

Oförklarad infertilitet – finns en förklaring i endometriet?

ANNELI STAVRÉUS-EVERS, docent, universitetslektor
GRETA EDELSTAM, docent, överläkare; båda institutionen för

kvinnors och barns hälsa, obstetrik och gynekologi, Uppsala universitet
 greta.edelstam@ds.se

Infertilitet är ett växande problem som drabbar 5–15 procent av alla par i fertil ålder [1]. Orsakerna till detta är dels att kvinnor tenderar att skjuta upp sitt barnafödande, dels ett ökande problem med övervikt hos unga kvinnor [2].

Hos ungefär 30 procent av alla par som drabbas av infertilitet hittar man ingen orsak till infertiliteten [3]. Mannen har normal spermieproduktion och hos kvinnan finns inga tecken på hormonella störningar, utebliven ovulation eller avvikande utveckling av endometriet.

Infertilitet är psykiskt och ekonomiskt påfrestande för de drabbade paren, och oförklarad infertilitet lägger ytterligare tyngd på den bördan [4].

Par som, efter den begränsade utredning som görs i dag, fått diagnosen oförklarad infertilitet är en inhomogen grupp där defekt endometrium kan vara en av flera möjliga delförklaringar till infertiliteten. Begynnande sviktande ovarialfunktion eller tyreoidarubbning kan utgöra förklaringar i vissa fall [5]. Den senare är lätt att behandla, och patienten kan bli gravid på naturligt sätt. Odiagnostiserad endometriosis kan också dölja sig i gruppen och det är därför viktigt att i anamnesen inkludera frågor rörande eventuell dysmenorré. Diagnostisk laparoskopi ingår inte längre i en fertilitetsutredning utan genomförs enbart på medicinsk indikation, exempelvis oklar adnexresistens. Hos kvinnor med endometriosis och normal tubarfunktion är fertiliteten reducerad till en tredjedel av den normala; graviditet kan således uppkomma spontant i den gruppen [6].

Assisterad befruktning blev i Sverige en allmänt accepterad behandlingsmetod med tilltagande tillgänglighet från 1980-talet och framåt. Initialt var denna fertilitetsbehandling avsedd för kvinnor med nedsatt eller obefintlig tubarpassage. Under åren vidgades indikationen till att omfatta alla par som inte uppnått graviditet efter upp till två års försök. Även oförklarad infertilitet kom att bli en accepterad indikation för assisterad befruktning. När en bra behandlingsmetod fanns att tillgå minskade forskningen kring den exakta etiologin till infertiliteten. Mer forskning på detta område skulle kunna medföra en möjlighet att överväga mindre kostnadskrävande behandlingsalternativ än att gå direkt på assisterad befruktning.

Hormonell reglering

Vid varje menstruationscykel utvecklas endometriet för att kunna ta emot ett embryo. Östrogen från granulosa-cellerna i den tillväxande follikeln ombesörjer endometriets tillväxt under första delen av cykeln. Progesteron är det viktigaste hormonet för att normal endometrieutveckling, implantation, placentation och graviditet ska kunna ske. Synkronisering mellan östrogen och progesteron är en viktig faktor för embryoimplantation, men det är fortfarande oklart exakt hur implantationsprocessen är reglerad [7]. Huruvida progesteron har kapacitet att varaktigt förbättra graviditetsutveckling och förhindra spontan abort av kromosomalt normala

embryon är ännu inte slutgiltigt visat utan kräver fler väl kontrollerade kliniska prövningar [8].

»It takes two to tango«

För en lyckad implantation krävs ett normalt utvecklat embryo, ett receptivt endometrium och en synkronisering mellan embryo och endometrium [9]. Medan embryot är välstuderat – över 400 000 artiklar är registrerade på PubMed – finns endast ca 38 000 artiklar om endometriet. Samma förhållande gäller om man lägger till assisterad befruktning, där endometrieforskning svarar för mindre än 10 procent av alla studier. Ett flertal studier påvisar förändringar i endometriet under hormonell påverkan vid behandling av infertilitet. Det finns därför ett ökande intresse för att återföra embryon i naturlig cykel [10]. Studier pågår också för att med hjälp av uterussekret kunna förutsäga när endometriet är receptivt och chansen till graviditet optimal [11].

