

Laporan Kasus: *Empty Follicle Syndrome* pada Siklus Fertilisasi In-Vitro

Dewi Karlina Rusly,^{1,2} Ruswana Anwar,¹ Alvin Setiawan,¹ Rina Nulianti,¹
Kevin Dominique Tjandraprawira¹

¹Reproductive Endocrinology and Infertility Division, Departement of Obstetrics and Gynecology, Universitas Padjadjaran Indonesia, Dr. Hasan Sadikin General Hospital Bandung Indonesia

²Reproductive Endocrinology and Infertility Division, Departement of Obstetrics and Gynecology, Universitas Syiah Kuala Indonesia, Dr. Zainoel Abidin General Hospital Banda Aceh Indonesia

korespondensi: Dewi Karlina Rusly, Email: drlynaspog@gmail.com

Abstrak

Pendahuluan: *Empty follicle syndrome* (EFS) adalah suatu kondisi langka, yaitu tidak terdapatnya oosit pada folikel ovarium yang matang saat tindakan *ovum pick-up* (OPU). Prevalensi kasus ini berkisar 2,7%.

Tujuan: Mengkaji kasus jarang yang terjadi pada siklus Fertilisasi In-Vitro (IVF) yang dilakukan stimulasi ovarium terkontrol.

Metode: Laporan kasus pada program IVF siklus pertama yang diberikan stimulasi dengan menggunakan *short protocol* pemberian *human recombinant follicle stimulating hormone* (rFSH) 150 IU sejak hari ke-2 sampai dengan hari ke-12 dan cetrotide 0.25 mg pada hari ke-7 hingga hari ke-12 dilanjutkan dengan trigger menggunakan *choriogonadotropin alfa* 250 µg.

Hasil: Perempuan berusia 30 tahun dengan infertilitas 4 tahun, mengikuti program IVF siklus I, dan diberikan stimulasi ovarium terkontrol dengan *short protocol* menggunakan rFSH 150 IU. Pada hari ke-12 didapatkan 10 folikel pada kedua ovarium, dengan estradiol >3000 pg/ml dan progesteron 0,94 ng/ml. Diputuskan untuk dilakukan *trigger* dengan *choriogonadotropin alfa* 250 µg. Setelah 36 jam *trigger* diberikan dan dilakukan OPU tidak didapatkan satu pun oosit pada cairan folikel tersebut, baik yang matur maupun yang imatur. β-hCG serum pasca-OPU adalah 2,3 mIU/ml. Pasien ditegakkan dengan diagnosis *Empty Follicle Syndrome*.

Kesimpulan. Penegakan diagnosis *Empty Follicle Syndrome* masih menjadi kontroversial, salah satu etiologinya adalah kadar HCG yang rendah pasca-*trigger*. Pasien direncanakan untuk IVF ulang dengan *batch trigger* berbeda dan evaluasi serum β-hCG 36 jam pasca-*trigger* (sebelum OPU), dan pengulangan *trigger* bila serum level belum adekuat.

Kata kunci: *Empty follicle syndrome*, β-hCG, Oosit, *Trigger*, *Ovum Pick-Up*

Case Report: *Empty Follicle Syndrome* in an In-Vitro Fertilization Cycle

Abstract

Introduction: *Empty follicle syndrome* (EFS) is a rare condition in which no oocytes could be retrieved from mature ovarian follicles during *ovum pick-up* (OPU). Its prevalence ranges from 2,7%.

Objective: To review a rare case of In-Vitro Fertilization (IVF) cycle undergoing controlled ovarian hyperstimulation (COH).

Methods: This is a case report of a first cycle IVF program that was stimulated using a short protocol of human recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) 150 IU from day 2 to 12 and cetrotide 0.25 mg on day 7 to 12 followed by triggering using *choriogonadotropin alpha* 250 µg.

