



SAMENVATTING

In dit proefschrift staat subfertiliteit centraal, gedefinieerd als ongewenste kinderloosheid na tenminste 12 maanden onbeschermde coïtus. Spontane zwangerschap is niet bij alle paren vanzelfsprekend. Ongeveer 10% tot 15% van de paren slaagt er niet in om binnen een jaar zwanger te worden, terwijl een kinderwens aanwezig is. Op dat moment is bij het paar sprake van subfertiliteit.

Het oriënterend fertiliteitsonderzoek (OFO) is het initiële onderzoek dat wordt uitgevoerd bij subfertiele paren om de mogelijke mannelijke en vrouwelijke oorzaken van subfertiliteit in kaart te brengen. Dit onderzoek bestaat uit een aantal onderdelen, welke zijn vastgelegd in een richtlijn opgesteld door de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG). De verschillende onderdelen binnen het OFO zijn een fertiliteitsanamnese, zaadonderzoek (semenanalyse), onderzoek naar antisperma antilichamen (MAR-test), beoordelen van de eisprong (ovulatie), de doorgankelijkheid van de eileiders (tubae) en de samenlevingstest (postcoïtum test (PCT)).

Het doel van het onderzoek dat in dit proefschrift beschreven staat is tweeledig. Het eerste doel was bestaande voorspellende modellen voor de kans op spontane zwangerschap en zwangerschap na fertiliteitsbehandeling te evalueren. Het tweede doel was de kennis over voorspellende mannelijke factoren te vergroten door een aantal relevante klinische vragen te beantwoorden. We legden de nadruk op drie belangrijke voorspellende factoren voor spontane zwangerschap, die geassocieerd worden met de 'mannelijke factor' op het gebied van de subfertiliteit: de semenanalyse, de MAR-test en de PCT.

Voorspellen van (spontane) zwangerschap

Na het afronden van het OFO is het essentieel om subfertiele paren bij wie de prognose op een spontane zwangerschap beperkt is en fertiliteitsbehandeling geïndiceerd te onderscheiden van subfertiele paren die nog steeds een goede prognose hebben om spontaan zwanger te worden na coïtus. Vanuit wetenschappelijk onderzoek is bekend welke factoren in meer of mindere mate van invloed zijn op de kans op een spontane zwangerschap. De impact, samenhang en afhankelijkheden van deze factoren kunnen worden weergegeven in een predictiemodel. In de voortplantingsgeneeskunde zijn meerdere predictiemodellen beschreven die als doel hebben de kans op een spontane zwangerschap dan wel de kans op zwangerschap na fertiliteitsbehandeling te voorspellen. Het meest gebruikte model om de kans op spontane zwangerschap te voorspellen werd in 2004 gepubliceerd door Hunault en anderen (Hunault-model). Voordat deze modellen in de klinische praktijk kunnen worden geïmplementeerd is zorgvuldige evaluatie noodzakelijk. Een slecht model kan een verkeerd beeld geven van de ingeschatte zwangerschapskans. Zo kan door een te laag ingeschatte zwangerschapskans de dokter op het verkeerde been worden gezet en een advies voor behandeling geven, terwijl dit in werkelijkheid niet geïndiceerd zou zijn. Door een te hoog ingeschatte zwangerschapskans kan een paar onterecht behandeling worden geadviseerd.

Predictiemodellen kunnen worden beoordeeld in drie fasen, zoals beschreven in

Hoofdstuk 1. Fase 1 betreft de ontwikkeling van het model, fase 2 de validatie van het model en fase 3 de impactanalyse. Fase 1, de ontwikkeling van het model, bestaat uit het identificeren van voorspellende factoren en het toekennen van een gewicht aan elk van deze factoren. Fase 2, de validatie van het model, is het toetsen van een model en kan worden verdeeld in interne en externe validatie. Interne validatie is toetsing van het model in dezelfde groep patiënten als waarin het model werd ontwikkeld. Bij externe validatie wordt het model juist in een andere groep patiënten getoetst. Fase 3, de impactanalyse van het model, is het analyseren van de invloed van het model in de praktijk. De minimale vereiste voor een predictiemodel om in aanmerking te komen voor gebruik in de klinische praktijk is een goede prestatie bij toetsing in een externe validatie.

