

Syndróm prázdnych folikulov

Zuzana Behúňová, Peter Harbulák, Iveta Stenová

Syndróm prázdnych folikulov je stav, keď sa pri aspirácii folikulov po predošlej stimulácii ovulácie v rámci cyklu in vitro fertilizácie nezíska žiaden oocyt. Tento stav vzniká napriek adekvátnemu rastu folikulov a adekvátnej hladine sérového estradiolu. Vyskytuje sa síce zriedkavo, ale nemožno ho predikovať a samotnú diagnózu možno stanoviť iba retrospektívne.

Kľúčové slová: syndróm prázdnych folikulov, finálna maturácia oocytov, humánný choriový gonadotropín, analóg gonadoliberínu (GnRH)

Empty follicle syndrome

Various side effects of stimulation therapy or complications can occur during assisted reproduction techniques. Empty follicle syndrome (EFS) represents one of them. It is a condition where no oocytes are retrieved during ovum pick up after ovarian stimulation in IVF cycles despite adequate follicular growth and serum oestradiol levels. It occurs rarely, but it cannot be predicted and the diagnosis can be made retrospectively only.

Keywords: empty follicle syndrome, final oocyte maturation, human chorionic gonadotropin, GnRH agonist

Gynekol. prax 2020; 18 (3): 170-172

Úvod

Počas folikulogenézy je rastúci oocyt obklopený kumulárnymi bunkami, ktoré sú medzibunkovými spojeniami pevne naviazané na bunky granulózy, čo je príčinou pevného pripojenia oocytu k stene folikulu. Vo fyziologickom menštruačnom cykle dochádza pred ovuláciou k zvýšenému uvoľneniu luteinizačného hormónu (LH) z hypofýzy, tzv. píku LH. V zrelom folikule sa tak spúšťa zložitá kaskáda dejov. Patrí k nim aj rozrušenie medzibunkových spojení medzi kumulárnymi bunkami a bunkami granulózy, následkom čoho sa uvoľní komplex oocytu s kumulárnymi bunkami od steny folikulu. V samotnom oocyte predovulačný vzostup LH stimuluje pokračovanie meiózy. Vylúči sa prvé pólóvé teliesko a následne začne prebiehať druhé zrecie delenie, ktoré je prerušené v metafáze II. Oocyt v metafáze II je zrelý a je schopný oplodnenia. Obsahuje haploidný počet chromozómov, pričom každý chromozóm má 2 chromatídy^(1,2).

Cieľom stimulácie ovulácie v cykle in vitro fertilizácie (IVF) je zisk viacerých zreých oocytov. Aplikáciou gonadotropínov stimuluje rast kohorty folikulov. Keď dospejú do štádia zreých folikulov (resp. ich podstatná časť) a súčasne je prítomná adekvátna hladina sérového estradiolu, exogénne sa navodí LH pík. V praxi sa to deje najčastejšie dvoma spôsobmi, buď sa aplikuje pacientke humánný choriogonadotropín (HCG), alebo analóg gonadoliberínu (GnRH). V literatúre sa okrem náhrady píku LH stretávame s výrazom finálna maturácia oocytov alebo indukcia ovulácie, resp. „trigger“ (spúšťač).

HCG sa v praxi na finálnu maturáciu oocytov využíva podstatne dlhšie. Vďaka podobnosti s LH sa priamo viaže na LH receptory v ováriu a môže sa aplikovať na záver akéhokoľvek stimulačného protokolu. Naopak, GnRH analóg pôsobí nepriamo, cez hypofýzu. Po jeho naviazaní na GnRH receptory dôjde k zvýšenému uvoľneniu endogénnych gonadotropínov vďaka úvodnému „flare up“ efektu. Možno ho použiť len pri antagonistových protokoloch. Pri dlhých protokoloch sa GnRH analóg podáva dlhšie, čo spôsobuje desenzibilizáciu hypofýzy, t. j. v týchto prípadoch už nemožno využiť jeho úvodný „flare-up“ efekt⁽³⁾.

Pre zisk zreých oocytov je nevyhnutné správne načasovanie podania „spúšťačov“ ovulácie. Dôležitá je nielen finálna maturácia oocytov, ale aj ich uvoľnenie od steny folikulov.

Podľa výsledkov viacerých štúdií v natívnych IVF cykloch možno pri punkcii folikulov predpokladať zisk oocytov minimálne v 80 %⁽⁴⁾.