Results: A 30-year-old female with 4 years of primary infertility, was enrolled in her first IVF cycle, and was undergoing COH with short protocol using 150 IU rFSH. On day 12, 10 follicles were found on both ovaries, with favorable oestradiol >3000 pg/ml and progesterone 0.94 ng/ml levels. A trigger of 250 micrograms of *choriogonadotropin alpha* was administered. During oocyte retrieval, no oocyte (mature or immature) was present in the follicular fluid. Post OPU β-hCG serum was 2.3 mIU/ml. The patient was diagnosed with EFS.

Conclusion: The diagnosis of EFS is still controversial with an etiology being post-trigger low HCG level. The patient was recommended to undergo a repeat IVF cycle with a different batch of triggers and evaluation of serum β-hCG before OPU, and a repeat trigger if serum levels were not adequate.

Keywords: *Empty follicle syndrome*, β-hCG, Oocytes, *Trigger*, *Ovum Pick-Up*

Pendahuluan

Empty follicle syndrome pertama kali ditemukan oleh Coulam dkk.¹ Ini merupakan suatu kondisi tidak ditemukannya oosit yang diambil dari folikel ovarium yang tampaknya tumbuh secara normal dengan steroidogenesis normal setelah stimulasi ovarium dan aspirasi folikel yang cermat. Etiologi masih menjadi teka-teki dan beberapa orang bahkan meragukan keberadaan sindrom ini.² Kejadian EFS bukanlah skenario klinis yang tidak biasa; hal ini sangat bergantung pada cadangan ovarium. Usia muda tidak kebal terhadap terjadinya EFS karena terdapat kejadian yang sama pada kelompok usia yang relatif lebih muda dalam penelitian kami. *Empty follicle syndrome* terlihat pada semua kelompok etiologi infertilitas, tetapi hanya jeda yang menunjukkan bahwa ada kemungkinan sekitar 63,2% pengambilan oosit selama siklus IVF berulang.³

Reichman dkk⁴ membatasi EFS pada kasus, yaitu tidak ada oosit yang diambil meskipun ada perkembangan folikel yang memadai (≥ 4 folikel dengan setidaknya dua dengan diameter rata-rata > 18 mm) dan mengidentifikasi tujuh kasus EFS tipe palsu (*false type*/fEFS), mewakili 0,045% dari 15.729 siklus. Mesen, dkk menggambarkan prevalensi EFS asli dan palsu secara terpisah secara merata. Penelitian ini secara ketat mengecualikan subjek yang memiliki kurang dari lima folikel berukuran ≥ 14 mm untuk menghindari salah menunjuk pasien dengan respons ovarium yang buruk sebagai faktor EFS. Hanya dua kasus yang merupakan EFS asli (*genuine type*/gEFS) (0,016%) dan sembilan kasus fEFS (0,072%) diidentifikasi di antara total 18.294 siklus pengambilan oosit.⁴ Mekanisme yang bertanggung jawab atas EFS masih belum jelas, meskipun banyak hipotesis telah diajukan mulai dari kesalahan manusia hingga masalah farmakologis. Menurut Stevenson⁶, terdapat dua jenis EFS. Pertama, tingkat b-hCG telah turun di bawah

optimal (<40 mIU/ml) karena kesalahan manusia atau alasan farmasi. Di sisi lain, kegagalan untuk mengambil oosit telah terjadi meskipun tingkat optimal dari b-hCG (>40 mIU/ml). Oleh karena itu, pengklasifikasian dari EFS sebagai “asli” (gEFS) dan “palsu” (fEFS) dapat menawarkan solusi yang lebih baik.

