flare up’-effect). Door de versnelde afscheiding van FSH en LH raakt de voorraad uitgeput (desensitisatie), waardoor de vrouw in een kunstmatige menopauze wordt gebracht. GnRH-antagonisten, dewelke recentelijk worden ingeschakeld, inhiberen de hypofysereceptoren zonder desensitisatie (1).

Na een 14-tal dagen is de hypofyse volledig onderdrukt en zal een FSH analoog (recombinant FSH of humaan Menopauzaal Gonadotrofine (hMG)) worden toegevoegd. De stimulatie zelf duurt gemiddeld 14 dagen en wordt toegediend via subcutane injecties ’s avonds (1,36). D.m.v. een transvaginale echografie wordt de follikelrijping opgevolgd. Het aantal en de progressie van de folliculaire groei wordt gemeten (1).

In fysiologische omstandigheden wordt de eicelmaturatie (voltooing van eerste meiotische deling) tot stand gebracht door de LH-piek. Bij kunstmatige omstandigheden wordt hiervoor hCG (humaan Chorion Gonadotrofine) toegediend. Na 34 tot 46 uur treedt maturatie op en kan de pick-up plaatsvinden (36). Via een transvaginale folliculaire punctie onder echogeleiding worden de follikels aangeprikt met een holle naald. Eén voor één worden de rijpe follikels geaspireerd, d.i. het follikelvocht samen met de oöcyt. Meestal gebeurt dit onder lokale anesthesie met een vorm van sedatie of korte narcose (1).

⁴ GIFT: Gamete Intrafallopian Transfer

⁵ ZIFT: Zygote Intrafallopian Transfer

Alvorens de eigenlijke fertilisatie tot stand te brengen, moet het spermastaal eerst worden voorbereid. Het staal wordt klassiek verkregen d.m.v. onanie maar dit kan ook via TESE⁶ of MESA⁷ gebeuren. De preparatie van het spermastaal gebeurt d.m.v. centrifugatie waarbij de zaadcellen van het seminaal vocht worden gescheiden (1).

Bij conventionele IVF worden de verkregen eicellen afzonderlijk geïnsemineerd met zo'n 5.000 à 10.000 zaadcellen. Na het samenbrengen van oöcyt en spermatozoön moet een spontane fertilisatie afgewacht worden (1). Na gemiddeld 19 uren is het eerste teken van fertilisatie zichtbaar namelijk de aanwezigheid van twee pronuclei. Na 22 à 25 uren is de eerste klievingsdeling opgetreden en ziet men de vorming van een tweecellig embryo.

Bij ICSI worden de eicellen in vitro bevrucht door rechtstreekse injectie van de zaadcel in het cytoplasma van de eicel (1,36). Het grote voordeel van deze methode is dat er slechts een minimaal aantal zaadcellen voorhanden moet zijn en dat de zaadcellen niet in perfecte staat hoeven te verkeren (bv. afwezige staart) om een succesvol resultaat te bereiken (36). Heden ten dage wordt deze techniek als superieur beschouwd t.o.v. conventionele IVF voor ernstige mannelijke subfertiliteit omwille van de zeer hoge bevruchtingspercentages⁸, tot zo'n 80% van de eicellen (1,12).

Op de 3^e of 5^e dag na de bevruchting worden via de cervix één of twee embryo's teruggeplaatst in de uterus d.m.v. een katheter. Het spreekt voor zich dat de embryo's van de beste kwaliteit worden geselecteerd voor de terugplaatsing. De implantatiekans van een embryo is gemiddeld 20%. Eventueel overgebleven embryo's kunnen worden ingevroren (cryopreservatie) (1,36).

Nadat het embryo is teruggeplaatst, moet het endometrium verder worden ondersteund door toediening van vaginale capsules progesteron. Door de hypofysaire onderdrukking wordt het corpus luteum niet meer in stand gehouden door de gonadotrofines en treedt er luteale insufficiëntie op met een tekort aan progesteron als gevolg (corpus luteum produceert progesteron dewelke het endometrium voorbereidt op de zwangerschap).

⁶ TESE: Testicular Sperm Extraction (Eng.)

⁷ MESA: Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration (Eng.)

⁸ Dit percentage wordt bij ICSI berekend t.o.v. het aantal geïnjecteerde eicellen en niet t.o.v. het aantal verkregen eicellen. (dit is verderop van belang)

2.3.2 Complicaties

Net zoals vrijwel elke medische behandeling blijven ook de geassisteerde reproductieve technieken niet gespaard van een risico op complicaties. In ongeveer 2% van de gevallen komen er complicaties voor en hiervan is het OHSS het meest gevaarlijkst.

2.3.2.1 OHSS (*Ovariëel Hyperstimulatie Syndroom*)

Patiënten die hevig reageren op de ovariële stimulatie en waarbij bijgevolg een groot aantal follikels beginnen te rijpen, hebben een hogere kans op deze complicatie. Dit is bijvoorbeeld het geval bij vrouwen met PCOS. Het syndroom ontstaat echter pas na de toediening van hCG. Een dreigende OHSS kan bijgevolg worden voorkomen door hCG niet toe te dienen. De pathofysiologie berust op een productie van o.a. VEGF⁹ met sterke angiogenese t.h.v. de ovaria en lekkage van deze bloedvaten als gevolg. Het OHSS kent verschillende graden van ernst waarbij de ernstige en potentieel levensbedreigende vorm bij 0.5-2% van de gevallen voorkomt. De lekkage kan immers leiden tot multiple cysten in de ovaria, vocht in de peritoneaalholte (ascites) en pleuraholte (hydrothorax) waardoor ademhalingsmoeilijkheden en zelfs ARDS, hemoconcentratie met verhoogd risico op trombo-embolische processen, hypovolemie, elektrolytenstoornissen en nierfalen. In deze gevallen is dringende hospitalisatie vereist met monitoren van de vitale parameters (1,5).

2.3.2.2 *Meerlingzwangerschap*

Bij conventionele IVF en ICSI is de kans op dizygote meerlingen volledig afhankelijk van het aantal embryo's dat teruggeplaatst wordt. Door de opkomst en toepassing van MBV was er een wereldwijde toename van meerlingzwangerschappen. Om deze redenen gelden er sinds 2003 in België strikte richtlijnen i.v.m. de terugplaatsing, de zgn. toepassing van 'Single embryo transfer' (SET). Een meerlingzwangerschap is immers niet zonder risico's. Dit gaat immers duidelijk gepaard gaat met meer complicaties bij de moeder (pre en post partum bloedingen en pre-eclampsie) en bij het kind (IUGR, mors in utero) en met obstetrische complicaties zoals premature contracties, vroegtijdig breken van de vliezen, premature geboorte, sectio, laag geboortegewicht en abruptio placentae. Opvallend is dat deze complicaties niet verschillen tussen een spontane meerlingzwangerschap en een meerlingzwangerschap na een conventionele IVF-behandeling (1,5).

⁹ VEGF: Vasculaire-endotheelcelgroeifactor (NL) of 'Vascular endothelial growth factor' (Eng.)

2.3.2.3 Gezondheid van kinderen na ICSI

Hoewel ICSI reeds 20 jaar lang succesvol wordt toegepast, is er nog maar weinig gekend over de effecten op de gezondheid van het kind. Het onderzoek naar afwijkingen bij het kind bij ICSI staat nog in zijn kinderschoenen en een definitieve uitspraak is bijgevolg nog niet mogelijk. De bezorgdheid voor afwijkingen bij het kind na een ICSI-procedure vloeit voort uit verschillende hypothesen.

Enerzijds is er het feit dat ICSI een invasieve procedure is en dat dit wellicht schade aan de eicel en het embryo kan berokkenen. Anderzijds wordt geacht dat er geïnterfereerd wordt met de natuurlijke selectie van goede spermacellen door als operator zelf één bepaalde zaadcel te selecteren. Sommigen beweren echter dat er geen sprake zou zijn van deze ‘natuurlijke selectie’ maar dat dit pas aan de orde komt bij de implantatie van de blastocyst d.m.v. spontane abortus (1,8,37).

Onderzoeken zijn het er ondertussen over eens dat er toch een licht verhoogd risico op chromosomale afwijkingen bestaat na ICSI. Het is dan nog de vraag of dit aan de techniek kan worden toegeschreven of aan de ernstige andrologische subfertiliteit. Er wordt verondersteld dat dit resultaat eerder onderhevig is aan bias door gevallen met zeer ernstige mannelijke subfertiliteit, dewelke is geassocieerd aan chromosomale afwijkingen van de zaadcel.

Studies m.b.t. congenitale afwijkingen zijn vrij geruststellend. Een hoger risico wordt gezien bij ICSI voor afwijkingen van de gastro-intestinale en urogenitale tractus zoals bv. hypospadie, vermoedelijk door invloed van een mannelijke factor (1,5).

Wat betreft de fertiliteit bij het kind, in zijn later leven, kan een gedaalde mannelijke vruchtbaarheid, te wijten aan een genetisch defect (bv. Y-deletie met dysfunctie van spermatogenese), d.m.v. ICSI overgeërfd worden van vader op zoon (1).

2.4 Mogelijke indicaties

De precieze indicaties voor conventionele IVF en ICSI zijn nog steeds erg onduidelijk. Oorspronkelijk was enkel tubaire dysfunctie dé indicatie voor conventionele IVF maar heden ten dage wordt conventionele IVF toegepast voor alle vormen van subfertiliteit. De voorwaarde opdat deze techniek zou slagen, is dat er voldoende progressief bewegende zaadcellen in het spermastaal aanwezig zijn. Een slechte zaadcelkwaliteit is hiervoor dus geen indicatie. Bijgevolg werd voor ernstige mannelijke subfertiliteit ICSI ontworpen waarbij de zaadcel direct wordt geïnjecteerd in de eicel en waardoor een zaadcel van slechte kwaliteit tot bij de eicel kan worden gebracht (1).

De kans op bevruchting bij ICSI is in het algemeen hoog gebleken (75% van geïnjecteerde eicellen) i.t.t. tot conventionele IVF (55-60%). Door dit succes wordt ICSI ook voor andere vormen van subfertiliteit veelvuldig toegepast om het risico op totaal fertilisatiefalen (TFF) na conventionele IVF te vermijden, gezien de emotionele last en de hoge financiële kost die hiermee gepaard gaat (38,39,40). Algemeen (onverklaard) TFF na conventionele IVF wordt immers gezien in 10% van de cycli tegenover 3% bij ICSI (38).

Een belangrijke vraag is dus of ICSI de voorkeursbehandeling zal worden bij alle koppels die een reproductieve behandeling nodig hebben. Zonder twijfel is ICSI meer invasief en duur wat vragen doet rijzen over de veiligheid en kosteneffectiviteit van de procedure. Daarom is verder onderzoek voor de juiste indicatiestelling ten zeerste aangewezen. De ‘American Society of Reproductive Medicine’ (ASRM) introduceerde ‘officieel’ in 2007 de indicaties voor ICSI namelijk mannelijke subfertiliteit en vrouwelijke subfertiliteit door slechte eicelkwaliteit, lage eicelaantallen en abnormale zona pellucida van de eicel (41).

In geval van twijfel wordt regelmatig gebruik gemaakt van de zgn. ‘IVF versus ICSI’-techniek, een methode waarbij een cohorte van eicellen wordt opgesplitst in twee loten, waarvan het ene lot wordt behandeld met ICSI en het andere lot met conventionele IVF. Enerzijds wordt dit toegepast om TFF te vermijden. Anderzijds omwille van diagnostische doeleinden, m.a.w. om de beste behandelvorm voor de patiënten te kunnen adviseren bij een eventuele tweede poging. Heel wat studies pleiten voor deze vorm van behandeling bij een verscheidenheid aan fertiliteitindicaties (40,42,43). Hieronder volgt een literatuurstudie over de mogelijke verschillende fertiliteitindicaties voor IVF en (of) ICSI.

2.4.1 Mannelijke subfertiliteit

Het is ondertussen algemeen aanvaard dat ernstige mannelijke subfertiliteit een indicatie vormt voor ICSI-behandeling. Maar of milde mannelijke subfertiliteit (in sommige studies ‘borderline subfertiliteit’ genoemd) hiervoor ook als een indicatie kan worden gezien, is nog maar de vraag (38,15). De studie van *Van der Westerlaken et al.(2006)* besluit dat een ‘IVF versus ICSI’-behandeling¹⁰ het meest is aangewezen bij ‘borderline’ subfertiliteit (gedefinieerd volgens de WHO ‘99) wanneer er voldoende oöcyten aanwezig zijn (15). *Hershtlag et al.(2002)* kon dan weer niet aantonen dat ‘borderline’ subfertiliteit een indicatie vormt voor ICSI (43). Drempelwaarden voor spermaparameters zijn in de meeste studies hoofdzakelijk gebaseerd op WHO-standaarden. De waarde hiervan wordt echter in vraag gesteld. Tot op heden is er immers nog geen enkele test (bv. DNA-onderzoek, chromosomaal onderzoek) of exacte grenswaarde voor spermakwaliteit voorhanden die fertilisatiefalen bij ICSI en conventionele IVF volledig kan uitsluiten (15,44). Meestal wordt er op basis van goede ervaring van klinici beslist welke behandeling het beste wordt toegepast. Bovendien hebben weinig studies de efficiëntie van ICSI en conventionele IVF vergeleken specifiek voor verschillende mannelijke indicaties. Teratozoöspermie is echter wel goed bestudeerd. Bij ernstige teratozoöspermie wordt er immers aangeraden om ICSI of de ‘IVF versus ICSI’-behandeling toe te passen aangezien conventionele IVF een zeer hoog risico heeft op fertilisatiefalen. De studie van *Verheyen et al.(1999)* onderzocht of asthenozoöspermie, dewelke wordt gedefinieerd als $\leq 5\%$ type A motiliteit, een indicatie vormt voor ICSI. Dit werd geassocieerd met een TFF na conventionele IVF van 50%. De studie raadt bijgevolg de ‘IVF versus ICSI’-strategie aan om dit TFF te vermijden (38). Volgens *Hodes-Wertz et al.(2011)* hebben geïsoleerde sperma-abnormaliteiten (bv. morfologie-afwijking) echter geen ICSI nodig.

2.4.2 Slechte eikelkwaliteit

Betreffende slechte eikelkwaliteit als mogelijke indicatie voor ICSI bestaan nog heel wat controversen. Lage eikelkwaliteit kan bepaald worden a.d.h.v. verschillende kenmerken van de eicel, zoals het aantal granulosacellen of de dikte van de zona pellucida (ZP). Eicellen met een relatief dikke ZP zouden minder goed kunnen worden bevrucht en zouden metabool ook van minder goede kwaliteit zijn (45). Een studie van *Saito et al. (2000)* beweerde reeds in

¹⁰ Een methode waarbij een cohorte van eicellen wordt opgesplitst in twee loten, waarvan het ene lot wordt behandeld met ICSI en het andere lot met conventionele IVF. Dit wordt verder besproken.

1999 dat een relatief lage eicelkwaliteit¹¹ een goede indicatie is voor het gebruik van ICSI en dat een goede eicelkwaliteit vereist is voor conventionele IVF (46). Een eerste mogelijke verklaring voor deze bevinding is dat een normale fysiologische interactie tussen spermacel en eicel nodig is opdat conventionele IVF zou slagen, wat niet het geval kan zijn bij een eicel van lage kwaliteit. Bij ICSI wordt deze interactie overbrugd waardoor een eicel van goede kwaliteit niet noodzakelijk is (46). Algemeen kan men dus stellen dat betere fertilisatie wordt verkregen met ICSI en dat in situaties met lage eicelkwaliteit, zoals hoge leeftijd, PCOS en endometriose, ICSI in overweging kan worden genomen (46).

2.4.3 Laag eicelaantal

Een laag eicelaantal verkregen bij de pick-up (zgn. ‘poor ovulatory responders’) betekent minder kansen op zwangerschap. Of een ‘poor responder’ al dan niet als een indicatie voor ICSI kan worden gezien is onderwerp van heel wat discussie. Sommige studies konden geen enkel voordeel van ICSI t.a.v. conventionele IVF aantonen bij een laag eicelaantal (9,47,48). *Ou et al. (2010)* waren dan weer in overtuiging dat ICSI wel een voordeel kan bieden indien er een zeer laag aantal oöcyten (≤ 3) werd verkregen (37). *Xi et al. (2012)* toonden aan dat de fertilisatiepercentages beter waren bij ICSI dan bij IVF indien minder dan 4 eicellen werden verkregen. De klinische zwangerschap was echter vergelijkbaar waardoor de studie dit laag verkregen eicelaantal niet als een indicatie voor ICSI beschouwt (49). Deze grote dissociatie kan te verklaren zijn omdat studies gebruik maken van verschillende definities van een ‘poor responder’ (50). Om dit groot arsenaal aan verschillende definities te omvatten, publiceerde de ESHRE¹² een nieuwe definitie¹³. Een studie die hiervan gebruik maakte, toonde wel significant betere zwangerschapsuitkomsten in het voordeel van ICSI (51). Er werd ook gezocht naar onderliggende verklaringen waarom ICSI wel een voordeel zou bieden bij lage eicelaantallen. De link werd gelegd tussen lage eicelaantallen en de leeftijd. De zona pellucida van de eicel in metafase II zou dikker zijn bij oudere patiënten, dewelke ook meestal ‘poor responders’ zijn (45,52,53). Een dikke zona pellucida brengt de penetratie van de zaadcel in de eicel in het gedrang, wat kan worden ‘gebypassed’ door ICSI (45,52). Dit mogelijk effect van ICSI zou eerder toegeschreven kunnen worden aan een slechtere eicelkwaliteit i.p.v. aan een laag eicelaantal (‘confounder’). Kortom, over de juiste aanpak bij lage ovariële respons zijn er nog te veel onduidelijkheden om hier een uitspraak over te doen. Deze groep is dan

¹¹ Lage eicelkwaliteit werd bepaald a.d.h.v. de incidentie van granulosa cellen in apoptose rondom de oöcyt (46)

¹² European Society of Human Reproduction and Embryology

¹³ Definitie ‘poor responder’ (ESHRE): ten minste 2 van de volgende criteria : (1) leeftijd van vrouw boven 40 jaar, (2) ≤ 3 eicellen tijdens de pick-up, (3) abnormale test voor de ovariële reserve.

ook een van de meest uitdagende patiëntengroepen voor de toekomst in het kader van ART. Vele onderzoekers hebben nog het raden naar mogelijke oorzaken van deze lage ovulatoire respons. Niet alleen de leeftijd maar ook sterke individuele verschillen spelen hierin een rol.

2.4.4 Leeftijd

Vrouwen boven de leeftijd van 40 jaar worden meestal niet behandeld met conventionele IVF wegens het laag aantal verkregen eicellen (53). De ovariële reserve daalt namelijk met de leeftijd waardoor het aantal gecollecteerde eicellen en dus de zwangerschapskansen dalen. Daarnaast gaat ook de kwaliteit van de eicel achteruit o.a. door de hoger beschreven genetische defecten maar ook door een verdikking van de zona pellucida met mogelijks slechtere resultaten na conventionele IVF (47,53). Er kan dan ook worden aangetoond dat vanaf de leeftijd van 40 jaar de kans op een succesvolle zwangerschap na ART sterk vermindert (28,53). Dit weerspiegelt zich in de Belgische wetgeving omtrent de terugplaatsing van embryo's, waarbij in de eerste twee pogingen maximaal twee embryo's mogen worden teruggeplaatst boven de leeftijd van 35 jaar (1). *Ron-El et al. (2000)* vergeleek de uitkomsten van conventionele IVF met ICSI bij vrouwen ouder dan 40 jaar en kon geen verschil aantonen in zwangerschapsuitkomsten tussen beiden (28). Voor wat betreft de invloed van de partnerleeftijd op de uitkomsten van IVF en ICSI bestaat weinig literatuur. *Whitcomb et al. (2011)* konden geen enkele associatie aantonen met de leeftijd van de partner en levendgeboorten na ART. Het effect van de maternale en paternale leeftijd op de fertilisatie bij IVF en ICSI werd nooit eerder bestudeerd. (54)

2.4.5 PCOS

Studies over de uitkomsten van ICSI- en IVF- behandelingen bij PCOS zijn schaars (16). In het algemeen worden voornamelijk grotere eicelaantallen (weliswaar minder matuur en van mindere kwaliteit) gezien na de ovariële stimulatie, waardoor hogere aantallen bevruchte eicellen (16,55). Dit resulteert in hogere kansen op een klinische zwangerschap per transfer, waardoor PCOS bij de vruchtbaarheidsbehandeling misschien zelfs een factor kan zijn met goede prognose (16). *Hwang et al. (2005)* constateerden bij vrouwen met PCOS betere fertilisatiepercentages bij ICSI dan bij conventionele IVF (56). Verder onderzoek in dit kader is dan ook vereist voor een goede indicatiestelling voor IVF en ICSI bij vrouwen met PCOS. Studies tonen aan dat de resultaten na behandeling met conventionele IVF bij endometriose teleurstellend zijn, zeker voor wat betreft fertilisatiepercentages. Er zijn aanwijzingen dat ICSI een hoger fertilisatiepercentage heeft dan conventionele IVF in aanwezigheid van

endometriose. Bovendien is er de vaststelling dat ook milde vormen van endometriose met subfertiliteit kunnen gepaard gaan. Dit alles doet vermoeden dat, naast een anatomische verstoring van de reproductieve organen d.m.v. adhesies, een gedaalde eicelkwaliteit mede verantwoordelijk is voor de subfertiliteit bij endometriose (17,18). Zo konden abnormaliteiten in de microtubuli en chromosomen van de eicel worden gedetecteerd (17). Daarnaast zou de zona pellucida (ZP) van de eicel ook een dysfunctie vertonen. Dit wordt vermoed doordat na conventionele IVF bij endometriose meer abnormale bevruchting plaatsvindt. Het gaat hier voornamelijk om triploïde zygoten, wat fysiologisch moet worden verhinderd door de corticale reactie van de eicel onmiddellijk na de fusie van gameten. Bij dit proces wordt de ZP ondoordringbaar ('zona hardening') voor andere zaadcellen en wordt op deze manier polyspermie verhinderd. Bij gebruik van ICSI wordt de ZP buiten schot gezet, wat mogelijk een verklaring kan zijn waarom ICSI bij endometriose een hoger fertilisatiepercentage heeft dan IVF (17). Naast de eigenschappen van de eicel zouden ook inflammatoire processen t.h.v. het peritoneaal vocht bij endometriose de ovulatie en folliculogenese negatief beïnvloeden (18). Deze ontstekingsreactie heeft tevens een toxisch effect op de kwaliteit en functie van de spermatozoa en eicel waardoor een normale acrosoomreactie en binding van de spermacel met de zona pellucida wordt verhinderd (17,18).