Definícia

Syndróm prázdnych folikulov (Empty follicle syndrome, EFS) je stav, keď napriek adekvátnemu rastu folikulov a primeranej sérovej hladine estradiolu počas stimulácie ovulácie nezískame pri aspirácii folikulov žiaden oocyt. Prvýkrát tento syndróm opísala v roku 1986 Coloum a kol.⁽⁵⁾

Rozlišujeme dva typy tohto syndrómu, a to pravý a falošný. Príčinou falošného typu je najčastejšie chyba v aplikácii HCG, resp. GnRH analógu, ako náhrady LH na spustenie ovulácie. Etiológia pravého EFS je však nejasná⁽⁶⁾.

Ak sa na finálnu maturáciu oocytov aplikuje HCG, dajú sa tieto dva typy syndrómu diferencovať na základe sérovej hladiny HCG v deň aspirácie oocytov. Podľa rôznych autorov by pri pravom EFS mala byť hladina HCG minimálne 5 – 161 IU/l. „Cut-off“ hodnota však nie je zatiaľ jednoznačne stanovená⁽⁷⁾. V niektorých štúdiách sa ako dostačujúce ukázalo, keď v deň aspirácie folikulov mala pacientka pozitívny HCG test z moču, čo korešponduje so sérovou hladinou HCG minimálne 10 – 20 IU/l⁽⁸⁾.

Ak sa na finálnu maturáciu oocytov aplikuje GnRH analóg, je exaktné odlišenie pravého EFS od falošného náročnejšie, pretože zatiaľ nie sú dostatočne stanovené „cut-off“ hodnoty sérovej hladiny LH a progesterónu. Najčastejšie sa ako „cut-off“ hodnota sérového LH stanoveneho 8 až 12 hodín po aplikácii GnRH analógu uvádza hodnota 15 IU/l a hladina progesterónu 3,5 ng/ml. Pacientky s EFS majú hodnoty nižšie⁽⁹⁾. „Cut-off“ hodnota LH 15 IU/l má pritom senzitivitu 97,4 % a špecificitu takmer 100 %^(3,7,8).

Pre úplnosť treba spomenúť, že pre zriedkavosť EFS ho niektorí autori považujú iba za sporadický, náhodný jav, nie za syndróm⁽¹⁰⁾.

Incidenca

V cykloch IVF sa uvádza pomerne široký interval incidencie EFS 0,5 – 7 %⁽¹¹⁾. Incidenca falošného typu je významne vyššia. Prehľadová práca autoriek Stevenson a Lashen uvádza, že 67 % prípadov EFS predstavuje falošný typ a zvyšných 33 % prípadov pravý typ syndrómu⁽⁶⁾. Podľa Becka-Fruchtera a kol. je prevalencia pravého EFS maximálne do 1,1 %⁽¹²⁾. EFS sa častejšie vyskytuje u žien vo vyššom veku s dlhším trvaním sterility a s nízkou ovariálnou rezervou. Ak má pacientka v anamnéze jeden IVF cyklus bez zisku oocyty, je 20 % riziko, že aj v nasledujúcom cykle nastane táto komplikácia⁽¹³⁾.

Etiológia

Najčastejšou príčinou falošného EFS je chyba v aplikácii HCG (alebo GnRH analógu) na finálnu maturáciu oocytov. Táto chyba môže spočívať v zlom načasovaní, nedostatočnej dávke alebo nesprávnej aplikácii prípravku. Najčastejšou chybou je oneskorená aplikácia HCG (resp. GnRH analógu). Za optimálne načasovanie podania týchto látok sa považuje 34 až 36 hodín pred aspiráciou folikulov, t. j. tesne pred ovuláciou. Je to čas potrebný na to, aby oocyty dozreli a uvoľnili sa od steny folikulov. Naopak, pri dlhšom pôsobení (nad 38 hodín) môže dôjsť k prasknutiu folikulov a predčasnej ovulácii. V praxi sa HCG aplikuje v dávke 5 000 – 10 000 IU, odporúčaná dávka GnRH analógu závisí od jeho zloženia (triptorelín 0,2 mg, buserelín 0,5 mg, leuprolidacetát 1 – 1,5 mg)⁽¹⁴⁾. Sporadicky si pacientka aplikuje samotné rozpúšťadlo bez aktívnej látky. K ďalším možným príčinám patrí nízka biologická dostupnosť in vivo, predovšetkým pri niektorých šaržach komerčne dostupného urinárneho HCG⁽¹¹⁾. Podobné problémy sa však opisujú aj pri GnRH analógu⁽¹⁵⁾. Nižšiu biologickú dostupnosť aktívnej látky môže spôsobiť aj variabilita v absorpcii, klírense a v metabolizme preparátu (najčastejšie pri použití niektorých šarží urinárneho HCG)⁽⁹⁾.