Beberapa investigasi menunjukkan bahwa gEFS bisa berasal dari kasus dengan cadangan ovarium yang rendah.⁵ Faktor resiko EFS 1) Usia yang semakin tua ($37,7 \pm 6,0$ tahun vs. $34,2 \pm 6,0$ tahun, $p < 0,001$), 2) Lamanya infertilitas ($8,8 \pm 10,6$ tahun vs. $6,3 \pm 8,4$ tahun, $p < 0,05$), 3) Tingginya basal FSH ($8,7 \pm 4,7$ IU/L vs. $6,7 \pm 2,9$ IU/L, $p < 0,001$), dan 4) Rendahnya kadar estrogen sebelum penyuntikan hCG ($499,9 \pm 480,9$ pg/mL vs. $1.516,3 \pm 887,5$ pg/mL, $p < 0,001$).⁶

Adanya temuan terbaru yaitu mutasi pada zona pellucida 3 didapatkan pada pasien perempuan infertil dengan EFS yang dilakukan investigasi dengan pengurutan DNA *whole-exome-sanger*. Didapatkan adanya heterozigot baru (p.Ser173Cys, c.518C>G) pada gen ZP3 pada pasien dengan *empty follicle syndrome*. Setelah dilakukan analisis imunopresipitasi bersama, ditemukan bahwa mutasi S173C memengaruhi interaksi antara ZP3 dan ZP2 sehingga membuat terjadinya abnormalitas dari formasi zona pellucida.⁷

Penelitian novel Liu dkk¹⁰ juga mendapatkan dari hasil *western blotting* dan analisis pewarnaan imunofluoresensi mengonfirmasi bahwa mutasi missense c.2T>A (p. M1K) mengakibatkan hampir hilang produksi protein. Selain itu, dengan menggunakan uji minigene, menunjukkan ada efek yang merusak pada gen ZP1 dari sambungan mutasi situs c.1112+1G>T pada gen zona pellucida glikoprotein 1, yang menyebabkan terjadinya pemotongan protein ZP1. Disimpulkan adanya mutasi heterozigot majemuk gen ZP1 yang diidentifikasi dalam penelitian ini melalui eksperimen genetik

dan fungsional merupakan penyebab genetik baru dari EFS, dan memerlukan penelitian lebih lanjut.

Sebagai upaya untuk menyelamatkan siklus IVF jika terjadi fEFS telah disarankan: pemberian ulang hCG dan aspirasi ulang.⁸ Dosis kedua hCG dalam pengaturan fEFS pertama kali diusulkan oleh Ndukwe dkk⁹ pada tahun 1997, dan sudah ada siklus IVF yang berhasil yang telah dilaporkan. Sebuah tinjauan literatur baru-baru ini menunjukkan bahwa 42,8% dari siklus (6 dari 14), yaitu hCG diberikan kembali dalam pengaturan hCG serum yang tidak optimal atau tidak ada, dapat menghasilkan janin yang lahir hidup yang sehat. Dengan demikian, hal ini menjadi solusi yang baik untuk kasus fEFS.¹⁰

Reichman dkk.⁴ juga mengusulkan pengukuran pencegahan potensial terhadap fEFS melalui penilaian serum hCG sehari setelah trigger diberikan dan bolus kedua pemberian hCG. Menurut laporan mereka, injeksi hCG awal yang gagal terjadi pada 44 pasien (0,25%) dari 17.298 siklus IVF baru. Dari 41 pasien yang menjalani pengambilan yang menerima suntikan hCG kedua sekitar 24 jam setelah suntikan pertama, tingkat kelahiran hidup adalah 39,0%. Dibandingkan dengan kontrol yang cocok, tidak ada perbedaan statistik dalam hal kematangan oosit, pembuahan, implantasi, kehamilan klinis, atau tingkat kelahiran hidup. Mengingat jarangness kejadian ini dalam praktik, beberapa dokter mungkin ragu untuk mengadopsi kebijakan tersebut sebagai praktik yang seragam. Namun, dalam siklus donor, pemantauan hCG harus dilakukan untuk meminimalkan risiko pengambilan oosit yang gagal.

Shen dkk.¹¹ menyarankan untuk memperpanjang interval antara *trigger* ovulasi dan OPU. Namun, strategi mengenai memperpanjang interval antara pemicuan dan OPU memiliki sedikit bukti untuk direkomendasikan secara umum.