In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift evalueren wij de beschikbare predictiemodellen op het gebied van de voortplantingsgeneeskunde. We bestudeerden de literatuur en beoordeelden de kwaliteit van de modellen in de drie genoemde fasen. We identificeerden 36 artikelen die over 29 modellen rapporteerden. Hiervan voorspelden negen predictiemodellen spontane zwangerschap, drie predictiemodellen zwangerschap na intrauteriene inseminatie (IUI) en 17 predictiemodellen zwangerschap na in vitro fertilisatie (IVF). De beoordeling was goed van slechts drie modellen: één voor spontane zwangerschap (Hunault-model), één voor IUI (Steures-model) en één voor IVF (Templeton-model). Deze modellen kunnen worden beschouwd als instrumenten om beslissingen over het al dan niet starten van een fertiliteitsbehandeling te ondersteunen.

De mannelijke factor in het voorspellen van spontane zwangerschap

Wetenschappelijke studies laten zien dat subfertiliteit in een kwart van de paren een mannelijke oorzaak heeft. De vrouwelijke, gecombineerde en onbekende oorzaken nemen elk een kwart van de andere oorzaken in. Bij de paren zonder bekende oorzaak voor de subfertiliteit wordt er gesproken over onverklaarde subfertiliteit. Vrouwelijke oorzaken van subfertiliteit zijn ovulatiestoornissen (stoornissen in de eisprong), afwijkingen aan de tubae (eileiders) en andere oorzaken uitgaande van de baarmoeder of eierstokken/leiders (bijvoorbeeld endometriose, cervicale defecten en uteriene afwijkingen). Als er sprake is van een mannelijke oorzaak van subfertiliteit, dan is dat bijna altijd een afwijkende bevinding in de semenanalyse. Andere mannelijke factoren, zoals verminderde seksuele functie, kunnen ook een rol spelen, zelfs als de semenanalyse normaal is.

Mannelijke subfertiliteit kan worden veroorzaakt door verschillende aandoeningen. In 30% tot 40% van de gevallen wordt er geen oorzaak gevonden en wordt dit benoemd als idiopatische mannelijke subfertiliteit. Enkele aandoeningen zijn goed op te sporen en te herstellen. Andere aandoeningen zijn echter niet te herstellen. Het belangrijkste doel van het evalueren van mannelijke subfertiliteit is om na te gaan of een herstelbare aandoening aanwezig is. Dit biedt de mogelijkheid om de fertiliteit van een man te verbeteren en de kans op spontane zwangerschap te verhogen. Als een aandoening wordt opgespoord waarvoor geen behandeling voorhanden is, dan kan informatie hierover de teleurstelling en belasting van een fertiliteitsbehandeling

waarbij geen zwangerschap te verwachten is voorkomen. Het detecteren van bepaalde genetische oorzaken van mannelijke subfertiliteit geeft paren de gelegenheid om geïnformeerd te worden over de mogelijkheid om genetische afwijkingen over te brengen die eventueel invloed hebben op de gezondheid van nakomelingen.

In het literatuuronderzoek van **hoofdstuk 2** verkennen wij de rol van de mannelijke factor in de beschikbare predictiemodellen voor (spontane) zwangerschap. Twee van de negen modellen bevatten helemaal geen mannelijke voorspellende factoren. De andere zeven modellen verschilden sterk in het al dan niet beschrijven van mannelijke voorspellende factoren en rapporteerden uiteenlopende mannelijke voorspellende factoren die kunnen bijdragen een hogere of lagere kans op spontane zwangerschap (bijvoorbeeld leeftijd van de man, fertiliteitsproblemen in de familie, semenmorfologie en semenconcentratie). Echter, de meeste modellen die over deze mannelijke voorspellende factoren schrijven werden niet geëvalueerd door toetsing in een externe validatie, wat de minimale vereiste is voor een predictiemodel om in aanmerking te komen voor gebruik in de klinische praktijk. Deze resultaten laten zien dat het gebrek aan kennis over mannelijke voorspellende factoren de achilleshiel is in het voorspellen van spontane zwangerschap, ondanks uitgebreid onderzoek in het verleden.

Semenanalyse

De semenanalyse kan worden beschouwd als de hoeksteen van het laboratoriumonderzoek bij de man van een subfertil paar. Volgens de Nederlandse nationale richtlijn voor het OFO is de semenanalyse (semenmotiliteit) één van de belangrijkste prognostische factoren die wordt gebruikt in het predictiemodel voor spontane zwangerschap (Hunault-model).