Etiológia pravého EFS je nejasná. Existuje niekoľko hypotéz jeho vzniku. Ukazuje sa, že môže vznikať z viacerých príčin. Jednou z nich je dysfunkčná folikulogenéza, pri ktorej dochádza k predčasnej atézii oocyty napriek normálnej hormonálnej odpovedi folikulu na stimuláciu^(16,17). Porucha folikulogenézy je častejšia u žien v neskoršom veku a pravdepodobne aj preto sa u nich EFS vyskytuje častejšie. Rovnako riziko opakovaného výskytu EFS je v tejto skupine žien vyššie⁽¹³⁾. Jednou z ďalších príčin je veľmi pevné spojenie komplexu kumulárných buniek a oocyty so stenou folikulu⁽¹⁸⁾ alebo potreba dlhšej expozície HCG, resp. LH na to, aby sa oocyt s kumulárnymi bunkami oddelil od steny folikulu⁽²⁾. Ako ďalšia príčina EFS sa opisuje aj porušená funkcia buniek granulózy⁽¹³⁾.

Roku 2003 bola publikovaná práca, ktorá opisuje EFS u dvoch sestier so stredným stupňom hluchoty. Autori tak prvýkrát predpokladali, že niektoré prípady pravého EFS môžu mať genetický podklad⁽¹⁹⁾. V ostatnom období sa publikovalo niekoľko štúdií, ktoré potvrdzujú genetickú príčinu EFS. Môže ísť o mutáciu LH/CG receptora, prípadne mutácie v extracelulárnej glykoproteínovej matrix zona pellucida u pacientok s opakovaným EFS^(20,21).

Diagnostika

Pri prvom EFS u konkrétnej pacientky býva, žiaľ, diagnóza stanovená až retrospektívne. V prvých prípadoch ani podľa rastu folikulov, ani podľa hladiny estradiolu ho predpokladať nemožno, pretože jedno i druhé prebieha adekvátne. Ak sa na finálnu maturáciu oocytov aplikuje HCG, možno stanoviť jeho hladinu

v sére v deň aspirácie folikulov (t. j. približne 36 hodín od jeho aplikácie), a tak včas diagnostikovať falošný EFS. Podobne, ak sa po odsatí folikulov z jedného ovária nezíska žiadny oocyt, možno aspiráciu prerušiť a stanoviť hladinu HCG⁽⁹⁾. Vzhľadom na incidenciu EFS a „cost-benefit“ sa hladiny HCG alebo LH a progesterónu 12 hodín od aplikácie GnRH analógu nestanovujú⁽²²⁾.

Možnosti prevencie a liečby

Prevenciou falošného typu syndrómu prázdnych folikulov je dôsledné poučenie pacientky o potrebe striktné dodržať odporúčaný čas a dávku liečiva na finálnu maturáciu oocytov (HCG, resp. GnRH analógu). Súčasne ju treba poučiť aj o možných následkoch nesprávnej aplikácie týchto prípravkov. Pri komunikácii s pacientkou sa zohľadňuje jej vzdelanie a prípadná rečová bariéra. V deň aspirácie folikulov treba pred samotným výkonom znovu skontrolovať, či bolo liečivo aplikované správne. Ak bolo liečivo aplikované v správnom čase, ale o deň neskôr, rovnako sa posunie aj odber oocytov o deň neskôr. Ak bolo liečivo aplikované správne a napriek tomu sa po aspirácii folikulov z jedného ovária nezíska žiadny oocyt, možno využiť tzv. záchranný protokol. Pripadá do úvahy pri suboptimálnej, resp. nulovej hladine HCG v sére v deň aspirácie. Pri záchrannom protokole sa folikuly z kontralaterálneho ovária neaspirujú, ale sa aplikuje opakovaná dávka HCG a punkcia folikulov z druhého ovária sa naplánuje o 24 – 36 hodín po jeho podaní. Ak sa ako prvé aplikovalo urinárne HCG, potom sa podá minimálne urinárne HCG z inej šarže alebo rekombinantný prípravok⁽²²⁾. Opísali sa aj prípady úspešných záchranných protokolov, keď sa po podaní GnRH analógu na finálnu maturáciu oocytov aplikovala „záchranná“ dávka HCG s následným ziskom zrelých oocytov o 36 hodín neskôr⁽²³⁾.