Satu hasil yang sukses telah dilaporkan

dengan menggunakan dua strategi gabungan, yaitu memperpanjang interval antara *trigger* ovulasi dan OPU serta menginduksi ovulasi menggunakan agonis GnRH.¹² *Trigger* dengan menggunakan agonis GnRH untuk menginduksi lonjakan LH endogen dalam siklus antagonis GnRH telah disarankan sebagai salah satu strategi untuk mencegah terjadinya EFS.^{13,14} Seorang pasien telah menjalani tujuh siklus EFS yang berulang. Dalam siklus pengobatan, ovulasi di *trigger* menggunakan agonis GnRH 40 jam sebelum OPU dan hCG ditambahkan 6 jam setelah *trigger* pertama. Hal tersebut menghasilkan aspirasi oosit yang matang, kehamilan, dan kelahiran. Namun, tidak mungkin untuk membedakan apakah kedua strategi tersebut memberikan hasil yang diinginkan.¹⁵

Pembahasan

Dilakukan serial USG mulai dari hari ke-2, ke-6, ke-8, ke-10, dan ke-12. Pada hari ke-6 sudah didapatkan 5 folikel ukuran 6,3mm-12mm di sebelah kanan, dan 5 folikel dikiri dengan ukuran 8mm-11mm di sebelah kiri dengan *endometrial line* 7,7 mm. Terapi COH dengan rFSH tetap dilanjutkan dengan dosis 150 IU dan ditambahkan GnRH antagonis cetrotide 0,25mg dengan estradiol 881,69 pg/ml. Pemeriksaan hari ke-8 dan ke-10 sudah menunjukkan adanya peningkatan diameter folikel menjadi 18 - 20mm dengan terapi yang sama. Pada hari ke-12 didapatkan 10 folikel, 7 folikel di kanan (15,3-26,7mm, 6 folikel di atas 18mm) dan 3 folikel di kiri (15,6-24,5 mm, dua folikel di atas 20mm). Kemudian dilakukan pemeriksaan laboratorium, didapatkan kadar estradiol >3000 pg/ml dan progesteron 0,94 ng/ml. Diputuskan untuk dilakukan *trigger* dengan *choriogonadotropin alfa* 250uq pukul 19.00 WIB secara subkutan di periumbilical. Penyimpanan obat *trigger* choriogonadotropin alfa di apotik maupun di klinik sudah sesuai yaitu di *chiller* dengan suhu 2-8 °C. Pasien kemudian dilakukan *ovum*

pick-up pada 36 jam pasca *trigger* diberikan, yaitu pada pukul 07.00 WIB. Setelah di *pick-up* seluruh folikel pada ovarium kanan dan kiri sampai habis, tidak didapatkan satu pun oosit pada cairan folikel tersebut, baik yang matur maupun yang imatur. Pasien lalu diperiksa beta-hCG serum pasca-OPU pukul 11.00 WIB dan didapatkan beta-hCG saat itu 2,3 mIU/ml. Pasien lalu ditegakkan dengan diagnosis *empty follicle syndrome*. Pasien lalu diberikan informasi terkait kondisinya dan dibekali pengetahuan tentang dengan proses distribusi, penyimpanan dan penyuntikan *trigger* yang benar dan faktor risiko terkait hal ini.^{8,16}

Empty follicle syndrome (EFS) pada kasus IVF dengan *short protocol* setelah pemberian stimulasi ovarium dengan rFSH 150 IU selama 11 hari dan GnRH *antagonist* 0,25mg *fixed dose* yang sudah menghasilkan 10 buah folikel dengan diameter berada di antara 15 - 26mm pada hari ke-12, seharusnya sudah bisa menghasilkan oosit yang matur.