2.4.6 Endometriose

Het lijkt erop dat ICSI betere resultaten met zich meebrengt dan conventionele IVF voor wat betreft de fertilisatie in gevallen waarbij mogelijk een eicelfactor een rol speelt, zoals bij PCOS en endometriose. Het zou dus kunnen dat ICSI een betere behandeling is dan conventionele IVF voor endometriose en PCOS. De impact op de zwangerschapresultaten moeten echter nog onderzocht worden (17).

2.4.7 Tubaire stoornissen

Conventionele IVF is reeds geruime tijd de standaardbehandeling voor subfertiliteit t.g.v. tubaire dysfunctie (57). Voor wat betreft de resultaten na behandeling met conventionele IVF en ICSI, kan er geen significant verschil worden aangetoond in fertilisatiepercentages tussen ICSI en conventionele IVF (39,57). Het TFF bij tubaire subfertiliteit wordt geschat op 12,5% bij conventionele IVF en 3,6% bij ICSI (39). Zoals eerder aangegeven, is er bij tubaire subfertiliteit een mechanische barrière t.h.v. de eileider, die de samenkomst tussen spermacel en eicel verhindert. Bij een behandeling met conventionele IVF wordt deze weggehaald en zou men dus verwachten dat fertilisatie nu wel optreedt. Er wordt gesuggereerd dat het risico

op TFF bij tubaire dysfunctie wordt geminimaliseerd door ICSI. Dit zou echter voornamelijk geassocieerd zijn met een laag eicelaantal en slechte eicelkwaliteit. Verschillen in embryokwaliteit en zwangerschapuitkomsten tussen beide technieken konden niet worden aangetoond (39,57). Het lijkt er dus op dat er geen redenen zijn om ICSI boven conventionele IVF te verkiezen wanneer een tubaire stoornis de oorzaak is van de subfertiliteit. Beide technieken kunnen echter wel worden gecombineerd tijdens een eerste poging (39).

2.4.8 Rookgedrag

Voor wat betreft de invloed van roken op geassisteerde reproductie zijn nogal wat controversen. Er zijn aanwijzingen dat roken door één of beide partners het succesratio van conventionele IVF significant zou verlagen door een gedaalde eicel- en zaadcelkwaliteit (7,19,21). Vrouwen die roken hebben bijna twee keer zoveel pogingen nodig alvorens een succesvol resultaat wordt bereikt met conventionele IVF. Doorgaans is een hogere gemiddelde dosis gonadotrofines vereist voor stimulatie, worden minder eicellen verkregen tijdens de pick-up en is er een verhoogde kans op TFF (7,21). *Wright et al. (2006)* konden echter geen enkele relatie aantonen tussen rookgedrag van de vrouw en de uitkomst na conventionele IVF (22). Rookgedrag bij de man gaat gepaard met gedaalde spermamorfologie, -motiliteit en bijgevolg een gedaalde mogelijkheid tot penetratie van de eicel. Hierdoor wordt verondersteld dat met de ICSI-techniek betere zwangerschapsresultaten kunnen worden bereikt. Het ziet er echter naar uit dat ook de resultaten van ICSI nefast worden beïnvloed door paternaal rookgedrag (7,19). De sigarettenrook veroorzaakt immers DNA-beschadiging in de spermacel waardoor het risico bij ICSI nog groter wordt dat de ‘ongezonde’ spermatozoa worden geselecteerd voor injectie en waardoor genetische schade wordt overgebracht op het embryo (19). Een eerste stap in de effectieve behandeling van subfertiliteit is dus stoppen met roken en indien nodig met nicotinevervangende middelen (21). Dit is bewezen effectief waarbij de vruchtbaarheid volledig zou kunnen recupereren. Het negatief effect op de reproductieve organen zou namelijk van reversiebele aard zijn (dit geldt niet voor het effect op de gameten) (20). Het ziet er immers naar uit dat ART niet zomaar de verminderde vruchtbaarheid geassocieerd aan het rookgedrag kan overbruggen.

2.4.9 Alcoholconsumptie

Het aantal studies over de invloed van alcohol op de uitkomsten van conventionele IVF zijn op één hand te tellen. De studie van *Klonoff-Cohen et al. (2005)* concludeerde dat zowel maternale als paternale alcoholconsumptie een invloed heeft op de resultaten van een

conventionele IVF-procedure. Bij slechts één consumptie per dag zouden er reeds lagere eicelaantallen worden verkregen. Indien er alcohol wordt genuttigd minder dan één maand voor de procedure, is er een lagere kans op conceptie. Daarnaast bestaat er een verhoogd risico op miskraam indien er minder dan één week voordien alcohol wordt geconsumeerd. Dit valt ten dele te verklaren doordat alcohol een nefaste invloed heeft op de werking van de meiotische spoelfiguur en chromosoomsegregatie met verhoogd risico op spontane abortus als gevolg. Er wordt bijgevolg aangeraden om ten minste één maand voor de procedure alcoholconsumptie te mijden (27). *Rossi et al. (2013)* kon geen betere uitkomsten bij conventionele IVF aantonen nadat patiënten werden aangespoord en begeleid om te stoppen met alcoholconsumptie tijdens hun behandeling (58). Studies over de invloed van alcohol op de resultaten van ICSI zijn onbestaande.

2.4.10 BMI van de vrouw

De toenemende incidentie van overgewicht in de wereld en de nefaste invloed hiervan op de fertiliteit heeft geleid tot een grotere vraag naar MBV bij deze groep (33,34). Over de invloed van overgewicht bij de vrouw op de uitkomsten van conventionele IVF en ICSI bestaat echter nog onduidelijkheid. Naast het induceren van anovulatie (zie supra), heeft overgewicht wellicht ook een negatief effect op de eicel- en embryokwaliteit, hoewel studies het hierover nog niet helemaal eens zijn (33,34). Doordat er eveneens een verhoogde kans zou bestaan op zeer vroege miskramen (op 6 à 7 weken), wordt dit voorgaand vermoeden alleen maar versterkt. Het hoeft niet te verwonderen dat door deze slechte eicelkwaliteit ook de uitkomsten van conventionele IVF en ICSI nefast worden beïnvloed. Verschillende studies konden reeds een nefaste invloed aantonen van obesitas op de uitkomsten van conventionele IVF en ICSI (59,35). Zo zou overgewicht gepaard gaan met een gedaalde kans op zwangerschap en implantatie na conventionele IVF en dit vnl. bij abdominale vetdistributie (33). *Van Swieten et al. (2005)* konden bij obese vrouwen een reductie in fertilisatiepercentage van 45% na conventionele IVF en na ICSI aantonen in vergelijking met vrouwen met een normaal gewicht (59). Bovendien veroorzaakt overgewicht, mede door een stoornis in de hormonale absorptie en metabolisatie, een lage respons op eicelstimulatie. Hierdoor zijn hoge dosissen en/of langdurige toediening van gonadotrofines vereist en zorgt de blootstelling van de ovaria en uterus aan dit soort hoge hormoonconcentraties mogelijk voor gedaalde zwangerschapskansen. Door de lage ovariële respons worden bijgevolg lagere eicelaantallen en meer immature eicellen gecollecteerd (33,34,35,60). Dit laatste heeft echter niets te maken met PCOS aangezien hier eerder hogere eicelaantallen worden verkregen (33).

Daarnaast is er het vermoeden dat er zich veranderingen voordoen in het endometrium vanwege het overgewicht, dewelke op zijn beurt de implantatie van de blastocyst in het gedrang brengt (33,34). Studies die de uitkomsten van ICSI en conventionele IVF met elkaar vergelijken in het kader van overgewicht zijn niet voorhanden.

2.4.11 Onverklaarde subfertiliteit

Indien er geen duidelijke mannelijke of vrouwelijke pathologie kan worden aangetoond d.m.v. diagnostische testen bij een koppel met subfertiliteit, spreekt men van onverklaarde of idiopathische subfertiliteit. Dit is in 5-30% van de koppels het geval is. Het TFF na conventionele IVF zou 5- 25% bedragen bij onverklaarde subfertiliteit (61). Welke behandeling hierbij de voorkeur geniet is een vraag die even onbeantwoord blijft als de vraag over de diagnose zelf. Sommige studies raden aan om bijgevolg een '*IVF versus ICSI*'-strategie aan te wenden zodat het risico op TFF zo klein mogelijk wordt gehouden en zodat a.d.h.v. de resultaten het verdere beleid kan worden uitgestippeld (43,47,62). *Johnson et al. (2013)* daarentegen beweren dat met ICSI betere fertilisatiepercentages worden bereikt en dat het risico op TFF wordt geminimaliseerd. Hierdoor worden zowel de '*IVF versus ICSP*'-behandeling en ICSI in monotherapie als evenwaardig beschouwd in de studie (61).

3 Onderzoeksvragen

3.1.1 Hoofdonderzoeksvraag

De hoofdonderzoeksvraag van deze studie luidt: “Kunnen er patiëntgerelateerde determinerende factoren worden gevonden, dewelke van tevoren kunnen bepalen welke aanpak voor vruchtbaarheidsbehandeling (*conventionele IVF, ICSI of 'IVF versus ICSI'*) bij een koppel het meest is aangewezen?”.

Dat ernstige mannelijke subfertiliteit een indicatie vormt voor ICSI staat ondertussen als een paal boven water, maar tot op heden zijn andere fertiliteitindicaties voor conventionele IVF en ICSI nog niet duidelijk bepaald. In de praktijk wordt in geval van twijfel gebruik gemaakt van de zgn. ‘*IVF versus ICSI*’-behandeling, een methode waarbij een cohorte van eicellen wordt opgesplitst in twee loten, waarvan het ene lot wordt behandeld met ICSI en het andere lot met conventionele IVF. Enerzijds wordt dit toegepast om totaal fertilisatiefalen (TFF) te vermijden. Anderzijds om diagnostische doeleinden m.a.w. om de beste behandelvorm voor de patiënten te kunnen adviseren bij een eventuele tweede poging. In de afdeling ‘*Reproductieve Geneeskunde*’ van het UZ Gent wordt deze techniek al geruime tijd toegepast bij koppels met verschillende vormen van subfertiliteit tijdens hun eerste poging. Op het eerste zicht lijkt dit een adequate oplossing, ware het niet dat ICSI veel duurder en invasiever is dan conventionele IVF en dat men bijgevolg zuinig met de ICSI-techniek moet omspringen. Conventionele IVF is en blijft immers een schitterende techniek die misschien ten onrechte zijn plaats in de reproductieve geneeskunde voor een deel heeft moeten afstaan door de komst van ICSI. Beter indicatiestelling voor ICSI is bijgevolg een noodzaak, zodat enerzijds het risico op overbehandeling met ICSI wordt geminimaliseerd en anderzijds de indicaties die baat hebben bij ICSI adequaat worden behandeld. In deze studie wordt er bijgevolg geëvalueerd of de aangewende ‘*IVF versus ICSI*’-techniek, bij koppels met een desbetreffende fertiliteitindicatie, ook het meest was aangewezen en of het niet beter was geweest dat alle verkregen eicellen behandeld werden met enkel één van beide behandelingen namelijk ofwel ICSI ofwel conventionele IVF.

3.1.2 Subvragen

Daar het ook gaat om een beschrijvende analyse van de ervaringen van de ‘*IVF versus ICSI*’-strategie in het UZ Gent, wordt de vraagstelling vrij breed geïnterpreteerd. Bijgevolg wordt gepoogd om a.d.h.v. beschrijvende parameters een beeld te scheppen van de studiepopulatie en wordt nagegaan of deze gegevens in overeenstemming zijn met de literatuur.

4 Methodologie

4.1 Algemeen

Om de onderzoeksvraag, dewelke hierboven werd vermeld, te kunnen beantwoorden, werd een retrospectieve cohortestudie uitgevoerd. Om in dit opzet te slagen, werden koppels die een vruchtbaarheidbehandeling in het UZ Gent ondergingen, geselecteerd a.d.h.v. relevante inclusie- en exclusiecriteria. Deze worden hieronder verder uiteengezet. De nodige informatie werd verkregen via verschillende bronnen, o.a. de elektronische FIDA-database, aangevuld met informatie uit het EPD (Elektronisch Patiënten Dossier) en papieren dossiers. Deze gegevens werden uiteindelijk verwerkt a.d.h.v. adequaat statistisch onderzoek.

4.2 Ethisch Comité

Het Ethisch Comité van het Universitair Ziekenhuis Gent diende de goedkeuring te geven om deze experimentele studie aan te vangen. Voor de studie was immers het inkijken van persoonlijke patiëntendossiers met strikt vertrouwelijke informatie vereist. Deze goedkeuring werd gegeven in oktober 2012 vóór de aanvang van de studie (Appendix IV).

4.3 Literatuuronderzoek

Via een uitgebreide literatuurstudie kon de klinische achtergrond i.v.m. de onderzoeksvraag verder worden uitgediept. Wetenschappelijke artikels werden opgezocht via de PubMed-databank a.d.h.v. MeSH-termen ('Medical Subject Headings') zoals 'reproductive techniques, assisted'; 'sperm injections, intracytoplasmic'; 'fertilization in vitro'; 'infertility, female/male'; 'alcohol drinking'; 'smoking'; 'maternal/paternal age'; 'endometriosis'; 'fallopian tube diseases'; 'ovary'; 'polycystic ovary syndrome'; enzovoort. Verder werden ook relevante artikels verzameld, dewelke waren gerelateerd of geciteerd aan eerder gevonden artikels. Naast PubMed werd ook gebruik gemaakt van ISI¹⁴ - Web of Science om geciteerde en gerelateerde artikels op het spoor te komen en om de impact van het tijdschrift, waarvan het artikel afkomstig is, te bepalen. Waar mogelijk werd er steeds gezocht naar de meest recente literatuur afkomstig van hoog aangeschreven tijdschriften. Sporadisch werden ook oudere artikels geselecteerd omwille van hun interessante inhoud over bv. pathofysiologische processen of zaken die in recente literatuur nog niet werden bevestigd. Verscheidene artikels werden rechtstreeks verkregen via contact met de co-promotor.

¹⁴ ISI: Institute of Scientific Information

4.4 Selectie

4.4.1 Selectie studiegroep

Voor de selectie van de studiegroep werd vertrokken van een elektronisch patiëntenbestand van de afdeling ‘Reproductieve Geneeskunde’ van het UZ Gent, zijnde ‘FidaNet’. Deze laatste wordt gebruikt voor de registratie van ‘BELRAP’-gegevens¹⁵. De studiegroep betreft koppels die zich voor het eerst lieten behandelen met MBV in het UZGent binnen de periode van augustus 2010 tot januari 2013. Er werd voor deze startdatum gekozen omdat in augustus 2010 het laboratorium veranderd is van locatie en er op deze manier geen bias kan gecreëerd worden door een andere laboratoriumatmosfeer. Een overzicht van verschillende inclusie- en exclusiecriteria van de koppels zijn te vinden in bijgevoegde tabel 4. Na doorvoeren van deze selectie werd een steekproefgrootte van 187 koppels/cycli bekomen. Uiteindelijk werd de dataset vanuit een Excel-bestand geïmporteerd in het statistisch softwarepakket IBM SPSS Statistics versie 22.0 (‘Statistical Package for the Social Sciences’) voor verdere statistische analyse.

Tabel 4 Selectiecriteria.

Inclusiecriteria	Exclusiecriteria
Cycli binnen UZGent uitgevoerd (standaardisatie van institutieafhankelijke factoren)	Geplande pick-up niet uitgevoerd ¹
‘IVF versus ICSI’-behandelingsvorm ²	Switch van alle eicellen naar ICSI of conventionele IVF ³
Eerste poging van het koppel om zwanger te worden	MESA/TESE ⁴
Vers ejaculaat	Donorsperma

¹ Indien een pick-up werd gepland maar deze is niet uitgevoerd, wordt dit koppel geëxcludeerd uit de studie.

² Om gelijktijdig beide behandelingsvormen te kunnen vergelijken bij eenzelfde koppel, werden enkel de cycli waarin de cohorte van eicellen deels met ICSI en deels met conventionele IVF werden behandeld, opgenomen.

³ Soms wordt er op basis van een aantal criteria (bv. laag eicelaantal, slechte spermakwaliteit) toch beslist om alle eicellen volledig te behandelen met ofwel ICSI, ofwel conventionele IVF.

⁴ MESA (microsurgical epididymal sperm aspiration) en TESE (testicular sperm extraction) kan worden aangewend bij alle vormen van azoöspermie waar de spermatogenese behouden blijft (1).

¹⁵ BELRAP (Belgian Register for Assisted Procreation) is een registratiesysteem op international niveau dewelke sinds 1989 gegevens verzameld i.v.m. MBV (66).

4.4.2 Selectie van de variabelen

Na uitgebreid literatuuronderzoek en overleg met promotor en co-promotor, werden de nodige variabelen geselecteerd dewelke zullen worden onderzocht op hun voorspellende waarde (cf. onderzoeksvraag). Deze variabelen werden ook uit het hoger beschreven ‘FidaNet’ gehaald. Ontbrekende gegevens werden, waar mogelijk, manueel aangevuld a.d.h.v. het EPD en papieren dossiers door koppeling met het adremanummer van de patiënt (ook een variabele uit BELRAP).

Om de variabelen lengte, gewicht, rookgedrag en alcoholconsumptie van patiënte en partner te bepalen, werd een specifiek document, dat het koppel diende in te vullen bij het eerste contact op de dienst, gebruikt (Appendix V). Tenslotte werd een adequate ‘datacleaning’ uitgevoerd, gevolgd door het categoriseren van bestaande variabelen en berekenen van nieuwe variabelen. De berekeningen werden voorgesteld in onderstaande tabel.

Tabel 5 Berekeningswijze van de nieuwe variabelen.

Variabele	Berekeningswijze
Leeftijd patiënte/partner (j)	Datum pick-up – geboortedatum
BMI Patiënte (kg/m²)	Gewicht patiënte (kg)/ (lengte patiënte (m)) ²
Eicelkwaliteit (IE Gn/eicel)¹	Totale dosis gonadotrofines (IE)/ aantal gecollecteerde eicellen
Zaadcelkwaliteit ‘TMSC’ (miljoen)²	Spermaconcentratie (aantal miljoenen zaadcellen/ml) x spermavolume (ml) x gemiddelde van A + B motiliteit (%)
Aantal COC’s (‘Cumulus Oöcyt Complexen’) verkregen bij ICSI³	Aantal gecollecteerde eicellen – aantal eicellen behandeld met conventionele IVF
Fertilisatiepercentage van conventionele IVF (%)	Aantal bevruchte eicellen met 2 pronucleï / aantal COC’s(%)
Fertilisatiepercentage van ICSI (%)	Aantal bevruchte eicellen met 2 pronucleï / aantal COC’s (%)
Fertilisatieratio	Fertilisatiepercentage conventionele IVF (%) / Fertilisatiepercentage ICSI (%)

¹De eicelkwaliteit kan worden bepaald a.d.h.v. de dosis gonadotrofines (IE) die was vereist per eicel. Hoe hoger de dosis was vereist om de eicel te doen uitrijpen, hoe slechter de kwaliteit van de eicel.

²De TMS of ‘Total Motile Sperm Count’ is een parameter om de kwaliteit van het spermastaal te bepalen. Het begrip omvat het aantal miljoen beweeglijke zaadcellen in het spermastaal.

³De COC’s of ‘Cumulus Oöcyt Complex’ omschrijft de rijpe eicel die omgeven wordt door cumuluscellen (granulosacellen), in een Graafse follikel net vóór de ovulatie. Tijdens de pick-up worden juist deze complexen geaspireerd. Bij de ICSI-procedure wordt deze cumulus verwijderd en worden enkel, de nu zichtbare, rijpe metafase II oöcyten geïnjecteerd. Om deze reden is het belangrijk dat het fertilisatiepercentage van ICSI wordt berekend op de COC’s en niet op het aantal geïnjecteerde eicellen. In dit laatste geval wordt ICSI vermoedelijk bevoordeeld t.o.v. conventionele IVF, waardoor bias van de resultaten kan ontstaan.

4.5 Statistische analyse

Het leerplatform ‘Athena’ van de Universiteit Gent stelt het statistisch softwarepakket SPSS®, versie 22.0 ter beschikking voor de verwerking van statistische gegevens. Het boek ‘Statistische Gegevensverwerking met behulp van IBM SPSS STATISTICS 19’ werd geraadpleegd (63). Er werd ook contact genomen met Professor Van Maele, medewerker van de dienst Biostatistiek van de Universiteit Gent, voor verdere bespreking van de statistische analyse.

