

Frida Bakken Stensen

Betydning av snusbruk for fertilitet hos par som tilbys assistert befruktning

En observasjonsstudie ved en norsk fertilitetsklinikk.

Masteroppgave i Master i folkehelse (MFHLS)

Veileder: Signe Opdahl

Medveileder: Aleksej Stevanovic / Solfrid Hovdal

Mai 2022

Frida Bakken Stensen

Betydning av snusbruk for fertilitet hos par som tilbys assistert befruktning

En observasjonsstudie ved en norsk fertilitetsklinikk.

Masteroppgave i Master i folkehelse (MFHLS)
Veileder: Signe Opdahl
Medveileder: Aleksej Stevanovic / Solfrid Hovdal
Mai 2022

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for medisin og helsevitenskap
Institutt for samfunnsmedisin og sykepleie

Betydning av snusbruk for fertilitet hos par som tilbys assistert befruktning.

En observasjonsstudie ved en norsk fertilitetsklinikk.

Student: Frida Bakken Stensen, Master i folkehelse (MFHLS)

Veiledere: Signe Opdahl (førsteamanuensis ISM/NTNU, hovedveileder), Aleksej Stevanovic (biolog PhD forsker St. Olavs hospital, biveileder) og Solfrid Hovdal (Cand. Scient Cellebiologi, biveileder)

Sammendrag

Problemstilling: Denne masteroppgaven er en observasjonsstudie, og en del av en prospektiv observasjonsstudie «Effekt av snus på fruktbarhet» av Stevanovic, som pågår ved Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital i Trondheim. Hensikten med studien gjort i masteroppgaven, var å se om det er en sammenheng mellom snusbruk og resultat etter behandling med assistert befruktning, og å øke kunnskapsgrunnlaget for råd- og veiledning for de som ønsker å få barn.

Bakgrunn: I Norge opplever omtrent hvert sjettede par problemer med å oppnå graviditet, og mange av disse behandles med assistert befruktning. Det er mange offentlige og private klinikker som tilbyr behandling med assistert befruktning i Norge. I Skandinavia er bruk av snus blant unge i befolkningen svært utbredt, men skadevirkninger av snusbruk knyttet til folkehelse er lite studert. 21 % av den norske befolkningen mellom 16 og 24 år og 25 % mellom 25 og 34 år, snuser daglig, og andelen unge som snuser er økende. Studier har vist at snusbruk under svangerskap er assosiert med høyere risiko for lavere fødselsvekt, for tidlig fødsel, høyere risiko for svangerskapsforgiftning og dødfødsel. Selv om risikoen for snusbruk i svangerskap er godt dokumentert, er det manglende dokumentasjon på snusbruk og resultat etter behandling med assistert befruktning.

Metode: Pasientpopulasjonen i studien ble hentet fra pasienter som har søkt behandling med assistert behandling ved Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital i Trondheim i perioden 2017 til og med 2021. Totalt 1974 par med ulikt kjønn, ble inkludert i studien. Parene ble delt inn i fire kategorier, basert på snusbruk: Ingen snuser (62,2 %), kun mannen snuser (19,7 %), kun kvinnen snuser (4,4 %) og begge i paret snuser (5,9 %). I studien var snus eksponeringsvariabel, med par hvor ingen snuser som referanse. Alder, KMI, røyking og år for eggthenting var kovariater. Antall egg, andel og antall befruktete egg og andel og antall embryo med god kvalitet var utfallsvariabler. Lineær regresjon ble brukt i statistiske analyser til å estimere gjennomsnittsforskjeller med 95 % konfidensintervall.

Resultater: Det ble funnet negative sammenhenger mellom kvinnens snusbruk og resultater ved behandling med assistert befruktning, målt i antall egg, antall befruktete egg og antall embryo med god kvalitet. Mannens snusbruk ble brukt som negativ kontroll, og ble ikke forbundet med behandlingsresultat. I alle analysene var det stor statistisk usikkerhet rundt estimatene.

Konklusjon: Dataanalysene viste negative sammenhenger mellom snusbruk og behandlingsresultat med assistert befruktning, sammenlignet med kvinner som ikke snuser. Resultatene er målt med stor usikkerhet og flere studier er nødvendig for et tilstrekkelig kunnskapsgrunnlag.

Summary

Objective: This master thesis is an observational study, and a part of a prospective observational study “The effect of snus use on fertility in patients attending fertility treatment”, by Stevanovic. The aim of the study was to find if there is an association between use of oral tobacco (snus) and assisted reproduction outcomes, and to achieve more knowledge used for advising family planning.

Background: In Norway, 1 out of 6 couples experience difficulties achieving a pregnancy and many of these are treated with assisted reproduction. Treatment is offered by several public and private clinics in Norway. The use of snus is widespread in Scandinavia, however the potential detrimental effects it has on public health is largely unknown. In 2021 it has been reported that 21 % of the Norwegian population aged between 16-24 years and 25 % of the population aged between 25-34 years uses snus, and the number of daily users is on the increase. Studies have shown that the use of maternal snus during pregnancy is associated with low birth weight, preterm delivery, increased risk of preeclampsia and increased risk of still birth. While the negative effects of maternal snus use during pregnancy are well documented, there is a major lack of information on the effects of snus use on the outcomes of fertility treatment.

Methods: Data were collected from patients seeking assisted reproduction treatment at Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital in Trondheim in the period from 2017 until 2021. A total of 1974 opposite-sex couples were included in the study, and they were divided into four categories based on snus use: cases where neither the woman nor the man used snus (62.2 %), cases where only the man used snus (19.7 %), cases where only the woman used snus (4.4%) and cases where both used snus (5.9 %). In our study, snus was studied as the exposure, and cases where neither the woman nor the man used snus, was used as the reference population. Age, BMI, smoking and year for oocyte retrieval were used as covariates. We wanted to investigate the effect of women`s snus use on the number of oocytes retrieved, number and proportion of fertilized oocytes and quality embryos following controlled ovarian stimulation. Linear regression was used to estimate mean differences with 95 % confidence intervals.

Results: We observed a negative association between the female snus use, and number of oocytes retrieved, number of fertilized oocytes and number of embryos with good quality. Mans snus use was used as a negative control and was not shown to be associated with results after IVF outcomes. All associations had large statistical uncertainty.

Conclusion: Data analysis showed negative associations between female snus users in treatment result with assisted reproduction, compared to women that were not using snus. There were large uncertainties with the results, so more studies are needed to ensure a solid knowledge base.

Forord

Denne oppgaven er en del av min mastergrad i folkehelse ved Institutt for samfunnsmedisin og sykepleie ved Fakultet for medisin og helsevitenskap, NTNU, som jeg nå har fullført etter å ha vært deltidsstudent i 4 år. Å være deltidsstudent har vært lærerikt, spennende og utfordrende. Masterprogrammet har gitt meg mye ny kunnskap og bidratt til å øke min ellers store interesse for infertilitet, som er fagfeltet jeg jobber innenfor til vanlig. I studien i masteroppgaven fikk jeg også erfare at laboratorieerfaring er relevant, og aktuelt i et folkehelseperspektiv.

Jeg har ikke vært alene i denne prosessen. Det er mange å takke og som jeg ikke kunne ha vært foruten for å kunne fullføre dette studiet.

Først og fremst vil jeg takke mine tre veiledere, Signe, Aleksej og Solfrid. Takk for fine møter, diskusjoner og tilbakemeldinger på arbeidet mitt og ikke minst all positiviteten dere har vist gjennom hele prosessen. Særlig takk til hovedveileder Signe, som har bidratt med all sin erfaring og kunnskap innen blant annet epidemiologi og statistikk, og som også er tålmodig, pedagogisk og raus.

Så vil jeg takke alle ansatte på arbeidsplassen min, Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital, som har vært til god hjelp støtte og har heiet meg frem, og særlig takk til mine ledere som har gitt meg tid og fleksibilitet til å være student.

Og til slutt vil jeg takke familien min hjemme og venner, for tålmodighet og forståelse i en ellers travel hverdag.

Innhold

Innhold

Sammendrag	2
Summary	3
Forord	4
Innhold	5
Oversikt over ord- og begrepsforklaringer, tabeller og figurer	7
Ord- og begrepsforklaringer:.....	7
Tabeller	7
Figurer	7
1 Innledning.....	9
2 Bakgrunn	10
2.1 Infertilitet og behandling med assistert befruktning	10
2.2 Utbredelse av infertilitet og infertilitetsbehandling nasjonalt og internasjonalt	13
2.2.1 Utbredelse av infertilitet i Norge	13
2.2.2 Utbredelse av infertilitet i verden	13
2.3 Lovverk og rettigheter knyttet til IVF – behandling i offentlig regi i Norge	14
2.4 Endring i fødemønster (fruktbarhetstall) nasjonalt og internasjonalt	14
2.4.1 Endring i fødemønster i Norge	14
2.4.2 Endring i fødemønster i verden.....	16
2.5 Sosiale ulikheter i helse og samfunnskonsekvenser	17
2.5.1 Sosial ulikhet i helse i befolkningen	17
2.5.2. Sosiale ulikheter i helse blant barnløse kvinner og menn.....	18
2.5.3 Færre barn – færre yrkesaktive.....	18
2.6 Snus, utbredelse og forebyggende tobakksstrategier.....	19
2.6.1 Snus og utbredelse	19
2.6.2 Lovverk og strategier for reduksjon av tobakksbruk.....	21
2.7. Tobakksbruk i svangerskap - konsekvenser	22
2.8 Tobakk- og livsstilsvaner – konsekvenser for sædkvaliteten	22
3 Problemstilling.....	24
4 Metode	25
4.1 Arbeidsmetodikk, studiepopulasjon og informasjonskilder.....	25
4.1.1 Arbeidsmetodikk og prosedyrer som gjøres i laboratoriet	25
4.1.2 Vurdering av embryokvalitet.....	25
4.1.3 Utvalget	26

4.1.4 Uthenting av informasjon i Linnefiler	26
4.2 Variabler og statistiske analyser	27
4.2.1 Registrering og kategorisering av variabler	27
4.2.2 Statistiske analyser	27
4.2.3 Mannens snusbruk som negativ kontroll	28
4.2.4 Konfunder eller mediator?	29
4.3 Forskningsetikk	29
5 Resultater	31
5.1 Beskrivelse av studiepopulasjonen	31
5.2 Sammenhengen mellom snusbruk og behandlingsresultat	33
5.3 Sensitivitetsanalyser	39
6 Diskusjon	41
6.1 Oppsummering av funn	41
6.2 Sammenligning med studier gjort tidligere	41
6.3 Styrker og svakheter	42
6.3.1. Tilfeldige feil og presisjon	43
6.3.4 Konfundering og negativ kontroll	44
6.3.2 Bias - Informasjonsbias (misklassifisering)	44
6.3.3 Seleksjonsbias	45
6.4 Generaliserbarhet og konsekvenser av funnene	46
7 Konklusjon	48
8 Referanser	49

Oversikt over ord- og begrepsforklaringer, tabeller og figurer

Ord- og begrepsforklaringer:

- IVF (in vitro-fertilisering) betyr befruktning utenfor kroppen.
- Behandling med assistert befruktning og IVF-behandling betyr det samme og begge er brukt i teksten.
- Egg / eggceller er kvinnens egg som modnes i folliklene (eggposene)
- Befruktning skjer når en sædcelle trenger inn i en eggcelle.
- Embryo er et befruktet egg som har delt seg i to eller flere celler
- Blastocyst er et 5 til 6 dager gammelt embryo
- Fryseforsøk betyr at en blastocyst er frosset ned og kan tines opp settes inn i livmor ved en senere anledning
- Ferskforsøk som betyr innsetting av blastocyst i livmor 2,3 eller 5 dager etter egguthenting.
- Embryo med god kvalitet tilsvarer blastocyster som har god nok kvalitet til å fryses ned eller settes inn i livmor i et ferskt forsøk.
- STATA er et statistikkprogram.
- Eggfrys er egg som er frosset ned uten å ha blitt forsøkt befruktet.
- Poliklinisk utredning er time til samtale og undersøkelse med lege før eventuell behandling.
- År for egguthenting er året egguthenting ble utført.
- Ovarialfunksjon sier noe om eggstokkenes evne til å produsere egg.
- Totalfrys betyr at kvinnen ikke får innsetting av embryo 5 dager etter egguthenting, men at embryoene med god kvalitet blir frosset ned for senere innsetting i et fryseforsøk.

Tabeller

Tabell 1 Beskrivelse av studiepopulasjonen (s. 32)

Tabell 2 Kvinnens snusbruk og behandlingsresultat (s. 36)

Tabell 3 Mannens snusbruk og behandlingsresultat (s. 37)

Tabell 4 Kvinnen og mannens bruk av snus og behandlingsresultat (s. 38)

Figurer

Figur 1 Gjennomsnittlig AMH-verdi for kvinner mellom 25 og 40 år (s. 11)

Figur 2 Livmor og eggstokker og behandlingstrinnene i en IVF-behandling (s. 12)

Figur 3 Eggcelle (s. 12)

Figur 4 Embryoutvikling dag 1 til dag 5/6 (s. 13)

Figur 5 Samlet fruktbarhetstall for kvinner og år (s. 15)

Figur 6 Gjennomsnittlig alder for førstegangsfødende (s. 16)

Figur 7 Sosiale helsedeterminanter, Dahlgren og Whitehead, 1991 (s. 17)

Figur 8 Bruker snus daglig (%), etter kjønn og år. I alt 16-74 år (s. 19)

- Figur 9 Bruker snus daglig (%), etter kjønn og år, 25-34 år (s. 20)
- Figur 10 Bruker snus daglig (%), etter kjønn og år. I alt 16-24 år (s. 20)
- Figur 11 Flytskjema for utvalget (s. 26)
- Figur 12 Oversikt over konfundere eller mediatorer (s. 29)
- Figur 13 Søylediagram med pasienter som hadde null eller ett egg ved egguth. (s. 39)
- Figur 14 Søylediagram uten pasienter som hadde null eller ett egg ved egguth. (s. 39)
- Figur 15 Søylediagram med pasienter som hadde null eller ett egg ved egguth. (s. 40)
- Figur 16 Søylediagram uten pasienter som hadde null eller ett egg ved egguth. (s. 40)
- Figur 17 Validitet og presisjon (s. 43)
- Figur 18 Illustrasjon av seleksjonen inn i studiepopulasjonen (s. 46)

1 Innledning

Masteroppgaven er en observasjonsstudie og en del av en prospektiv observasjonsstudie «Effekt av snus på fruktbarhet» av Stevanovic, som pågår ved Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital.

Hensikten med masteroppgaven er å undersøke sammenhengen mellom snusbruk og resultatet etter behandling med assistert befruktning. Økt bruk av behandling med assistert befruktning i befolkningen og økning i snusbruk blant menn og blant kvinner i fruktbar alder, krever mer kunnskap om eventuelle uønskede konsekvenser av snusbruk på fertilitet. Det er behov for og ønskelig å bidra til et godt kunnskapsgrunnlag for råd og veiledning til de som ønsker å få barn, både i familieplanlegging med utgangspunkt i naturlig befruktning og blant dem som får behov for behandling med assistert befruktning. Per dags dato har vi ikke funnet tilgjengelige studier som viser snusbruk og eventuell påvirkning på resultater etter behandling med assistert befruktning.

Det ble brukt innsamlede data fra Fertilitetsseksjonens interne fagsystem, Linnefiler, og oppgaven er begrenset til kun å gjelde par med ulikt kjønn og første forsøk som resulterte i eggthenting. Masteroppgaven er skrevet som en monografi.

2 Bakgrunn

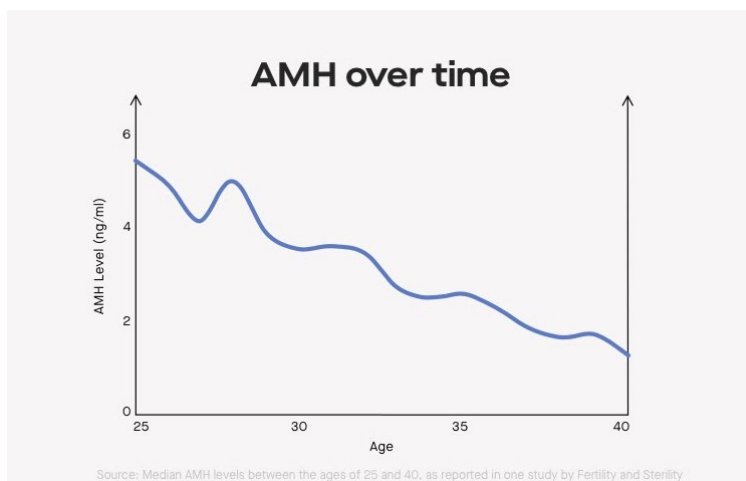
I dette kapittelet gis en oversikt over infertilitet og infertilitetsbehandling, infertilitetsutbredelse nasjonalt og internasjonalt, lovverk, sosial ulikhet, snus og konsekvenser av snusbruk.