Om de rol van de mannelijke factor in het voorspellen van spontane zwangerschap kritisch te beoordelen is het belangrijk om de juiste mate van variabiliteit in de semenanalyse vast te stellen. Tot op heden is de precieze mate van variabiliteit niet goed onderzocht bij mannelijke partners van subfertiele paren. In **hoofdstuk 3** beschrijven wij onze analyse van de gegevens van 5.240 mannelijke partners van subfertiele paren en constateerden dat er een substantieel verschil was tussen de uitkomsten bij een herhaalde semenanalyse bij eenzelfde man.

Samengevat bevestigde dit onderzoek de veronderstelde grote variabiliteit en de beperkte reproduceerbaarheid van de uitslagen van de semenanalyse in subfertiele mannen.

Met dit nieuwe bewijs voor de grote variatie in de semenanalyses veronderstelden wij dat de semenanalyse herhaald zou moeten worden om de werkelijke waarde van de semenanalyse te weerspiegelen. Dit werd reeds aanbevolen door verschillende internationale richtlijnen.

In **hoofdstuk 4** beschrijven we het onderzoek om na te gaan of het herhalen van de semenanalyse een betere voorspelling van spontane zwangerschap kon geven dan de uitslag van één semenanalyse. Een tweede belangrijke vraag was om na te gaan of meer informatie uit de semenanalyse van toegevoegde waarde was aan het

Hunault-model. Het Hunault-model bevat vijf prognostische variabelen: leeftijd van de vrouw, duur van de subfertiliteit, subfertiliteit primair of secundair (van de vrouw), semenmotiliteit van de eerste semenanalyse, en verwijsstatus. Meer informatie uit de semenanalyse werd gedefinieerd als meer parameters van de eerste semenanalyse (semenvolume en semenconcentratie) of een combinatie van de twee semenanalyses. Voor het beantwoorden van deze twee onderzoeksvragen werden in twee academische ziekenhuizen prospectief gegevens verzameld van 897 paren bij wie routinematig twee semenanalyses werden verricht. We stelden drie strategieën op om te vergelijken of twee semenanalyses spontane zwangerschap beter voorspellen dan één semenanalyse. De drie strategieën waren: (1) één semenanalyse, (2) twee semenanalyses en het gemiddelde als eindresultaat beschouwen, en (3) een tweede semenanalyse, alleen als het totale aantal beweeglijke spermatozoa van de eerste semenanalyse onder de 10 miljoen was en wederom het gemiddelde als eindresultaat te beschouwen. De eerste strategie werd beschouwd als referentiestrategie. Om de eerste vraag te beantwoorden maakten we een eerste set modellen waar in we het vermogen van alleen de semenanalyse(s) om spontane zwangerschap te voorspellen analyseerden. Om de tweede vraag te beantwoorden maakten we een tweede set van nieuwe modellen door de semenanalyse(s) toe te voegen aan de reeds bekende voorspellende factoren van het Hunault-model. Voor de beoordeling van het vermogen om spontane zwangerschap te voorspellen gebruikten we voor beide vragen drie statistische methoden: goodness-of-fit, discriminatie en calibratie. De resultaten toonden voor geen van de beoordeelde strategieën een meerwaarde van een tweede semenanalyse, ten opzichte van één semenanalyse, om spontane zwangerschap beter te voorspellen. Het toevoegen van de resultaten van semenvolume en semenconcentratie van de eerste semenanalyse aan het Hunault-model, dat al semenmotiliteit bevat als voorspeller voor spontane zwangerschap, liet wel een significante verbetering zien in het voorspellen van spontane zwangerschap, vergeleken met het Hunault-model alleen. Concluderend toont deze studie aan dat het herhalen van de semenanalyse, in vergelijking met één semenanalyse, niet van toegevoegde waarde is voor het voorspellen van spontane zwangerschap.