Genetiska faktorer

Genetiska orsaker kan dölja sig bakom diagnosen oförklarad infertilitet. Bindarprotein för hyaluronan uppvisar oftare genetiska variationer i gruppen med diagnosen, vilket också tar sig uttryck i minskad syntes av denna glukosaminoglykan i endometriet [12]. Hyaluronan används i mediet vid embryoöverföring för att underlätta bindning till endometriet [13], men fler studier behövs för att visa att effekten inte bara är ett resultat av att fler än ett embryo har återförts [14]. Variation i genen för HRG (histidine rich glycoprotein) har också visats vara associerad med infertilitet och graviditetsutfall efter fertilitetsbehandling [15].

Behandling med strålning och cytostatika av maligniteter hos kvinnor i fertil ålder resulterar i variabel skada på endometriet [16]. Utvecklingen av markörer för endometriereceptivitet är ett framtidsområde för att kunna välja att återföra embryon endast när endometriet har optimala förutsättningar för implantation [17].

En förutsättning för vidare utveckling av embryot efter överföring är dess kromosomuppsättning. Den vanligaste faktorn för utebliven graviditet är överföring av embryon med aneuploidi, vilket kan vara fallet i > 50 procent av morfologiskt välutvecklade embryon [18]. För att få mer information om endometriets betydelse bör fokus läggas på studier av implantation av embryon efter kromosomal diagnostik av embryot [19].

Endometriereceptivitet

Det finns i dag inga bra modeller för att studera det receptiva endometriet och implantationsprocessen. Den vanligaste djurmodellen är mus, trots att musen har en helt annan implantationsprocess än människan [20]. Babianer har en implantationsprocess som liknar den humana, och har därför också använts för studier av endometriereceptivitet och implantation [21]. Ett flertal in vitro-modeller har utvecklats

■ SAMMANFATTAT

Par med oförklarad infertilitet utgör en inhomogen patientgrupp. **Utökad forskning** på faktorer i endometriet vore önskvärd för att kunna förfina diagnostiken.

Detta skulle kunna reducera gruppen oförklarad infertilitet och förhoppningsvis ge utökade behandlingsmöjligheter.

KLINIK & VETENSKAP ÖVERSIKT

[22-24], men ingen av dessa är perfekt eftersom det bara är möjligt att studera den mest initiala kommunikationen mellan epitelceller och embryo. Utöver dessa modeller har bioinformatik använts för att studera möjliga interaktioner mellan embryo och endometrium [25].

Ett flertal studier tyder på att en defekt endometrietutveckling är en bakomliggande faktor i ett stort antal fall av oförklarad infertilitet. Välkända faktorer i cylinderepitelet som pinopoder, β 3-integrin, LIF (leukemia inhibitory factor)-receptor, SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1), IL-11, pSTAT3 (phosphorylated signal transducer and activator of transcription-3), FOXO1 (forkhead box protein O1), HoxA-10 (homeobox protein A-10), ghrelinreceptor, CLR (calcitonin receptor-like receptor), prolaktin och HB-EGF (heparin binding epidermal growth factor-like growth factor) är annorlunda uttryckta i endometriet hos infertila kvinnor jämfört med hos fertila kvinnor [26]. De gener som är mest uttryckta i matrisstudier när man jämför receptivt med icke-receptivt endometrium är GPX3, PAEP, COMD, SLC1A1 och LIF [27]. Nya proteomikstudier visar att proteinuttrycket i endometriet skiljer sig mellan proliferationsfas och sekretionsfas hos fertila kvinnor, med CLIC1 (chloride intracellular channel protein 1) och PGRMC1 (progesterone receptor membrane component 1) som två av de bäst analyserade faktorerna [28]. Förändringar av proteiner, som histoner, i uterussekret är progesteronberoende [29], och det har även visats att inflammatoriska markörer, som IP10, MCP1, IL-1 β , IFN γ och TNF α , i uterussekretet inför embryoöverföring var associerade med ökad chans för graviditet [30]. Det är inte känt om endometriet vid oförklarad infertilitet i sådana fall helt saknar möjlighet att utvecklas på rätt sätt, om det föreligger en svårighet att svara på progesteronstimulering eller om det rör sig om bristande cyklisk synkronisering.

LIF är det i särklass mest studerade proteinet i förhållande till endometrietutveckling och infertilitet. Det är en faktor som hos möss är helt avgörande för en normal implantation [31]). Kliniska studier har hittills inte visat någon förbättrad graviditetsfrekvens efter behandling med LIF [32]. Det har också visats att specifika LIF-receptorantagonister inhiberar implantation och att koncentrationen av LIF i odlingsmediet är avgörande för en implantation [33]. Bioinformatikanalys av möjliga interaktioner mellan embryo och endometrium visar också att LIF är en av de viktigaste faktorerna [28]. Genetiska variationer i glykoprotein 130 är vanligare hos kvinnor med oförklarad infertilitet. Pågående studier visar att serumnivåer av glykoprotein 130 kan förutsäga möjlighet att bli gravid efter fertilitetsbehandling hos kvinnor med infertilitet till följd av tubarskada.