De variabelen werden in eerste instantie getest via univariate analyse. Continue variabelen dienden eerst getest te worden op hun normaliteit via de Kolmogorov-Smirnovtest en de Shapiro-Wilktest. Behalve de ‘leeftijd van de patiënte’ kenden alle andere variabelen geen normale distributie, wat wil zeggen dat de nulhypothese, zijnde ‘de variabele x is normaal verdeeld,’ kon verworpen worden. Daarom werd gebruik gemaakt van de niet-parametrische Mann-Whitney U-test i.p.v. de Student’s t-test. Beschrijvende parameters dienden steeds extra te worden aangevraagd via frequentietabellen.

De logistische regressie-analyse waarbij als uitkomstvariabele de dichotomisatie van de fertilisatieratio, zijnde $\frac{\text{fertilisatiepercentage IVF (\%)}}{\text{fertilisatiepercentage ICSI (\%)}}$, werd gebruikt. Door deze dichotomisatie wordt de test meer robuust en verhoogt de power van de test. Op deze wijze worden de fertilisatiepercentages van ICSI en conventionele IVF per koppel relatief t.o.v. elkaar bekeken. Na toepassing van bovengenoemde selectiecriteria op de dataset van 216 patiënten, wordt een steekproefaantal van 187 cycli bekomen, bestaande uit 2511 verkregen eicellen, met een gemiddelde van 13,43 eicellen per koppel.

Het spreekt voor zich dat de uitkomstvariabele volgende waarden kan aannemen (zie tabel 6). Een waarde groter dan één (>1) betekent dat het fertilisatiepercentage bij conventionele IVF hoger is dan bij ICSI.

Indien men een waarde gelijk aan één ($=1$) verkrijgt, scoren ICSI en conventionele IVF even goed op vlak van bevruchting. Dit wil dus zeggen dat ICSI bij het koppel in deze situatie geen voordeel biedt. Naar klinische relevantie wordt deze groep samen ingedeeld met de gevallen waarbij conventionele IVF betere fertilisatiepercentages bereikt dan ICSI (>1). Bij deze koppels was het immers beter geweest indien van bij het begin volledig werd overgeschakeld

op conventionele IVF. Om deze reden zal dan bij een eventuele tweede poging enkel IVF worden toegepast op alle gecollecteerde eicellen.

Bij een waarde kleiner dan één (< 1) ligt het fertilisatiepercentage bij conventionele IVF lager dan bij ICSI. Het is voornamelijk bij deze gevallen dat de interesse ligt, aangezien hier kan worden besloten dat alle eicellen best met ICSI worden behandeld. Vandaar stellen we de waarde waarbij het fertilisatieratio kleiner is dan één in als het ‘event’ (‘value’ 1). Wanneer het fertilisatiepercentage van ICSI gelijk is aan nul, bekomen we een oneindigheid in de berekening van de fertilisatieratio, dewelke wordt ingevuld door SPSS als ‘missing’. Deze gevallen werden handmatig ingevuld als zijnde ‘conventionele IVF doet het beter’ (‘value’ 0).

Tabel 6 De dichotomisatie voor de uitkomstvariabele met het aantal en het percentage koppels behorend tot elke groep.

Uitkomstvariabele	N (% van totaal van 187 patiënten)
REFERENTIE (value 0) conventionele IVF beter dan ICSI of even goed als ICSI: $\frac{\text{fertilisatiepercentage IVF (\%)}}{\text{fertilisatiepercentage ICSI (\%)}} \geq 1$	98 (52%)
EVENT (value 1) conventionele IVF slechter dan ICSI (of ICSI beter): $\frac{\text{fertilisatiepercentage IVF (\%)}}{\text{fertilisatiepercentage ICSI (\%)}} < 1$	89 (48%)

Bijgevolg zal logistische regressie gebruikt worden voor het opsporen van voorspellende factoren waardoor ICSI betere fertilisatiepercentages met zich meebrengt dan conventionele IVF. Multivariate analyse dient eveneens te worden uitgevoerd om de onafhankelijke effecten van de verschillende variabelen te onderzoeken. Op deze manier kan worden onderzocht of een significant resultaat nog steeds aanwezig is ondanks de invloed van andere variabelen. Via de ‘Forward’- en ‘Backward’-selectieprocedures wordt bekeken welke variabelen bijdragen tot het verkrijgen van significantie en welke best verwijderd worden uit de lijst. Bij de ‘Forward’-selectieprocedure worden de variabelen met de meeste significantie het eerst toegevoegd. Bij de ‘Backward’-selectieprocedure wordt gestart met alle variabelen samen en worden diegene met de minste significantie telkens verwijderd uit de lijst. Het significantieniveau (α) wordt gelegd op 0.05.

Als laatste dient vermeld te worden dat er op geen enkele manier gebruik gemaakt werd van een financiële vergoeding bij de analyse van de resultaten.

5 Resultaten

5.1 Inleiding

Deze studie heeft, zoals eerder vermeld, als doel om determinerende factoren te bepalen die kunnen voorspellen of er voor de behandeling van subfertiliteit voor ICSI of conventionele IVF moet worden gekozen. Anders gezegd, wordt er naargelang klinische relevantie gezocht naar factoren die kunnen voorspellen wanneer ICSI betere fertilisatieresultaten behaalt dan conventionele IVF. Dit laatste zou namelijk betekenen dat alle eicellen beter met ICSI worden behandeld. Voor de analyse wordt gebruik gemaakt van univariate testen en multivariate logistische regressie-analyse om deze factoren te kunnen opsporen. Hierbij wordt de dichotome uitkomstvariabele $\frac{\text{fertilisatiepercentage IVF (\%)}}{\text{fertilisatiepercentage ICSI (\%)}}$ is kleiner dan één' gebruikt. Eerst wordt elke variabele afzonderlijk bekeken via de univariate analyse om mogelijke associaties te achterhalen. Hierna volgt een multivariate analyse om de onafhankelijke effecten van de verschillende variabelen na te gaan. Een overzicht van de variabelen en bijhorende P-waarde uit de univariate analyse is terug te vinden in onderstaande tabel 7. De nulhypothese stelt dat 'de desbetreffende factor niet van invloed is op het feit dat ICSI het beter doet dan conventionele IVF op vlak van bevruchting'. Het significantieniveau (α) van de testen wordt telkens gesteld op 0.05. Er wordt telkens tweezijdig getoetst.

5.2 Algemene bevindingen

Zoals beschreven in de methodologie werd vertrokken van 187 cycli, bestaande uit 2511 (gemiddeld 13,43 eicellen per koppel) verkregen eicellen waarvan 1282 eicellen werden behandeld met conventionele IVF. Aan ICSI werden 1229 eicellen toegewezen waarvan er slechts 978 daadwerkelijk werden geïnjecteerd (metafase II oöcyten). Het fertilisatiepercentage¹⁶ was gemiddeld 60,5% voor ICSI en 53,4% voor conventionele IVF. Het percentage 'abnormale bevruchting' (3pn en 1pn¹⁷) was 10,5% voor conventionele IVF en slechts 5,4% in het geval van ICSI. De incidentie van totaal fertilisatie falen (TFF) in deze cohorte was 15% na conventionele IVF en slechts 3,2% na ICSI. Uiteindelijk kreeg 12,3% van de koppels een levend geboren kind.

¹⁶ De (abnormale) bevruchttingspercentages werden zoals eerder beschreven berekend op basis van het aantal eicellen met 2 pronuclei per verkregen COC's en niet per geïnjecteerde metafase II oöcyt in het geval van ICSI. Indien dit wel het geval zou zijn loopt het fertilisatiepercentage immers op tot 75 % voor ICSI!

¹⁷ 3pn = 3 pronuclei; 2pn = 2 pronuclei

Tabel 7 Univariate analyse met bijhorende P-waarde. Gemiddelde waarde \bar{x} en standaarddeviatie (SD) voor continue variabelen en percentage koppels met aanwezigheid van indicatie voor categorische variabelen.

Verklarende variabelen	conventionele IVF beter of even goed (≥ 1) (n=98)	ICSI beter (<1) (n=89)	P-waarde
Leeftijd patiënte (j)	$\bar{x}_1 = 31.4$ (SD 5.06)	$\bar{x}_2 = 32.5$ (SD 4.91)	0.142
Leeftijd partner (j)	$\bar{x}_1 = 33.7$ (SD 6.28)	$\bar{x}_2 = 35.3$ (SD 6,91)	0.053
Partner ≥ 32 jaar (n=119) (%)	54.08 (n=53)	74.16 (n=66)	0.004
BMI patiënte (kg/m ²)	$\bar{x}_1 = 24.03$ (SD 6.75)	$\bar{x}_2 = 22.5$ (SD 4,06)	0.082
BMI-klasse (%) Ondergewicht (n=8)	2.38 (n =2)	7.32 (n=6)	0.087
Overgewicht (%) (n=36)	27.38 (n=23)	15.85 (n=13)	
Alcohol patiënte (%) (n=119)	74.12 (n=63)	71.79 (n=56)	0.739
Alcohol partner (%) (n=122)	88.16 (n=67)	80.88 (n=55)	0.226
Roken patiënte (%) (n=24)	17.44 (n=15)	11.54 (n=9)	0.285
Roken partner (%) (n=35)	29.0 (n=23)	17.1 (n=12)	0.070
Vrouwelijke pathologie (%) (n=101)	52.04 (n =51)	56.18 (n =50)	0.571
Endometriose (%) (n= 31)	13.27 (n =13)	20.69 (n=18)	0.177
Tubaire pathologie (%) (n=26)	13.54 (n=13)	14.77 (n=13)	0.811
Ovulatiestoornissen(%) (n=16)	7.22 (n=7)	10.11 (n=9)	0.482
PCOS (%) (n=23)	19.18 (n=14)	14.06 (n=9)	0.424
Eicelaantal	$\bar{x}_1 = 13.3$ (SD 8.09)	$\bar{x}_2 = 13.6$ (SD 7.58)	0.767
'Poor responder' ¹ (%) (n =15)	7.14 (n= 7)	8.99 (n = 8)	0.643
Eicelkwaliteit (IE Gn ² /eicel)	$\bar{x}_1 = 237.0$ (SD 250.71)	$\bar{x}_2 = 211.8$ (SD 172.98)	0.582
Zaadcelkwaliteit 'TMSC' ³ (miljoen)	$\bar{x}_1 = 76.9$ (SD 72.82)	$\bar{x}_2 = 63.8$ (SD 52.50)	0.314
Mannelijke subfertiliteit (TMSC<19miljoen) (%) (n=35)	13.27 (n=13)	24.72 (n=22)	0.045
Spermaconcentratie (aantal milj./ml)	$\bar{x}_1 = 85.1$ (SD 62.51)	$\bar{x}_2 = 77.6$ (SD 57.07)	0.366
Spermavolume (ml)	$\bar{x} = 3.4$ (SD 1.81)	$\bar{x}_2 = 3.4$ (SD 2.08)	0.943
Normale morfologie (%)	$\bar{x}_1 = 8.9$ (SD 3.74)	$\bar{x}_2 = 8.3$ (SD 3.92)	0.151
Motiliteit A+B (%)	$\bar{x}_1 = 27.8$ (SD 7.58)	$\bar{x}_2 = 26.4$ (SD 8.13)	0.338

¹ 'Poor responder': ≤ 5 eicellen (zie infra).

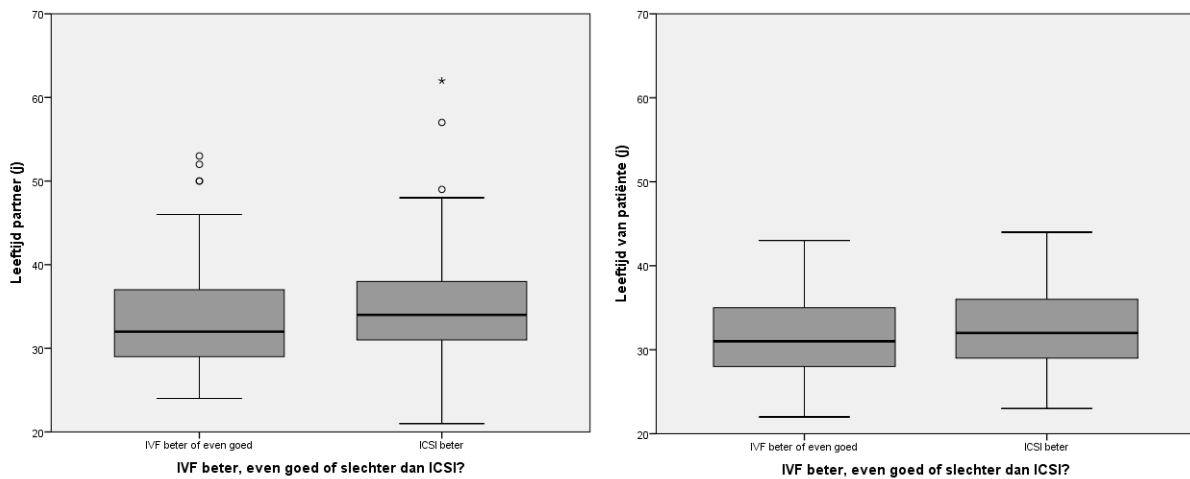
² IE Gn: dosis Internationale Eenheden Gonadotrofines.

³ TMSC : 'Total Motile Sperm Count' = aantal goed beweeglijke zaadcellen in het spermastaal.

5.3 Univariante analyse

5.3.1 Leeftijd patiënte en partner

Het is algemeen aanvaard dat een hogere leeftijd van de vrouw gepaard gaat met een gedaalde vruchtbaarheid. Uiteraard is dit het gevolg van een natuurlijk verouderingsproces. Er kan een daling worden waargenomen van zowel de eicelkwaliteit als het eicelaantal. Ook bij de man is er sprake van een daling van de zaadcelkwaliteit met toenemende leeftijd.

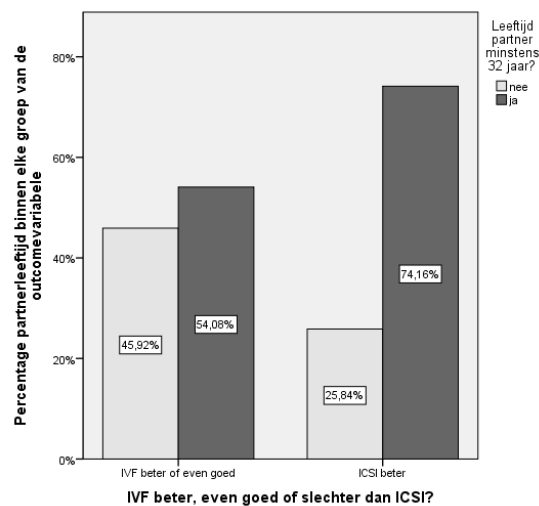


Figuur 1 Leeftijd van patiënte en partner (in jaren) voor elke techniek die beter scoort.

Wat betreft de leeftijd van de patiënte, toont bovenstaande Box-and-Whisker-plot slechts een klein verschil in gemiddelde leeftijd tussen beide groepen ($\bar{x}_1=31,4$; $\bar{x}_2=32,5$) met gelijkaardige spreiding (figuur 1, links). Voor deze variabele werd gebruik gemaakt van de ongepaarde Student's t-test. Alvorens deze test uit te voeren, werd nagegaan of de continue variabele 'leeftijd patiënte' Gaussiaans is verdeeld. De Shapiro-Wilktest toonde geen significant verschil met de normaalverdeling. Ook aan de tweede voorwaarde voor deze test is voldaan, namelijk dat beide varianties in de steekproeven gelijk zijn (Levene's-test: $P=0,731$). Zoals bovenstaande figuur reeds deed vermoeden, kon er in deze studie geen verband worden aangetoond tussen de leeftijd van de patiënte en het al of niet superieur zijn van ICSI t.o.v. conventionele IVF ($P=0,142$).

Bij de partner is het verschil in gemiddelde leeftijd tussen beide groepen slechts anderhalf jaar ($\bar{x}_1=33,7$; $\bar{x}_2=35,3$). Deze continue variabele is niet Gaussiaans verdeeld en bijgevolg wordt de Mann-Whitney U-test gebruikt. Het verschil in gemiddelde leeftijd van meer dan één jaar tussen beide groepen kan opnieuw statistisch niet hard worden gemaakt. Er is echter wel sprake van een 'bordeline missed significance' ($P=0,053$). Dit doet vermoeden dat de leeftijd van de partner mogelijks wel een rol kan spelen. Om deze reden werd de continue variabele gedichotomiseerd volgens bepaalde leeftijdsgrenzen. Uiteindelijk kon a.d.h.v. de Chi²-test

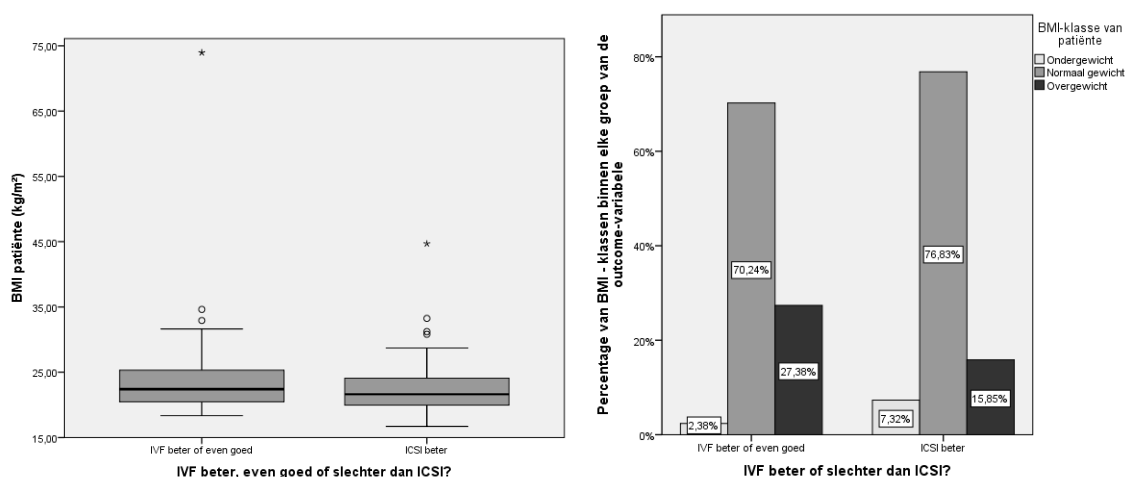
worden aangetoond dat ICSI significant beter scoort op vlak van fertilisatie vanaf een leeftijd van 32 jaar bij de partner ($P=0,004$). Aan de voorwaarden voor deze test, namelijk $n \geq 40$, is ruimschoots voldaan ($n=187$, geen ‘missings’). Onderstaand staafdiagram toont dat er zich 20% meer mannen met een leeftijd vanaf 32 jaar bevinden in de groep waar ICSI het beter doet dan IVF (fig. 2). Het totaal fertilisatiefalen (TFF) bij de groep waarin partners 32 jaar of ouder zijn, bedroeg 19,3% bij IVF (i.t.t. 7,4% bij partners <32 jaar) en slechts 3,4% bij ICSI.



Figuur 2 Staafdiagram percentage van partnerleeftijd met grenswaarde van 32 jaar.

5.3.2 BMI patiënte

Onderstaande Box-and-Whisker-plot doet een lagere BMI vermoeden bij de groep waar ICSI het beter doet in tegenstelling tot de literatuur ($\bar{x}_1=24,03$; $\bar{x}_2=22,5$). Bemerkt ook de twee opvallende ‘outliers’ in beide groepen, dewelke het gemiddelde sterk naar boven trekken. Als statistische test werd hier ook de Mann-Whitney U-test aangewend, dewelke geen significant verschil kan aantonen in BMI tussen beide groepen ($P=0,082$).



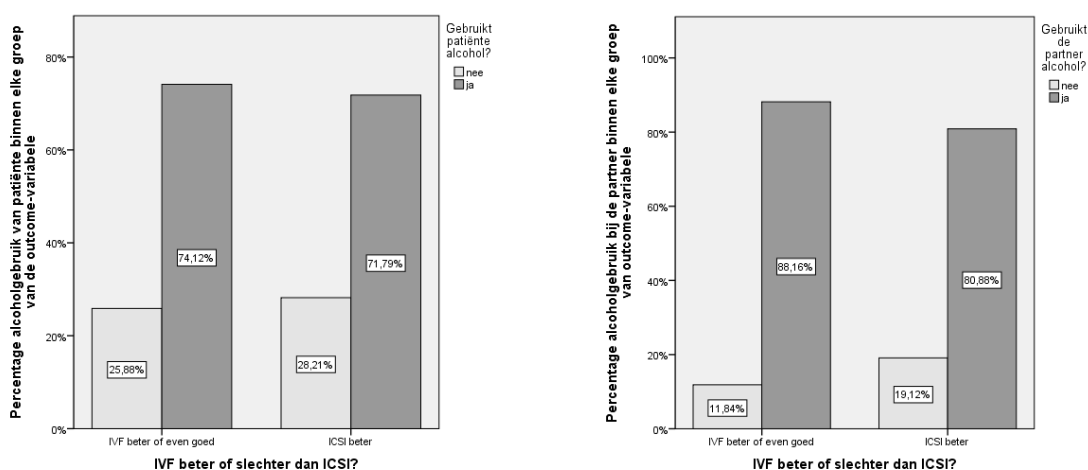
Figuur 3 BMI van de patiënte en welke techniek beter scoort (links). Staafdiagram met de frequentiepercentages van BMI-classes en welke techniek beter scoort (rechts).