2.1 Infertilitet og behandling med assistert befruktning

Infertilitet defineres som «regelmessig samleie uten prevensjon i ett år uten å oppnå graviditet» (1). Omtrent hvert sjettede (15 %) av alle par vil oppleve vansker med å oppnå graviditet (1), av mange årsaker. De vanligste infertilitetsårsakene er:

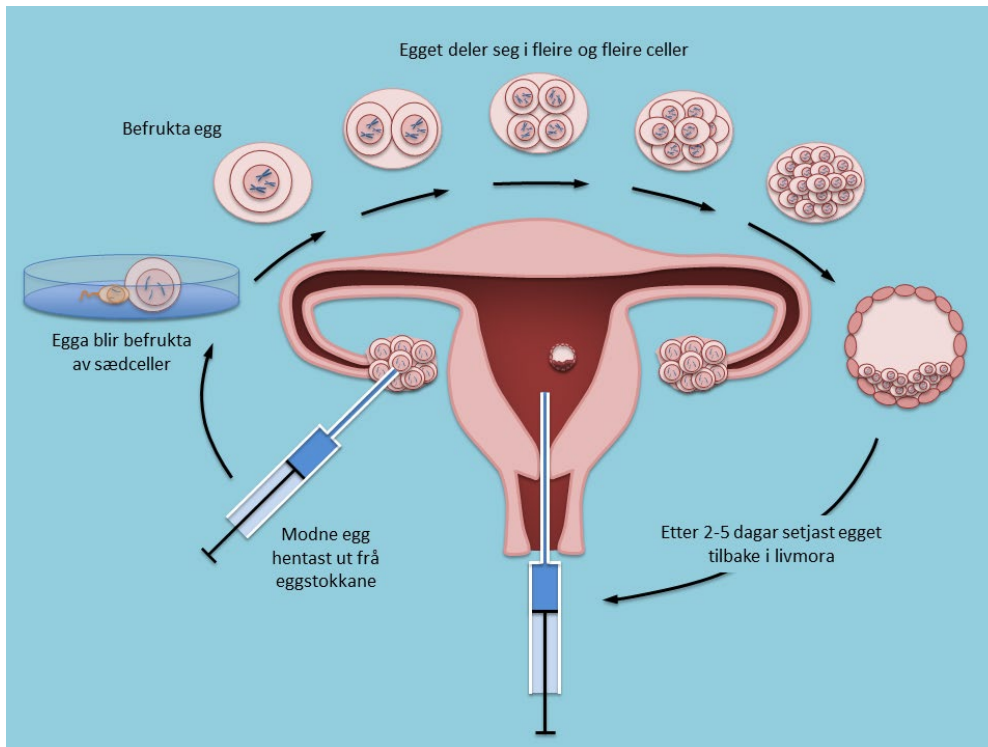
- Uregelmessige egglosninger/ovulasjonsforstyrrelser, for eksempel PCOS (polycystisk ovariesyndrom)
- Tette eggledere
- Endometriose
- Tidlig overgangsalder
- Kvinnens alder
- Muskelknuter i livmor
- Smertefullt samleie og vaginisme
- Nedsatt sædkvalitet hos mannen (1-3)

Årsaken til infertiliteten er ukjent hos omtrent 10 % av parene som ikke oppnår graviditet (4), og flere faktorer har innvirkning på en kvinnes fruktbarhet. Alder er en av disse faktorene. Kvinnens fruktbarhet faller med alderen på grunn av minkende eggreserver (5). I eggstokkene modnes follikler (eggposer), og folliklene inneholder vanligvis ett egg, men kan også være tomme (5). Enkelte kvinner kan ha lave eggreserver til tross for at de er unge og andre kan ha et for høyt antall follikler (5). Det er svært viktig å diagnostisere disse kvinnene slik at de får riktig behandling til riktig tid (5). AMH (Anti-müllerian hormone) er en foretrukket biomarkør, sammen med telling av antrale follikler ved hjelp av ultralyd (6). Antrale follikler er follikler som er i et hvilende stadium av modningsprosessen i eggstokken (6). AMH og telling av antrale follikler brukes for å forsøke å forutsi kvinnens fertilitetsevne og for å estimere et antall eggceller som kan forventes å hentes ut ved en IVF-behandling (6). Denne markøren måles i en blodprøve av kvinnen (7). AMH er tett knyttet til alder, og kvinnens AMH-nivå øker med alder fra fosterlivet til kvinnen er omtrent 25 år (8). Etter 25 års alderen avtar AMH-nivå med økende alder, frem til kvinnen kommer i overgangsalder (Figur 1) (8). I tillegg til lavere eggreserver, reduseres også eggkvaliteten med økende alder. Oksidativt stress (ubalanse mellom oksygenforbindelser og antioksidanter) i eggstokkene og hormonelle forandringer hos kvinnen, er noen av mekanismene som påvirker kvinnens eggkvalitet (9).



Figur 1 Gjennomsnittlig AMH-verdi for kvinner mellom 25 og 40 år. Kilde: Fertil Steril

Par som ikke lykkes i å bli gravide, etter å ha prøvd å få barn i over ett år, kan tilbys IVF (10). IVF er behandling hvor befruktningen skjer utenfor kroppen eller ved inseminasjon (11). Behandling med assistert befruktning består blant annet av hormonbehandling, hvor hensikten er å modne flere egg (eggposer) hos kvinnen på samme tid (12). Dette gjøres for å forsøke å befrukte flere eggceller og øke sjansen for å oppnå graviditet (12). Underveis overvåkes eggmodningen ved jevnlig ultralydkontroller (12). Når eggene er modne, leverer mannen sædprøve og eggene (Figur 3) blir hentet ut under lokalbedøvelse (egguthenting) (figur 2) (12). Eggene blir forsøkt befruktet i laboratoriet, og vurderes daglig i 5 til 6 dager (12). Befruktet egg (embryo) tilbakeføres inn i livmoren, som oftest ved dag 2, 3 eller 5 etter befruktning (Figur 2) (12). Slimhinnen i livmoren er stimulert slik at den er forberedt på tilbakeføring av embryoet (12). Det settes som regel tilbake kun ett embryo i livmor, og hvis det er flere embryo som har utviklet seg normalt, kan de øvrige frys ned (12). Eventuell nedfrysning av embryo gjøres som oftest ved dag 5 eller 6 etter befruktning (12). Et embryo som er nedfrosset, kan tines og settes inn i kvinnens livmor på et senere tidspunkt (12). En behandlingssyklus innebærer egguthenting og tilbakeføring av embryo (12). Totalt lykkes mellom 60 til 70 prosent av parene med å få barn etter assistert befruktning i løpet av inntil tre forsøk med egguthenting og innsetting av befruktet egg (12).

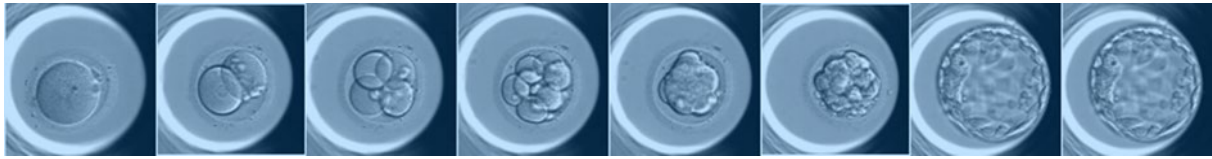


Figur 2 Livmor, eggstokker og behandlingstrinn i en IVF-behandling. Kilde: Eirik Joakim Tranvåg, basert på figur av Sigrid Bratlie/Bioteknologirådet

For å kunne definere hva som er et godt resultat etter behandling med assistert befruktning, kreves det en kvalitetsvurdering av befruktning og celledeling (13). Morfologisk vurdering av embryoets utvikling (Figur 4) og embryokvalitet er svært viktig innen reproduksjonsteknologi (13). Embryovurderingen beskriver kvaliteten på embryoet i de ulike utviklingstrinnene, og legger grunnlaget for hvilke embryo som skal tilbakeføres og hvilke som skal fryses ned (13). Det er over lang tid dokumentert at det er en sterk sammenheng mellom embryokvalitet og resultat etter innsetting og frys av embryo (13).



Figur 3 Eggcelle. Foto: Frida Bakken Stensen



Figur 4 Embryoutvikling dag 1 til dag 5/6. Foto: Frida Bakken Stensen

2.2 Utbredelse av infertilitet og infertilitetsbehandling nasjonalt og internasjonalt

2.2.1 Utbredelse av infertilitet i Norge

Som nevnt tidligere, vil omtrent hvert sjette par (15 %) oppleve problemer med å bli gravide. Det er seks offentlige og fem private virksomheter i Norge som tilbyr fertilitetsbehandling (14), og de fleste offentlige klinikkene, er lokalisert i den sørlige delen av landet (15). Dette gjelder også de private klinikkene (14). En studie av sosiodemografiske forhold i IVF-behandling i Norge, viser at selv om behandling med assistert befruktning er godt subsidiert i Norge, er den største andelen av de som får barn etter IVF eldre, høyt utdannet med høyt inntektsnivå og er gift (15). Dette ser ikke ut til å ha endret seg i årene mellom 1985-2014 (15). Det vil si at en større andel barn født etter assistert befruktning i Norge, vokser opp i ressurssterke hjem (15). I tillegg kan en se at den spredte befolkningstettheten i Norge gir en forskjellsbehandling i hvor langt det er nødvendig å reise for å nå et tilbud om assistert befruktning (15). Norges første barn unnfanget ved hjelp av IVF ble født ved Regionsykehuset i Trondheim i 1984. Innen IVF har forbedring og utvikling av metoder, prosedyrer, medisinsk utstyr, laboratorieutstyr og dyrkingsmedium ført til høyere graviditetsrater (16). Det gjennomføres omtrent 8000 IVF - behandlinger hvert år i Norge, som resulterer i at det fødes i underkant av 3200 barn (11, 17), og disse barna utgjør ca. 5 prosent av de omtrent 56000 barna som totalt blir født i Norge per år (17).

2.2.2 Utbredelse av infertilitet i verden

Ifølge WHO er det mer enn 48 millioner infertile par og 186 millioner infertile enkeltpersoner i verden (18). Infertilitet har store konsekvenser for enkeltmennesket og samfunnet de lever i (18). Tilgang og rettigheter knyttet til behandling av infertilitet varierer i stor grad, særlig knyttet til sosioøkonomiske forhold i de ulike landene (18). Verdens første IVF-barn ble født i England i 1978, og infertilitet og infertilitetsbehandling er utbredt over hele verden (19). På verdensbasis er det født mer enn 8 millioner barn totalt etter assistert befruktning, og det utføres årlig mer enn 2,5 millioner behandlingssykluser med assistert befruktning (tall fra 2016) (19). Det resulterer i at det årlig fødes ca. 500 000 barn etter assistert befruktning (19, 20), av over 80 millioner barn totalt som blir født i verden hvert år (21). I mange lavinntektsland er ikke infertilitetsbehandling tilgjengelig og mange land har ikke dokumentasjon på behandlinger som er utført (18). Nesten halvparten av de registrerte behandlingene med assistert befruktning i verden i 2016, ble utført i Europa (19).

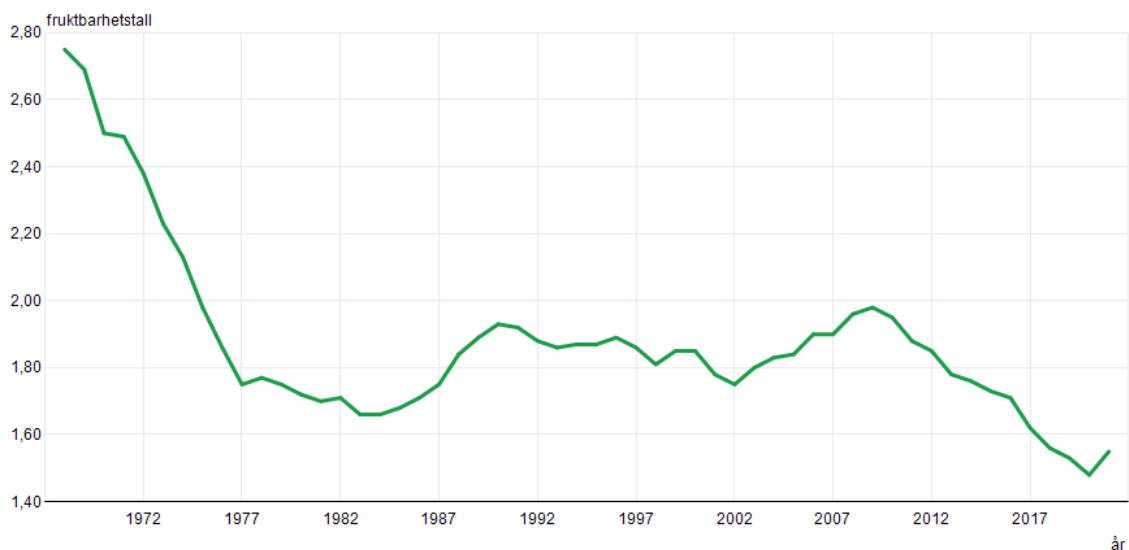
2.3 Lowverk og rettigheter knyttet til IVF – behandling i offentlig regi i Norge

I Norge må virksomheter som tilbyr IVF-behandling og fertilitetsbevarende behandling, være godkjent etter forskrift om håndtering av humane celler og vev (22, 23). I Norge er det loven om Humanmedisinsk bruk av bioteknologi (Bioteknologiloven) (24) som regulerer IVF, og i juni 2020 ble det vedtatt flere endringer i Bioteknologiloven (25). Nå tilbys IVF også til enslige, i tillegg til par med ulikt eller samme kjønn. Det ble også tillatt med eggdonasjon fra 2021, i tillegg til sæddonasjon som har vært tillatt siden 1987 (25, 26). Etter endringene i Bioteknologiloven juli 2020, fikk vi en lovbestemt øvre aldersgrense for IVF-behandling i Norge (24). Loven ble endret til at kvinner har rett til innsetting av fryste embryo inntil de fyller 46 år (24). Vedrørende ferske forsøk, følger de fleste klinikkene nasjonale retningslinjer som fremgår av Helsedirektoratets prioriteringsveileder ved infertilitet (27). Anbefalt KMI-grense hos de fleste klinikkene varierer mellom 30-35 kg/m² (27). Nytteverdien skal hensyntas, og er nedsatt ved KMI > 32-35 kg/m², på samme måte som ved alder > 38 år (27). Helfo, helsedirektoratets ytre etat, dekker medisinsutgifter utover en fastsatt egenandel, på ca. 15000 kr (10). I tillegg vil det være egenandeler per forsøk på ca. 1500 kr (10). For å få dekket utgiftene til behandling må vilkårene for å få behandling oppfylles (10). Dekningen av utgifter utover egenandel gjelder tre forsøk, det vil si at ett forsøk tilsvare én egguthenting med innsetting av befruktet egg i livmor (10). Innsetting av befruktede egg som fryses ned i forbindelse med egguthenting regnes ikke som et nytt forsøk, men regnes under samme forsøk (10). De fleste har råd til IVF - behandling i det offentlige helsevesenet i Norge (10).

2.4 Endring i fødemønster (fruktbarhetstall) nasjonalt og internasjonalt

2.4.1 Endring i fødemønster i Norge

Helt siden 1960-tallet, med unntak av noen år midt på 1980-tallet og tidlig på 2000-tallet, har det samlede fruktbarhetstallet sunket i Norge (figur 5) (28). Fruktbarhetstallet er definert som gjennomsnittlig antall barn en kvinne vil føde dersom det gjeldende fruktbarhetsmønsteret vedvarer, og er kun et hypotetisk mål på kvinners fødemønster (29). For å kunne opprettholde reproduksjonsnivået i Norge, bør fruktbarhetstallet være minst 2,1 (30). I 1968 var fruktbarhetstallet høyt med et gjennomsnitt på 2,75, mens det var på sitt laveste nivå i 2020 med et gjennomsnitt på 1,48 (28). Etter at Norge ble nedstengt i forbindelse med pandemien (Covid-19), steg fruktbarhetstallet til 1,55 i 2021 (31). Det førte til at det ble født over 2000 flere barn de første 9 månedene i 2021 sammenlignet med 2020 (31) og det ble født omtrent 3000 flere barn i hele 2021 sammenlignet med 2020 (32). Totalt antall fødte i Norge i 2021 var 56 060 barn (33).