U pacientok, ktoré už majú v anamnéze jeden cyklus IVF bez zisku oocyty, napriek psychologickej náročnosti treba situáciu z predchádzajúceho cyklu znovu dôkladne analyzovať. Ak sa zistí chyba v aplikácii, možno v nasledujúcom cykle predchádzajúci protokol opakovať a dávku HCG, resp. GnRH analógu už aplikovať správne. Ak sa pochybenie vylúči, treba v ďalšom cykle IVF niečo zmeniť. Tu treba dodať, že liečba je vo väčšine prípadov empirická a opiera sa iba o štúdie s malým počtom pacientok alebo len o kazuistiky.

Ak sa v predchádzajúcom cykle IVF spúšťala ovulácia aplikáciou urinárneho HCG a predpokladáme len jeho nízku biologickú dostupnosť, odporúča sa ho zameniť za rekombinantný prípravok⁽²⁵⁾. Oveľa častejšie sa však pristupuje k zmene stimulačného protokolu. Väčšinou sa mení GnRH agonistový protokol za GnRH antagonistový, pri ktorom možno na finálnu maturáciu oocytov použiť aj GnRH analóg.

Po aplikácii GnRH analógu na indukciu ovulácie dochádza nielen k zvýšenej sekrécii LH, ale aj folikulostimulačného hormónu (FSH). Zástancovia indukcie ovulácie pomocou GnRH analógu poukazujú aj na význam synchronizovaného účinku LH a FSH na správne dozretie oocytov, čo môže mať význam pre časť pacientok s EFS⁽²⁵⁾. Na podobnom princípe je založená aj tzv. dvojité indukcia ovulácie („dual trigger“), t. j. aplikácia HCG aj GnRH analógu súčasne 36 hodín pred odberom oocytov. Pri inom spôsobe dvojitého spúšťania ovulácie („double trigger“) sa GnRH analóg aplikuje 40 hodín a HCG 34 hodín pred aspiráciou folikulov. Využíva a pritom aj dlhšie pôsobenie týchto látok^(12,26).

Naopak, u pacientok s porušenou funkciou hypofýzy (napr. s hypogonadotropným hypogonadizmom) by bola finálna maturácia oocytov aplikovaním GnRH analógu pre vznik EFS riziková, pretože hypofýza nie je schopná vylúčiť gonadotropíny v dostatočnom množstve. Podobný výsledok by mohol vzniknúť aj u pacientok s polymorfizmom GnRH receptorov⁽¹⁵⁾. Napokon pacientkam s opakovaným výskytom EFS, vo vyššom fertílom veku alebo pacientkam s genetickou etiológiou EFS treba navrhnúť darcovský program oocytov.

Prognóza

U pacientok s falošným typom EFS, ktorý zapríčinila nesprávna aplikácia prípravku na indukciu ovulácie, sa ich prognóza otehotnenia do budúcnosti nemení. Ak sa však táto príčina nepotvrdí a pacientka má za sebou jeden cyklus IVF bez zisku oocytu, treba ju informovať, že riziko opakovania tejto komplikácie je približne 20 %. Vekom pacientky sa toto riziko zvyšuje. U žien vo veku 35 – 39 rokov je riziko opakovaneho

EFS 24 %, pričom u žien starších ako 40 rokov je to až 57 %⁽¹³⁾. Genetická príčina EFS sa dotýka iba malej časti pacientok. Hlavne pacientky vo vyššom fertílom veku po jednom alebo dvoch IVF cykloch bez zisku oocytu treba informovať o významne zhoršenej perspektíve zisku vlastných oocytov a je namieste navrhnúť im darcovský program.

Vyhlasenie o bezkonfliktnosti: Nemám potenciálny konflikt záujmov.

Adresa pre korešpondenciu:

MUDr. Zuzana Behúňová, PhD.
GYN-FIV, a. s., Bratislava
Trnavská cesta 106, 821 01 Bratislava
e-mail: zuzana.behunova@gyn-fiv.sk