Voor de volledigheid werd het BMI ingedeeld in verschillende categorieën zijnde ondergewicht (BMI < 18,5 kg/m²), normaal gewicht (BMI tussen 18,5-24,9 kg/m²), overgewicht (BMI ≥ 25 kg/m²). Uit bovenstaand staafdiagram kan worden afgeleid dat er zich een hoger percentage normaal gewicht en een lager percentage overgewicht bevindt in de groep waarbij ICSI het beter doet dan conventionele IVF. Als statistische test wordt gebruik gemaakt van de Chi²-test. De nulhypothese (H₀) stelt dat er geen verschil is in BMI-klasse tussen beide groepen. Er kan geen associatie worden aangetoond tussen de BMI-klasse en het al of niet superieur zijn van ICSI boven conventionele IVF (P=0,087). Aan de voorwaarden voor deze test is voldaan (n=166, 21 ‘missings’ voor BMI).

5.3.3 Alcoholgebruik van patiënte en partner

De meeste studies zijn het er over eens dat alcohol een negatief effect heeft op de fertiliteit van zowel vrouw als man. Over de invloed op de resultaten na conventionele IVF en ICSI is echter minder eenduidigheid.

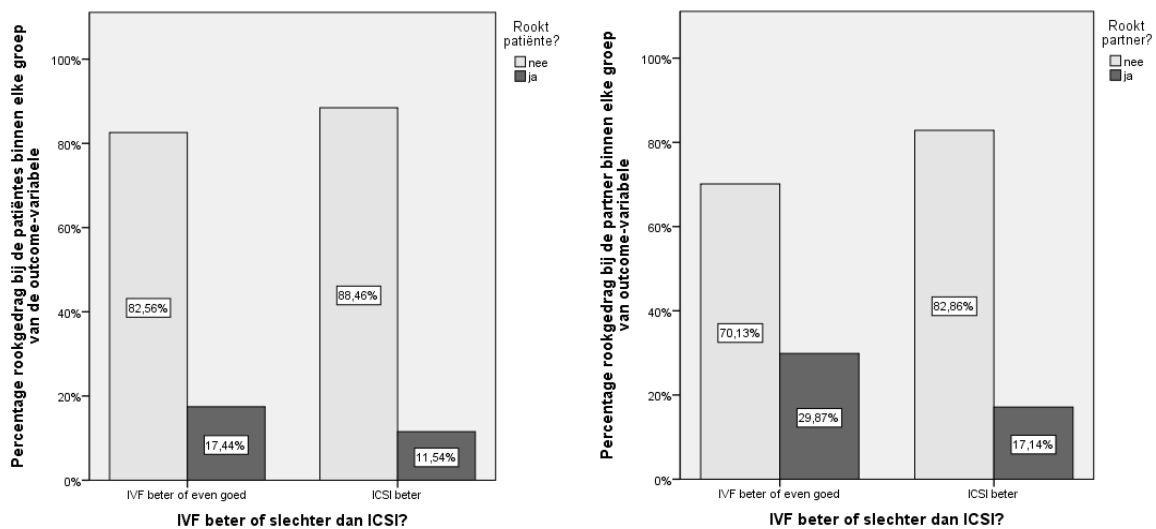
In deze studie wordt een verschil gemaakt tussen mensen die nooit alcohol drinken en mensen die wel alcohol nuttigen, d.w.z. weinig, matig of veel. Het lijkt erop dat proportioneel gezien meer koppels wel eens een glaasje nuttigen in de groep waar conventionele IVF het beter dan of even goed doet als ICSI (fig. 4). Bij de vrouw kon de Chi²-test dit verschil niet statistisch bevestigen (P=0,739). Ook bij de partner is er geen significante relatie aantoonbaar tussen alcoholgebruik en het al of niet superieur of even goed zijn van conventionele IVF (P=0,226). Opnieuw zijn de voorwaarden voor de Chi²-test voldaan (n=163, 24 ‘missings’ voor patiënte en n=144, 43 ‘missings’ voor partner).



Figuur 4 Percentages alcoholgebruik bij patiënte (links) en partner (rechts) binnen elke groep van de uitkomstvariabele.

5.3.4 Rookgedrag patiënte en partner

Het staat ontegensprekelijk vast dat roken bij zowel de vrouw als bij de man een negatieve invloed heeft op de fertiliteit. In deze studie wordt onder ‘niet-roker’ ook zij die gestopt zijn met roken verstaan. Onderstaande staafdiagrammen tonen een verschil in aantal rokers bij patiëntes en partners van respectievelijk 6% en bijna 13% in het voordeel van conventionele IVF (fig. 5). Weliswaar werd na het uitvoeren van de Chi²-test (respectievelijk P=0,285 en P=0,070) geen significant verschil aangetoond, wat dit toch wel verassende resultaat relativeert. De voorwaarden voor de test zijn in beide gevallen voldaan (n=164, 23 ‘missings’ voor patiënte en n=147, 40 ‘missings’ voor partner). Het TFF bij de vrouw was 16,7% na conventionele IVF en 4,2% na ICSI. Bij de man was dit respectievelijk 11,4% en 2,9%.

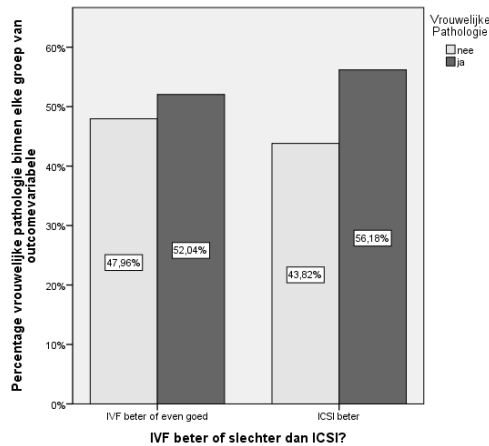


Figuur 5 Percentage rookgedrag bij de patiënte (links) en partner (rechts) binnen elke groep van de uitkomstvariabele.

5.3.5 Vrouwelijke pathologie

5.3.5.1 Algemeen

Uit onderstaand staafdiagram kan worden afgeleid dat er zich 4% meer koppels bevinden in de groep waar ICSI beter scoort dan IVF.

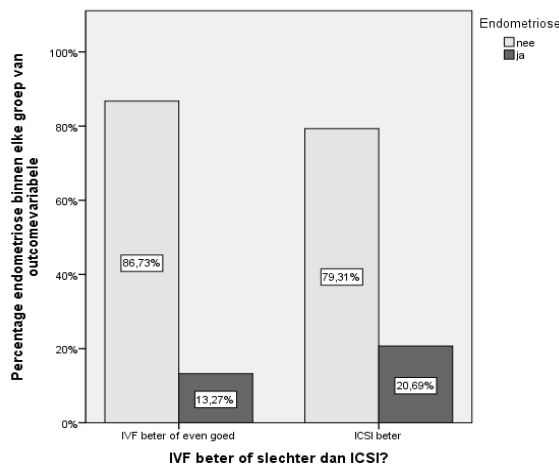


Figuur 6 Vrouwelijke pathologie en welke techniek beter scoort.

Na het uitvoeren van de Chi²-test wordt dit verschil statistisch niet significant bevonden (P=0,571). Aan de voorwaarden voor deze test is voldaan (n=187, geen 'missings'). Het TFF in aanwezigheid van vrouwelijke pathologie is 11,9% na conventionele IVF en 1,0% na ICSI.

5.3.5.2 Endometriose

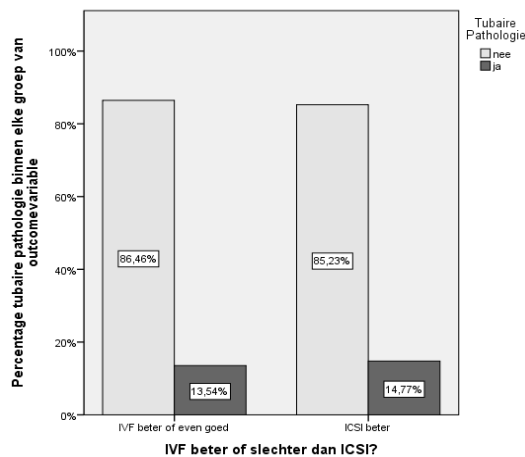
In de literatuur zijn er aanwijzingen dat de resultaten bij endometriose beter zijn na een behandeling met ICSI, ook voor wat betreft het fertilisatiepercentage. In deze studie kan een verschil tussen beide groepen van 7,42% worden waargenomen in het voordeel van ICSI (fig.7). Dit verschil is statistisch niet significant zoals blijkt uit de Chi²-test (P=0,177). Opnieuw werd aan de voorwaarde voor de Chi²-test voldaan (n=185, 2 'missings'). TFF bij endometriose was 9,7% na conventionele IVF en 3,2% na ICSI.



Figuur 7 Endometriose bij de patiënte en welke techniek beter scoort.

5.3.5.3 Tubaire pathologie

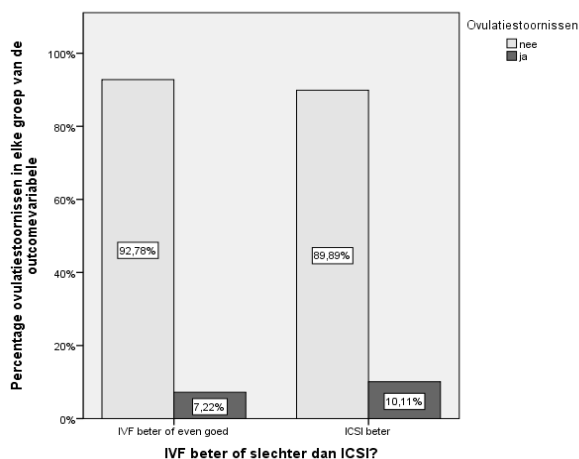
De literatuur toont weinig verschillen tussen de fertilisatieresultaten van ICSI en conventionele IVF bij tubaire pathologie. Onderstaand staafdiagram toont eveneens slechts een verschil van 1,23% in het voorkomen van tubaire pathologie tussen beide groepen (fig.8). De Chi²-test kan dan ook geen enkele relatie aantonen tussen tubaire pathologie en het al dan niet superieur zijn van ICSI boven IVF (P=0,811). Met een totaal aantal patiënten van 184 (3 ‘missings’), is opnieuw aan de voorwaarden van de test voldaan. TFF bij tubaire pathologie was 7,7% na conventionele IVF en 0% na ICSI.



Figuur 8 Tubaire pathologie bij de patiënte en welke techniek beter scoort.

5.3.5.4 Ovulatiestoornissen

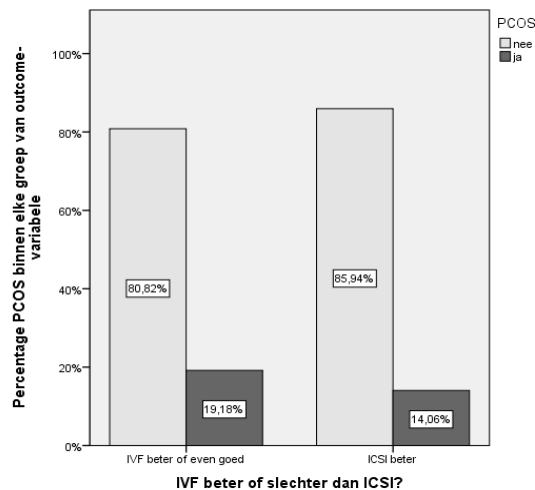
Onderstaand staafdiagram toont een lichte tendens in het voordeel van ICSI voor wat betreft de ovulatiestoornissen met een proportioneel verschil van ongeveer 3% (fig.9). De Chi²-test kan hier geen verband aantonen (P=0,482). Er moet worden gewezen op het zeer laag aantal patiënten met ovulatiestoornissen (n=16) t.o.v. de referentiegroep (n=170). De voorwaarden voor Chi²-test zijn voldaan (n=186, 1 missing). TFF bij ovulatiestoornissen was 12,5% na conventionele IVF en 0% na ICSI.



Figuur 9 Ovulatiestoornissen bij de patiënte en welke techniek beter scoort.

5.3.5.5 PCOS

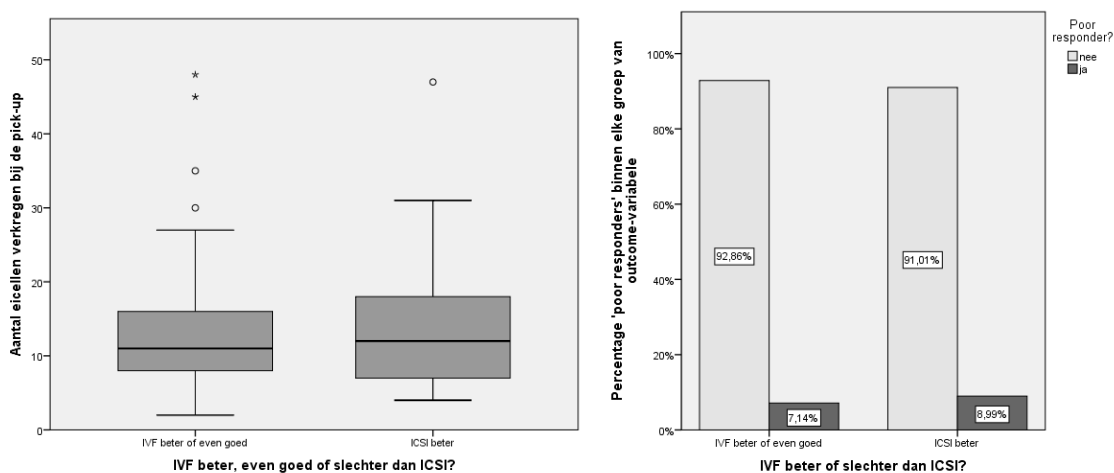
Onderstaand staafdiagram toont dat er zich 5% meer vrouwen bevinden met PCOS in de groep waar conventionele IVF het beter dan of even goed doet als ICSI (fig.10). De Chi²-test kan dit verschil echter statistisch niet bevestigen (P=0,424). Aan de voorwaarden van de test is voldaan (n=137), maar met 50 (26,7%) ‘missings’. Het TFF bij PCOS was 17,4% na conventionele IVF en 0% na ICSI.



Figuur 10 PCOS bij de patiënte en welke techniek beter scoort.

5.3.5.6 Laag eicelaantal

Voor deze analyse werd gebruik gemaakt van de niet-parametrische Mann-Whitney U-test aangezien de variabele sterk afwijkend is van de Gaussiaanse verdeling. Het gemiddeld aantal verkregen eicellen is iets hoger bij de groep waar ICSI hoger scoort ($\bar{x}_1=13,3$; $\bar{x}_2=13,6$) (fig.11). Dit verschil is niet significant en dus verwaarloosbaar (P=0,767). Bemerkt tevens de sterke outliers met zeer hoog eicelaantal. Opvallend is dat deze patiënten geen PCOS hebben.

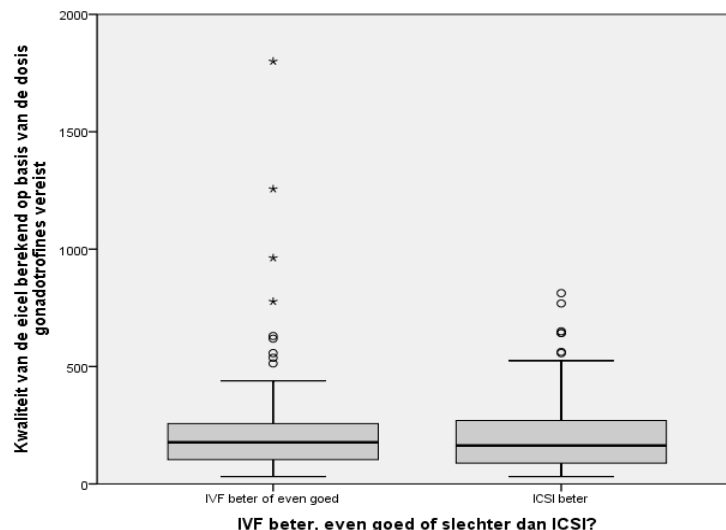


Figuur 11 Aantal gecollecteerde eicellen in elke groep (links). Frequentiepercentage 'poor responders' binnen elke groep.

De variabele ‘eicelaantal’ werd vervolgens gecategoriseerd volgens ‘poor responders’ (1-5 eicellen), ‘average responders’ (6-10 eicellen), ‘good responders’ (11-15 eicellen), ‘extreme responders’ (>15 eicellen). Indien enkel de ‘poor responders’ (≤ 5 eicellen) werden vergeleken met ‘non-poor responders’ bekomen we bovenstaand staafdiagram. Er bevinden zich bijna 2% meer ‘poor responders’ in de groep waarin ICSI het beter doet dan conventionele IVF. Na het uitvoeren van de Chi²-test (voorwaarde voldaan met $n=187$; geen ‘missings’), valt er opnieuw geen significantie te bespeuren ($P=0,643$). TFF bij ‘poor responders’ was 20% na conventionele IVF en 13,3% na ICSI.

5.3.5.7 *Kwaliteit eicellen*

De kwaliteit van de eicellen werd in deze studie bepaald a.d.h.v. de dosis gonadotrofines dewelke was vereist per eikel bij stimulatie (zie Methodologie). Onderstaande Box-and-Whisker-plot toont een klein verschil in gemiddelde dosis gonadotrofines die was vereist per eikel ($\bar{x}_1=237,0$ IE; $\bar{x}_2=211,9$ IE) tussen beide groepen. Bemerkt de extreme ‘outlier’ bij de groep waar conventionele IVF beter dan of even goed scoort als ICSI. Dit verklaart de grote standaarddeviatie ($SD=250,71$) in deze groep. Deze patiënte was tevens een ‘poor responder’ (2 eicellen) en had een zeer hoge dosis gonadotrofines nodig voor stimulatie. Voor wat de statistische analyse betreft, kan met de Mann-Whitney U-test geen significant verschil worden aangetoond in gemiddelden tussen beide groepen ($P=0,582$).



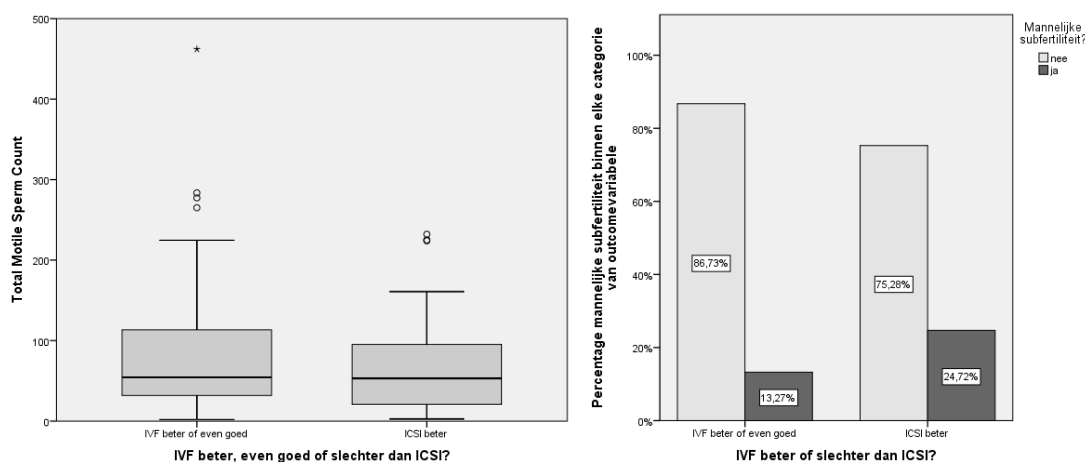
Figuur 12 Eicelkwaliteit en welke techniek beter scoort.

5.3.6 Mannelijke pathologie

Voor ernstige mannelijke subfertiliteit staat het ontegensprekelijk vast dat ICSI de voorkeur geniet. Het punt van discussie is echter of ook milde mannelijke subfertiliteit (sommigen omschrijven dit als ‘bordeline subfertiliteit’) een indicatie vormt voor ICSI.

Om de spermakwaliteit in deze studie te bepalen, werd gebruik gemaakt van de variabele ‘Total Motile Sperm Count’ (TMSC). Deze variabele beschrijft het totaal aantal miljoen beweeglijke zaadcellen in het spermastaal (zie ‘Methodologie’). In deze studie kon geen verschil worden aangetoond in TMSC tussen beide groepen (Mann-Whitney U-test, $P=0,314$).

De grenswaarde voor mannelijke subfertiliteit wordt in deze studie gelegd op een TMSC-waarde kleiner dan 19 miljoen beweeglijke zaadcellen. Het staafdiagram toont proportioneel gezien 11% meer koppels met mannelijke subfertiliteit in de groep waarin ICSI beter scoort (fig.13). Dit doet vermoeden dat ICSI betere uitkomsten biedt dan conventionele IVF voor wat betreft fertilisatiepercentages. En inderdaad, na het uitvoeren van de χ^2 -test wordt een significant verschil bekomen ($P=0,045$). We kunnen bijgevolg concluderen dat ICSI hier betere fertilisatieresultaten met zich meebrengt dan conventionele IVF bij mannelijke subfertiliteit, gedefinieerd a.d.h.v. TMSC. Aan de voorwaarde voor de χ^2 -test is voldaan ($n=187$, geen ‘missings’). TFF bij mannelijke subfertiliteit was dan ook 28,6% na conventionele IVF in vergelijking met 8,6% na ICSI. De variabelen in het TMSC-concept kunnen ook afzonderlijk worden bekeken, zoals eerder werd getoond (zie tabel 7). Er kan echter geen enkele relatie worden aangetoond met spermamorfolgie, -concentratie, -volume, en -motiliteit. Behalve het spermavolume vertonen de andere variabelen wel een gelijke trend, namelijk slechtere cijfers in de groep waar ICSI beter scoort.