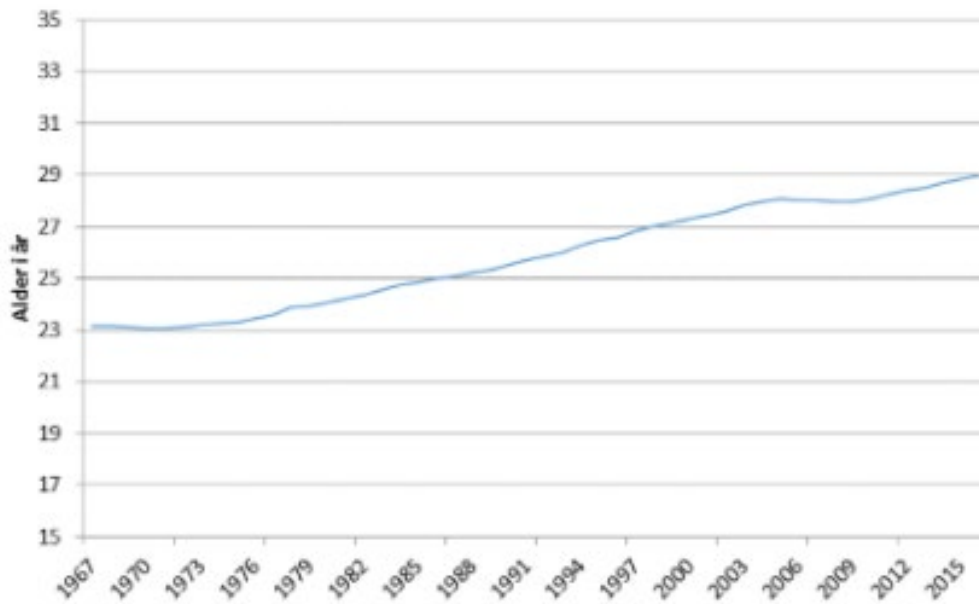


Kilde: Statistisk sentralbyrå

Figur 5 Samlet fruktbarhetstall for kvinner og år. Kilde: SSB.

Sammen med lavere fruktbarhetstall har stigende alder for førstegangsfødende betydning for fruktbarheten i befolkningen (34). At førstegangsfødende blir stadig eldre før de får sitt første barn, resulterer i at det samlede fruktbarhetstallet synker (34). I 1967 var gjennomsnittlig alder for førstegangsfødende 23,1 år, mot 29,0 år i 2016 (34). Dette tilsvarer en økning på omtrent 6 år i gjennomsnittlig alder ved første fødsel i løpet av 40 år (34). Alderen for førstegangsfødende har fortsatt å øke, og i perioden 2015-2020 steg alderen for førstegangsfødende med nesten ett år (35). I 2021 var gjennomsnittlig alder for førstegangsfødende 31,1 år (36). Det er blant kvinner i aldersgruppen under 25 år nedgangen i antall fødsler har vært størst (34, 37). Fruktbarhetstallet er ikke å være det eneste målet på fruktbarheten hos norske kvinner, kohortfruktbarhet kan også være et informativt mål (38). Kohortfruktbarheten beskriver hvor mange barn kvinner i et fødselskull av norske kvinner, har fått innen 45 års alder, og viser i motsetning til fruktbarhetstallet, det faktiske antallet barn norske kvinner har født, ved å se bakover i tid (38). Dette tallet var 1,98 barn i 2018 sammenlignet med det samlede fruktbarhetstallet på 1,53 (39). Ved å bruke kohortfruktbarhet, ser ikke utviklingen så dystert ut. Det er likevel forventet en nedgang i de kommende årskullene, og denne nedgangen i fruktbarhet forventes å være lik i alle de nordiske landene og i alle utdanningsgrupper fremover i tid (39).

Figur 4. Gjennomsnittsalder for førstegangsfødende i Norge
1967-2016



Figur 6: Gjennomsnittlig alder for førstegangsfødende. Kilde: FHI (2017) (34)

Endringen i fødselstallene under pandemien er en utvikling som skiller seg fra hendelser i andre land i krisetider (40). Vanligvis faller fødselstallene i krisetider, men i Norge og noen flere andre europeiske land, som Danmark og Nederland, har det motsatte skjedd (40, 41). Det kan være mange årsaker til økningen i antall fødsler (40). Pandemien har rammet de eldste mest og ikke de yngste, og enkelte har sett det som en mulighet til å få barn under pandemien mens andre har utsatt barneønsket på grunn av pandemien (42). Det er foreløpig for tidlig å si om denne økningen vil ha noen effekt på fødselstallene totalt sett blant de som planlegger å få barn (42).

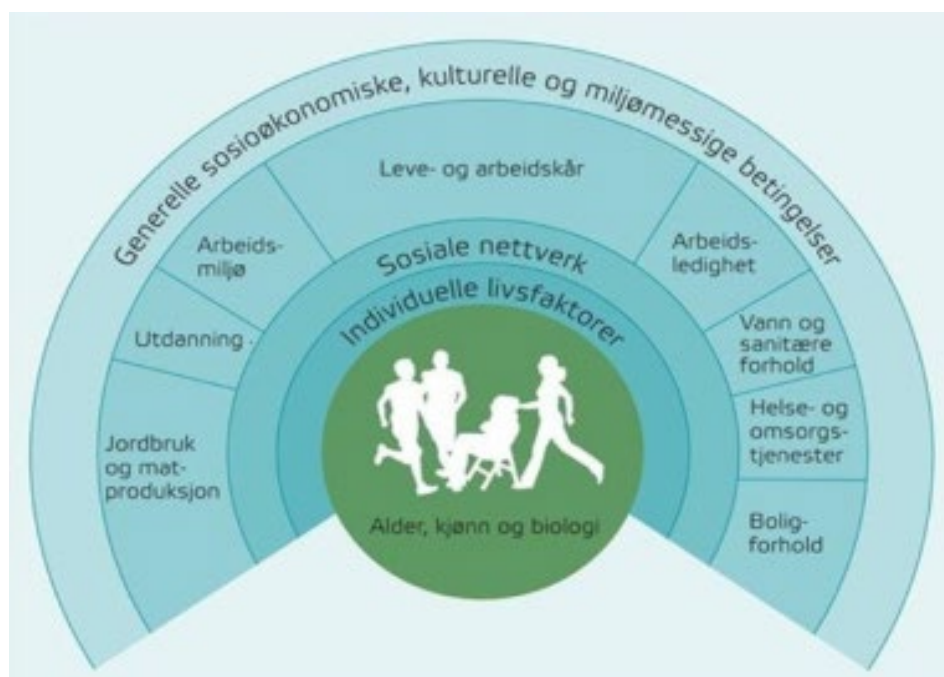
2.4.2 Endring i fødemønster i verden

Endringen i fødemønster i Norge må også sees i et globalt perspektiv (43). Global Burden of Disease (GBD) er et internasjonalt forskningssamarbeid mellom forskere over hele verden med hensikt å innhente informasjon og kartlegge sykdomsbyrde (43). GBD har publisert en global analyse av fertilitetsutviklingen i verden, med data fra 195 land, som viser at den totale fertilitetsraten har falt med 49,4 % fra 1950 til 2017 (44). Den største nedgangen har vært blant kvinner i aldersgruppen 20-24 år (nedgang på 0,42 levendefødte per kvinne), 25-29 år (nedgang på 0,52 levendefødte per kvinne) og kvinner 30-34 år (nedgang på 0,38 levendefødte per kvinne) (44). Nedgangen i antall levendefødte hos de litt eldre kvinnene (35-44 år), stabiliserte seg fra 1995, mens hos de yngre (20-34 år) fortsatte antallet levendefødte å synke globalt (44). Til tross for denne reduksjonen har verdens befolkning økt med gjennomsnittlig 83,8 millioner hvert år siden 1985 (44). Sammensetningen av verdens befolkning har endret seg: i 1950 stod høyinntektslandene for 35,2 % av verdens befolkning, men i 2017 stod de kun for 19,5 % av verdens befolkning (44). Dette skyldes blant annet en mye høyere befolkningsvekst i sør-asiatiske, afrikanske og sør-amerikanske land (44).

2.5 Sosiale ulikheter i helse og samfunnskonskvenser

2.5.1 Sosial ulikhet i helse i befolkningen

Blant befolkningen i Norge er det store sosiale ulikheter i helse (45). Disse forskjellene er større enn i mange andre europeiske land (45). Figur 7 viser hvilke faktorer som påvirker helse til den enkelte. De sosiale ulikhetene er særlig knyttet til utdanning (45). Kvinner og menn med høy utdanning (høyskole/universitet) og god økonomi, har bedre helse og lever lengre sammenlignet med kvinner og menn med lav utdanning (grunnskole) og dårligere økonomi (45). Røyking og snusbruk er også knyttet til sosiale ulikheter (46). I dag er andelen som røyker høyest i gruppa med lavest utdanning, men historisk sett var situasjonen omvendt (46). På 1950-tallet var det høyest andel røykere blant de med høyest utdanning (46). Andelen gravide som røyker, har blitt kraftig redusert i alle grupper av befolkningen de siste 15 årene (47). Selv om dette gjelder alle alders- og utdanningsgrupper, viser det seg at den prosentvise nedgangen er størst hos gravide med høyest utdanning, mens det fortsatt er en femtedel av de med lavest utdanning som røyker ved svangerskapets begynnelse (47). Av de som snuste i befolkningen i 2021, i alderen 16-74 år, var er det en betydelig forskjell mellom de ulike utdanningsgruppene. Blant de med kun grunnskoleutdanning er det ca. 20 % som snuser daglig, blant de med kun videregående skole er det 14 % som snuser daglig og blant de med høyskole/universitetsutdanning er det 11 % som snuser daglig. Andelen snusbrukere i hver av de tre utdanningsgruppene har økt de siste årene, men økningen har vært størst i gruppen med kun grunnskoleutdanning (48). Økningen i snusbruk er størst i de yngste aldersgruppene, og blant de yngste kan vi også se at det er flest snusbrukere blant de med dårligst opplevd familieøkonomi (49).



Figur 7 De viktigste påvirkningsfaktorene for helse. Dahlgren og Whitehead, 1991

Kilde: Mæland (2016), Forebyggende helsearbeid (50)

2.5.2. Sosiale ulikheter i helse blant barnløse kvinner og menn

Blant barnløse kvinner og menn, ser vi de samme sosiale ulikhetene som beskrevet for ulike utdanningsgrupper i den generelle befolkningen. Her ser vi i tillegg ulikheter mellom barnløse menn og menn som er etablert med barn, og mellom barnløse kvinner og kvinner som er etablert med barn (51). Ulikhetene er i likhet med den generelle befolkningen, knyttet til utdanning, økonomi, helse og levealder (52-55). I denne sammenhengen betyr barnløse ikke bare at de er infertile, men også at de ikke er etablert med barn (51). Grasdahl og Lommerud (2019) viser i sin studie om norske barnløse menn i kohorter født t.o.m. 1974, at flere barnløse menn bor alene eller sammen med egne foreldre, er uføretrygdet, har dårligere helse, har lavere inntekt og at flere får barn etter at de har fylt 40 år sammenlignet med menn som er etablert med barn (51). De har også lavere utdanning (grunnskole), og de dør tidligere sammenlignet med menn som er etablert med barn (56). Tilsvarende studier av kvinner, både norske og utenlandske, av Kravdal, Grundy og Skirbekk (2017) og Rostad, Schei og Sundby (2006) og Senapati (2018), viser at barnløshet er forbundet med dårligere helse, slik som hos menn. Flere barnløse kvinner bruker antidepressiva (53), har alkoholproblemer (54), har høyere risiko for hjerte- karsykdommer og tidlig død, sammenlignet med kvinner som er etablert med barn (55).

Det er også sosiale ulikheter mellom barnløse kvinner og barnløse menn. Det er mange flere barnløse menn enn kvinner, og andelen barnløse menn har økt mest (39, 56). Rapporten «Fallende fruktbarhet i Norge» viser at menn født i 1973 i Norge i gjennomsnitt hadde fått 1,71 barn da de var 45 år, mot 1,98 barn blant kvinner på 45 år. Det tilsvarer at 24 % av de 45-årige mennene i dette kullet var barnløse, mens bare 13 % av kvinnene i samme årskullet var barnløse (39). Økningen i andelen barnløse menn sammenlignet med kvinner, er ikke unik for norske menn. I Danmark er 20 % av 50 år gamle menn barnløse, mens 12 % av 50 år gamle kvinner er barnløse (56). Den samme utviklingen ser vi også Sverige og flere land i Vest-Europa (52). Denne forskjellen i andel barnløse menn sammenlignet med barnløse kvinner, kan gjenspeile mennenes forsørgerevne som er en viktig faktor for kvinner i valg av partner, og at noen menn får barn med flere kvinner (52).

2.5.3 Færre barn – færre yrkesaktive

Ifølge Bioteknologirådet er det grunn til bekymring over at det fødes færre barn, at alderen for førstegangsfødende stiger, og at det i tillegg er en større andel som trenger hjelp ved assistert befruktning (17). Når det fødes færre barn, skjer det en forskyvning av aldersfordelingen i befolkningen (57). Gjennomsnittsalderen i befolkningen øker, og antallet i høyere aldersgrupper øker mer enn antallet i lavere aldersgrupper (57). De eldre vil i tillegg til å øke i antall også utgjøre en større andel av befolkningen (57). Aldringen i en befolkning kan måles på ulike måter, for eksempel som eldreforsørgerbyrde (57). Ved beregning av eldreforsørgerbyrde, blir antall eldre delt på antall personer i yrkesaktiv alder, og eldreforsørgerbyrden var 0,23 i 2015, det vil si at vi har 23 eldre per 100 i yrkesaktiv alder (57). Det forventes en økning i fremtiden, til så mye som 0,5 i år 2100, altså 50 eldre per 100 i yrkesaktiv alder (57).

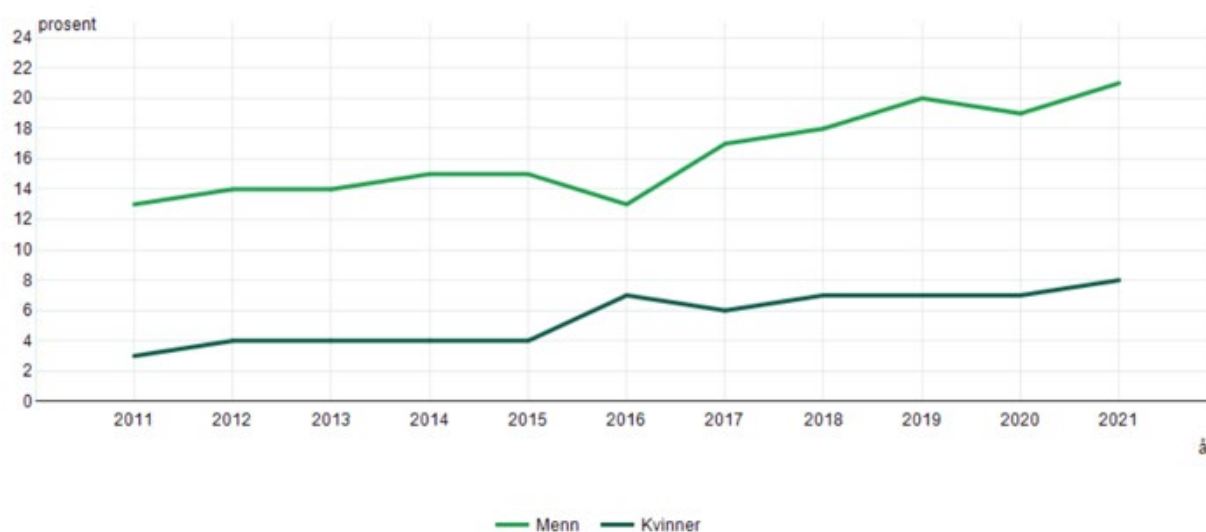
2.6 Snus, utbredelse og forebyggende tobakksstrategier

2.6.1 Snus og utbredelse

Snus er røykfri tobakk som tradisjonelt sett plasseres under overleppen (58). Snus inneholder nitrosaminer (kreftfremkallende organiske forbindelser) (58), tobakk, vann, salt, aromaer, fuktbevarende stoffer og pH-regulerende stoffer (59). Det finnes ulike typer snus i verden, men det er svensk snus som er mest utbredt i Norge. Svensk snus skiller seg fra amerikansk snus ved at tobakken varmes opp og dreper bakterier, mens den amerikanske er fermentert (58). Måten snus blir produsert og oppbevart, avgjør hvor skadelig snusen er. I Sverige er det i tillegg laget en kvalitetsstandard for maksimumsgrense for mengden av de ulike innholdsstoffene i snusen (58).