Framtida terapi

I framtiden tror vi att matristekniken har blivit betydligt billigare och enklare att utföra. Det pågår också forskning för att hitta markörer i serum för ett receptivt endometrium. Det skulle öppna för individualiserad behandling, där bestämning av endometriets utveckling ingår i behandlingen och där återföring av ett embryo sker när endometriet är som mest receptivt för en lyckad implantation.

Möjlighet att förutsäga receptivitet

Mycket skulle vara vunnet med att i ökande omfattning närmare kunna diagnostisera gruppen med oförklarad infertilitet. Vid en tillfälligt nedsatt endometriereceptivitet bör embryoåterföring inte genomföras, utan embryon sparas kryopreserverade för att återföras senare i en naturlig cykel med adekvat receptivitet. Detta kan vara fallet vid assisterad befruktning, och med gradvis förbättrade graviditetsresultat kan totalfrysning av alla embryon vara värd att överväga för att senare göra frysåterföring [34].

Det finns numera möjlighet att analysera endometriet med

hjälp av specifika matriser [35]. Detta har kommersialiserats, och i delar av Europa skickar man endometriebiopsier till ett laboratorium för att med hjälp av dessa specifika matriser analysera om endometriet är receptivt och därmed också om eller när i cykeln det är bäst att genomföra embryoöverföring. Det är ännu inte fullständigt klarlagt huruvida naturlig eller stimulerad cykel är att föredra då båda alternativen är möjliga [36].

En delkomponent i habituellt abort kan vara uttryck för en ökad implantation och oförmåga att skilja mellan hög- och lågkvalitativa embryon. De spontana aborterna skulle således kunna vara uttryck för implantation av även lågkvalitativa embryon som normalt inte skulle leda till graviditet och därför resulterar i en spontan abort [37]. Man kan spekulera i huruvida oförklarad infertilitet delvis kan vara uttryck för en oförmåga att urskilja och implantera högkvalitativa embryon.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

SUMMARY

Infertility is an increasing problem worldwide. The diagnosis is a result of a complete infertility investigation that has been carried out without finding any explanation. The balance and synchronization between the hormones involved in the menstrual cycle is delicate as is the synchronisation between the embryo and endometrial receptivity. Genetical defects, such as aneuploidy, are the most common explanation for the lack of implantation. Research results indicate that a deviant development of the endometrium is a major but incompletely investigated cause of unexplained infertility.

REFERENSER

- Case AM. Infertility evaluation and management. Strategies for family physicians. *Can Fam Physician*. 2003;49:1465-72.
- Van Geloven N, Van der Veen F, Bossuyt PM, et al. Can we distinguish between infertility and subfertility when predicting natural conception in couples with an unfulfilled child wish? *Hum Reprod*. 2013;28(3):658-65.
- Ray A, Shah A, Gudi A, et al. Unexplained infertility: an update and review of practice. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(6):591-602.
- Boden J. The ending of treatment: the ending of hope? *Hum Fertil (Camb)*. 2013;16(1):22-5.
- Khandelwal D, Tandon N. Overt and subclinical hypothyroidism: who to treat and how. *Drugs*. 2012;72(1):17-33.
- Halme J, Surrey ES. Endometriosis and infertility: the mechanisms involved. *Prog Clin Biol Res*. 1990;323:157-78.
- Paulson RJ. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2011;96(3):530-5.
- Szekeresh-Bartho J, Balasch J. Progestagen therapy for recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update*. 2008;14(1):27-35.
- Bazer FW, Spencer TE, Johnson GA, et al. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2011;3:745-67.
- Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, et al. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril*. 2011;96(2):344-8.
- Florio P, Bruni L, De Falco C, et al. Evaluation of endometrial urocortin secretion for prediction of pregnancy after intrauterine insemination. *Clin Chem*. 2008;54(2):350-5.
- Altmäe S, Kallak TK, Fridén B, et al. Variation in hyaluronan-binding protein 2 (HABP2) promoter region is associated with unexplained female infertility. *Reprod Sci*. 2011;18(5):485-92.
- Nakagawa K, Takahashi C, Nishi Y, et al. Hyaluronan-enriched transfer medium improves outcome in patients with multiple embryo transfer failures. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(7):679-85.
- Bontekoe S, Blake D, Heineman MJ, et al. Adherence compounds in embryo transfer media for assisted reproductive technologies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(7):CD007421.
- Nordqvist S, Kårehed K, Stavreus-Evers A, et al. Histidine-rich glycoprotein polymorphism and pregnancy outcome: a pilot study. *Reprod Biomed Online*. 2011;23:213-9.
- de Hullu JA, Pras E, Hollema H, et al. Presentations of endometrial activity after curative radiotherapy for cervical cancer. *Maturitas*. 2005;51(2):172-6.
- von Grothusen C, Lalitkumar S, Boggavarapu NR, et al. Recent advances in understanding endometrial receptivity: molecular basis and clinical applications. *Am J Reprod Immunol*. 2014;72(2):148-57.
- Mantzouratou A, Delhanty JD. Aneuploidy in the human cleavage