Figuur 13 Total Motile Sperm Count en welke techniek beter scoort (links). Percentage mannelijke subfertiliteit binnen welke techniek beter scoort (rechts).

5.4 Multivariate analyse

5.4.1 Principes van meervoudige logistische regressie

5.4.1.1 Doel van meervoudige analyse

Bij de multivariate analyse worden bovenstaande variabelen tegelijkertijd in het model van de meervoudige logistische regressie opgenomen. Hiervoor wordt er gewerkt met verschillende selectieprocedures dewelke verder worden besproken. Deze meervoudige analyse gaat na of een bekomen effect van een variabele wel onafhankelijk is d.m.v. correctie voor andere versturende variabelen, ook wel ‘confounders’ genoemd. Dit kan op zijn beurt een onderliggend significant effect van een variabele aan het licht brengen, dewelke eerder werd gemaskeerd door een andere variabele die met deze variabele gecorreleerd is (bv. roken en alcoholgebruik). Maar ook omgekeerd kan de statistische significantie van voordien worden opgeheven. Het is bijgevolg belangrijk dat er geen te nauw gerelateerde variabelen in het model worden opgenomen. Dit kan immers het probleem van zgn. multicollineariteit met zich meebrengen met foutieve resultaten als gevolg. Om dit op te lossen kan één van de twee of wel een combinatie van beide in het model worden gesloten. Aangezien de inclusie van te veel variabelen het model kan verstoren, worden enkel de variabelen dewelke in de univariate analyse een P-waarde kleiner dan 0,2 hadden, geïncludeerd. Tot slot moet er steeds in het achterhoofd worden gehouden dat de klinische relevantie primeert en dat bijgevolg enkel variabelen met klinische relevantie worden opgenomen (63).

5.4.1.2 Doel van de regressie

Naast het aantonen van een relationeel verband tussen de verschillende verklarende variabelen en de uitkomstvariabele, kan men zich ook afvragen of deze uitkomst kan voorspeld worden a.d.h.v. de waarden van verschillende verklarende variabelen, in dit geval predictoren. Stel bijvoorbeeld een koppel dat langskomt op consultatie waarvan de partner rookt, de vrouw een verhoogd BMI heeft en de zaadcelkwaliteit van de partner suboptimaal is. De vraag die de clinicus zich dan kan stellen, is of er kan worden voorspeld a.d.h.v. deze gegevens in welke groep het koppel zal terechtkomen, namelijk de groep waarin conventionele IVF het beter dan of even goed doet als ICSI, of de groep waar ICSI het beter doet dan IVF. Om deze voorspelling te doen, baseert men zich op een best passend (‘fitting’) wiskundig model, berekend a.d.h.v. de geobserveerde waarden van de verklarende variabelen en de uitkomstvariabele in de studiegroep. Dit is wat men noemt regressie. Het is tevens belangrijk te vermelden dat regressie gebaseerd is op associaties en niet op oorzakelijke verbanden. Als

een significante relatie tussen de uitkomstvariabele en bijvoorbeeld roken wordt aangetoond, wil dit niet noodzakelijk zeggen dat roken de directe oorzaak is van het slagen/falen van de behandeling.

5.4.1.3 *Logistische benadering*

Zoals eerder aangehaald in de ‘methodologie’, is voor deze meervoudige analyse een logistische benadering vereist. Aangezien de uitkomstvariabele ‘ $\frac{\text{fertilisatiepercentage IVF (\%)}}{\text{fertilisatiepercentage ICSI (\%)}}$ ’ kleiner dan één’ dichotoom van aard is en niet continu, wordt i.p.v. lineaire regressie logistische regressie toegepast.

5.4.2 ‘Enter’-selectieprocedure

De uitvoering van deze analyse gebeurt via de ‘Enter’-selectieprocedure. Bij deze methode wordt een multivariate analyse uitgevoerd waarbij de verklarende variabelen gekozen worden op basis van de resultaten verkregen uit bovenstaande univariate analyse en op basis van hun klinische relevantie. Bijgevolg worden enkel variabelen opgenomen zonder al te veel ‘missings’, variabelen die niet correleren met elkaar, klinisch relevant zijn en een P-waarde lager dan 0,2 vertonen (conform de statistische vuistregel). De correlatie tussen verschillende variabelen wordt telkens nagegaan via de niet-parametrische Spearman-correlatietest (zie tabel 8). Op deze manier worden vijf variabelen bekomen, dewelke kunnen worden opgenomen in het model. Hoe deze selectie verloopt is gedetailleerd omschreven in bijgevoegde tabel.

Tabel 8 'Enter'-selectieprocedure met beslissing om variabelen wel of niet te includeren in het model (+/-).

Variabele	P-waarde	'missings' (%)	Inclusie	Relevante P-waarde?	Correlatie ¹
Leeftijd patiënte	0.142	0	-	Relevant	Leeftijd van partner, vrouwelijke pathologie, ovulatiestoornissen, PCOS, aantal eicellen, 'poor responder', eicelkwaliteit
Leeftijd partner	0.053	0	-	Relevant	Leeftijd patiënte, vrouwelijke pathologie, PCOS, roken patiënte, aantal eicellen, eicelkwaliteit
<i>Partner ≥ 32 jaar</i>	0.004	0	+	Relevant	Leeftijd patiënte, leeftijd partner, vrouwelijke pathologie, PCOS
BMI patiënte	0.082	11.2	+	Relevant	BMI-klasse patiënte, alcohol patiënte, alcohol partner
<i>BMI- klasse patiënte</i>	0.087	11.2	-	Relevant	BMI patiënte, alcohol partner, aantal eicellen, eicelkwaliteit
Alcohol patiënte	0.739	12.8	-	Niet relevant	BMI patiënte, alcohol partner
Alcohol partner	0.226	23	-	Niet relevant	BMI patiënte, BMI-klasse patiënte, alcohol patiënte, TMSC, spermavolume
Roken patiënte	0.285	12.3	-	Niet relevant	Leeftijd partner, tubaire pathologie, roken partner
Roken partner	0.070	21.4	+	Relevant	Roken patiënte
Vrouwelijke pathologie	0.571	0	-	Niet relevant	Leeftijd patiënte en partner, onderstaande vrouwelijke pathologieën, TMSC, mannelijke subfertiliteit, motiliteit A+B
<i>Endometriose</i>	0.177	1.1	+	Relevant	Vrouwelijke pathologie
<i>Tubaire pathologie</i>	0.811	1.6	-	Niet relevant	Roken patiënte, TMSC, mannelijke subfertiliteit
<i>Ovulatiestoornissen</i>	0.482	0.5	-	Niet relevant	Leeftijd patiënte, vrouwelijke pathologie, mannelijke subfertiliteit
<i>PCOS</i>	0.424	26.7	-	Niet relevant	Leeftijd patiënte, leeftijd partner, vrouwelijke pathologie, aantal eicellen
Eicelaantal	0.767	0	-	Niet relevant	Leeftijd patiënte en partner, eicelkwaliteit, 'poor responder', PCOS, BMI-klasse patiënte
<i>'Poor responder'</i>	0.643	0	-	Niet relevant	Aantal eicellen, eicelkwaliteit, leeftijd patiënte
Eicelkwaliteit (IE Gn/eicel)	0.582	0	-	Niet relevant	Aantal eicellen, 'poor responder', leeftijd patiënte en partner, BMI-klasse
Zaadcelkwaliteit 'TMSC'	0.314	0	-	Niet relevant	Vrouwelijke pathologie, tubaire pathologie, alcohol partner, mannelijke subfertiliteit, spermaconcentratie, spermavolume, A+B motiliteit, normale morfologie
<i>Mannelijke subfertiliteit</i>	0.045	0	+	Relevant	Vrouwelijke pathologie, tubaire pathologie, ovulatiestoornissen, TMSC, spermavolume, spermaconcentratie, A+B motiliteit, normale morfologie
<i>Spermaconcentratie</i>	0.366	0	-	Niet relevant	TMSC, mannelijke subfertiliteit, spermavolume, A+B motiliteit, normale morfologie
<i>Spermavolume</i>	0.943	0	-	Niet relevant	Mannelijke subfertiliteit, TMSC, spermavolume, spermaconcentratie, alcohol partner
<i>Normale morfologie</i>	0.151	0	-	Relevant	TMSC, mannelijke subfertiliteit, spermaconcentratie, A+B motiliteit
<i>Motiliteit A+B</i>	0.338	0	-	Niet relevante	TMSC, mannelijke subfertiliteit, spermaconcentratie, normale morfologie, vrouwelijke pathologie

¹De correlatie werd steeds getoetst a.d.h.v. de niet-parametrische Spearman-correlatietest. Een significante P-waarde betekent dat de correlatie sterk verschilt van de nulcorrelatie en er dus een correlatie bestaat.

5.4.2.1 Uitvoeren van de test

Uiteindelijk worden de vijf variabelen ‘partnerleeftijd \geq 32 jaar’, ‘BMI patiënte’, ‘roken partner’, ‘endometriose’ en ‘mannelijke subfertiliteit’ geïnccludeerd in het multivariate model (tabel 9). In deze analyse zijn er van de 187 koppels, 53 geëxcludeerd uit het model door ‘missings’ (28,3%). Het is immers eigen aan de logistische regressie dat, door één ontbrekende waarde bij een variabele, het individu uit de analyse wordt geweerd. Voornamelijk het ‘rookgedrag van de partner’ en het ‘BMI van de patiënte’ zijn hier de boosdoeners. Indien men deze variabelen in het model houdt, wordt de significantie voor ‘partnerleeftijd \geq 32 jaar’ terug zichtbaar. De significantie voor ‘mannelijke subfertiliteit’ wordt net gemist.

Tabel 9 De vijf variabelen die weerhouden worden in het multivariate model. Alsook de resultaten na het uitvoeren van de multivariate analyse (P-waarde, 95%-betrouwbaarheidsinterval (BI), ‘Adjusted Odds Ratio’ (OR) en de regressiecoëfficiënt.

Variabele	P-waarde	95 % BI	aOR ¹	Regressiecoëfficiënt
Partner \geq 32 jaar	0.034	[1.062;4.807]	2.259	0.815
Endometriose	0.324	[0.614;4.372]	1.638	0.494
Mannelijke subfertiliteit	0.092	[0.877;5.693]	2.235	0.804
BMI patiënte	0.316	[0.880;1.042]	0.958	-0.043
Roken partner	0.142	[0.220;1.242]	0.523	-0.649

¹ ‘Adjusted Odds Ratio’ omdat er werd gecorrigeerd voor versturende variabelen d.m.v. de multivariate analyse.

Soms is het gewoon zinvoller om een variabele met veel ontbrekende waarden uit het model te weren omdat dit anders de power van de test sterk onderdrukt. De testen voor modelkwaliteit zijn hier dan ook alles behalve goed (zie tabel 12 voor ‘Nagelkerke R²’-test en de ‘Hosmer and Lemeshow Goodness-of-fit’-test). Slechts 61,2% van de uitkomstvariabele werd correct voorspeld door het model, terwijl er toch wordt gestreefd naar 75% voor een goede modelkwaliteit.

Indien bijgevolg de variabelen ‘roken partner’ en ‘BMI patiënte’ worden geëxcludeerd uit het model, duikt de significantie voor ‘mannelijke subfertiliteit’ terug op (P=0,042) (tabel 10). Deze relatie werd ook aangetoond bij de univariate analyse. Bovendien zijn er in dit model slechts 1% ontbrekende waarden. Hier kan opnieuw slechts 61,1% van de uitkomstvariabele correct worden voorspeld door het model. D.w.z. dat 61.1% van de koppels, a.d.h.v. de waarden van de voorspellende variabelen, terecht werd geclassificeerd in ofwel de groep waar

ICSI beter was dan conventionele IVF ofwel de groep waar conventionele IVF beter was dan of even goed was als ICSI.

Tabel 10 Exclusie van ‘roken partner’ en ‘BMI patiënte’ uit de multivariate analyse. Overblijvende variabelen met bijhorende P-waarde, 95%-betrouwbaarheidsinterval (BI), ‘Adjusted Odds Ratio’ (OR) en de regressiecoëfficiënt.

Variabele	P-waarde	95 % BI	aOR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq 32 jaar	0.004	[1.347;4.874]	2.563	0.941
Endometriose	0.091	[0.892;4.646]	2.036	0.711
Mannelijke subfertiliteit	0.042	[1.031;4.930]	2.254	0.813

Het is een spijtige zaak dat door de vele ‘missings’ bij ‘BMI patiënte’ en ‘rookgedrag partner’ het model uit elkaar valt. Indien er immers voor één van de twee variabelen een waarde ontbreekt, wordt het individu uit de analyse geweerd. Daarom werd er een poging gedaan om deze individuen toch in het model te houden door een deel van de ‘missings’ weg te werken. De ontbrekende waarden bij het BMI van de patiëntes werden manueel ingevuld met de gemiddelde waarde van het BMI van de studiegroep. Op deze wijze wordt de neutraliteit van de patiënten behouden maar kunnen ze dusdanig wel worden opgenomen in het model. Na uitvoeren van de meervoudige logistische regressie wordt opnieuw een significantie bereikt voor de variabelen ‘partnerleeftijd \geq 32 jaar’ en de ‘mannelijke subfertiliteit’ (resp. $P=0,024$; $P=0,041$) (tabel 11). Hoewel het grootste aantal ‘missings’ bij het rookgedrag van de partner te vinden is, zorgt dit toch voor een daling van bijna 6% in het percentage ‘missings’. De modelkwaliteit blijft min of meer gelijk (60,0% van de uitkomstvariabele wordt correct voorspeld door het model).

Tabel 11 Het multivariate model met de oorspronkelijke vijf variabelen, waarbij de ‘missings’ bij de variabele ‘BMI patiënte’ werden aangevuld met de gemiddelde waarde van het BMI in de studiegroep.

Variabele	P-waarde	95 % BI	aOR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq 32 jaar	0.024	[1.117;4.923]	2.345	0.852
Endometriose	0.190	[0.722;5.190]	1.935	0.660
Mannelijke subfertiliteit	0.041	[1.038;6.429]	2.584	0.949
BMI patiënte	0.268	[0.874;1.038]	0.953	-0.048
Roken partner	0.053	[0.190;1.009]	0.438	-0.825

5.4.2.2 Modelkwaliteit

Zoals eerder aangehaald, laat het model ook toe om a.d.h.v. bovengenoemde predictoren een voorspelling te doen over de uitkomst van de 'IVF versus ICSI'-behandeling. Om op een accurate manier voorspellingen te kunnen doen, moet het model zo goed mogelijk 'fitten' met de realiteit van de studiegroep. In deze studie zijn de drie modellen niet echt van goede kwaliteit te noemen. Immers de totaal voorspellende waarde van de modellen schommelt rond de 60% (tabel 12). D.w.z. dat slechts 60% van de koppels terecht werd geclassificeerd, a.d.h.v. de waarden van de voorspellende variabelen (predictoren), in de groep waar ICSI het beter doet dan conventionele IVF of in de groep waar conventionele IVF het beter of even goed doet dan/als ICSI.

Tabel 12 Testen van modelkwaliteit.

	5 variabelen ¹	Exclusie BMI patiënte en roken partner	BMI gecorrigeerd voor 'missings'
Nagelkerke R Square²(%)	0.098 (9.8%)	0.103 (10.3%)	0.124 (12.4 %)
Hosmer and Lemeshow Goodness-of – fit test (P-waarde)³	0.095	0.931	0.137
Totaal voorspellende waarde van model⁴(%)	61.2	61.1	60.0
Sensitiviteit⁵(%)	68.7	29.9	61.8
Specificiteit⁶(%)	53.7	88.8	58.4
Percentage 'missings' (%)	28.3	1.1	22.5

¹Vijf variabelen 'partnerleeftijd ≥ 32 jaar', 'BMI patiënte', 'roken partner', 'endometriose' en 'mannelijke subfertiliteit' geïnccludeerd in het multivariaat model.

²De 'Nagelkerke R²-test is een maat voor de modelkwaliteit. Hoe hoger deze waarde, hoe beter het model. Het toont hoeveel procent van de totale variantie van de uitkomstvariabele kan worden verklaard door het model.

³De 'Hosmer and Lemeshow Goodness-of-fit'-test gaat de ongelijkheid na tussen de geobserveerde waarden uit de populatie en voorspelde waarden uit het model. Onder de nulhypothese wordt verstaan dat er hiertussen weinig discrepantie is en dat het model dus een adequate 'fitting' kent aan de werkelijkheid. Indien de nulhypothese niet kan verworpen worden, wat dus hier het geval is, mag daarom niet worden besloten dat het model dus goed fit. Men kan gewoon geen slechte fit aantonen.

⁴Duidt aan hoeveel procent van de uitkomstvariabele correct werd voorspeld door het regressiemodel a.d.h.v. de predictoren. Een streefwaarde van 75% wordt meestal gehanteerd.

⁵Sensitiviteit van het model toont hoeveel procent van de groep waarin ICSI is geslaagd, daadwerkelijk correct werd voorspeld door het model a.d.h.v. de predictoren.

⁶Specificiteit van het model toont hoeveel procent van de groep waarin conventionele IVF beter was dan of even goed als ICSI, daadwerkelijk correct werd voorspeld door het model a.d.h.v. de predictoren.

5.4.3 'Forward'- en 'Backward'-selectieprocedures

Ter bevestiging werden ook de 'Forward'- en 'Backward'-selectieprocedures doorlopen. Hiervoor werden alle variabelen geïnccludeerd in het model, behalve de variabelen die sterke correlaties vertoonden. Dezelfde vijf bovenvermelde variabelen werden bijgevolg in het model geïnccludeerd, alsook de variabele 'poor responder'. Dit is namelijk de enige variabele zonder correlatie met de vijf bovenvermelde variabelen en met een niet-relevante P-waarde (zie tabel 8).

Bij de 'Forward'-procedure worden de variabelen één voor één toegevoegd aan de analyse naargelang hun significantie. Indien er geen significantie is, wordt een variabele van bij het begin uit de analyse geweerd.

De 'Backward'-procedure vertrekt eerst van alle variabelen samen en haalt dan telkens de variabele met de minste significantie uit het model.

Beide procedures resulteerden in zeer gelijkaardige bevindingen zoals hierboven. Zowel voor de 'Backward'- als voor de 'Forward'-procedure kon er echter net geen significantie worden aangetoond bij de mannelijke subfertiliteit indien de 'missings' van het BMI werden gecorrigeerd d.m.v. het gemiddelde BMI (zie appendix III).

5.4.4 Interpretatie

Uit bovenstaande modellen kan worden geconcludeerd dat mannelijke subfertiliteit en de leeftijd van de partner een niet verwaarloosbare invloed uitoefenen op de uitkomst van ICSI en conventionele IVF. Ten eerste kan op basis van deze studie worden aangenomen dat koppels met mannelijke subfertiliteit (gedefinieerd a.d.h.v. TMS_C<19 miljoen) meer kans hebben om met ICSI betere fertilisatieresultaten te bereiken in vergelijking met conventionele IVF (gemiddelde aOR=2,36). Ten tweede kan worden aangenomen dat, indien de partner 32 jaar of ouder is, het koppel eveneens meer kans heeft om betere fertilisatieresultaten te bekomen met ICSI in vergelijking met conventionele IVF (gemiddelde aOR=2,39).

6 Discussie

6.1 Oriëntatie van het onderzoek

Steeds meer koppels doen beroep op ART, wat het opzet van deze masterproef zeer relevant maakt in de huidige maatschappij. Niet alleen vanuit patiëntenperspectief, maar evenzeer vanuit maatschappelijk perspectief, is het belangrijk dat steeds de meest doeltreffende, veilige en kosteneffectieve procedure gevolgd wordt. Binnen de reproductieve geneeskunde zijn de huidige behandelingsplannen voor conventionele IVF en ICSI vooral gebaseerd op empirische ervaring en waar mogelijk op wat de literatuur ter beschikking stelt. De gegevens omtrent juiste indicaties voor een conventionele IVF of ICSI-behandeling zijn immers zeer controversieel (behalve voor ernstige mannelijke subfertiliteit) en duidelijke conclusies kunnen nog niet worden getrokken. Hierdoor wordt de *IVF versus ICSI*-aanpak vandaag veelvuldig toegepast bij een eerste poging (o.a. ook binnen het UZGent). Enerzijds om totaal fertilisatiefalen (TFF) tot een minimum te herleiden en anderzijds om diagnostische redenen namelijk dat er a.d.h.v. de resultaten van een eerste poging een eventuele vervolgbehandeling kan worden bepaald. Het staat vast dat ICSI een stuk invasiever en duurder is dan conventionele IVF, wat de noodzaak om op een zuinige manier om te gaan met deze techniek alleen maar versterkt. Het opzet van deze studie is dan ook om veelvoorkomende fertiliteitindicaties te onderzoeken op hun potentieel voorspellend vermogen dat zou kunnen bepalen welke behandeling (IVF of ICSI) de voorkeur geniet. Er wordt bijgevolg ook geëvalueerd of de *IVF versus ICSI*-techniek wel de 'juiste' behandeling is voor welbepaalde indicaties. Evenwel dient aangehaald te worden dat er in eerste instantie steeds moet worden gepoogd het koppel te helpen een natuurlijke fertilisatie tot stand te brengen. Het is immers door de onmacht die er bestaat om oorzaken van subfertiliteit te behandelen dat de voortplantingstechnieken er zijn gekomen. Bijgevolg zijn causale behandelingen in dit verband prioritair en mag er niet te snel worden ingegrepen d.m.v. medisch begeleide voortplantingstechnieken (MBV).