I Norge er bruk av snus svært utbredt. Andelen røykere i befolkningen har gått ned i løpet av de siste tiårene i Norge, men det er en tilsvarende økning i snusbruk (60).

- 15 % av befolkningen mellom 16 og 74 år bruker snus til daglig (2021) (60).
- 21 % av menn og 8 % av kvinner bruker snus daglig (2021) (60).



Figur 8 Bruker snus daglig (%), etter kjønn og år. I alt 16-74 år. Kilde: SSB

Det har vært en betydelig økning i snusbruk de siste 10 årene blant unge i alderen 25-34 år (60).

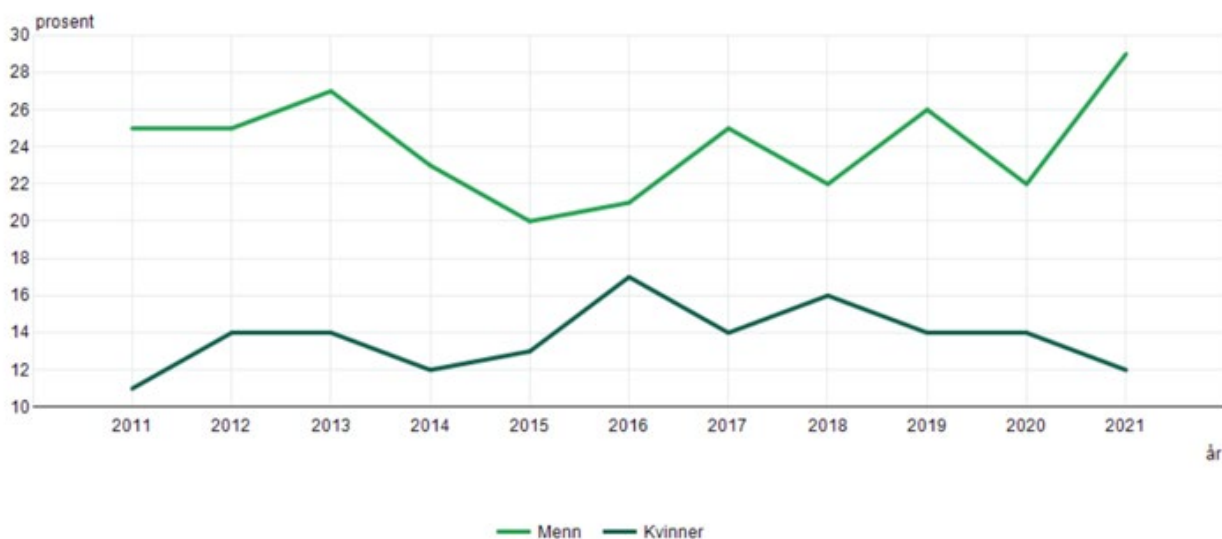
- 25 % av befolkningen mellom 25-34 år bruker snus til daglig (2021) (60).
- Omtrent 33 % menn og 16 % kvinner i samme aldersgruppe (2021) (60).



Figur 9 Bruker snus daglig (%), etter kjønn og år. I alt 25-34 år. Kilde: SSB

Det er de yngste mennene som har hatt den største økningen i daglig bruk av snus (60).

- 21 % av befolkningen mellom 16 og 24 år bruker snus til daglig (2021) (60).
- 29 % av menn og 12 % av kvinner i aldersgruppen 16-24 år bruker snus daglig (2021) (60).



Figur 10 Bruker snus daglig (%), etter kjønn og år. I alt 16-24 år. Kilde: SSB

2.6.2 Lovverk og strategier for reduksjon av tobakksbruk

I Norge har Helse – og omsorgsdepartementet det overordnede ansvaret for blant annet landets helsepolitikk, folkehelse og helsetjenester (61). Det føres en helhetlig tobakkspolitikk i Norge, og mange ulike tiltak gjennomføres parallelt (61). Disse tiltakene er lovreguleringer som røykeloven (62) og folkehelseloven (63), stortingsmelding nr. 19 «Folkehelsemeldinga, gode liv i eit trygt samfunn» (64) og internasjonalt samarbeid med blant annet WHO (65) og EU (66). I Folkehelseloven defineres folkehelse som “befolkningens helsetilstand og hvordan helse fordeler seg i en befolkning” (63), og Folkehelseloven har som formål å bidra til en samfunnsutvikling som fremmer folkehelse, og utjevner sosiale helseforskjeller (63, 67). I stortingsmelding nr. 19 «Folkehelsemeldinga, gode liv i eit trygt samfunn», la regjeringen frem en ny tobakksstrategi for perioden 2018-2021 (64). I den forbindelse har Norge sluttet seg til FNs bærekraftsmål om å redusere NCD (Noncommunicable diseases / Ikke-smittsomme sykdommer) (64, 68). Målet er 30 % reduksjon i tobakksforbruk frem mot 2025 (68). Norge ønsker å bidra til å oppfylle disse internasjonale forpliktelsene som også innebærer å redusere NCD-dødsfall med 1/3 frem mot 2030 (68). For å kunne nå disse målene, har regjeringen laget denne nye tobakksstrategien som hadde som mål for 2021:

- Prosentandelen dagligrøykere skal være under 10 % i 2021 (68).
- Bruk av snus blant unge, skal ikke øke i 2021 (68).
- Økt kunnskap om bruk av tobakk blant gravide (68).

Et langsiktig mål er en generasjon som ikke er avhengig av tobakk (68). Evaluering, oppfølging og videre planlegging av den nye tobakkstrategien skal etter planen gjennomføres i løpet av 2022 (64, 68)

Dagens røykelov (62) trådte opprinnelig i kraft i 1975 og ble endret i 2004. Til tross for stor motstand, politisk og blant innbyggerne, fikk forslaget om store endringer i røykeloven gjennomslag i Storting og regjering i 2004. Bakgrunnen for endringene i røykeloven tok utgangspunkt i at ansatte i restaurant- og utelivsbransjen skulle få et bedre arbeidsmiljø (69). Det har kommet til flere utvidede tiltak mot røyking ute på offentlige steder i loven etter 2004 (62).

Flere tiltak for å redusere bruk av snus har i de senere årene blitt gjennomført, og ett av disse tiltakene er totalforbud mot snusing i skolen (70, 71). Bakgrunnen for forbudet var undersøkelser som antydte sammenheng mellom snusbruk og nikotinavhengighet, høyere risiko for kreft i bukspyttkjertel og spiserør, samt høyere risiko for høyt blodtrykk for hjertepasienter, sammenlignet med ikke-snusbrukere (70, 71). Helsedirektoratets tiltak mot snus ble presentert som folkehelsetiltak for å bremse snusbruken hos unge, og designet på snuseskene ble endret (70, 71). Etter at det ble publisert studier som viste sammenhenger mellom snusbruk i svangerskap og forhøyet risiko for svangerskapsavbrudd og lav fødselsvekt har snusbruken blant unge kvinner i aldersgruppen 16-24 år flatet ut, men man vet ikke om det er tiltakene som er årsaken til det (70, 71).

2.7. Tobakksbruk i svangerskap - konsekvenser

Det er gjort mange studier på røyking i svangerskap. Røyking i svangerskap er en kjent risikofaktor for komplikasjoner knyttet til svangerskap, fødsel og helsen til det nyfødte barnet. Gravide som røyker har høyere risiko for tidlig fødsel (72, 73), lav fødselsvekt (72, 73), morkake komplikasjoner og høyere risiko for misdannelser, veksthemming og krybbedød (74). For gravide som røyker er det også en høyere risiko for dødfødsel (74-76).

Det er også gjort studier på kvinner som røyker og resultat etter IVF – behandling. Kvinner som røyker under IVF - behandling har lavere fødselsrate (75, 77, 78), lavere graviditetsrate (75, 77) og flere spontanaborter (75, 77). I tillegg tyder studier på at kvinner som røyker under IVF - behandling får færre egg ved eggthenting (75, 78-80), færre befruktete egg (78, 79), og færre embryo med god kvalitet (79, 80), sammenlignet med kvinner som ikke røyker. Flere studier har motstridene resultater, hvor en finner at kvinnens røyking under IVF-behandling ikke er forbundet med komplikasjoner under svangerskap og fødsel (78, 79, 81).

Studier av snusbruk i svangerskap og fødsel tyder på at det er en høyere risiko for preterm fødsel (72, 73, 82), svangerskapsforgiftning (73), lav fødselsvekt (73, 82, 83) og dødfødsel (76, 82).

Det finnes ingen studier av snusbruk hos unge i fertil alder og eventuell påvirkning på fertiliteten og resultat etter IVF-behandling. Men fordi det er en økning i bruk av snus blant kvinner under svangerskap (84), vil mer forskning på snusbruk og fertilitet være til stor nytte

Kunnskap om at gravide ikke bør snuse under graviditeten er godt dokumentert i flere studier, men det er imidlertid skrevet lite om snusbruk før graviditet, og det finnes heller ingen anbefalinger til de som forsøker å bli gravide om hvorvidt de bør slutte med snus (85). I 2019 var det oppgitt på Helsedirektoratet sine sider at snusbruk blant gravide ikke har blitt kartlagt så langt (48), men ifølge FHI registreres snusbruk hos mor på alle helsekort under svangerskapet i dag. Foreløpig foreligger det ingen nasjonal statistikk for snusbruk under svangerskapet (86).

2.8 Tobakk- og livsstilsvaner – konsekvenser for sædkvaliteten

I behandling med assistert befruktning, anses mannlig infertilitet å være årsak til parets infertilitet i omtrent 1/3 av tilfellene (1). I de siste 30 årene, har sædkvaliteten blitt kraftig redusert på verdensbasis (87). Sædkvaliteten i Europa falt med over 30 % i perioden 1965 til 2015 (88). Miljøfaktorer (som for eksempel stråling og pesticider) og livsstilsfaktorer (som for eksempel fedme, tobakk, alkohol og stress) (87) kan være årsaker til nedgangen i sædkvaliteten. Studier viser at menn som røyker (89) og menn som røyker kombinert med høy KMI har redusert sædkvalitet (90) og menn med lav fysisk aktivitet er assosiert med redusert sædkvalitet (90). Redusert sædkvalitet påvirker volum, konsentrasjon og motilitet (89-91).

Menn med dårlig helse (kroniske lidelser og andre kormobiditeter) er også forbundet med høyere risiko for tidlig fødsel (91), spontanaborter (91) og dødfødsler (91). Studie av Pärn (2015) tyder også på at mannens snusbruk er assosiert med nedsatt sædkvalitet (90), men det

er mangel på studier med god kvalitet som omhandler livsstil og utfall etter IVF-behandling (92).

3 Problemstilling

Hensikten med studien var å undersøke om kvinnens snusbruk er forbundet med resultatet av behandling med assistert befruktning, inkludert antall egg ved eggthenting, antall og andel befruktede egg og antall og andel embryo med god kvalitet som endepunkt.

4 Metode

4.1 Arbeidsmetodikk, studiepopulasjon og informasjonskilder

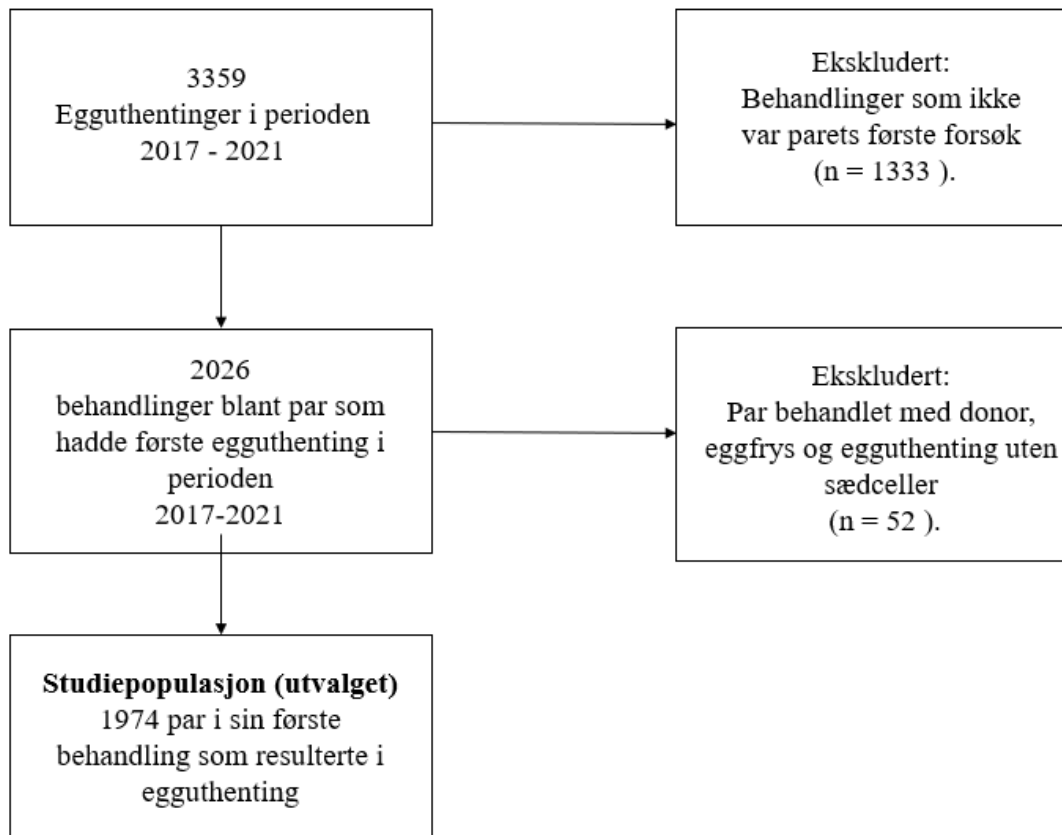
4.1.1 Arbeidsmetodikk og prosedyrer som gjøres i laboratoriet

Ved Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital, gjennomføres omtrent 800 eggthentinger og 850 fryseforsøk i løpet av et år (i 2021 gjennomførte Fertilitetsseksjonen 771 eggthentinger og 846 fryseforsøk). Fertilitetsseksjonens laboratorium håndterer, vurderer og lagrer pasientenes biologiske materiale. Opplysninger som observeres i løpet av perioden cellene dyrkes i laboratoriet dokumenteres i seksjonens fagsystem, Linnefiler. Linnefiler er et fagsystem som er spesiallaget for lagring av informasjon om utredning og behandling ved fertilitetssklinikker. Dette systemet inneholder opplysninger om hver enkelt eggcelle før befruktning, selve befruktningen, embryoutvikling og eventuell frys og innsetting av embryo. I tillegg er kvalitet, prepareringsmetode og annen relevant informasjon om sædcellene grundig beskrevet. Under utredning av pasientene som får tilbud om behandling, innhentes og vurderes pasientene klinisk og psykososialt. Opplysninger om mannen og kvinnen, som blant annet alder, snusbruk, røyking og vekt blir dokumentert som en del av helhetsvurderingen.

4.1.2 Vurdering av embryokvalitet

Nøyaktig vurdering og klassifikasjon av embryokvalitet er en viktig forutsetning for å lykkes med infertilitetsbehandling (93). Den europeiske foreningen for assistert befruktning, European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), har utviklet et klassifikasjonssystem for embryokvalitet, "Atlas of human embryology" (94). Dette systemet brukes av embryologer til å velge ut det embryoet som kan gi det beste resultatet. Klassifikasjonssystemet har flere parametere som vurderes, blant annet antall blastomerer (antall celler i embryoet), grad av fragmentering (cellerester inne i embryoet som kan være hemmende for videre utvikling av embryoet), ekspansjonsgrad (embryoets størrelse og utviklingsstadium) og kvalitet på indre cellemasse (kommende fosterceller) og ytre cellemasse (kommende morkakeceller) (94). Selv om vi har et godt morfologisk vurderingssystem, vil ikke denne metoden garantere for fullstendig pålitelige resultater, fordi det alltid vil være en subjektiv påvirkning av den som gjør vurderingene (13). Studier av Rocha (2016) og Richardson (2015) viser at vurderingsforskjellen mellom den samme embryologen som vurderer de samme embryoene etter 2-4 måneder (intraobservatørsamsvar) eller sammenligning mellom flere embryologer som vurderer de samme embryoene (interobservatørsamsvar), kan være stor (13, 93). Richardson (2015), viste at det er størst ulikhet mellom embryo vurdert til middelskvalitet, og at det var mest samsvar mellom vurderingene ved vurdering av embryo som hadde svært god kvalitet eller svært dårlig kvalitet (93).