In **hoofdstuk 5** evalueren wij een nieuwe methode op het gebied van de semenanalyse die de verschillen tussen laboratoria in de uitslagen van semenanalyses zou kunnen verminderen. Als gevolg van die verschillen is het moeilijk voor artsen om de resultaten van semenanalyses uit verschillende laboratoria te interpreteren en vergelijken. We berekenden transformaties met behulp van Z-scores en regressiestatistieken na rondzending van semenmonsters voor de bepaling van semenconcentratie en semenmorfologie. We pasten gevalideerde transformaties toe op de resultaten van semenanalyses van een prospectief cohort van 2.804 mannen van subfertiele paren. Standaardisatie met behulp van beide transformaties verminderden de systematische verschillen tussen laboratoria niet ($p < 0,0001$). Samengevat geeft transformatie met behulp van Z-score of regressiestatistieken geen vermindering van systematische verschillen tussen semenanalyses uit verschillende laboratoria. De training en verdere standaardisatie van alle aspecten van het uitvoeren van de semenanalyse zal moeten worden geïntensiveerd. In de tussentijd zullen

laboratoria semenanalyses moeten blijven herhalen van mannen met uitslagen van semenanalyses uit andere laboratoria.

MAR-test in semen

Verondersteld werd dat een positieve 'Mixed Antiglobulin Reaction test' in semen (directe MAR-test) de kansen op spontane zwangerschap beïnvloedt. Met de MAR-test onderzoekt men of er antilichamen tegen spermatozoa aanwezig zijn (antisperma antilichamen). Als deze antilichamen bij een groot percentage spermatozoa voorkomen, is de kans op spontane zwangerschap mogelijk kleiner. De Wereldgezondheidsorganisatie (World Health Organisation (WHO)) beveelt het testen op immunoglobuline G (IgG) antilichamen door middel van de MAR-test aan als een routinematige screeningsmethode voor antisperma antilichamen. De klinische betekenis van immunoglobuline G antilichamen is echter nog niet duidelijk en niet alle richtlijnen over subfertiliteit bevelen deze test aan in het OFO.

In **hoofdstuk 6** presenteren we de resultaten van het onderzoek naar de waarde van IgG antisperma antilichamen getest in de directe MAR-test voor het voorspellen van spontane zwangerschap. In een groot prospectief cohort van subfertiële paren includeerden we 1.794 paren. De MAR test was positief in 3% van de paren als er een drempel van 50% werd gebruikt voor een afwijkende testuitslag. Een positieve MAR test ($\geq 50\%$) droeg niet bij aan de voorspelling van spontane zwangerschap in de multivariabele analyse (HR 0,99, 95% CI 0,40 tot 2,4). Kortom, uit dit grote cohort onderzoek bleek dat de MAR-test niet in staat was om de kans op spontane zwangerschap te voorspellen. Het routinematig uitvoeren van de MAR-test in het OFO voor de identificatie van de paren met een lage spontane zwangerschapskans is niet gerechtvaardigd.

Postcoïtum test

In **hoofdstuk 7** analyseren wij de meest omstreden test die de spontane zwangerschap kans zou kunnen voorspellen: de postcoïtum test (PCT). Deze test wordt ook wel de samenlevingstest genoemd, waarbij 12 uur na de samenleving wordt gekeken of er nog goed beweeglijke spermatozoa in het baarmoederhalslijm van de vrouw aanwezig zijn. Deze test is al meer dan 15 jaar het onderwerp van discussie als gevolg van tegenstrijdige onderzoeksresultaten. Wij voerden een onderzoek uit naar het vermogen van de postcoïtum test (PCT) om spontane zwangerschap te voorspellen in een grote studie met 3.021 subfertiële paren. We construeerden een 'PCT-model', dat bestond uit het resultaat van de PCT, aangevuld met de voorspellende factoren van het Hunault-model (referentiemodel). De kans op zwangerschap bleek verlaagd te zijn bij een afwijkende PCT (gecorrigeerde HR: 0.76, 95% betrouwbaarheidsinterval [BI]: 0,62 tot 0,94). Het PCT-model leidde echter niet tot een verbetering van de voorspelling van spontane zwangerschap. Het PCT-model classificeerde de paren die wel en niet zwanger werden in 1.1% slechter dan het Hunault-model. Dit verschil was niet significant. Samengevat toonde deze studie aan dat de PCT prognostische waarde heeft, maar niet wezenlijk bijdraagt aan een voorspellend model voor spontane zwangerschap. Het routinematig uitvoeren van de PCT in het OFO voor de identificatie van de paren met een lage spontane zwangerschapskans is dus niet gerechtvaardigd.