6.2 Studiedesign

Zoals onder de sectie ‘Methodologie’ werd beschreven, kent de analyse een retrospectief studiedesign waarbij een cohorte van 187 koppels werd bestudeerd.

6.2.1 Sterktes

Het voordeel van een retrospectieve analyse is dat men op relatief korte tijd en lage kost een grote studipopulatie kan analyseren. De benadering is ook veilig aangezien de behandeling die werd aangewend routinematig is (‘usual therapy’) en er dus geen sprake is van een interventiebehandeling die mogelijks ongekende bijwerkingen met zich kan meebrengen.

Daarnaast zijn er ook een aantal sterke punten die eigen zijn aan dit onderzoek.

Een eerste belangrijke opmerking moet worden gemaakt i.v.m. de berekening van de fertilisatiepercentages in deze studie. Deze gebeurt t.o.v. van het aantal gecollecteerde ‘Cumulus Oöcyt Complexen’ (COC’s) (zie ook ‘Methodologie’¹⁸). Dit is geen onbelangrijk gegeven want indien het fertilisatiepercentage bij ICSI wordt berekend t.o.v. het aantal geïnjecteerde rijpe eicellen (metafase II) en niet t.o.v. het aantal COC’s, ontstaat er vermoedelijk bias ten voordele van ICSI. Bijgevolg wordt fertilisatiepercentage best gezien per COC en niet per geïnjecteerde eicel. Het fertilisatiepercentage van ICSI, berekend op deze manier, verschilde dan ook niet in erge mate van IVF (resp. 60,5% versus 53,4%). Sommige studies berekenen echter het fertilisatiepercentage t.o.v. het aantal geïnjecteerde metafase II oöcyten en concluderen misschien ten onrechte een betere fertilisatie-uitkomst na ICSI dan na IVF (17). Indien het fertilisatiepercentage ook in deze studie werd berekend t.o.v. het aantal geïnjecteerde eicellen, bedroeg het fertilisatiepercentage van ICSI immers 75%, conform de literatuur.

Een andere mogelijke hypothese stelt dat het fertilisatiepercentage bij ICSI berekend t.o.v. het aantal geïnjecteerde rijpe eicellen eerder in het voordeel van IVF zou kunnen zijn. Zo zouden de onrijpe eicellen (metafase I) bij conventionele IVF nog de opportuniteit krijgen om in cultuur tijdens de inseminatie verder uit te rijpen en dus de cohorte te vergroten (57). Deze immature eicellen die toch nog doorrijpen zouden in de ICSI groep verloren gaan aangezien ze het metafase II-stadium nog niet bereikt hebben op het moment van de controle voor injectie. Deze studie heeft deze laatste hypothese echter niet kunnen bevestigen en pleit dus voor het gebruik van fertilisatiepercentages berekend t.o.v. het aantal COC’s.

¹⁸ Fertilisatiepercentage = aantal bevruchte eicellen met 2 pronuclei / aantal COC’s

Ten tweede kan het gebruik van voorgenoemde outcomevariabele $\frac{\text{fertilisatiepercentage IVF (\%)}}{\text{fertilisatiepercentage ICSI (\%)}}$ beschouwd worden als een sterkte van de studie. Op deze manier wordt immers de vergelijking gemaakt tussen het fertilisatiepercentage van conventionele IVF en ICSI binnen eenzelfde koppel en is er dus een perfecte ‘match’ in patiëntenkarakteristieken aanwezig. Toch dient hierover een opmerking te worden gemaakt. Er werd verondersteld dat, indien deze variabele een waarde groter of gelijk aan één aanneemt, conventionele IVF het beter doet dan of gelijkwaardig is met ICSI op vlak van fertilisatie. Deze uitspraak dient enigszins genuanceerd te worden. In het geval dat deze variabele een waarde groter dan 1 aanneemt (bv. conventionele IVF 80% en ICSI 40%, ratio 2), is het eerder onwaarschijnlijk dat ICSI bij een volgende poging betere resultaten zal opleveren dan conventionele IVF. Logischerwijze zullen dus alle eicellen bij een volgende poging met conventionele IVF worden behandeld. Men kan zich echter ook de vraag stellen of een verhouding van bv. fertilisatiepercentages 51% en 49% enigszins klinisch relevant te noemen is. Zoals bij vele medische grenswaarden moet echter ergens de grens worden getrokken. Indien de waarde gelijk is aan één, kunnen er zich ook verschillende scenario’s voordoen: bijvoorbeeld beide technieken hebben een fertilisatiepercentage van 80% ofwel van 30%. In het eerste geval zal men geneigd zijn om bij een volgende poging alle eicellen te bevruchten met conventionele IVF aangezien ICSI hier geen voordeel biedt. Indien echter beide fertilisatiepercentages 30% bedragen, is dit een aanwijzing voor een ernstig fertiliteitprobleem dat verdere investigatie vereist. In dit geval zal noch een conventionele IVF-behandeling noch een ICSI-behandeling een meerwaarde kunnen bieden en heeft het bijgevolg weinig zin om in een volgende poging alle eicellen enkel met conventionele IVF te behandelen. Bij de interpretatie van de gegevens moet dit ook steeds in het achterhoofd worden gehouden.

Daarnaast is ook het tijdstip waarop de variabelen van de patiënten werden opgemeten vrij gelijklopend. Het gaat namelijk telkens om dossiers van een eerste aanmelding van het koppel op de dienst ‘Reproductieve Geneeskunde’.

6.2.2 Zwaktes

Een heikel punt bij retrospectief onderzoek is de betrouwbaarheid en volledigheid van de gegevens. Ten eerste dienden deze ten dele manueel te worden ingegeven waardoor fouten in de gegevens kunnen sluipen. Ten tweede bevatten de gegevens een aantal ontbrekende waarden (vnl. de variabele ‘PCOS’), hoewel er alles aan werd gedaan om dit zo veel mogelijk

te vermijden (zie ‘Methodologie’). Ten derde zijn de gegevens i.v.m. met rookgedrag en alcoholgebruik gebaseerd op zelfrapportage. Deze gegevens zijn zeer gevoelig voor ‘bias’ t.g.v. van een soort schaamte die mede ontspruit uit een zekere sociale en medische druk om gezond gedrag te stellen. Dit is voornamelijk het geval als een koppel een kind verwent heeft en hierbij dan nog eens problemen ervaart. Daarenboven kan er geen sprake zijn van recall-bias¹⁹ aangezien de vragenlijsten voorafgaand aan de procedure werden afgenomen.

Een tweede negatief aspect eigen aan retrospectief onderzoek, is het feit dat het zeer moeilijk is om causale verbanden aan te tonen bij een toch wel significante associatie. Prospectief onderzoek daarentegen is hier een krachtigere strategie voor, hoewel hier ook het gevaar schuilt in mogelijke ‘confounders’ waardoor misleidende associaties kunnen worden gevonden.

Specifiek voor dit onderzoek zijn er een aantal zwakke punten te vermelden. Eerst en vooral is er het feit dat de studiegroep zelf behoorlijk groot is (n=187) maar dat de subgroepen relatief klein zijn. Zo hebben slechts 31 patiëntes uit deze groep endometriose. Verder onderzoek is aangewezen met een groter steekproefaantal.

Ten tweede wordt bij de mannelijke subfertiliteit enkel de algemene spermakwaliteit beschouwd. Specifieke pathologieën zoals bv. teratozoöspermie worden niet onderzocht. Interessant zou zijn om ook bij deze specifieke pathologieën onderzoek te verrichten naar de uitkomsten van conventionele IVF en ICSI.

Ten derde worden harde eindpunten zoals de geboorte van een levend en gezond kind niet bestudeerd. Dit is echter wel het ultieme doel waarvoor koppels naar de raadpleging komen en niet het bevruchtingspercentage als dusdanig. Hierbij is er nog het feit dat enkel de beste embryo’s worden teruggeplaatst, ongeacht welke techniek. Dit maakt het moeilijk in retrospectief maar vooral prospectief onderzoek om deze harde uitkomsten tussen beide technieken te vergelijken. Doelbewust een embryo selecteren voor terugplaatsing naargelang de techniek, zonder rekening te houden met de kwaliteit van het embryo is immers ethisch onverantwoord. Daarbij komt nog eens dat in de meerderheid van de gevallen een embryo van ICSI wordt teruggeplaatst, wat de vergelijking tussen deze harde uitkomsten nog meer bemoeilijkt. Dit valt te verklaren doordat de tijd van de pronucleusvorming wordt gereduceerd vanwege de directe injectie van de spermacel in het cytoplasma. Het gevolg is

¹⁹ Recall-bias ontstaat bv. als een behandeling heeft gefaald waardoor het koppel zich meer gedetailleerd dingen kan herinneren omdat zij proberen zoeken naar dingen in het verleden die mogelijk een oorzaak van het falen kunnen zijn geweest.

dat er 24 uur na injectie of inseminatie meer eicellen van ICSI in het 4-cel stadium zitten en dus worden gezien als een embryo van betere kwaliteit (38,15,39,57).

Ten slotte werd geprobeerd om de inclusie- en exclusiecriteria tot een minimum te beperken om een studiegroep te bekomen die zo representatief mogelijk is met de globale doelpopulatie. In dit kader dienen enkele opmerkingen te worden gemaakt. Door de inclusie van behandelingscycli, dewelke enkel werden uitgevoerd binnen het fertiliteitlabo van het UZGent ('inhuis'), verliepen de procedures volledig gestandaardiseerd²⁰ waardoor bias t.g.v. variabiliteit in labo-technieken zo veel mogelijk wordt beperkt. Daarentegen betekent dit dat de bekomen resultaten niet met zekerheid kunnen worden geëxtrapoleerd naar de globale populatie binnen andere fertiliteitklinieken.

6.3 Bespreken resultaten

6.3.1 Algemeen

Bij de globale analyse van de studiegroep wordt, zoals hoger reeds aangegeven, een fertilisatiepercentage van gemiddeld 60,5% na ICSI en 53,4% na conventionele IVF gezien. Deze gegevens zijn enigszins vergelijkbaar met de literatuur (55-60%). Zoals hogerop reeds werd aangehaald wordt het fertilisatiepercentage bij ICSI en IVF berekend t.o.v. het aantal COC's en niet t.o.v. het aantal geïnjecteerde eicellen. Indien dit wel op deze manier wordt gedaan bekomt men een fertilisatiepercentage van 75% bij ICSI in deze studie, eveneens overeenkomstig met de literatuur (38,39,40).

De incidentie van totaal fertilisatie falen in deze cohort was 15% na conventionele IVF en slechts 3,2% na ICSI, overeenkomstig met de literatuur (resp. 10% en 3%) (38). Zeer zeldzaam zijn koppels met totaal fertilisatiefalen bij beide technieken (in deze studiegroep 0%). Hierbij moeten andere opties worden aangewend, want naar alle waarschijnlijkheid gaat het bij deze personen om een ernstigere pathologie (o.a. activatieprobleem²¹).

²⁰ De operatoren voor de uitvoering van de IVF en ICSI-techniek binnen het UZGent werden hiervoor zodanig opgeleid zodat de inter- en intravariabiliteit van de uitvoering quasi nihil is.

²¹ Eicelactivatie is een opeenvolging van fysiologische processen waarbij een metafase II oöcyt wordt geconverteerd naar een bevruchte eicel dewelke kan aanvangen met de embryologische ontwikkeling. (65)

6.3.2 Indicaties

Uit de enkelvoudige en meervoudige analyse kon worden besloten dat ICSI betere fertilisatiepercentages voortbrengt dan conventionele IVF bij koppels met mannelijke subfertiliteit (TMSC <19 miljoen) en bij koppels waarvan de partner ouder is of gelijk aan 32 jaar. Voor alle overige variabelen kon niet worden aangetoond dat zij bepalend zijn in welke techniek betere fertilisatieresultaten oplevert.

6.3.2.1 Leeftijd

Voor wat betreft de leeftijd van de patiënte en haar partner zien we een tendens waarbij de leeftijd gemiddeld hoger ligt in de groep waar ICSI beter scoort dan IVF. In de literatuur worden de uitkomsten van ART inderdaad lager ingeschat bij een hogere leeftijd van de vrouw maar een echte vergelijking tussen ICSI en IVF wordt niet gemaakt (47,53). Gegevens i.v.m. de partnerleeftijd zijn bijna onbestaande. Slechts één studie heeft de invloed van de partnerleeftijd op het aantal levendgeborenen bestudeerd, waaruit geen associatie kon worden aangetoond (54). Zoals in de resultaten reeds vermeld, bereiken koppels waarvan de man 32 jaar of ouder is, significant hogere fertilisatiepercentages met ICSI dan met conventionele IVF. Een mogelijke logische verklaring zou kunnen zijn dat vanaf deze leeftijd de zaadcelkwaliteit reeds sterk achteruitgaat. In de literatuur wordt recent geschat dat vanaf een leeftijd van 35 jaar de zaadcelkwaliteit inderdaad afneemt (32). Indien men van deze hypothese uitgaat, zouden de leeftijd van de partner en de zaadcelkwaliteit (TMSC) enigszins met elkaar moeten correleren. In deze studie is dit echter niet het geval (anders zouden deze beide variabelen niet samen kunnen worden geïncorporeerd in het multivariaat model). De verklaring is in deze studie wellicht niet te vinden in eigenschappen van het zaadstaal die het TMSC-concept uitmaken zoals spermacentratie, -morfologie, -motiliteit en -volume. Misschien moet de verklaring wel gezocht worden in andere factoren die niet zichtbaar zijn voor het blote oog en die met stijgende leeftijd meer deficiëntie vertonen en het fertilisatievermogen van de spermacel bepalen, zoals bv. de capacitatie en acrosoomreactie of chromosomale defecten.

Bovendien is deze studiegroep voor een deel reeds uitgeselecteerd, aangezien we te maken hebben met patiënten wiens fertiliteit gedaald is. Dit kan de zeer strenge leeftijdsgrens bepaald door de studie verklaren. Een leeftijdsgrens van 32 jaar is en blijft een zeer strenge grenswaarde, dewelke vermoedelijk door erg veel mannelijke partners die langskomen op de fertiliteitkliniek overschreden wordt. Indien de hypothese in deze studie correct zou zijn, impliceert dit dat elk koppel waarvan de man ouder is of gelijk aan 32 jaar best met ICSI in

monotherapie wordt behandeld. Dit staat haaks op de hypothese van ‘overbehandeling’ met ICSI. Om nog maar te zwijgen van de grote meerkost die dit met zich zal meebrengen. Daarom wordt het hier sterk benadrukt dat verder onderzoek in dit kader ten stelligste is aangewezen om deze bevindingen te kunnen bevestigen of te weerleggen, vooraleer men hierover daadwerkelijk conclusies kan trekken.

6.3.2.2 *Levensstijlfactoren*

Het gemiddelde BMI van de patiënte was in deze studie hoger in de groep waar IVF beter was dan of evenwaardig was met ICSI maar een significante associatie met de uitkomsten van ICSI en IVF kon niet worden aangetoond. De literatuur is hieromtrent nog zeer controversieel en bovendien zijn studies die BMI als mogelijke indicatie voor IVF of ICSI onderzoeken, onbestaande. Verschillende studies toonden reeds een nefaste invloed van obesitas op de uitkomsten van IVF en ICSI maar een vergelijking tussen beide behandelingen en de invloed van obesitas wordt nooit gemaakt (33,35,59).

Daarnaast gaan verhoogd BMI en PCOS hand in hand en worden deze bijgevolg in studies vaak samen bestudeerd, zodat hun onafhankelijk effect moeilijk na te gaan is. In deze studie bevonden zich eveneens dames met PCOS, wat misschien kan verklaren waarom het BMI gemiddeld hoger lag in de IVF-groep. Het is immers aangetoond dat bij vrouwen met PCOS meer eicellen worden gecollecteerd, maar dat deze tevens kleiner en immatuur zijn (16). Zoals hoger reeds vermeld, bestaat het vermoeden dat bij IVF eicellen meer kans krijgen om tijdens de inseminatie verder uit te rijpen, waardoor deze immature cellen wel nog kunnen worden bevrucht i.t.t. tot bij ICSI waar enkel de rijpe eicellen worden geïnjecteerd, met dus een hoger fertilisatiepercentage bij IVF als gevolg. In deze studie kon er echter geen associatie worden aangetoond tussen PCOS en verhoogd BMI en kunnen we bijgevolg niet uitgaan van deze laatste hypothese. Hierbij moet wel worden opgemerkt dat PCOS zeer veel ‘missings’ kent in deze studie en dat er zich bovendien een sterke ‘outlier’ bevindt bij het BMI, dewelke het gemiddelde BMI bij de IVF-groep natuurlijk sterk naar boven heeft getrokken. Daarenboven zijn de gegevens ‘lengte’ en ‘gewicht’ gebaseerd op zelfrapportage, waardoor de betrouwbaarheid hiervan in vraag wordt gesteld. Bijgevolg kan ook uit deze studie weinig worden geconcludeerd omtrent het BMI en is verder onderzoek dus aangewezen.

Over het effect van levensstijlfactoren zoals roken en alcoholconsumptie kon in de studie geen relatie worden aangetoond met de uitkomst van IVF en ICSI. Doordat roken met grote zekerheid geassocieerd is met gedaalde eicel- en zaadcelkwaliteit, bestaat het vermoeden dat

ICSI betere uitkomsten met zich zal meebrengen. Nochtans geeft deze schaarse literatuur hieromtrent aan dat zowel de uitkomsten van IVF en ICSI nefast worden beïnvloed door maternaal en paternaal rookgedrag. Een echte vergelijking tussen beide technieken voor wat betreft fertilisatiepercentages is echter niet voorhanden (7,19).

Hier moet worden aan toegevoegd dat roken en alcohol factoren zijn die sterk geassocieerd zijn met elkaar ('confounders'). In deze studie kon niet worden aangetoond dat deze met elkaar zijn gerelateerd, maar opvallend was wel dat de partners elkaar sterk beïnvloeden in deze gewoontes (bv. als de man rookt, doet de vrouw dat meestal ook).

Bovendien werden de gegevens verkregen door zelfrapportage met als gevolg een groot aantal ontbrekende waarden (vnl. bij de partner) en mogelijks bias door foutief ingevulde waarden. Anderzijds zijn het net deze patiënten die 'gezonder' proberen te leven met het oog op hun onvruchtbaarheid, waardoor het totaal aantal rokers in deze studiegroep niet zo groot was. Van een echte selectiebias is hier niet echt sprake aangezien de doelpopulatie van deze studie steeds mensen zullen zijn met subfertiliteit. Slechts een klein aantal patiënten in de studie waren echte stokers (>10 sigaretten /dag) 4,3% bij de vrouw en toch een 10,7% bij de man.

Dit verklaart ook het feit dat er in de literatuur hieromtrent tegenstrijdigheden zijn. Bovendien is het ook niet duidelijk vanaf welke hoeveelheid alcoholconsumptie en rookgedrag er een invloed is op de fertiliteit, wegens o.a. afwezigheid van universele maten om dit gedrag te categoriseren.

Voor wat betreft alcoholconsumptie is het ook van belang het 'mild' tot 'matig' alcoholgebruik te onderzoeken. Een groot deel van de Westerse bevolking drinkt immers wel eens enkele glaasjes per week, waarbij de mogelijke impact op de fertiliteit van de mens wel eens groter kan zijn dan wordt vermoed.

In deze studie zien we vreemd genoeg zowel bij man als vrouw proportioneel meer ro(o)k(st)ers in de groep waarin ICSI geen voordelen biedt. Bij de man gaat dit om een niet onbelangrijk verschil van 13% met een 'borderline significance' die in de multivariate analyse terugkomt. Dit is vreemd aangezien wordt verwacht dat de zaadcelkwaliteit door roken achteruitgaat en dus ook de slaagkansen van conventionele IVF. Aangezien uit deze studie blijkt dat in geval van mannelijke subfertiliteit (berekend a.d.h.v. zaadcelkwaliteit TMSC) ICSI meer voordeel biedt op vlak van fertilisatie, doet dit misschien vermoeden dat roken eerder van invloed is op andere factoren die niet vervat zijn in het TMSC-concept. Maar rekening houdende met het vrij groot aantal ontbrekende waarden voor rookgedrag en het niet kunnen aantonen van significantie, wordt dit 'verrassende' resultaat toch wel gerelativeerd en

kan er worden geconcludeerd dat dit vermoedelijk gebaseerd is op toeval. Verder onderzoek wordt in dit kader aangewezen met grotere steekproefaantallen en betrouwbaardere gegevens. Om de bias door zelfrapportage in de toekomst te vermijden, kan er worden gebruik gemaakt van objectieve metingen zoals bv. de plasma-cotinineconcentratie²² om het rookgedrag te bepalen. Hetzelfde kan gedaan worden voor de alcoholconcentratie d.m.v. plasmawaarden. Dit vormt echter ook een ethische aangelegenheid waarvoor expliciet toestemming van de patiënt zelf moet worden verkregen.

6.3.2.3 *Vrouwelijke pathologie*

Voor geen enkele vrouwelijke pathologie, zijnde ‘endometriose’, ‘tubaire dysfunctie’ ‘ovulatiestoornissen’ en ‘PCOS’ kon worden aangetoond dat zij bepalend zijn bij de uitkomst van IVF en ICSI.