4.1.3 Utvalget



Figur 11 Flytskjema for utvalget

Alle behandlinger med egguthenting i perioden 2017-2021 ble inkludert i tallmaterialet i oppgaven. Dette tilsvarte 3359 behandlinger. Eventuelle fryseforsøk som tilhørte behandlingene, var ikke inkludert. Flere par kommer til behandling flere ganger i løpet av ett eller flere år, men vi valgte kun å inkludere parets første egguthenting, slik at parene var sammenlignbare. Etter ekskludering av alle behandlinger som ikke var parenes første egguthenting, var antallet redusert til 2026 par. I tillegg ekskluderte vi alle behandlinger med egguthenting uten funn av sædceller, eggfrys eller bruk av donor. Vi endte opp med en studiepopulasjon på 1974 unike par som hadde egguthenting i perioden 2017-2021.

Kun par med ulike kjønn er inkludert i studiepopulasjonen.

4.1.4 Uthenting av informasjon i Linnefiler

Det er mulig å hente ut informasjon om pasientene fra infertilitetsutredning, og pasientenes informasjon om egg, sæd og embryoutvikling, fra Linnefiler. Ved å velge tidsperiode og filtrere på ønskede variabler, genereres data som kan overføres til Excel-filer.

4.2 Variabler og statistiske analyser

4.2.1 Registrering og kategorisering av variabler

I studiet, brukte vi snus som eksponeringsvariabelen vi ønsket å studere, og som uavhengige variabler valgte vi kvinnen og mannens alder, KMI, røykevaner og år for egguthenting. Informasjon om snusbruk og røyking hos mannen og kvinnen ble innhentet ved poliklinisk utredning. Snus og røyk er registrert som ja eller nei, og kvinnen og mannens snusbruk og røykevaner er ikke gradert i studien fordi detaljert informasjon om mengde snus og røyk ikke er registrert i Linnefiler. Alder ved stimulering og egguthenting blir automatisk beregnet av Linnefiler basert på registrert fødselsår og når dato for egguthenting registreres. Alder og år for egguthenting er registrert i hele år. Vekt og høyde blir registrert ved et egenerklæringsskjema ved inntak til behandling, og kan justeres ved poliklinisk utredning. KMI blir automatisk beregnet i Linnefiler ut ifra oppgitt vekt og høyde. I studien ble KMI delt inn i følgende tre kategorier $< 25 \text{ Kg/m}^2$, $25,0\text{-}29,9 \text{ Kg/m}^2$, $> 30 \text{ Kg/m}^2$ (95).

Det ble undersøkt om det var mest hensiktsmessig å bruke alder som kontinuerlig eller kategorisk variabel, og vi valgte å bruke alder som kontinuerlig variabel for å redusere antall frihetsgrader og fordi bruk av kontinuerlig muligens gir mindre restkonfundering. Det ble også undersøkt om det var best å bruke KMI som kontinuerlig eller kategorisk variabel, og vi valgte KMI som kategorisk variabel, fordi den hadde større betydning i analysen.

4.2.2 Statistiske analyser

Deskriptive sammenlikninger og lineære regresjonsanalyser ble gjort i STATA. Vi brukte lineære regresjonsanalyser for å undersøke om snusbruk er forbundet med resultatet av behandling med assistert befruktning. I de lineære regresjonsanalysene var snus eksponeringsvariabel og totalt antall egg, antall og andel befruktete egg, og antall og andel embryo med god kvalitet var utfallsvariabler. I regresjonsanalysene beregnet vi forskjeller i gjennomsnittlig antall og andeler (punktestimater) mellom kategorier av snus, med 95 % konfidensintervall som mål på presisjon (96).

Valget av de andre variablene i studien er basert på tidligere tilegnet kunnskap på fagområdet. Alder ble valgt som kovariat fordi det er en lineær sammenheng mellom alder og antall egg, som beskrevet i kapittelet om bakgrunn. KMI ble valgt som kovariat fordi høy KMI blant annet kan påvirke kvinnens hormoner, eggkvalitet og livmorslimhinne (97). Røyking ble også valgt som variabel, fordi røyking har betydning for svangerskap og fødsel, som beskrevet i bakgrunns kapittelet. År for egguthenting ble tatt med som kovariat fordi det ved sammenligning av årene i perioden 2017-2021, ble observert en gjennomsnittlig forskjell på mer enn ett egg mellom enkelte år.

Vi fjernet alle par med ukjent verdi for minst en variabel i analysen. For kvinnens og mannens snusbruk, brukte vi den registrerte informasjonen direkte. Disse kombinerte vi deretter i en variabel for parets snusbruk. For par hvor vi manglet informasjon om snusbruk hos kvinnen, men hadde informasjon om at mannen snuste, antok vi at kvinnen ikke snuste. Tilsvarende antok vi at mannen ikke snuste, når kvinnens snusbruk i paret var registrert, men informasjon om mannens snusbruk manglet. Ved samtale med personalet ved Fertilitetsseksjonen, fant vi

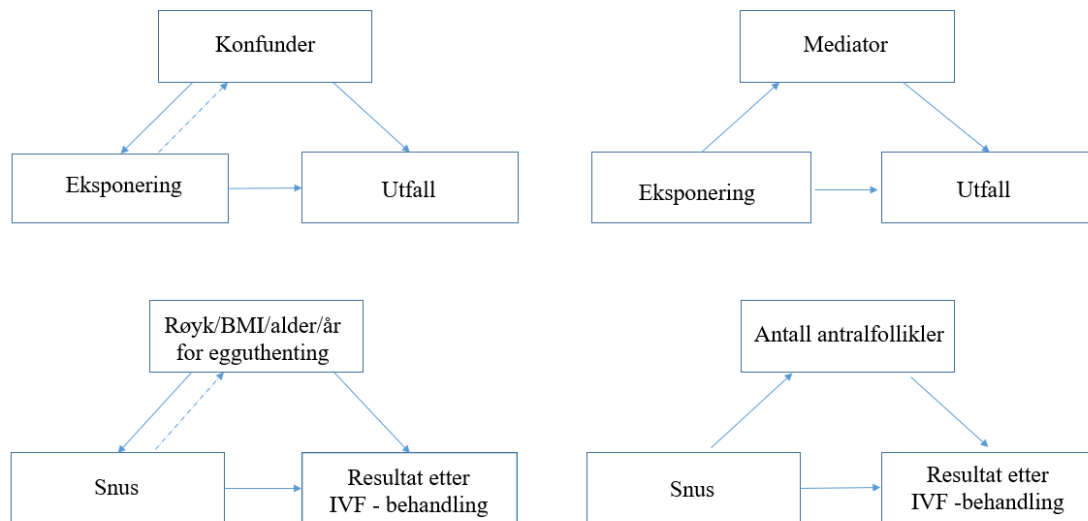
ut at travle hverdager kan være årsaken til den manglende oppdaterte informasjonen, og kan føre til at kun den eksponerte parten registreres i Linnefiler. Par hvor kvinnen hadde lav KMI ($< 18,5 \text{ Kg/m}^2$) og par hvor kvinnen hadde normal KMI ($18,5\text{-}24,9 \text{ Kg/m}^2$) ble slått sammen til én kategori KMI $< 25 \text{ Kg/m}^2$) på grunn av få observasjoner i gruppen med lav KMI. For kvinnen og mannens alder, røykevaner og år for eggthenting, brukte vi den registrerte informasjonen direkte.

4.2.3 Mannens snusbruk som negativ kontroll

Vi valgte å analysere både antall og andeler i våre analyser. Ved å se både på andeler og antall ville vi kunne se hvilke av utfallene som ble mest påvirket av parets snusbruk. Ved Fertilitetsseksjonen forventes det å ta ut gjennomsnittlig 10 egg ved eggthenting, på bakgrunn av at pasientenes stimuleringsprotokoll beregnes til å få 11-12 egg ved eggthenting (Sigrun Kjørød, epost, Fertilitetsseksjonen, 11.05.2022). Ved laboratoriet ved Fertilitetsseksjonen følger vi anbefalingene som er beskrevet i The Vienna consensus, både når det gjelder anbefalte referanseområder for andel befruktete egg og andel embryo med god kvalitet (98).

Negativ kontroll ble brukt i denne oppgaven som en alternativ metode for å kontrollere for umålte konfundere og styrke studiens mulighet for å avdekke eventuelle ikke-kausale sammenhenger (99). Negativ kontroll benyttes blant annet i epidemiologiske studier, fordi ikke-kausale sammenhenger er en utfordring for validiteten i observasjonsstudier, og ved å gjøre negative kontroller kan ikke-kausale sammenhenger identifiseres og løses (99). I studien ble sammenhengen mellom mannens snusbruk og antall egg hos kvinnen, brukt som negativ kontroll. I utgangspunktet forventer vi ikke at mannens snusbruk påvirker hvor mange egg kvinnen får ved eggthenting i infertilitetsbehandling. Dersom vi likevel finner en slik sammenheng, er det grunn til å mistenke at mannens snusbruk kan være en markør for andre livsstilsfaktorer som er felles for paret og konfunderer sammenhengen mellom kvinnens snusbruk og behandlingsresultat (99, 100). Ved å se på andel fjerner vi effekten av eggkvalitet og eggproduksjon. Mannen påvirker i utgangspunktet kun etter befruktning og ved embryoutvikling fordi det er først da sædcellene er involvert, og kan være et mål på mannens fruktbarhet.

4.2.4 Konfunder eller mediator?



Figur 12 Oversikt over konfundere og mediatorer.

Relasjonen mellom mulige kovariater, eksponeringsvariabelen og utfallsvariabelen, avgjør om disse er konfundere eller mediatorer. En konfunder kjennetegnes ved at den er en felles årsak til utfallet og eksponeringen, det vil si forbundet med begge, men ikke en konsekvens av dem. En mediator er et resultat av eksponeringsvariabelen og kan selv påvirke utfallet, men kan ikke påvirkes av utfallet. En mediator fører ikke til feil, i motsetning til en konfunder, og det er ikke mulig å teste statistisk om en variabel er en konfunder eller en mediator (96)

Vi valgte å studere snus (eksponeringsvariabelen), med antall egg, antall og andel befruktete egg og antall og andel gode embryo som utfallsvariabler. De uavhengige variablene vi valgte å justere for i analysene, var alder, KMI, røyk og år for eggthenting. Alle disse fire uavhengige variablene så ut til å påvirke utfallet og hadde en relasjon til eksponeringsvariabelen, og ble ansett som konfunderende variabler (figur 12).

Vi anser antall antralfollikler som en mediator, fordi vi vet at røyk kan påvirke AMH-verdien, og antralfollikkel-telling har en sammenheng med AMH-verdien (101).

4.3 Forskningsetikk

Denne studien er godkjent av REK med REK-nummer 68788. Det ble gitt fritak fra kravet om innhenting av samtykke.

Stevanovics «Effekt av snus på fruktbarhet», som denne studien er en del av, er godkjent av REK med REK-nummer 31653. Kun avidentifiserte data har vært brukt i analysene (hvert par får et løpenummer i filen som hentes ut fra Linnefiler og fødselsnummer fjernes). Resultatene presenteres på gruppenivå og for kombinasjoner av variabler med < 5 par i hver celle, har vi valgt å lage bredere kategorier eller unngå å vise nøyaktig antall observasjoner for å redusere risiko for bakveisidentifisering.

Studien ble godkjent av kvinneklinikken (Kjell Salvesen, epost, 20.08.2020), og dataene som ble samlet inn i forbindelse med studien, fikk tildelt sikkert lagringsområde på St. Olavs hospital ved hjelp av HEMIT (Leverandør av IT - system) (Berit Bjelkåsen, epost, 30.09.2020).

5 Resultater

5.1 Beskrivelse av studiepopulasjonen

I vår studiepopulasjon i perioden 2017 – 2021 var 1974 par til første behandling med assistert befruktning ved Fertilitetsseksjonen, St Olavs hospital (tabell 1). Blant disse var 1228 par hvor ingen av partene snuste (62,2 %), 389 par hvor kun mannen snuste (19,7 %), 87 par hvor kun kvinnen snuste (4,4 %) og 117 par hvor begge snuste (5,9). Vi manglet informasjon om snusbruk (begge ukjent) hos 153 par (7,8 %).

For studiepopulasjonen samlet var gjennomsnittlig alder 31,9 år for kvinnene og 34,8 år for mennene. Par hvor minst en av partene brukte snus, hadde lavere gjennomsnittsalder for både menn og kvinner, sammenliknet med par hvor ingen brukte snus. Par hvor begge brukte snus, hadde den laveste gjennomsnittsalderen av alle gruppene. Andelen menn i aldersgruppen >40 år var betydelig høyere (20,8 %) enn for kvinner > 40 år (4,2 %). Likeså var andelen kvinner i aldersgruppen <30 år over 10 prosentpoeng større sammenliknet med samme aldersgruppe hos mennene. Blant både kvinner og menn utgjorde aldersgruppen 30-34 år den største gruppen i alle kategorier av snusbruk, med unntak av parene der begge snuste, hvor kvinner < 29 år var den største aldersgruppen.

Tabell 1 viser at menn hadde høyere gjennomsnittlig KMI enn kvinner (totalt 26,6 kg/m² versus 24,2 kg/m²) i studiepopulasjonen, og den største andelen menn var representert i KMI-kategorien 25,0-29,9 kg/m² i alle snuskategoriene. Mennenes gjennomsnittlige KMI-verdi var høyest i parene hvor minst en av partene snuste. Over halvparten av kvinnene hadde normal til lav KMI (62,9 %), med flest kvinner med KMI < 25 kg/ m² i kategorien hvor ingen snuste (63,8 %) og færrest kvinner med KMI < 25 kg/ m² blant par hvor kun kvinnen snuste (56,3 %). Totalt sett var det små forskjeller i gjennomsnittlig KMI-verdi i de ulike snuskategoriene blant kvinnene og mennene. Det manglet kun informasjon om mannens KMI (KMI ukjent) i ca. 6,5 % av parene. 62,9 % av alle kvinnene hadde KMI-verdi innen lav til normalområdet.

Gjennomsnittlig AMH-verdi for kvinnene var 23,8 pmol. Den laveste gjennomsnittlige AMH-verdien hadde kvinner i par hvor begge snuser (22,8 pmol) 64,7 % av alle kvinnene hadde AMH-verdi innen normalområdet (5 – 30 pmol).

Tabell 1 viser at det var klart flere menn (7,2 %) enn kvinner (4,2 %) av de få som røykte i studiepopulasjonen. Røyking var vanligere i par hvor den andre parten snuste, med unntak av par med ukjent snusbruk. Det manglet informasjon om mannens røykevaner for 10,8 % av parene, og om kvinnens røykevaner for 5,6 % av parene.

Tabell 1. Beskrivelse av studiepopulasjonen i første behandling som resulterte i eggthenting for par i infertilitetsbehandling i perioden 2017 – 2021 ved en norsk fertilitetsklinikk.