MUDr. Peter Harbulák, PhD.
MUDr. Iveta Stenová, PhD.
GYN-FIV, a. s., Bratislava

Literatúra

- Kapeller K, Pospíšilová V. Embryológia človeka. Martin, Osveta 2001. 370 s.
- Meniru G, Craft IL. Evidence from a salvaged treatment cycle supports an aetiology for the empty follicle syndrome that is related to terminal follicular developmental event. *Hum Reprod* 1997; 12: 2385-2387.
- Deepika K, Sindhuma D, Kiran B, et al. Empty follicle syndrome following GnRH trigger in PCOS patients undergoing IVF cycles. *J Reprod Infertil* 2018; 19: 16-25.
- Mesen TB, Yu B, Richter KS, et al. The prevalence of genuine empty follicle syndrome. *Fertil Steril* 2011; 96: 1375-1377.
- Coulam CB, Bustillo M, Schulam JD. Empty follicle syndrome. *Fertil Steril* 1986; 46: 1153-1155.
- Stevenson TL, Lashen H. Empty follicle syndrome: the reality of a controversial syndrome, a systematic review. *Fertil Steril* 2008; 90: 691-696.
- Blazquez A, Guillén JJ, Clomé C, et al. Empty follicle syndrome prevalence and management in oocyte donors. *Hum Reprod* 2014; 29: 2221-2227.
- Revelli A, Carosso A, Grassi G, et al. Empty follicle syndrome revisited: definition, incidence, aetiology, early diagnosis and treatment. *Reprod Biomed Online* 2017; 35: 132-138.
- Kummer NE, Feinn RS, Griffin DW, et al. Predicting successful induction of oocyte maturation after gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) trigger. *Hum Reprod* 2013; 28: 152-159.
- Ben-Shlomo I, Schiff E, Levran D. Failure of oocyte retrieval during in vitro fertilization: a sporadic event rather than a syndrome. *Fertil Steril* 1991; 55: 3241-3247.
- Deepika K, Rathore S, Garg N, et al. Empty follicle syndrome: Successful pregnancy following dual trigger. *J Hum Reprod Sci* 2015; 8: 170-174.
- Beck-Fruchter R, Weiss A, Lavee M, et al. Empty follicle syndrome: successful treatment in a recurrent case and review of the literature. *Hum Reprod* 2012; 27: 1357-1367.
- Zreik TG, Garcia-Velasco JA, Vergara TM, et al. Empty follicle syndrome: evidence for recurrence. *Hum Reprod* 2000; 15: 999-1002.
- Humaidan P, Kol S, Papanikolaou EG, et al. GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice? *Hum Reprod Update* 2011; 17: 510-524.
- Castillo JC, Garcia-Velasco J, Humaidan P. Empty follicle syndrome after GnRH triggering versus hCG triggering in COS. *J Assist Reprod Genet* 2012; 29: 249-253.
- Inan MS, Al-Hassan S, Ozand P, et al. Transcriptional profiling of granulosa cells from a patient with recurrent empty follicle syndrome. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 481-491.
- Desai N, Austin C, AbdelHafez F, et al. Evidence of 'genuine empty follicles' in follicular aspirate: a case report. *Hum Reprod* 2009; 24: 1171-1175.
- Tsuiki A, Rose BI, Hung TT. Steroid profiles of follicular fluids from patient with the empty follicle syndrome. *Fertil Steril* 1988; 49: 104-107.
- Onalan G, Pabuccu R, Onalan R, et al. Empty follicle syndrome in two sisters with three cycles: a case report. *Hum Reprod* 2003; 18: 1864-1867.
- Yariz KO, Walsh T, Uzak A, et al. Inherited mutation of the luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor (LHCGR) in empty follicle syndrome. *Fertil Steril* 2011; 96: 125-130.
- Zhou Z, Ni C, Wu L, et al. Novel mutations in ZP1, ZP2 and ZP3 cause female infertility due to abnormal zona pellucida formation. *Hum Genet* 2019; 138: 327-337.
- Kourtis A, Rouso D, Panidis D. The empty follicle syndrome. *J Endocrinol Invest* 2004; 27: 187-191.
- Christopoulos G, Vlismas A, Barsoum-Derias E, et al. Rescue hCG to treat empty follicle syndrome after the use of a GnRH agonist as oocyte maturation trigger: First report on fresh embryo transfer and clinical pregnancy. *Hum Fertil* 2015; DOI: 10.3109/14647273.2015.1071500
- Aktas M, Beckers NG, van Inzen WG, et al. Oocytes in the empty follicle: a controversial syndrome. *Fertil Steril* 2005; 84: 1643-1648.
- Castillo JC, Haahr T, Martínez-Moya M, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist ovulation trigger – beyond OHSS prevention. *Upsala J Med Sci* 2020; DOI: 10.1080/03009734.2020.1737599
- Haas J, Zilberger E, Dar S, et al. Co-administration of GnRH-agonist and hCG for final oocyte maturation(double trigger) in patients with low number of oocytes retrieved per number of preovulatory follicles – a preliminary report. *J Ovarian Res* 2014; 7: 77.