Bij endometriose kon er wel een tendens worden waargenomen in het voordeel van ICSI, conform de literatuur (17). Proportioneel bevonden er zich 7.42 % meer vrouwen in de groep waar ICSI beter scoort dan IVF (echter statistisch niet significant). Uiteindelijk maakte deze variabele ook onderdeel uit van het multivariate model in de studie, omdat deze het vermoeden gaf toch een niet afdoende rol te spelen. In deze studiegroep had slechts 16.6 % van de vrouwen endometriose, wat op zich niet echt veel te noemen is om eventuele significantie te kunnen aantonen. Bovendien was geen gedetailleerde informatie beschikbaar over de ernst en lokalisatie van de endometriose, wat een mogelijk significant verband zou kunnen maskeren. Bijgevolg wordt endometriose niet volledig afgeschreven als zijnde helemaal niet van invloed op de uitkomsten van IVF en ICSI, maar is verder onderzoek aangewezen met grotere steekproefaantallen.

Voor tubaire pathologie waren de verschillen tussen beide onderzoeksgroepen verwaarloosbaar m.a.w. was er geen enkele aanwijzing dat in de aanwezigheid van tubaire pathologie, ICSI superieur zou zijn t.o.v. IVF of omgekeerd, wat ook in de literatuur kan worden terug gevonden (39,57). Opvallend was wel dat er een significantie associatie kon worden aangetoond tussen rookgedrag van de vrouw en tubaire pathologie.

Voor PCOS en ovulatiestoornissen kon ook geen enkele relatie worden aangetoond met de uitkomsten van IVF en ICSI. Er moet worden opgemerkt dat de betrouwbaarheid van de gegevens twijfelachtig is. PCOS telt immers een groot aantal ontbrekende waarden, dewelke helaas niet konden worden verholpen. Bovendien wordt onder ovulatiestoornissen zowel

²² Cotinine is een metaboliet van nicotine en tevens een biomarker voor de actieve en passieve blootstelling aan tabaksrook.

hypothalamohypofysaire stoornissen, hyperandrogenisme en PCOS verstaan. Mogelijks werd de aanwezigheid van PCOS voor een deel van de koppels ingebracht als ovulatiestoornis, wat tevens het groot aantal ‘missings’ bij PCOS kan verklaren, hoewel in deze studiegroep het aantal patiënten met ovulatiestoornissen zeer laag was (9%). Net zoals de literatuur in het ongewisse blijft voor wat betreft PCOS als mogelijke indicatie voor ICSI, kan er uit deze studie eveneens niets worden geconcludeerd. Daarvoor zijn de gegevens te weinig betrouwbaar.

6.3.2.4 *Lage ovariële respons en eicelkwaliteit*

In de algemene praktijk wordt bij een laag aantal gecollecteerde eicellen overgegaan op ICSI om de slaagkansen optimaal te houden en dus totaal fertilisatiefalen zo veel mogelijk te vermijden. Zoals eerder reeds werd aangegeven heeft ICSI een hogere kans op fertilisatie vnl. omdat deze worden uitgeselecteerd op basis van hun maturiteit. De kans op fertilisatie is echter gelijk aan IVF indien de verhouding van fertilisatie wordt uitzet t.o.v. het aantal COC's, wat deze studie ook bevestigt. Theoretisch gezien is er dus geen reden om ICSI boven IVF te verkiezen, maar in realiteit is er wellicht meer aan de hand dan alleen maar een laag eicelaantal. Logischerwijze wordt een lage ovariële respons vaker gezien bij dames op oudere leeftijd, maar dit is niet steeds het geval. Voorlopig blijft het dus gissen naar mogelijke oorzaken van dit onverklaard laag verkregen eicelaantal.

Net zoals andere recente studies kon er in deze studie geen enkel verband worden aangetoond tussen een laag verkregen eicelaantal en de uitkomsten van IVF en ICSI (9,47,48). Door de ‘outliers’ in de groep waar ICSI minder goed scoort dan IVF, wordt het gemiddelde sterk naar boven getrokken, wat misschien enige significantie kan maskeren.

Naast het aantonen van een mogelijke verband is het echter klinisch van belang dat ook een mogelijke grenswaarde kan worden gedefinieerd, dewelke eventueel bepalend is de beslissing om volledig over te gaan op ICSI. Het definiëren van grenswaarden is niet eenvoudig, aangezien in studies vaak intuïtief volledig op ICSI wordt overgegaan bij een lage ovariële respons, zonder dat er voor deze aanpak reeds bewijs is geleverd. In deze studie werden deze gevallen eveneens geëxcludeerd (zie ‘Methodologie’), zodat slechts één koppel met twee verkregen eicellen doorging met de ‘*IVF versus ICSI*’-behandeling en zodat het volgend laagste verkregen eicelaantal vier was. Bijgevolg wordt de vergelijking tussen IVF en ICSI bij een lage ovariële respons erg bemoeilijkt. Dit vormt ook een ethische aangelegenheid, aangezien het ‘risico’ bestaat dat het koppel geen optimale kans krijgt toebedeeld, indien niet alle eicellen met ICSI zouden worden behandeld. Het definiëren van zulk een mogelijke

grenswaarde lijkt dan ook een bijna onmogelijke opdracht en is bijgevolg niet gelukt bij deze analyse. Bijgevolg kan er niet worden geconcludeerd dat ICSI een betere of minder goede behandeling is bij een lage ovariële respons. In dit geval is de beslissing nog zeer twijfelachtig en lijkt de ‘*IVF versus ICSI*’-behandeling voor lage ovariële respons als dusdanig het meest aangewezen, ware het niet dat er in de analyse (op één na) uitsluitend koppels met eicelaantallen groter dan drie werden opgenomen. Omtrent deze indicatie kan er dus geen enkele uitspraak worden gedaan voor een verkregen eicelaantal lager dan vier, aangezien dit niet werd onderzocht.

Voor wat betreft de eicelkwaliteit berekend op basis van de totale dosis toegediende gonadotrofines per eicel, kon geen enkele relatie worden aangetoond met de uitkomsten van IVF en ICSI. De eicelkwaliteit werd op deze manier berekend op basis van eerder onderzoek waaruit is gebleken dat de toegediende dosis gonadotrofines per eicel correleert met de daaruit volgende embryokwaliteit en dus hoogst waarschijnlijk ook met de eicelkwaliteit (64). Er kan in deze studie dus niet worden aangetoond dat de eiceleigenschappen bepalend zijn in de fertilisatieresultaten van IVF en ICSI, waaruit men echter niet kan concluderen dat de eicel helemaal geen rol speelt hierin. Er zijn immers overige methodes om de eicelkwaliteit te bepalen zoals het aantal granulocellen en de dikte van de zona pellucida. (46,45)

6.3.2.5 Mannelijke subfertiliteit

Dit onderzoek heeft uitgewezen dat koppels met mannelijke subfertiliteit, gedefinieerd als minder dan 19 miljoen beweeglijke zaadcellen in het spermastaal, meer kans hebben om met ICSI betere fertilisatiepercentages te bekomen. Dit is ook zichtbaar in het hoog fertilisatiefalen na conventionele IVF in vergelijking met ICSI (28,6% versus 8,6%). Bijgevolg zou dit betekenen dat, indien een koppel een TMSK waarde heeft onder de 19 miljoen, berekend volgens de formule in deze studie, alle eicellen bij voorkeur met ICSI worden behandeld. Dit impliceert dus dat de initiële indicatiestelling voor ICSI, namelijk ernstige mannelijke subfertiliteit, eigenlijk te streng is en moet worden herzien. Ook lichtere vormen van gedaalde spermakwaliteit zouden nog altijd baat hebben met een ICSI-behandeling en bijgevolg een indicatie hiervoor moeten zijn. Het wordt aangeraden om verder onderzoek in dit kader te verrichten om deze resultaten te bevestigen. Tot op heden is er immers nog geen enkele test of exacte grenswaarde voor spermakwaliteit voorhanden dewelke de fertilisatie-uitkomsten van ICSI en IVF zouden kunnen voorspellen (15,44). Het onderzoek hieromtrent verloopt vrij moeizaam o.a. omdat studies ‘mannelijke subfertiliteit’

op verschillende manieren definiëren en vaak gebaseerd zijn op de WHO-criteria voor normale spermakwaliteit (15,43). Een gemeenschappelijke en eenduidige consensus over de definitie van mannelijke subfertiliteit is niet voorhanden maar wel een noodzaak. Deze studie kan misschien een stap in de goede richting betekenen.

6.4 Aanbevelingen

Volgens deze studie zouden koppels met mannelijke subfertiliteit (TMSC<19miljoen) en/of waarvan de mannelijke partner ouder is dan 31 jaar betere fertilisatieresultaten bereiken met een ICSI-behandeling. Voor wat betreft alle andere voorspellende variabelen kan er voorlopig geen uitspraak worden gedaan over hun mogelijke invloed op de resultaten van IVF en ICSI. Verder onderzoek in dit kader wordt ten zeerste aangeraden, in het bijzonder voor wat betreft bovenstaande drempelwaarden van mannelijke subfertiliteit en leeftijd. Zoals hoger reeds aangegeven verdienen andere factoren zoals endometriose, BMI van patiënte en rookgedrag van de partner bijzondere aandacht, aangezien zij konden worden opgenomen in het multivariate model. Uitspraken over deze laatste factoren en een mogelijke invloed op de uitkomsten van IVF en ICSI, kunnen hier absoluut niet worden gedaan, maar toch wordt aangeraden bij volgende onderzoeken naar indicatiestellingen deze elementen op te nemen. Dit onderzoek had immers als initieel doel richtinggevend te zijn voor volgende studies over de mogelijke indicaties voor de IVF- en ICSI-behandelingen. Misschien dat met betrouwbaardere (bv. geen zelfrapportage) en vollediger gegevens meer indicaties voor IVF- en ICSI-behandelingen kunnen worden aangetoond.

6.5 Conclusie

Kortom is de *IVF versus ICSI*-behandeling voorlopig de beste optie voor de behandeling van een koppel met subfertiliteit die niet te wijten is aan mannelijke subfertiliteit of waarvan de man niet ouder is dan 31 jaar. Indien één van deze laatste twee wel het geval is, is het a.d.h.v. deze studie twijfelachtig of de *IVF versus ICSI*-behandeling hier de best mogelijke optie is en zou het wel eens beter kunnen zijn dat alle gecollecteerde eicellen met ICSI worden behandeld. De *IVF versus ICSI*-behandeling blijft dus een strategische aanpak in geval van twijfel om zowel totaal fertilisatiefalen te vermijden maar ook als diagnosticum om bij een eventuele volgende poging de beste behandeling te adviseren.

7 Bibliografie

1. Dhont M, Devroey P, Gerris J, Jacquemyn Y, Vergote I, De Sutter P, et al. Handboek Gyneacologie. Leuven/Den Haag: Acco; 2012.
2. Gurunath S, Pandian Z, Anderson RA, Bhattacharya S. Defining infertility - a systematic review of prevalence studies. *Hum Reprod Update*. 2011 Apr; 17(05): p. 575-588.
3. Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Friol K, Tiges J, Freundl G. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod*. 2005 May; 20: p. 1144-7.
4. Palermo G, Neri Q, Monaham D, Kocent J, Rosenwaks Z. Development and current applications of assisted fertilization. *Fertil Steril*. 2012 Feb; 97(2): p. 248-59.
5. Zollner U, Dietl J. Perinatal risks after IVF and ICSI. *J Perinat Med*. 2013 Jan; 41(1): p. 17-22.
6. De Neubourg D, Van Duijnhove NTL, Nelen WLDM, D'Hooghe TM. Dutch translation of the ICMART-WHO revised glossary on ART terminology. *Gynecol Obstet Invest*. 2012 Nov; 74: p. 233-248.
7. Homan GF, Davies M, Norman R. The impact of lifestyle factors on reproductive performance in the general population and those undergoing infertility treatment: a review. *Hum Reprod*. 2007 Jan; 13(3): p. 209-223.
8. Ebner T, Filicori M, Tews G, Parmegiani L. A plea for a more physiological ICSI. *Andrologia*. 2012; 44: p. 2-19.
9. Gozlan I, Dor A, Farber B, Meirow D, Feinstein S, Levron J. Comparing intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization in patients with single oocyte retrieval. *Fertil Steril*. 2007 Mar; 87(3): p. 515-8.
10. Adamson G, Baker V. Subfertility: causes, treatment and outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2003 Apr; 17(2): p. 169-85.
11. Baetens P, Cailleau F, De Sutter P, Deboosere P, Delvigne A, Dubois M, et al. Demografie en epidemiologie van de vruchtbaarheid in België en de nood aan medisch begeleide voortplanting. Brussel: De Hoge Gezondheidsraad, Fertilititeit; 2010. Report No.: 8632.
12. Schlegel P, Girardi S. Clinical review 87: In vitro fertilization for male factor infertility. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Mar; 82(3): p. 709-16.
13. Lammarrone E, Balet R, Lower A, Gillott C, Grudzinskas J. Male infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2003 Apr; 17(2): p. 211-29.
14. World Health Organisation. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. 5th ed.; 2010.
15. Van der Westerlaken L, Naaktgeboren N, Verburg H, Dieben S, Helmerhorst F. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in patients with borderline semen: a randomized study using sibling oocytes. *Fertil Steril*. 2006 Feb; 85(2): p. 395-400.
16. Esinler I, Bayar U, Bozdag G, Yarali H. Outcome of intracytoplasmic sperm injection in patients with polycystic ovary syndrome or isolated polycystic ovaries. *Fertil Steril*. 2005 Oct; 84(4): p. 932-7.
17. Komsky-Elbaz A, Raziel A, Friedler S, Strassburger D, Kasterstein E, Komarovskiy D, et al. Conventional IVF versus ICSI in sibling oocytes from couples with endometriosis and normozoospermic semen. *J Assist Reprod Genet*. 2013; 30: p. 251-257.
18. Macer M, Taylor H. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2012

Dec; 39(4): p. 535-49.

19. Zitzmann M, Rolf C, Nordhoff V, Schröder G, Rickert-Föhning M, Gassner P, et al. Male smokers have a decreased success rate for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2003 Jun; 79(3): p. 1550-4.
20. Huang J, Okuka M, McLean M, DL K, Liu L. Effects of cigarette smoke on fertilization and embryo development in vivo. *Fertil Steril*. 2009; 92(4): p. 1456-1465.
21. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Smoking and infertility. *Fertil Steril*. 2008; 90(3): p. 254-259.
22. Wright K, Trimarchi J, Allsworth J, Keefe D. The effect of female tobacco smoking on IVF outcomes. *Hum Reprod*. 2006 21(11);: p. 2930-2934.
23. Hakim R, Gray R, Zacur H. Alcohol and caffeine consumption and decreased fertility. *Fertil Steril*. 1998 Oct; 70(4): p. 632-637.
24. Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B, et al. Lifestyle-related factors and access to medically assisted reproduction. *Hum Reprod*. 2010; 25(3): p. 578-583.
25. Anderson K, Norman R, Middleton P. Preconception lifestyle advice for people with subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Apr; 14(4).
26. Anderson K, Nisenblat V, Norman R. Lifestyle factors in people seeking infertility treatment - a review. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2010; 50: p. 8-20.
27. Klonoff-Cohen H. Female and male lifestyle habits and IVF: what is known and unknown. *Hum Reprod Update*. 2005; 11(2): p. 180-204.
28. Ron-El R, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Kasterstein E, Friedler S. Outcome of assisted reproductive technology in women over the age of 41. *Fertil Steril*. 2000 Sep; 74(3): p. 471-475.
29. Nazemian Z, Esfandiari N, Javed M. The effect of age on in vitro fertilization outcome: Is too young possible? *J Assist Reprod Genet*. 2011; 28: p. 101-106.
30. Frattarelli J, Miller K, Miller B, Elkind-Hirsch K, Scott R. Male age negatively impacts embryo development and reproductive outcome in donor oocyte assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2008 Jul; 90(1): p. 97-103.
31. Pasqualotto F, Sobreiri B, Hallak J, Pasqualotto E, Lucon A. Sperm concentration and normal sperm morphology decrease and follicle-stimulating hormone level increases with age. *BJU Int*. 2005 Nov; 96(7): p. 1087-91.
32. Stone B, Alex A, Werlin L, Marrs R. Age thresholds for changes in semen parameters in men. *Fertil Steril*. 2013 Oct; 100(4): p. 952-8.
33. Robker R. Evidence that obesity alters the quality of oocytes and embryos. *Pathophysiology*. 2008; 15: p. 115-121.
34. Bellver J, Ayllón Y, Ferrando M, Melo M, Goyri E, Pellicer A, et al. Female obesity impairs in vitro fertilization outcome without affecting embryo quality. *Fertil Steril*. 2010 Feb; 93(2): p. 447-54.
35. Moragianne V, Jones S, Ryley D. The effect of body mass index on the outcomes of first assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2012 Jul; 98(1): p. 102-108.
36. Universitair Ziekenhuis Gent, Afdeling Reproductieve Geneeskunde. Medisch begeleide voortplanting, info voor de patiënt [brochure]. Gent: Modulo; 2013.
37. Ou Y, Lan K, Huang F, Kung F, Lan T, Chang S. Comparison of in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in extremely low oocyte retrieval cycles. *Fertil Steril*. 2010 Jan; 93(1): p. 96-100.

38. 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 Sep; 14(9): p. 2313-9.
39. Staessen C, Camus M, 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 Oct; 14(10): p. 2474-9.
40. Lucas H, Lammers J, Pfeffer J, Aknin I, Carré-Pigeon F, Jafou Nea. Conventional IVF versus ICSI in sibling oocytes: a French experience analysis for BLEFCO. *Gynecol Obstet Fertil.* 2010 Sep; 38(9): p. 515-20.
41. Hodes-Wertz B, Mullin C, Adler A, Noyes N, Grifo J, Berkeley A. Is intracytoplasmic sperm injection overused? *J Urol.* 2012 Feb; 18(7): p. 602-6.
42. Khamsi F, Yavas Y, Roberge S, Wong J, Lacanna L, Endman M. Intracytoplasmic sperm injection increased fertilization and good-quality embryo formation in patients with non-male factor indications for in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Fertil Steril.* 2001 Feb; 75(2): p. 342-347.
43. 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 Feb; 77(2): p. 229-232.
44. Lin M, Lee R, Li S, Lu C, Sun F, Hwu Y. Sperm chromatin structure assay parameters are not related to fertilization rates, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection, but might be related to spontaneous abortion rates. *Fertil Steril.* 2008 Aug; 90(2): p. 352-359.
45. Nawroth F, Müller P, Wolf C, Sudik R. Is the zona pellucida thickness of metaphase-II oocytes in an IVF/ICSI program influenced by the patient's age? *Gynecol Obstet Invest.* 2001; 52: p. 55-59.
46. Saito H, Saito T, Kaneko T, Sasagawa I, Kuramoto T, Hiroi M. Relatively poor oocyte quality is an indication for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2000 Mar; 73(3): p. 465-9.
47. The practice committees of the American society for reproductive medicine and society for assisted reproductive technology. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for non-male factor infertility: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2012;: p. 1-5.
48. Luna M, Bigelow C, Duke M, Ruman J, Sandler B, Grunfeld L, et al. Should ICSI be recommended routinely in patients with four or fewer oocytes retrieved? *J Assist Reprod Genet.* 2011 Sep; 28(10): p. 911-5.
49. Xi Q, Zhu L, Hu J, Wu L, Zhang H. Should few retrieved oocytes be as an indication for intracytoplasmic sperm injection? *J Zhejiang Univ Sci B.* 2012; 13(9): p. 717-722.
50. Polyzos N, Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? *Fertil Steril.* 2011 Nov; 96(5): p. 1058-1061.
51. Maman E, Geva L, Yerushalmi G, Baum M, Dor J, Hourvitz A. ICSI increases ongoing pregnancy rates in patients with poor response cycle: multivariate analysis of 2819 cycles. *Reprod Biomed Online.* 2012 Dec; 25(6): p. 635-41.
52. Kilani S, Cooke S, Kan A, Chapman M. Do age and extended culture affect the architecture of the zona pellucida of human oocytes and embryos? *Zygote.* 2006 Feb; 14: p. 39-44.
53. Klinkert E, Broekmans F, Looman C, te Velde E. A poor response in the first in vitro fertilization cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles.

- Fertil Steril. 2004 May; 81(5): p. 1247-1253.
54. Whitcomb B, Turzanski-Fortner R, Richter K, Kipersztok S, Stillman R, Levy M, et al. Contribution of male age to outcomes in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril*. 2011 Jan; 95(1): p. 147-51.
 55. Dumesic D, Padmanabhan V, Abbott D. Polycystic ovary syndrome and oocyte developmental competence. *Obstet Gynecol Surv*. 2008 Jan; 63(1): p. 39-48.
 56. Hwang J, Seow K, Lin Y, Hsieh B, Huang L, Chen H, et al. IVF versus ICSI in sibling oocytes from patients with polycystic ovarian syndrome: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2005 May; 20(5): p. 1261-5.
 57. Bukulmez O, Yarali H, Yucel A, Sari T, Gurgan T. Intracytoplasmic sperm injection versus in vitro fertilization for patients with a tubal factor as their sole cause of infertility: a prospective, randomized trial. *Fertil Steril*. 2000 Jan; 73(1): p. 38-42.
 58. Rossi B, Chang G, Berry K, Hornstein M, Missmer S. In vitro fertilization outcomes and alcohol consumption in at-risk drinkers: The effects of a randomized intervention. *Am J Addict*. 2013; 22: p. 481-485.
 59. Van Swieten E, Van der Leeuw-Harmsen L, Badings E, Van der Linden P. Obesity and Clomiphene Challenge Test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Gynecol Obstet Invest*. 2005; 59: p. 220-224.
 60. Orvieto R, Meltcer S, Nahum R, Rabinson J, Anteby E, Ashkenazi J. The influence of body mass index on in vitro fertilization outcome. *Int J Gynaecol Obstet*. 2009; 104: p. 53-55.
 61. Johnson L, Sasson I, Sammel M, Dokras A. Does intracytoplasmic sperm injection improve the fertilization rate and decrease the total fertilization failure rate in couples with well-defined unexplained infertility? A systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2013 Sep; 100(3): p. 704-711.
 62. Bungum L. A strategy for treatment of couples with unexplained infertility who failed to conceive after intrauterine insemination. *Reprod Biomed Online*. 2004; 8(5): p. 584-589.
 63. Van Maele G, Deschepper E, Buysse H, Coorevits P. *Statistische Gegevensverwerking met behulp van IBM SPSS STATISTICS 19*. Zelzate: University Press; 2011.
 64. Deklerck E, Van Coile S. *Determinerende factoren voor suboptimale embryokwaliteit bij IVF/ICSI patiënten [PhD thesis]*. Ghent: University of Ghent. 2013.
 65. Vanden Meerschaut F, Nikiforaki D, Heindryckx B, De Sutter P. Assisted oocyte activation following ICSI fertilization failure. *Reprod Biomed Online*. 2014. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.01.008.
 66. K.U. Leuven (L-Biostat), Universiteit Luik (Service d'Informatique Médicale et Biostatistique). Belgian Register for Assisted Procreation (BELRAP) [internet]. 2009 [updated 2014; cited 2014 Apr 7]. Available from: <http://www.belrap.be/>.