	Ingen snuser	Kun mann snuser	Kun kvinne snuser	Begge snuser	Begge ukjent	Totalt
Antall par*	1228 (62,2)	389 (19,7)	87 (4,4)	117 (5,9)	153 (7,8)	1974
Kvinnens alder						
<30 år	356 (29,0)	142 (36,5)	29 (33,3)	48 (41,0)	41 (26,8)	616 (31,2)
30-34 år	460 (37,5)	150 (38,7)	41 (47,1)	45 (38,5)	61 (39,9)	757 (38,3)
35-39 år	356 (29,0)	84 (21,6)	14 (15,9)	21 (17,9)	43 (28,1)	518 (26,2)
>40 år	56 (4,6)	13 (3,3)	3 (3,4)	3 (2,6)	8 (5,2)	83 (4,2)
Gj.snitt, år (SD)	32,3 (4,4)	31,3 (4,4)	31,0 (4,3)	30,6 (4,4)	32,3 (4,3)	31,9 (4,4)
Mannens alder						
<30 år	240 (19,5)	75 (19,3)	24 (27,3)	31 (26,5)	28 (18,3)	398 (20,2)
30-34 år	400 (32,6)	144 (37,0)	32 (37,5)	39 (33,3)	55 (35,9)	670 (33,9)
35-39 år	321 (26,1)	97 (24,9)	17 (19,3)	27 (23,1)	34 (22,2)	496 (25,1)
>40 år	267 (21,7)	73 (18,8)	14 (15,9)	20 (17,1)	36 (23,5)	410 (20,8)
Gj.snitt (SD)	35,0 (6,2)	34,5 (6,0)	33,8 (5,8)	33,6 (5,7)	35,1 (6,2)	34,8 (6,2)
Kvinnens KMI, Kg/m²						
<25	784 (63,8)	238 (61,2)	49 (56,3)	72 (61,5)	99 (64,7)	1241 (62,9)
25,0-29,9	309 (25,2)	103 (26,5)	26 (29,9)	28 (23,9)	38 (24,8)	504 (25,5)
>30	133 (10,8)	48 (12,3)	12 (13,8)	17 (14,5)	16 (10,5)	226 (11,4)
Gj.snitt (SD)	24,2 (3,9)	24,3 (4,0)	24,8 (3,8)	24,4 (4,1)	24,1 (3,8)	24,2 (3,9)
Mannens KMI, Kg/m²						
<25	469 (38,2)	125 (32,1)	27 (31,0)	31 (26,5)	35 (22,9)	687 (34,8)
25,0-29,9	515 (41,9)	182 (46,8)	39 (44,8)	57 (48,7)	48 (31,4)	841 (42,6)
>30	190 (15,5)	72 (18,5)	15 (17,2)	26 (22,2)	15 (9,8)	318 (16,1)
KMI ukjent	54 (4,4)	10 (2,6)	6 (6,9)	3 (2,6)	55 (35,9)	128 (6,5)
Gj.snitt (SD)	26,5 (3,9)	26,9 (3,9)	26,8 (3,7)	27,6 (4,3)	26,5 (3,9)	26,6 (3,9)
Kvinnens AMH						
<5 pmol	116 (9,4)	30 (7,7)	5 (5,7)	7 (6,0)	10 (6,5)	168 (8,5)
5-30 pmol	792 (64,5)	250 (64,3)	60 (69,1)	81 (69,2)	94 (61,4)	1277 (64,7)
>30 pmol	318 (25,9)	107 (27,5)	22 (25,3)	29 (24,8)	48 (31,4)	524 (26,5)
AMH ukjent	<3	<3	<3	<3	<3	5 (0,25)
Gj.snitt (SD)	23,5 (19,9)	24,2 (19,8)	23,2 (17,3)	22,8 (16,4)	26,3 (21,3)	23,8 (19,9)
Kvinne røyk						
Nei	1145 (93,2)	353 (90,7)	82 (94,3)	105 (89,7)	97 (63,4)	1782 (90,2)
Ja	43 (3,5)	21 (5,4)	<3	3 (2,6)	15 (9,8)	83 (4,2)
Røyk ukjent	40 (3,3)	15 (3,9)	4 (4,6)	9 (7,7)	41 (26,8)	109 (5,6)
Mann røyk						
Nei	1075 (87,5)	334 (85,9)	72 (82,8)	88 (75,2)	48 (31,4)	1617 (81,9)
Ja	84 (6,8)	19 (4,9)	8 (9,2)	9 (7,7)	23 (15,0)	143 (7,2)
Røyk ukjent	69 (5,6)	36 (9,3)	7 (8,0)	20 (17,1)	82 (53,6)	214 (10,8)

Cellene viser antall (%) dersom ikke annet er oppgitt. Prosentverdiene i parentes vil ikke alltid bli 100% totalt, på grunn av avrunding til en desimal

5.2 Sammenhengen mellom snusbruk og behandlingsresultat

Det ble gjort ujusterte, aldersjusterte og fulljusterte analyser av behandlingsresultatene i første behandling som resulterte i eggthenting og kvinnens snusbruk (tabell 2), mannens snusbruk (tabell 3) og parets snusbruk (tabell 4).

Tabell 2 viser at gjennomsnittlig antall uthentede egg hos par hvor kvinnen snuste var 10,4 egg. Dette var likt antall egg som i par der ingen snuste. I den ujusterte analysen av antall egg, var den gjennomsnittlige differansen - 0,06, med stor usikkerheten i estimatet (KI -1,03 til 1,02). Estimaten i den aldersjusterte analysen endret seg til - 0,50, men også her var usikkerheten i estimatet stor (KI - 1,5 til 0,49). I den fulljusterte analysen var den gjennomsnittlige differansen - 0,39, med stor usikkerhet i estimatet (- 1,40 til 0,62). Når det gjaldt gjennomsnittlig antall befruktete egg, hadde par hvor kvinnen snuste lavere gjennomsnitt (6,1 befruktete egg) sammenlignet med par hvor kvinnen ikke snuste (6,3 befruktete egg). I den ujusterte analysen for antall befruktete egg, var den gjennomsnittlige differansen - 0,20, men med usikkerhet i estimatet (KI - 0,93 til 0,54). Den aldersjusterte analysen viste en endring i gjennomsnittlig differanse til - 0,48, også her med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,21 til 0,24). Den fulljusterte analysen hadde en differanse på - 0,38 med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,11 til 0,35). Ved gjennomsnittlig antall embryo med god kvalitet, hadde par der kvinnen snuste et lavere gjennomsnitt (3,1 embryo med god kvalitet) sammenlignet med par hvor kvinnen ikke snuste (3,3 embryo med god kvalitet). Videre viste den ujusterte gjennomsnittlige differansen - 0,13 for par hvor kvinnen snuste, men med usikkerhet i estimatet (KI - 0,57 til 0,31). Den aldersjusterte analysen viste en differanse på - 0,29 med usikkerhet i estimatet (KI - 0,72 til 0,15), og den fulljusterte analysen viste en differanse på - 0,20 med usikkerhet i estimatet (KI - 0,64 til 0,22). I analysene av andelen befruktete egg og andelen embryo med god kvalitet, fant vi ingen klare sammenhenger. Eksempelvis var den gjennomsnittlige differansen tilnærmet 0,00 i både de ujusterte, alders- og fulljusterte analysene av andel befruktete egg og andel embryo med god kvalitet.

Blant par hvor menn snuste (**tabell 3**), var gjennomsnittlig antall egg 10,6. Dette var gjennomsnittlig høyere sammenlignet med par hvor ingen snuste (10,5 egg). Vi betraktet mannens snusbruk som en markør på kvinnens livsstil, slik at analysene av par der mannen snuste og antall egg hos kvinnen, fungerte som en negativ kontroll (bruken av negativ kontroll er bedre beskrevet i metodekapittelet). I analysene av negativ kontroll, var den gjennomsnittlige differansen 0,10 egg, sammenlignet med par som ikke snuste. Vi så ingen klare sammenhenger i de alders- og fulljusterte analysene. Gjennomsnittlig antall befruktete egg var likt (6,4 befruktete egg) både blant par hvor mannen snuste, og blant par hvor ingen snuste. I de ujusterte, aldersjusterte og fulljusterte analysene av antall befruktete egg, så vi ingen klare sammenhenger, men det var stor usikkerhet i estimatene. Gjennomsnittlig antall embryo med godkvalitet var lavere (3,2 embryo med god kvalitet) hos par hvor mannen snuste sammenlignet med par hvor ingen snuste (3,3 embryo med god kvalitet). Den ujusterte differansen var - 0,12, men med usikkerhet i estimatet (KI - 0,44 til 0,19). Resultatene av de alders- og fulljusterte analysene viste ingen betydelig endring av estimatene. I likhet med tabell 2, fant vi ingen klare sammenhenger i analysene av andelen befruktete egg og andelen embryo med god kvalitet.

Blant par hvor begge snuste (**tabell 4**) var gjennomsnittlig antall egg lavere for par hvor begge snuste (10,3 egg) sammenlignet med par hvor ingen snuste (10,4 egg). I par hvor kun mannen snuste var gjennomsnittlig antall egg høyere (10,6 egg) og det samme gjaldt for par hvor kun kvinnen snuste (10,5 egg) sammenlignet med par der ingen snuste. I den ujusterte analysen av gjennomsnittlig antall egg og par hvor kun mannen snuste, var differansen 0,28 i den ujusterte analysen, med stor usikkerhet i estimatet (KI - 0,51 til 1,09). Denne differansen endret seg til - 0,10 justert for alder, men med stor usikkerhet i estimatet (KI - 0,88 til 0,68), og gjennomsnittlig differanse var - 0,02 i den fulljusterte analysen med stor usikkerhet i estimatet (KI - 0,80 til 0,76). Hos par hvor kun kvinnen snuste og gjennomsnittlig antall egg, var differansen i den ujusterte analysen 0,16 med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,36 til 1,69), som endret seg til - 0,31 i den aldersjusterte analysen med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,80 til 1,17) og - 0,26 i den fulljusterte analysen, men også her var usikkerheten i estimatet svært stor (KI - 1,74 til 1,22). I par hvor begge snuste og gjennomsnittlig antall egg, var differansen - 0,07, sammenlignet med par hvor ingen snuste, men med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,40 til 1,26). Differansen endret seg til - 0,71 i den aldersjusterte analysen med svært stor usikkerhet i estimatet (KI - 2,00 til 0,59), og til - 0,47 i den fulljusterte analysen sammenlignet med par der ingen snuste. Men også her med svært stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,78 til 0,83).

Når det gjaldt antall befruktete egg, var det i gjennomsnitt færre befruktete egg hos par hvor kun kvinnen snuste (5,9) og par hvor begge snuste (6,2) sammenlignet med par hvor ingen snuste (6,3). Par hvor kun mannen snuste hadde høyere gjennomsnittlig antall befruktete egg (6,4). I den ujusterte analysen av par hvor kun mannen snuste og antall befruktete egg var differansen 0,13 sammenlignet med par som ikke snuste, men med usikkerhet i estimatet (KI - 0,45 til 0,71). Differansen endret seg til - 0,08 i den aldersjusterte analysen med stor usikkerhet i estimatet (KI - 0,66 til 0,49) og til - 0,02 i den fulljusterte analysen, men med usikkerhet i estimatet (KI - 0,60 til 0,55). I par hvor kun kvinnen snuste og antall befruktete egg, var differansen - 0,34, sammenlignet med par hvor ingen snuste. Men usikkerheten i estimatet var stor (KI - 1,44 til 0,76). Differansen endret seg til - 0,60 i den aldersjusterte analysen, men med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,69 til 0,49) og i den fulljusterte analysen var differansen endret til - 0,54 men også her var usikkerheten i estimatet stor (KI - 1,62 til 0,54). Hos par hvor begge snuste og antall befruktete egg, var differansen i den ujusterte analysen - 0,12 sammenlignet med par hvor ingen snuste, men med usikkerhet i estimatet (KI - 1,08 til 0,85). Differansen økte i den aldersjusterte analysen til - 0,48, også her med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,44 til 0,47). I den fulljusterte analysen ble differansen endret til - 0,29 sammenlignet med par hvor ingen snuste, men med stor usikkerhet i estimatet (KI - 1,24 til 0,67).

Gjennomsnittlig antall embryo med god kvalitet var lik hos par hvor kun mannen snuste (3,3) sammenlignet med par hvor ingen snuste (3,3) Par hvor kun kvinnen snuste hadde høyere gjennomsnittlig antall embryo med god kvalitet (3,4) og blant par hvor begge snuste, var gjennomsnittet lavere (2,9), sammenlignet med par hvor ingen snuste. I den ujusterte analysen for par hvor kun mannen snuste og antall embryo med god kvalitet, var differansen 0,04 men med usikkerhet i estimatet (KI - 0,30 til 0,39) sammenlignet med par hvor ingen snuste. Differansen endret seg til - 0,07 i den aldersjusterte analysen, men også her med usikkerhet i estimatet (KI - 0,41 til 0,27) og til - 0,01 i den fulljusterte analysen med usikkerhet i estimatet (KI - 0,34 til 0,33). Hos par hvor kun kvinnen snuste og embryo med god kvalitet, var differansen 0,16 sammenlignet med par hvor ingen snuste med usikkerhet i estimatet (KI -

0,50 til 0,82). Differansen endret seg til 0,01 i den aldersjusterte analysen med usikkerhet i estimatet (KI - 0,64 til 0,66) og til 0,08 i den fulljusterte analysen, også her med usikkerhet i estimatet (KI - 0,55 til 0,72). I par hvor begge snuste og antall embryo med god kvalitet, var differansen - 0,37 embryo sammenlignet med par hvor ingen snuste. Men usikkerheten i estimatet var stor (KI - 0,94 til 0,21). Differansen endre seg til - 0,57 i den aldersjusterte analysen, men fortsatt usikkerhet i estimatet (KI - 1,14 til 0,00). I den fulljusterte analysen ble differansen - 0,48, også hermed usikkerhet i estimatet (KI - 1,04 til 0,09).

I likhet med tabell 2 og 3, fant vi ingen klare sammenhenger i analysene av andelen befruktede egg og andelen embryo med god kvalitet i tabell 4.

Tabell 2. Sammenheng mellom kvinnens bruk av snus og behandlingsresultat i første behandling som resulterte i eggthenting for par i infertilitetsbehandling i perioden 2017 – 2021 ved en norsk fertilitetsklinikk.

		Antall	Ujustert gjennomsnitt	Ujustert gjennomsnittlig differanse		Aldersjustert gjennomsnittlig differanse ¹		Fulljustert gjennomsnittlig differanse ²	
				Δ	(95 % KI)	Δ	(95 % KI)	Δ	(95 % KI)
Antall egg	Ikke snus	1617	10,4	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	204	10,4	- 0,06	(- 1,03 til 1,02)	- 0,50	(- 1,5 til 0,49)	- 0,39	(-1,40 til 0,62)
Antall befruktede egg	Ikke snus	1617	6,3	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	204	6,1	- 0,20	(-0,93 til 0,54)	- 0,48	(- 1,21 til 0,24)	- 0,38	(-1,11 til 0,35)
Andel befruktede egg	Ikke snus	1617	0,58	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	204	0,58	0,00	(- 0,04 til 0,03)	- 0,01	(- 0,04 til 0,03)	0,00	(- 0,04 til 0,04)
Antall embryo med god kvalitet	Ikke snus	1617	3,3	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	204	3,1	- 0,13	(- 0,57 til 0,31)	- 0,29	(- 0,72 til 0,15)	- 0,20	(- 0,64 til 0,22)
Andel embryo med god kvalitet	Ikke snus	1617	0,32	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	204	0,32	0,00	(- 0,03 til 0,03)	0,00	(- 0,03 til 0,03)	0,00	(- 0,03 til 0,04)

¹ Kvinnens alder som kontinuerlig variabel. ² Kvinnens alder som kontinuerlig variabel, kvinnens kroppsmasseindeks i kategorier (<25 Kg/m², 25,0 – 29,9 Kg/m², >30 Kg/m²), røyking (ja/nei) og årstall (hvert enkelt år som kategori). KI - konfidensintervall, ref – referansegruppe.

Tabell 3. Sammenheng mellom mannens bruk av snus og behandlingsresultat i første behandling som resulterte i eggthenting i infertilitetsbehandling for par i infertilitetsbehandling i perioden 2017 – 2021 ved en norsk fertilitetsklinikk.

		Antall	Ujustert gjennomsnitt	Ujustert gjennomsnittlig differanse		Aldersjustert gjennomsnittlig differanse ¹		Fulljustert gjennomsnittlig differanse ²	
				Δ	(95 % KI)	Δ	(95 % KI)	Δ	(95 % KI)
Antall egg	Ikke snus	1315	10,5	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	506	10,6	0,10	(- 0,64 til 0,83)	0,01	(- 0,72 til 0,75)	0,18	(- 0,58 til 0,95)
Antall befruktede egg	Ikke snus	1315	6,4	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	506	6,4	0,00	(- 0,53 til 0,53)	- 0,06	(- 0,59 til 0,47)	0,02	(- 0,53 til 0,58)
Andel befruktede egg	Ikke snus	1315	0,59	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	506	0,58	0,00	(- 0,03 til 0,02)	0,00	(- 0,03 til 0,02)	- 0,01	(- 0,03 til 0,02)
Antall embryo med god kvalitet	Ikke snus	1315	3,3	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	506	3,2	- 0,12	(- 0,44 til 0,19)	- 0,16	(- 0,47 til 0,16)	- 0,08	(- 0,40 til 0,24)
Andel embryo med god kvalitet	Ikke snus	1315	0,32	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Snus	506	0,32	0,00	(- 0,02 til 0,02)	0,00	(- 0,02 til 0,02)	0,00	(- 0,02 til 0,03)

¹ Kvinnens alder som kontinuerlig variabel. ² Mannens alder som kontinuerlig variabel, Mannens kroppsmasseindeks i kategorier (<25 Kg/m², 25,0 – 29,9 Kg/m², >30 Kg/m²), røyking (ja/nei) og årstall (hvert enkelt år som kategori). KI - konfidensintervall, ref – referansegruppe.