Persiapan untuk mencegah folikel pecah adalah dengan pemberian *trigger* hCG atau GnRH agonist, pada kasus ini pemberian *trigger* yang diberikan adalah *trigger* dengan *choriogonadotropin alfa* 250 µg yang setara dengan hCG 6500 IU. Pengambilan oosit dengan teknik *ovum pick-up* melalui *guiding* USG secara pervaginam dilakukan pasca-penyuntikan *trigger* *choriogonadotropin alfa* 250µg secara subkutan di periumbilikal 36 jam sebelumnya. Proses yang dilalui oleh pasien dalam siklus IVF ini sudah sesuai terbukti didapatkan nilai estradiol >3000 pg/ml dan nilai progesteron 0,94 ng/ml. Secara teori, seharusnya sudah bisa dipetik oosit matur sebanyak 10-15 buah. Namun saat pemeriksaan oleh embriolog, dari cairan folikel yang berhasil disedot melalui jarum OPU, didapatkan cairan folikel berwarna kuning jernih, tidak tampak sama sekali granul, kumulus atau zona pelusida dari oosit. Temuan secara mikroskopis juga tidak didapatkan satu buah oosit baik matur atau

pun immatur pada cairan folikel di kedua ovarium, sehingga pasien ini didiagnosa dengan *empty follicle syndrome*.

Suatu kejadian langka yang saat tidak diinginkan, baik oleh pasien maupun klinisi. Setelah dievaluasi dengan pemeriksaan beta-hCG didapatkan bahwa adanya beta-hCG yang rendah yaitu 2,3 mIU/ml, sehingga dugaan sementara adalah tidak munculnya proses pematangan folikel, akibat adanya kegagalan pada tahap pemberian *trigger*.¹⁶

Analisa kegagalan terapi pemberian *trigger* ini bisa dari dua faktor, yang pertama dari faktor farmasi baik produksi, distribusi, penyimpanan di gudang apotik dan klinik, hingga sampai dengan faktor tehnik dan jam penyuntikan.⁸ Sedangkan faktor pasien, adalah dari segi usia yang memiliki rasio lebih tinggi pada usia yang semakin tua, dan juga faktor metabolisme obat hCG yang mungkin mengalami *rapid clearance* pada hati pasien, atau mutasi dari LH/hCG reseptor, dan juga abnormalitas aktifitas biologik secara *in vivo*, atau adanya blokade pada jalur *luteinizing hormone* LH, ataupun mutase pada zona pelusida Zp1, Zp2 dan Zp3.^{14,17-20} Pada kasus ini evaluasi dari nomer *batch trigger* yang diberikan sampai ke produsen obat sangat diperlukan untuk *tracking* dan evaluasi kepada farmasi terhadap manufaktur yang mungkin saja dilaporkan dari klinik lain. Proses yang dapat diketahui adalah setiba dari pabrik obat sudah disimpan di gudang rumah sakit selama hampir 4 bulan, dan bulan April sudah dipindahkan ke apotik. Penyimpanan obat di apotik rumah sakit adalah di suhu *chiller* 2-8 °C. Obat baru dibeli oleh pasien dan disuntikkan pada bulan Juni dengan penyimpanan sebelumnya dalam suhu yang sama.

Kesimpulan

Empty follicle syndrome merupakan kasus langka, dalam hal ini meskipun angka kejadian rekurensinya mencapai 11,1%

dengan penemuan terbaru yaitu pemberian dosis ulangan HCG dan pengecekan ulang BHCG serum darah atau pemberian *double trigger* and *delayed oocyte retrieval* (DTDO), dengan memberikan *trigger* berupa GnRH agonis 40 jam pre *oocyte retrieval* dan dilanjutkan dengan HCG 36 jam pre *oocyte retrieval*, maka hasil yang didapatkan untuk menurunkan incidence EFS sangat bermakna. Hal yang terpenting adalah tetap mengevaluasi nilai BHG serum agar selalu sudah >40 mIU/ml untuk memastikan oosit yang akan dipetik sudah matang,