8 Appendices

Appendix I: Variabelen in de database

Tabel 13 Alle variabelen welke gebruikt werden voor de statistische analyses.

Karakteristieken patiënte	Karakteristieken partner	Karakteristieken eicel
geboortedatum moeder (d/m/j)	geboortedatum partner (d/m/j)	aantal oöcyten gepuncteerd
gewicht vrouw (kg)		aantal eicellen behandeld met IVF
lengte vrouw (cm)		aantal eicellen behandeld/geïnjecteerd met ICSI
vrouwelijke pathologie (ja/nee)	mannelijke pathologie (ja/nee)	
endometriose (ja/nee)	sperma volume (ja/nee)	
tubaire pathologie (ja/nee)	sperma concentratie (ja/nee)	
ovulatiestoornissen (ja/nee)	sperma motiliteit (ja/nee)	
PCOS (ja/nee)	sperma morfologie (ja/nee)	
alcohol vrouw (nooit, weinig, matig, veel)	alcohol partner (nooit, weinig, matig, veel)	
roken vrouw (nooit, gestopt, <10/dag, >=10/dag)	roken partner (nooit, gestopt, <10/dag, >=10/dag)	
totaal Gonadotrofine (IE)		
biochemische zwangerschap (ja/nee)		
bevalling (ja/nee)		

Appendix II: WHO criteria normaal semen

Tabel 14 Referentiewaarden semen- en spermakwaliteit volgens de WHO-richtlijnen.

Normaal semen:	Volume: 1.5 (1.4-1.7) pH: 7.2 – 7.8
Normaal sperma:	Concentratie: ≥ 15 miljoen /ml (12-16) Totale telling: 40 miljoen (33-46) Progressieve motiliteit: 32% (31-34) waarvan meer dan 25% type A beweeglijkheid of meer dan 50% type A+B beweeglijkheid Normale vormen: ongeveer 4% (3.0-4.0) Vitaliteit: 58% levende spermacellen (55-63) Witte bloedcellen: < 1 miljoen / ml
'Bordeline' sperma volgens WHO ('99)	< 20×10^6 /ml < 40 % motiliteit

Appendix III: 'Forward'- en 'Backward'-selectieprocedures van multivariate analyse

'Forward'-selectieprocedure

Tabel 15 'Forward'- selectieprocedure met 5 variabelen.

Variabele	P-waarde	95 % BI	OR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq32 jaar	0.050	[1.000;4.196]	2.048	0.717

Tabel 16 'Forward'-selectieprocedure zonder BMI patiënte en roken partner.

Variabele	P-waarde	95 % BI	OR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq32 jaar	0.007	[1.266;4.447]	2.373	0.864
Subfertiliteit man	0.042	[1.028;4.833]	2.229	0.801

Tabel 17 'Forward'- selectieprocedure met BMI aangevuld met gemiddelde waarde.

Variabele	P-waarde	95 % BI	OR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq32 jaar	0.044	[1.018;4.086]	2.039	0.713

'Backward'-selectieprocedure

Tabel 18 'Backward'-selectieprocedure met alle 5 variabelen (enkel de laatste stap wordt hieronder weergegeven).

Variabele	P-waarde	95 % BI	OR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq32 jaar	0.050	[1.000;4.196]	2.048	0.717

Tabel 19 'Backward'-selectieprocedure zonder BMI patiënte en roken partner.

Variabele	P-waarde	95 % BI	OR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq32 jaar	0.004	[1.347;4.874]	2.563	0.941
Endometriose	0.091	[0.892;4.646]	2.036	0.711
Subfertiliteit man	0.042	[1.031;4.930]	2.254	0.813

Tabel 20 'Backward'-selectieprocedure met BMI gecorrigeerd voor 'missings'.

Variabele	P-waarde	95 % BI	OR	Regressiecoëfficiënt
Partnerleeftijd \geq32 jaar	0.035	[1.057;4.424]	2.162	0.771
Subfertiliteit man	0.055	[0.983;5.815]	2.391	0.872
Roken partner	0.066	[0.204;1.052]	0.463	-0.769

Appendix IV: Goedkeuring ethisch comité.



Universitair Ziekenhuis Gent

Afz: Commissie voor Medische Ethiek



COMMISSIE VOOR MEDISCHE
ETHIEK

Poli Verloskunde
Polikliniekgebouw 3 - 1ste Verdieping
Prof. dr. Petra DE SUTTER
ALHIER

Voorzitter:
Prof. Dr. D. Matthys
Secretaris:
Prof. Dr. K. Vandewoude

CONTACT Secretariaat	TELEFOON +32 (0)9 332 56 13 +32 (0)9 332 59 25	FAX +32 (0)9 332 49 62	E-MAIL ethisch.comite@ugent.be
UW KENMERK	ONS KENMERK 2012/714	DATUM 29-okt-12	KOPIE Zie "CC"

BETREFT

Advies voor monocentrische studie met als titel:
In vitro fertilisatie versus ICSI in éénzelfde cohort van eicellen: Analyse van de ervaring in de afdeling
reproductieve geneeskunde van het UZ Gent - Scriptie Annelien Steenhout

Belgisch Registratienummer: B670201215309

- * Adviesaanvraagformulier dd. 23/10/2012 (volledig ontvangen dd. 23/10/2012)
- * Begeleidende brief dd. 23/10/2012
- * Informatie- en waarschuwingsnota over de verwerking van informatie voor medisch-wetenschappelijk onderzoek dd. 23/10/2012
Annelien Steenhout
- * Antwoord onderzoeker via mail dd. 25/10/2012 (ontv. 26/10/2012) op opmerkingen EC dd. 25/10/2012

Advies werd gevraagd door:

Prof. dr. P. DE SUTTER ; Hoofdonderzoeker

**BOVENVERMELDE DOCUMENTEN WERDEN DOOR HET ETHISCH COMITÉ BEOORDEELD.
ER WERD EEN POSITIEF ADVIES GEGEVEN OVER DIT PROTOCOL OP 26/10/2012. INDIEN DE STUDIE NIET WORDT OPGESTART
VOOR 26/10/2013, VERVALT HET ADVIES EN MOET HET PROJECT TERUG INGEDIEND WORDEN.**

Vooraleer het onderzoek te starten dient contact te worden genomen met het Trial Bureau (09/332 05 00).

**THE ABOVE MENTIONED DOCUMENTS HAVE BEEN REVIEWED BY THE ETHICS COMMITTEE.
A POSITIVE ADVICE WAS GIVEN FOR THIS PROTOCOL ON 26/10/2012. IN CASE THIS STUDY IS NOT STARTED BY 26/10/2013, THIS
ADVICE WILL BE NO LONGER VALID AND THE PROJECT MUST BE RESUBMITTED.**

Before initiating the study, please contact the Trial Bureau (09/332 05 00).

DIT ADVIES WORDT OPGENOMEN IN HET VERSLAG VAN DE VERGADERING VAN HET ETHISCH COMITE VAN 20/11/2012

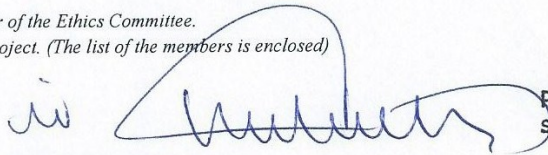
THIS ADVICE WILL APPEAR IN THE PROCEEDINGS OF THE MEETING OF THE ETHICS COMMITTEE OF 20/11/2012

- *Het Ethisch Comité werkt volgens 'ICH Good Clinical Practice' - regels*
- *Het Ethisch Comité beklemtoont dat een gunstig advies niet betekent dat het Comité de verantwoordelijkheid voor het onderzoek op zich neemt. Bovendien dient U er over te waken dat Uw mening als betrokken onderzoeker wordt weergegeven in publicaties, rapporten voor de overheid enz., die het resultaat zijn van dit onderzoek.*
- *In het kader van 'Good Clinical Practice' moet de mogelijkheid bestaan dat het farmaceutisch bedrijf en de autoriteiten inzage krijgen van de originele data. In dit verband dienen de onderzoekers erover te waken dat dit gebeurt zonder schending van de privacy van de proefpersonen.*
- *Het Ethisch Comité benadrukt dat het de promotor is die garant dient te staan voor de conformiteit van de anderstalige informatie- en toestemmingsformulieren met de nederlandstalige documenten.*
- *Geen enkele onderzoeker betrokken bij deze studie is lid van het Ethisch Comité.*
- *Alle leden van het Ethisch Comité hebben dit project beoordeeld. (De ledenlijst is bijgevoegd)*

CONTACT Secretariaat	TELEFOON +32 (0)9 332 56 13 +32 (0)9 332 59 25	FAX +32 (0)9 332 49 62	E-MAIL ethisch.comite@ugent.be
UW KENMERK	ONS KENMERK 2012/714	DATUM 29-okt-12	KOPIE Zie "CC"

Vervolg blz. 2 van het adviesformulier betreffende project EC UZG 2012/714

- *The Ethics Committee is organized and operates according to the 'ICH Good Clinical Practice' rules.*
- *The Ethics Committee stresses that approval of a study does not mean that the Committee accepts responsibility for it. Moreover, please keep in mind that your opinion as investigator is presented in the publications, reports to the government, etc., that are a result of this research.*
- *In the framework of 'Good Clinical Practice', the pharmaceutical company and the authorities have the right to inspect the original data. The investigators have to assure that the privacy of the subjects is respected.*
- *The Ethics Committee stresses that it is the responsibility of the promotor to guarantee the conformity of the non-dutch informed consent forms with the dutch documents.*
- *None of the investigators involved in this study is a member of the Ethics Committee.*
- *All members of the Ethics Committee have reviewed this project. (The list of the members is enclosed)*



Prof. dr. K. Vandewoude
Secretaris Ethisch Comité UZ Gent

Namens het Ethisch Comité / On behalf of the Ethics Committee
Prof. dr. D. MATTHYS
Voorzitter / Chairman

CC: UZ Gent - Trial Bureau
UZ Gent - Beheer en algemene directie
FAGG - Research & Development; Victor Hortaplein 40, postbus 40 1060 Brussel
Dr. S. WEYERS



Poli Verloskunde
Polikliniekgebouw 3 - 1ste Verdieping
Prof. dr. Petra DE SUTTER
ALHIER

Voorzitter:
Prof. Dr. D. Matthys
Secretaris:
Prof. Dr. K. Vandewoude

CONTACT Secretariaat	TELEFOON +32 (0)9 332 56 13 +32 (0)9 332 59 25	FAX +32 (0)9 332 49 62	E-MAIL ethisch.comite@ugent.be
UW KENMERK	ONS KENMERK 2012/715	DATUM 29-okt-12	KOPIE Zie "CC"

BETREFT

Advies voor monocentrische studie met als titel:
In vitro fertilisatie versus ICSI in éénzelfde cohorte van eicellen: Analyse van de ervaring in de afdeling
reproductieve geneeskunde van het UZ Gent - Scriptie Eva Hoet

Belgisch Registratienummer: B670201215315

- * Adviesaanvraagformulier dd. 23/10/2012 (volledig ontvangen dd. 23/10/2012)
- * Begeleidende brief dd. 23/10/2012
- * Informatie- en waarschuwingsnota over de verwerking van informatie voor medisch-wetenschappelijk onderzoek dd. 23/10/2012
Eva Hoet
- * Antwoord onderzoeker via mail dd. 25/10/2012 (ontv. 26/10/2012) op opmerkingen EC dd. 25/10/2012

Advies werd gevraagd door:

Prof. dr. P. DE SUTTER ; Hoofdonderzoeker

**BOVENVERMELDE DOCUMENTEN WERDEN DOOR HET ETHISCH COMITÉ BEOORDEELD.
ER WERD EEN POSITIEF ADVIES GEGEVEN OVER DIT PROTOCOL OP 26/10/2012. INDIEN DE STUDIE NIET WORDT OPGESTART
VOOR 26/10/2013, VERVALT HET ADVIES EN MOET HET PROJECT TERUG INGEDIEND WORDEN.**

Vooraleer het onderzoek te starten dient contact te worden genomen met het Trial Bureau (09/332 05 00).

**THE ABOVE MENTIONED DOCUMENTS HAVE BEEN REVIEWED BY THE ETHICS COMMITTEE.
A POSITIVE ADVICE WAS GIVEN FOR THIS PROTOCOL ON 26/10/2012. IN CASE THIS STUDY IS NOT STARTED BY 26/10/2013, THIS
ADVICE WILL BE NO LONGER VALID AND THE PROJECT MUST BE RESUBMITTED.**

Before initiating the study, please contact the Trial Bureau (09/332 05 00).

DIT ADVIES WORDT OPGENOMEN IN HET VERSLAG VAN DE VERGADERING VAN HET ETHISCH COMITE VAN 20/11/2012

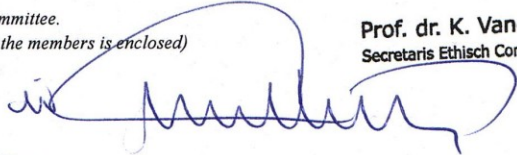
THIS ADVICE WILL APPEAR IN THE PROCEEDINGS OF THE MEETING OF THE ETHICS COMMITTEE OF 20/11/2012

- *Het Ethisch Comité werkt volgens 'ICH Good Clinical Practice' - regels*
- *Het Ethisch Comité beklemtoont dat een gunstig advies niet betekent dat het Comité de verantwoordelijkheid voor het onderzoek op zich neemt. Bovendien dient U er over te waken dat Uw mening als betrokken onderzoeker wordt weergegeven in publicaties, rapporten voor de overheid enz., die het resultaat zijn van dit onderzoek.*
- *In het kader van 'Good Clinical Practice' moet de mogelijkheid bestaan dat het farmaceutisch bedrijf en de autoriteiten inzage krijgen van de originele data. In dit verband dienen de onderzoekers erover te waken dat dit gebeurt zonder schending van de privacy van de proefpersonen.*
- *Het Ethisch Comité benadrukt dat het de promotor is die garant dient te staan voor de conformiteit van de anderstalige informatie- en toestemmingsformulieren met de nederlandsstalige documenten.*
- *Geen enkele onderzoeker betrokken bij deze studie is lid van het Ethisch Comité.*
- *Alle leden van het Ethisch Comité hebben dit project beoordeeld. (De ledenlijst is bijgevoegd)*

CONTACT Secretariaat	TELEFOON +32 (0)9 332 56 13 +32 (0)9 332 59 25	FAX +32 (0)9 332 49 62	E-MAIL ethisch.comite@ugent.be
UW KENMERK	ONS KENMERK 2012/715	DATUM 29-okt-12	KOPIE Zie "CC"

Vervolg blz. 2 van het adviesformulier betreffende project EC UZG 2012/715

- *The Ethics Committee is organized and operates according to the 'ICH Good Clinical Practice' rules.*
- *The Ethics Committee stresses that approval of a study does not mean that the Committee accepts responsibility for it. Moreover, please keep in mind that your opinion as investigator is presented in the publications, reports to the government, etc., that are a result of this research.*
- *In the framework of 'Good Clinical Practice', the pharmaceutical company and the authorities have the right to inspect the original data. The investigators have to assure that the privacy of the subjects is respected.*
- *The Ethics Committee stresses that it is the responsibility of the promotor to guarantee the conformity of the non-dutch informed consent forms with the dutch documents.*
- *None of the investigators involved in this study is a member of the Ethics Committee.*
- *All members of the Ethics Committee have reviewed this project. (The list of the members is enclosed)*



Prof. dr. K. Vandewoude
Secretaris Ethisch Comité UZ Gent

Namens het Ethisch Comité / On behalf of the Ethics Committee
Prof. dr. D. MATTHYS
Voorzitter / Chairman

CC: UZ Gent - Trial Bureau
UZ Gent - Beheer en algemene directie
FAGG - Research & Development; Victor Hortaplein 40, postbus 40 1060 Brussel
Dr. S. WEYERS

Appendix V: Invuldocument eerste aanmelding op de dienst

Invulformulier voorgeschiedenis consultatie Afdeling Reproductieve Geneeskunde (1P4)	
(Waar van toepassing: omcirkel het juiste antwoord. Indien plaats tekort, gebruik vrije ruimte op het einde)	
Datum	
(Meisjes)naam wensmoeder	Indien van toepassing: naam partner + geslacht
Geboortedatum wensmoeder	Geboortedatum partner
Rijksregisternummer wensmoeder	Rijksregisternummer partner
Adres:	
Gsm: Telefoon:	
E-mail (voor correspondentie):	
Naam huisarts:.....	Naam gynaecoloog:.....
Bloedgroep wensmoeder	(*enkel invullen voor partner in een heterokoppel): *Bloedgroep partner
Sinds wanneer probeert u zwanger te worden?	
Ooit zwanger geweest ? Neen - Ja	*Ooit een zwangerschap verwekt ? Neen - Ja
Reeds kinderen ? Neen - Ja	*Reeds kinderen ? Neen - Ja
Hoeveel ?	*Hoeveel ?
Hoe oud ?	*Hoe oud ?
Ooit vroeger vruchtbaarheidsbehandelingen gehad ? Neen - Ja (indien ja: gebruik vrije ruimte achterzijde)	*Ooit vroeger vruchtbaarheidsbehandelingen gehad ? Neen - Ja (indien ja: gebruik vrije ruimte achterzijde)
Enkel voor de wensmoeder: ooit problemen gehad met de zwangerschap of bevalling ? Neen - Ja (indien ja: gebruik vrije ruimte achterzijde)	
<u>Gynaecologische voorgeschiedenis (enkel door de wensmoeder in te vullen)</u>	
Cyclus regelmatig (25 tot 34 dagen) - onregelmatig	
Tussentijds bloedverlies Nooit - af en toe - vaak	
Pijn bij menstruatie 0 - + - ++ - +++	(invullen voor heterokoppels) Pijn bij het vrijen ? Neen - Ja
(invullen voor heterokoppels) Hoe vaak vrijen jullie? meer dan 2 maal per week - 1 à 2 maal per week - minder dan 1 maal per week	
Lengte	Huidig gewicht
Lichaamsbehandling (zonder cosmetische behandeling) weinig - matig - teveel	
Chronische onderbuikspijn ? Neen - Ja	Herhaaldelijk vaginale infecties ? Neen - Ja
Vroeger anticonceptie gebruikt ? Neen - Ja	Welke: pil - spiraal - andere :
Wanneer laatst gebruikt ?	

<u>Algemene voorgeschiedenis (bij een heterokoppel door beiden in te vullen)</u>	
<u>Wensmoeder</u>	<u>Partner</u>
Beroep	
Ziekten (hart, longen, nieren, lever, reuma, ...; welke, wanneer) ?	
Chronische (of frequent gebruikte) medicatie (welke, dosis) ?	
Operaties – ook in de buik, appendix of andere (welke, wanneer) ?	Operaties – ook aan de geslachtsorganen, teelballen, liesbreuk of andere (+ wanneer) ?
<u>Wensmoeder</u>	<u>Partner</u>
Allergieën (medicatie, jodium, contrast, pleisters, latex, metalen, dieren) ?	
Ontstekingen van geslachtsorganen en/of urinewegen (wanneer) ?	Idem, (inclusief als kind of gehad ?)
Trombose doorgemaakt ? Neen - Ja (wanneer ?)	Neen - Ja (wanneer ?)
	Enkel voor de man: Gebruikt u veel hete baden, sauna of staat u overmatig bloot aan warmte voor uw beroep?
Voor beiden: Blootstelling aan toxische stoffen of bestraling? Welke, hoe lang ?	
Alcohol ? Nooit - weinig - matig - veel	Nooit - weinig - matig - veel
Roken ? Nooit - gestopt - <10 sig/dag - >10 sig/dag	Nooit - gestopt - <10 sig/dag - >10 sig/dag
Heeft uw moeder DES ingenomen toen ze van u zwanger was ? Onbekend - Neen - Ja	Onbekend - Neen - Ja
<u>Familiale voorgeschiedenis (bij een heterokoppel door beiden in te vullen)</u>	
<u>Wensmoeder</u>	<u>Partner</u>
Is er in de familie suikerziekte ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Hoge bloeddruk ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Kanker ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Onvruchtbaarheid ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Endometriose ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Herhaald miskraam ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Aangeboren afwijkingen ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Erfelijke ziekten ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :
Trombose ? Neen - Ja : Wie :	Neen – Ja : Wie :