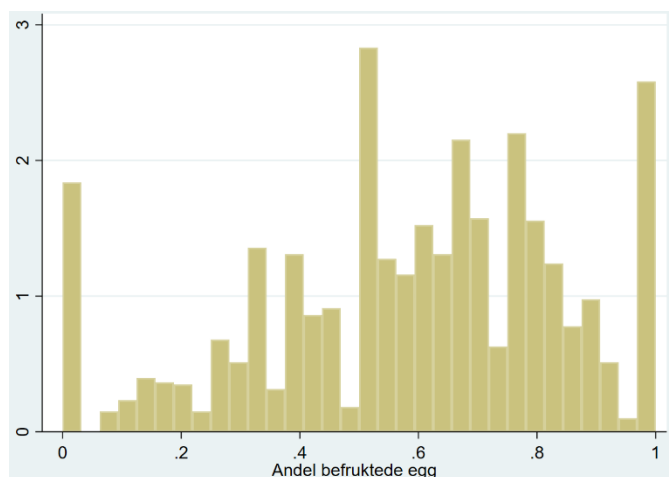
Tabell 4. Sammenheng mellom både kvinnen og mannens bruk av snus og behandlingsresultat i første behandling som resulterte i eggthenting for par i infertilitetsbehandling i perioden 2017 – 2021 ved en norsk fertilitetsklinikk.

		Antall	Ujustert gjennomsnitt	Ujustert		Aldersjustert		Fulljustert	
				gjennomsnittlig differanse		gjennomsnittlig differanse ¹		gjennomsnittlig differanse ²	
				Δ	(95 % KI)	Δ	(95 % KI)	Δ	(95 % KI)
Antall egg	Ikke snus	1228	10,4	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Mann snus	389	10,6	0,28	(- 0,51 til 1,09)	- 0,10	(- 0,88 til 0,68)	- 0,02	(- 0,80 til 0,76)
	Kvinne snus	87	10,5	0,16	(- 1,36 til 1,69)	- 0,31	(- 1,80 til 1,17)	- 0,26	(- 1,74 til 1,22)
	Begge snus	117	10,3	- 0,07	(- 1,40 til 1,26)	- 0,71	(- 2,00 til 0,59)	- 0,47	(- 1,78 til 0,83)
Antall befruktede egg	Ikke snus	1228	6,3	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Mann snus	389	6,4	0,13	(- 0,45 til 0,71)	- 0,08	(- 0,66 til 0,49)	- 0,02	(- 0,60 til 0,55)
	Kvinne snus	87	5,9	- 0,34	(- 1,44 til 0,76)	- 0,60	(- 1,69 til 0,49)	- 0,54	(- 1,62 til 0,54)
	Begge snus	117	6,2	- 0,12	(- 1,08 til 0,85)	- 0,48	(-1,44 til 0,47)	- 0,29	(- 1,24 til 0,67)
Andel befruktede egg	Ikke snus	1228	0,58	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Mann snus	389	0,58	0,00	(- 0,03 til 0,03)	0,00	(- 0,03 til 0,03)	0,00	(- 0,03 til 0,03)
	Kvinne snus	87	0,58	- 0,01	(- 0,07 til 0,05)	- 0,01	(- 0,07 til 0,05)	- 0,01	(- 0,06 til 0,05)
	Begge snus	117	0,58	- 0,01	(- 0,06 til 0,04)	- 0,01	(- 0,06 til 0,04)	0,00	(- 0,05 til 0,05)
Antall embryo med god kvalitet	Ikke snus	1228	3,3	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Mann snus	389	3,3	0,04	(- 0,30 til 0,39)	- 0,07	(- 0,41 til 0,27)	- 0,01	(- 0,34 til 0,33)
	Kvinne snus	87	3,4	0,16	(- 0,50 til 0,82)	0,01	(- 0,64 til 0,66)	0,08	(- 0,55 til 0,72)
	Begge snus	117	2,9	- 0,37	(- 0,94 til 0,21)	- 0,57	(- 1,14 til 0,00)	- 0,48	(- 1,04 til 0,09)
Andel embryo med god kvalitet	Ikke snus	1228	0,32	0	(ref)	0	(ref)	0	(ref)
	Mann snus	389	0,33	0,01	(- 0,02 til 0,03)	0,00	(- 0,02 til 0,03)	0,01	(- 0,01 til 0,04)
	Kvinne snus	87	0,33	0,01	(- 0,03 til 0,06)	0,01	(- 0,03 til 0,06)	0,02	(- 0,03 til 0,07)
	Begge snus	117	0,31	- 0,01	(- 0,05 til 0,04)	- 0,01	(- 0,05 til 0,03)	- 0,01	(- 0,05 til 0,04)

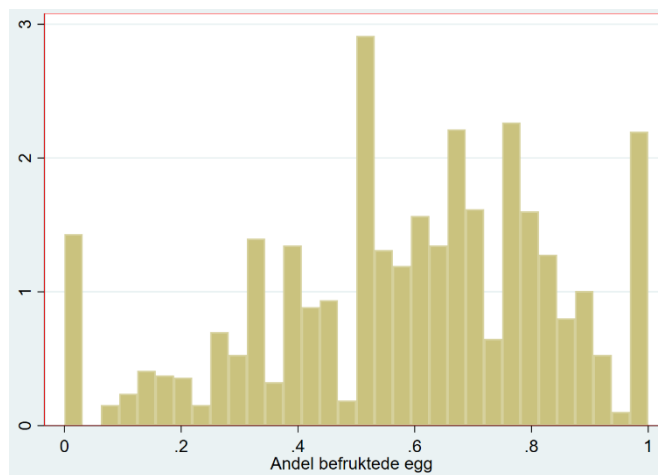
¹ Kvinnens alder som kontinuerlig variabel. ² Mannens alder som kontinuerlig variabel, Mannens kroppsmasseindeks i kategorier (<25 Kg/m², 25,0 – 29,9 Kg/m², >30 Kg/m²), røyking (ja/nei) og årstall (hvert enkelt år som kategori). KI - konfidensintervall, ref – referansegruppe.

5.3 Sensitivitetsanalyser

Vi gjorde flere sensitivitetsanalyser for å undersøke hvor robuste funnene var for ulike antakelser og forutsetninger som ble gjort i hovedanalysene. En sensitivitetsanalyse ble gjort for å se om vi kunne inkludere pasientene som hadde null eller ett egg ved eggthenting i analysene med *andel* befruktede egg (figur 13 og 14).

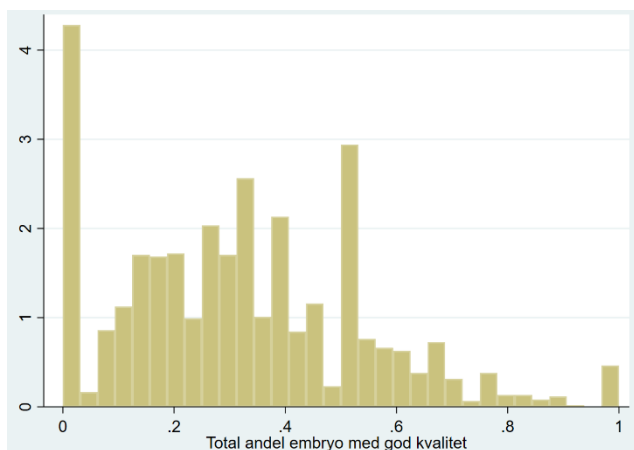


Figur 13 Søylediagram *med* pasienter som hadde null eller ett egg ved eggthenting.

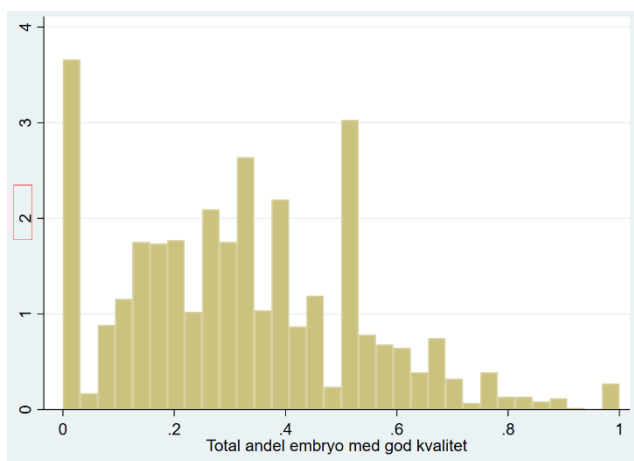


Figur 14 Søylediagram *uten* pasienter som hadde null eller ett egg ved eggthenting.

Andelen befruktede egg, endret seg lite da vi ekskluderte de med null eller ett egg. Figur 13 og 14 viser at de to søylediagrammene er tilnærmet like, og det ble konkludert med at det var riktig å inkludere alle pasienter i analysene av andeler av befruktede egg, uavhengig av antall egg ved eggthenting. Den samme sammenligningen ble også gjort med analysene av andel embryo med god kvalitet (figur 15 og 16).



Figur 15 Søylediagram *med* pasienter som hadde null eller ett egg ved egguthenting.



Figur 16 Søylediagram *uten* pasienter som hadde ett egg ved egguthenting.

Fordelingen av andelen embryo med god kvalitet, endret seg lite da vi ekskluderte de med null eller ett egg. Figur 14 og 15 viser at de to søylediagrammene er tilnærmet like, og det ble konkludert med at det var riktig å inkludere alle pasienter i analysene av andeler embryo med god kvalitet, uavhengig av antall egg ved egguthenting.

6 Diskusjon

6.1 Oppsummering av funn

Hensikten med denne studien var å finne ut om snusbruk påvirker resultatet av behandling med assistert befruktning. Vi fant en negativ sammenheng mellom kvinnens snusbruk, og antall egg, antall befruktete egg og antall embryo med god kvalitet, men den statistiske usikkerheten i resultatene var for stor til å trekke klare konklusjoner. Mannens snusbruk var ikke forbundet med behandlingsresultatet, men også her var den statistiske usikkerheten stor.

Vi så ingen klare sammenhenger mellom snusbruk og andel befruktete egg og andel embryo med god kvalitet. Analysene av andel viser at mannens snusbruk ikke var forbundet med evnen til å befrukte egg eller med embryoutviklingen.

Vi hadde et lavere antall kvinner som snuser i dette utvalget sammenlignet med det som er rapportert for samme aldersgruppe nasjonalt.

6.2 Sammenligning med studier gjort tidligere

Vi har ikke funnet andre studier som studerer effekten av snusbruk på resultat etter behandling med assistert befruktning, men det er gjort mange studier på effekten av røyking og resultat etter behandling med assistert befruktning.

Studiene i meta-analysen til Zhang (2018) inneholdt 28 studier med totalt 5009 kvinner som røykte og 10078 kvinner som ikke røykte, og det var kun kvinner som røykte under behandling som var definert som røykere (78). Studiene var fra årene 1986 til 2012 med utvalgsstørrelse mellom 28 og 8323 par (78). I meta-analysen var det til sammen 16 studier som viste færre egg ved egguthenting og 8 studier viste negativ forskjell i befruktningsrate for røykere sammenliknet med ikke-røykere (78). Zhang (2018) konkluderte med at det var en negativ sammenheng mellom kvinnens røyking og antall egg, og antall befruktete egg (78). Usikkerheten i resultatene var likevel stor på grunn av motstridende resultater i enkelte studier (78). Kun to studier i meta-analysen studerte sammenhengen mellom røyking hos menn og resultat etter IVF- behandling, også her med motstridende resultater (78). Meta-studien konkluderte med at det var ingen klare sammenhenger mellom mannens røykevaner og resultat etter behandling med assistert befruktning (78).

Meta-analysen fra Klonhoff-Cohen (2005) med 22 inkluderte studier, studerte kvinnen og mannens røykevaner og IVF-behandling (79). Antall par i de inkluderte studiene varierte fra 41 til 650 og de var delt inn i røykere og ikke-røykere (79). De fant negativ sammenheng mellom røyking hos kvinnen og resultat etter IVF-behandling (79). Kvinner som røykte hadde færre egg ved egguthenting, redusert befruktningsandel og færre embryo med god kvalitet (79). Det var få studier som studerte sammenhengen mellom mannens røyking og resultat etter behandling med assistert befruktning, og resultatene var motstridende (79). Til tross for inkonsekvente resultater i meta-analysen til Klonhoff-Cohen (2005) (79), ble det konkludert

med at både kvinnen og mannens røyking har negativ påvirkning på resultat etter behandling med assistert befruktning (79).

Meta-analysene Zhang (2018) og Klonhoff-Cohen (2005) viser en negativ sammenheng mellom røyking og resultat etter behandling med assistert befruktning (78, 79). Selv om det kun er mulig å sammenligne røykevaner med snusbruk, og resultat etter behandling med assistert befruktning, ser det ut til at funnene i meta-analysene samsvarer med funnene i vår studie.

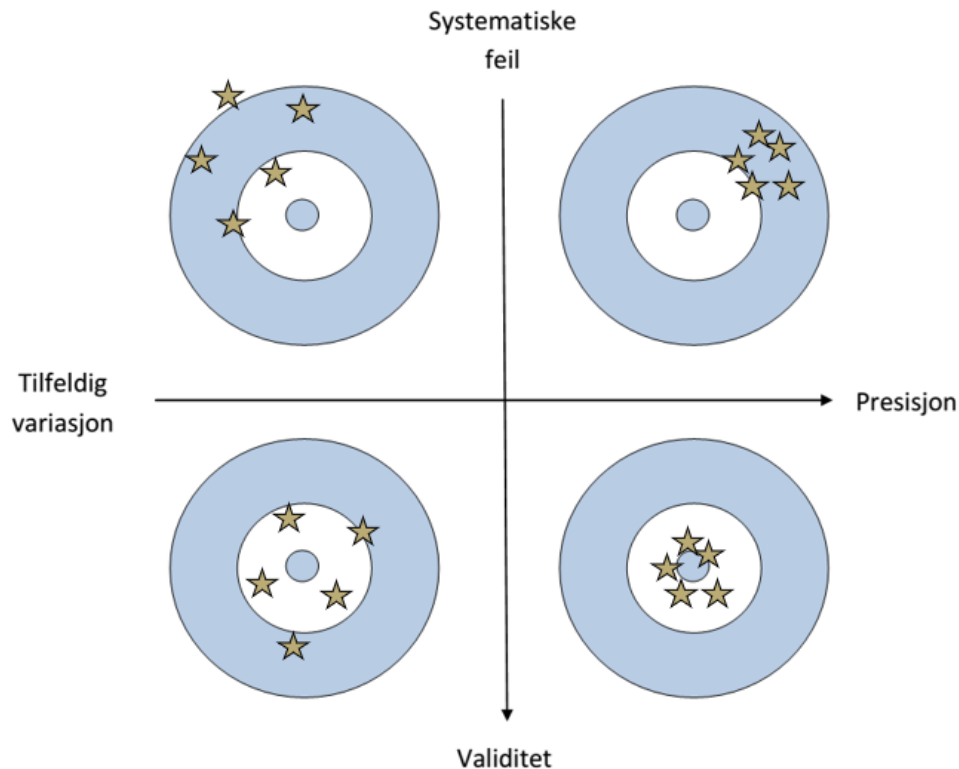
6.3 Styrker og svakheter

Målet med analysene er å oppnå et så riktig resultat som mulig, med så lite feil som mulig (96). Det er viktig å være bevisst de ulike feilene som kan oppstå i studier, og i dette kapittelet har jeg forsøkt å beskrive de ulike feil som kan være til stede i studien vår (96).

Feil deles inn i ulike kategorier:

Tilfeldige feil er variabiliteten i data som ikke kan forklares (96). Tilfeldige feil kan korrigeres ved å øke utvalgsstørrelsen (96). Presisjonen er målt som konfidensintervaller og kan si noe om nøyaktigheten i studien (figur 17) (96). Presisjonen er omvendt proporsjonal med mengden tilfeldige feil i studien.

Systematiske feil kan være både konfundering og bias (96). Konfundering betyr at effekten av eksponeringen blir blandet med effekten av andre variabler, som fører til bias, og for å håndtere konfundering, kan man gjøre regresjonsanalyser med justering for konfunderende faktorer (96). Konfundering og bias bidrar til å svekke validiteten av resultatene (96). Bias deles inn i informasjonsbias (misklassifisering) og seleksjonsbias (96). Informasjonsbias deles igjen inn i ikke - differensiell misklassifisering og differensiell - misklassifisering (96). Ikke - differensiell misklassifisering er ikke knyttet til eksponeringen eller til utfallet, og differensiell misklassifisering er knyttet til eksponering eller til utfallet (96). Seleksjonsbias handler om at gruppene i utvalget ikke er selektert på lik måte (96). Systematiske feil kan ikke korrigeres ved å øke utfallsstørrelsen (96).



Figur 17 Validitet og presisjon.