KLINIK & VETENSKAP ÖVERSIKT

- stage embryo. *Cytogenet Genome Res.* 2011;133(2-4):141-8.
19. Rubio C, Rodrigo L, Mir P, et al. Use of array comparative genomic hybridization (array-CGH) for embryo assessment: clinical results. *Fertil Steril.* 2013;99(4):1044-8.
 20. Dey SK, Lim H, Das SK, et al. Molecular cues to implantation. *Endocr Rev.* 2004;25:341-73.
 21. Banerjee P, Fazleabas AT. Endometrial responses to embryonic signals in the primate. *Int J Dev Biol.* 2010;54:295-302.
 22. Landgren BM, Johannisson E, Stavreus-Evers A, et al. A new method to study the process of implantation of a human blastocyst in vitro. *Fertil Steril.* 1996;65:1067-70.
 23. Stavreus-Evers A, Hovatta O, Eriksson H, et al. Development and characterization of an endometrial tissue culture system. *Reprod Biomed Online.* 2003;7:243-9.
 24. Lalitkumar PG, Lalitkumar S, Meng CX, et al. Mifepristone, but not levonorgestrel, inhibits human blastocyst attachment to an in vitro endometrial three dimensional cell culture model. *Hum Reprod.* 2007;22:3031-7.
 25. Altmäe S, Reimand J, Hovatta O, et al. Research resource: interactome of human embryo implantation: identification of gene expression pathways, regulation, and integrated regulatory networks. *Mol Endocrinol.* 2012;26:203-17.
 26. Xu B, Sun X, Li L, et al. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin- β 3, and mucin-1 expression in the peri implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2012;98(2):389-95.
 27. Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, et al. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril.* 2011;95:50-60.
 28. Salamonsen LA, Edgell T, Rombouts LJ, et al. Proteomics of the human endometrium and uterine fluid: a pathway to biomarker discovery. *Fertil Steril.* 2013;99(4):1086-92.
 29. Beier-Hellwig K, Sterzik K, Bonn B, et al. Hormone regulation and hormone antagonist effects on protein patterns of human endometrial secretion during receptivity. *Ann NY Acad Sci.* 1994;734:143-56.
 30. Boomsma CM, Kavelaars A, Eijkemans MJ, et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. *Hum Reprod.* 2009;24:1427-35.
 31. Paiva P, Menkhorst E, Salomonsen L, et al. Leukemia inhibitory factor and interleukin-11: critical regulators in the establishment of pregnancy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009;20(4):319-28.
 32. Aghajanova L. Update on the role of leukemia inhibitory factor in assisted reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010;22(3):213-9.
 33. Lalitkumar S, Boggavarapu NR, Menezes J, et al. Polyethylene glycated leukemia inhibitory factor antagonist inhibits human blastocyst implantation and triggers apoptosis by down-regulating embryonic AKT. *Fertil Steril.* 2013;100:1160-9.
 34. Check JH. Luteal phase support for in vitro fertilization-embryo transfer – present and future methods to improve successful implantation. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2012;39(4):422-8.
 35. Blesa D, Ruiz-Alonso M, Simón C. Clinical management of endometrial receptivity. *Semin Reprod Med.* 2014;32(5):410-3.
 36. Ghobara T, Vandekerckhove P. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(1):CD003414.
 37. Weimar CH, Kavelaars A, Brosens JJ, et al. Endometrial stromal cells of women with recurrent miscarriage fail to discriminate between high- and low-quality human embryos. *PLoS One.* 2012;7(7):e41424.