Daftar Pustaka

1. Chen T, Bian Y, Liu X, Zhao S, Wu K, Yan L, et al. A Recurrent Missense Mutation in ZP3 Causes Empty Follicle Syndrome and Female Infertility. *The American Journal of Human Genetics*. 2017 Sep;101(3):459–65.
2. Deepika K, Rathore S, Garg N, Rao K. Empty follicle syndrome: Successful pregnancy following dual trigger. *J Hum Reprod Sci*. 2015;8(3):170.
3. Lele P, Nagaraja N, Singh Y, Chakrabarty B. Characteristics of empty follicular syndrome during in vitro fertilization embryo transfer and its association with various etiologies in comparatively young patients. *J Hum Reprod Sci*. 2020;13(1):51.
4. Mesen TB, Yu B, Richter KS, Widra E, DeCherney AH, Segars JH. The prevalence of genuine empty follicle syndrome. *Fertil Steril*. 2011 Dec;96(6):1375–7.
5. Zreik TG. Empty follicle syndrome: evidence for recurrence. *Human Reproduction*. 2000 May 1;15(5):999–1002.
6. Baum M, Machtinger R, Yerushalmi GM, Maman E, Seidman DS, Dor J, et al. Recurrence of empty follicle syndrome with stimulated IVF cycles. *Gynecological Endocrinology*. 2012 Apr 18;28(4):293–5.
7. Zhang D, Zhu L, Liu Z, Ren X, Yang X, Li D, et al. A novel mutation in ZP3 causes empty follicle syndrome and abnormal zona pellucida formation. *J Assist Reprod Genet*. 2021 Jan 2;38(1):251–9.
8. Kaluarachchi A, Seneviratne H, Batcha T, Wijeratne S, Gardie Role Malwattage Jayawardena UGP. Recurrent empty follicle syndrome with different stimulation protocols – A case report. *J Family Med Prim Care*. 2019;8(7):2536.
9. Choudhary SD. Empty Follicular Syndrome: Understanding Controversial Entity. *Journal of South Asian Federation of Obstetrics and Gynaecology*. 2017 Jun;9(2):119–23.
10. Rao KA, Carp HJA, Fischer R. Principles and practice of assisted reproductive technology. Vol. 1. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD; 2013. 726–726 p.
11. Shen X, Long H, Guo W, Xie Y, Gao H, Zhang J, et al. The ovulation trigger–OPU time interval of different ovarian protocols in ART: a retrospective study. *Arch Gynecol Obstet*. 2020 Aug 3;302(2):519–27.
12. Yan MH, Sun ZG, Song JY. Dual trigger for final oocyte maturation in expected normal responders with a high immature oocyte rate: a randomized controlled trial. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Oct 5;10.
13. Humaidan P, Kol S. Suboptimal response to GnRH agonist trigger: causes and practical management. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2021 Jun;33(3):213–7.
14. Revelli A, Carosso A, Grassi G, Gennarelli G, Canosa S, Benedetto C. Empty follicle syndrome revisited: definition, incidence, aetiology, early diagnosis and treatment. *Reprod Biomed Online*. 2017 Aug;35(2):132–8.
15. Noushin A, Singh S, Sonia A, Singh S, Basheer R, Ashraf R, et al. Genuine empty

- follicle syndrome: role of double trigger and delayed oocyte retrieval (DTDO). *J Hum Reprod Sci.* 2021;14(1):36.
16. van Heusden AM, van Santbrink EJ, Schipper I, de Jong D. The empty follicle syndrome is dead! *Fertil Steril.* 2008 Mar;89(3):746.
 17. Inoue D, Sakakibara Y, Ishida C, Kondo M, Mizuno R, Saito M, et al. Risk factors for empty follicle syndrome in assisted reproductive technology with gonadotropin-releasing hormone agonist trigger. *Reprod Med Biol.* 2023;22(1):e12553.
 18. Kong N, Xu Q, Shen X, Zhu X, Cao G. Case report: A novel homozygous variant in ZP3 is associated with human empty follicle syndrome. *Front Genet.* 2023 Oct 16;14.
 19. Jin H, Yang H, Zheng J, Zhou J, Yu R. Risk factors for low oocyte retrieval in patients with polycystic ovarian syndrome undergoing in vitro fertilization. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2023 Jul 19;21(1):66.
 20. Mahapatro A, Shankar K, Varma T. Recurrent genuine empty follicle syndrome: a rare case report. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2016;1263–5.