6.3.1. Tilfeldige feil og presisjon

Konfidensintervallene sier noe om presisjonen til punkttestimatene, og i våre analyser var mange konfidensintervall brede, noe som gjør at punkttestimatene må anses som usikre eller upresise. Punkttestimatene våre indikerer en negativ sammenheng mellom snusbruk og resultat etter behandling med assistert befruktning, men basert på konfidensintervallene kan vi heller ikke utelukke en økning i antall egg, antall befruktete egg og antall gode embryo ved bruk av snus.

I studien har vi et utvalg på 1974 par som er et forholdsvis stort antall deltakere sammenlignet med andre studier. Vi har ikke funnet noen studier av snus og sammenheng med behandlingsresultat etter behandling med assistert befruktning, men i en Meta – analyse om røyking og resultat etter behandling med assistert befruktning, varierte utvalgsstørrelsen i de ulike studiene (28 studier) fra 28 behandlende par til 8323 behandlende par, men de fleste studiene hadde utvalg på mellom 130 og 600 par. I studier med stort utvalg er det mindre sannsynlig at tilfeldige feil har stor innvirkning.

Studier som omfatter hormonstimulering i forbindelse med IVF-behandling, inkluderer ofte mellom 100 og 500 pasienter i analyser. Med tanke på studier i dette fagfeltet, eksempelvis Bachman et al (2022) (102), Choi et al (2022) (103) og Toftager (2016) (102) er utvalget i vår studie relativt stort.

6.3.4 Konfundering og negativ kontroll

For å håndtere konfundering ble det gjort regresjonsanalyser. Fordelen med å bruke regresjonsanalyser er at en kan justere for mange konfunderende faktorer samtidig. De konfunderende faktorene som ble valgt i studien er beskrevet i metodekapittelet.

Vi brukte mannens snusbruk som negativ kontroll, for å se om mannens livsstil kunne være markør for andre livsstilsfaktorer, og om det kunne konfundere sammenhengen mellom kvinnens snusbruk og utfall etter behandling med assistert befruktning.

Vi valgte å justere på flere måter i analysene, og av de mulige konfundere var det justering for alder som kontinuerlig variabel som ga den største endringen i estimatene.

Det er alltid sannsynlighet for restkonfundering ved slike analyser. Vi hadde ikke detaljert informasjon røyking, som antall sigaretter per dag, så vi kan ikke utelukke restkonfundering, men det at punktestimatene endret seg lite når vi justerte for den informasjonen vi har, tyder på at vi ikke har så mye restkonfundering fra røyking.

Sosiale ulikheter i helse kan være årsak til restkonfundering. Som nevnt i bakgrunn er det store sosiale helseforskjeller i befolkningen i Norge. Disse forskjellene er knyttet til sosial og økonomisk status, og sosial ulikhet i helse finnes i alle aldersgrupper og gjelder for nesten alle sykdommer og begge kjønn (45, 50). Figur 7 viser oversikt over de ulike sosiale helsedeterminantene knyttet til hvert enkelt individ og visualiserer årsaksforhold som kan være avgjørende for et individ. I studien vår ble ikke utdanningsnivå tatt med som uavhengig variabel på grunn av mangelfull dokumentasjon i Linnefiler. Høy utdanning er også forbundet med høyere alder ved behandlingsstart og dermed færre egg (figur 1), og høyere utdanning kan ha vært en konfunderende faktor og burde kanskje vært justert for i våre analyser.

6.3.2 Bias - Informasjonsbias (misklassifisering)

Ved utredning av par før behandling blir alle spurt om livsstilsfaktorer som røyking og snus. Denne informasjonen er basert på pasientens selvrapporing av livsstilsfaktorer. I vår studie antar vi at denne type selvrapporing kun vil gå i én retning, ved at de som snuser opplyser at de ikke snuser, og ikke motsatt. Vi antar at denne feilrapporteringen ikke spesifikt gjelder par som får bedre eller dårligere behandlingsresultater enn andre snusbrukere, noe som betyr at den vil påvirke resultatene slik at den målte sammenhengen blir svakere enn den reelle. Dette kan bidra til ikke-differensiell misklassifisering.

Ved oppdatering av infertilitetsdiagnoser og vekt i Linnefiler, har Linnefiler en svakhet som gjør det vanskelig å se når oppdaterte opplysninger blir lagt inn, som for eksempel vekt. Dette kan føre til at noen av parene i utvalget havner i feil KMI-kategori, noe som kan bidra til ikke-differensiell misklassifisering.

Vi antar at det er lite misklassifisering når det gjelder antall egg og andel og antall befruktete egg. Antall egg og andel og antall befruktete egg «måles» sjelden feil i laboratoriet, men måling av antall og andel gode embryo kan det være knyttet flere usikkerheter til. Vurdering av embryo er basert på at embryologen gjør en faglig vurdering/skåring av embryoene ut fra gitte kriterier, noe som gir et subjektivt øyeblikksbilde av embryokvaliteten på det gitte tidspunktet (13). Da det kan være uoverensstemmelse i embryovurdering mellom flere embryologer ved sammenligning som beskrevet i metodekapittelet. Vi kan derfor ikke

utelukke at resultatene av embryovurderingen kan variere mellom enkeltpersoner, og at dette kan bidra til misklassifisering. Denne type målefeil (informasjonsbias) kan også bidra til tilfeldig variasjon.

Kvinnens alder blir også tatt i betraktning ved vurdering av embryo. Kvinner med høy alder (> 35 år) har lavere eggreserver (figur 1) og redusert eggkvalitet, som beskrevet i bakgrunns kapitlet. Dette kan også gjelde yngre kvinner med ulike medisinske tilstander. Disse kvinnene vil som gruppe få færre embryo ved behandling, noe som kan påvirke vurderingen av kvalitet og flere embryo som embryologen har gradert med lavere kvalitet, blir frosset ned. Dette kan bidra til misklassifisering.

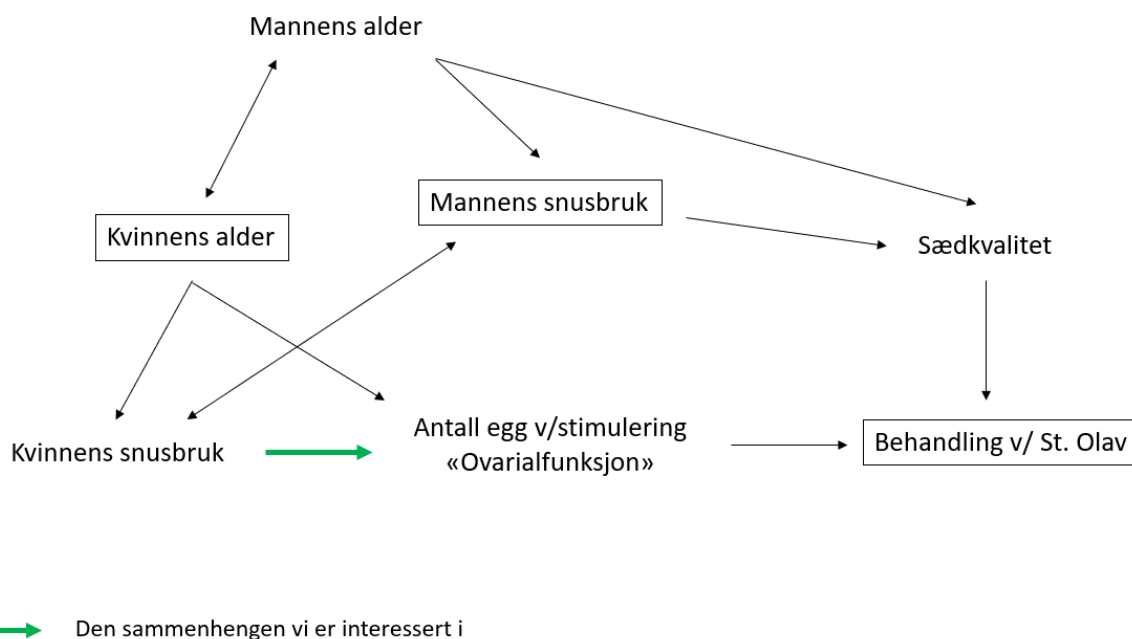
Blant par med ukjent informasjon om snusbruk hos den ene parten, for eksempel ved mangel av informasjon om snusbruk hos kvinnen i par der mannen snuste, gikk vi ut ifra at kvinnen ikke snuste. Det samme gjorde vi for mannen hvis det kun var oppgitt informasjon om at kvinnen snuste. Dette kan ha bidratt til misklassifisering.

6.3.3 Seleksjonsbias

Vi valgte å inkludere parenes første behandling som resulterte i en eggthenting. Hvis alle behandlinger i perioden 2017-2021 hadde blitt inkludert, ville noen par vært til behandling flere ganger, fordi de ikke lyktes med første behandling, og andre par kun én gang fordi de lyktes. Å inkludere kun første behandling med eggthenting kan ha vært med på å redusere sjansen for seleksjonsbias, ved at behandlingsresultat ikke definerte utvalget.

Denne studien inkluderte alle par som var til behandling med assistert befruktning i perioden 2017 – 2021. Inklusjonen av alle par sammenlignet med studier med deltakere som takker ja til å delta, kan ha bidratt til mindre seleksjonsbias.

Studiepopulasjonen inneholdt kun par som var til behandling på grunn av infertilitet, noe som betyr at dersom snus påvirker kvinnens og/eller mannens fertilitet negativt, vil disse par som bruker snus kunne selekteres inn i studien (figur 18). Et utvalg av par hvor mannen var hovedårsaken til infertiliteten, enten behandlinger med kun mannlig infertilitet som hoveddiagnose, eller behandlinger med ICSI som behandlingsmetode, kunne gitt oss mulighet til å studere sammenhengen mellom snusbruk og ovarialrespons (figur 18) i et mindre selektert utvalg og redusert muligheten for seleksjonsbias. Det var for få behandlinger i hver snuskategori i utvalget, og dermed ikke nok styrke til at det kunne gjennomføres. Studier av likekjønnede par, som vi antar er friske, kunne også gitt oss samme muligheten, men antallet slike par som har vært behandlet ved St. Olavs hospital er foreløpig for begrenset for slike analyser. En slik studie ville i tillegg ha gitt oss et utvalg som gjenspeilet den generelle befolkningen på en bedre måte, og gjort våre resultater mer generaliserbare.



Figur 18 Illustrasjon av seleksjonen inn i studiepopulasjonen.

6.4 Generaliserbarhet og konsekvenser av funnene

I den generelle befolkningen har vi ikke mulighet til, på individnivå, å undersøke det samme som i denne studien, ved å utføre egguthenting og vurdere embryokvalitet. Selv om det vil være mulig å måle ovarialfunksjon i den generelle befolkningen i form av antralfolikkel-telling og måling av AMH-nivå i forskningssammenheng, vil det være svært ressurskrevende. Selv om det er vanskelig å generalisere funnene fra denne studien til fertile kvinner som ikke trenger assistert befruktning, er fertilitetsbehandling likevel en av få situasjoner som gir mulighet til å undersøke sammenhenger mellom snusbruk og forhold knyttet til reproduksjon.

Det er også vanskelig å si om resultatene fra studien vår kan være generaliserbare for den infertile populasjonen i Norge. Vi antar at den infertile populasjonen fra studien i oppgaven, er ganske lik populasjonen av par som behandles ved de andre offentlige klinikkene i Norge. Behandling ved offentlig eller privat klinikk gir de samme økonomiske rettighetene, men par som behandles ved private klinikker har en høyere gjennomsnittlig alder enn par som behandles i de offentlige klinikkene (Liv Bente Romundstad, e-post, Spiren fertilitetsklinikk 22.04.2022). Populasjonen som er til behandling ved de offentlige klinikkene i Norge er ellers ikke så ulik de som behandles privat, men kan ha lavere sosioøkonomisk status, sammenlignet med de som behandles på private klinikker. En undergruppe av par som behandles privat, kan også ha mer uttalt infertilitet fordi mange kan ha brukt opp sine forsøk ved en offentlig fertilitetsklinikk før de har oppsøkt behandling privat.

Med den store usikkerheten knyttet til både nøyaktighet og generaliserbarhet av funnene i denne studien, er det for tidlig å komme med sterke anbefalinger til våre pasienter om å slutte med snus. Selv om det ikke er grunn til å tro at snus er fordelaktig ved behandling med assistert befruktning, må det vurderes nøye hvilket kunnskapsgrunnlag som vil være

tilstrekkelig grunnlag for en eventuell anbefaling. Det er viktig å balansere den mulige gevinsten med å slutte å snuse, opp mot ulempene det innebærer å prøve å slutte å snuse, og belastningen det kan innebære for paret eller kvinnen om de/hun ikke lykkes med å slutte i en situasjon med ufrivillig barnløshet.

I videre studier hadde det vært interessant å se på sammenhengen mellom snusbruk og resultat etter IVF-behandling hos likekjønnede par, som nevnt tidligere. Hos disse parene er det i utgangspunktet kun sædceller som mangler og ovarialkapasitet knyttet til snusbruk kunne vært studert som et mål på sammenhengen i en antatt fertil gruppe kvinner. Snusbruk og sædkvalitet og resultat etter behandling med assistert befruktning bør også studeres på grunn av økt snusbruk blant unge menn i fertil alder. I teorien kunne det også ha vært gjort en randomisert studie, hvor en behandlingsgruppe hadde blitt anbefalt å slutte med snus og den andre ikke, men pasientgrunnlaget ved St Olavs hospital er ikke tilstrekkelig stort til dette.

Dokumentasjonen av behandlinger som er lagret i Linnefiler gjør det mulig å i tillegg studere sammenheng mellom snusbruk og oppnådd graviditet, svangerskapskomplikasjoner, og levendefødte barn knyttet til ulike forskningsprosjekt. Jeg ønsker å videreføre denne studien, ved å inkludere flere behandlinger, samt se på graviditetsrate og fødsler.

7 Konklusjon

I denne studien har vi funnet en negativ sammenheng mellom kvinnens snusbruk og resultat etter behandling med assistert befruktning, målt i antall egg, antall befruktede egg og antall embryo med god kvalitet. Resultatene er målt med en stor usikkerhet, derfor er det behov for større studier som vil gi bedre presisjon. Det er vanskelig å sikre optimalt studiedesign for å undersøke hvilken betydning snusbruk har fertilitet og behandlingsresultat, noe som gir mye usikkerhet rundt kausalitet. Resultatene må bekreftes i andre studier før det kan vurderes å gi anbefalinger til pasienter om å redusere snusbruk før og under behandling med assistert befruktning.

8 Referanser

1. Romunstad. Infertilitet [Internett]. Oslo: Store medisinske leksikon (Sml); 2019 [updated 24.01.2022; cited 2020 08.10]. Available from: <https://sml.snl.no/infertilitet>.
2. Seksuelle smertetilstander hos kvinner [Internett]. Oslo: Norsk helseinformatikk (NHI); 2021 [updated 03.02.2021; cited 2022 15.03]. Available from: <https://nhi.no/sykdommer/kvinne/seksuelle-tema/seksuelle-smertetilstander-hos-kvinner/>.
3. Eserdag S, Sevinc T, Tarlacı S. Do women with vaginismus have a lower threshold of pain? Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2021;258:189-92.
4. Barnløshet - infertilitet [Internett]. Oslo: Helsenorge.no; 2019 [updated 18.06.2019; cited 2022 15.03]. Available from: <https://www.helsenorge.no/sykdom/ufrivillig-barnloshet/barnloshet-infertilitet/>.
5. Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide. Am J Obstet Gynecol. 2017;217(2):129-40.
6. AFC (antral follicle count) [Internett]. Oslo: Store medisinske leksikon (Sml); 2022 [updated 17.03.2022; cited 2022 29.04]. Available from: <https://sml.snl.no/AFC - antral follicle count>.
7. Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. J Clin Endocrinol Metab. 2020;105(11):3361-73.
8. Shebl O, Ebner T, Sir A, Schreier-Lechner E, Mayer RB, Tews G, et al. Age-related distribution of basal serum AMH level in women of reproductive age and a presumably healthy cohort. Fertil Steril. 2011;95(2):832-4.
9. Ahmed TA, Ahmed SM, El-Gammal Z, Shouman S, Ahmed A, Mansour R, et al. Oocyte Aging: The Role of Cellular and Environmental Factors and Impact on Female Fertility. Adv Exp Med Biol. 2020;1247:109-23.
10. Helsenorge.no. Ufrivillig barnløshet og infertilitetsbehandling [Internett]. Oslo: Helsenorge.no; 2020 [updated 01.02.2022; cited 2020 02.10.]. Available from: <https://www.helsenorge.no/refusjon-og-stotteordninger/ufrivillig-barnloshet-og-infertilitetsbehandling>.
11. Medisinske leksikon ds. Assistert befruktning 2018 [Available from: https://sml.snl.no/assistert_befruktning].
12. Hanevik HI, Kahn JA, Bergh A, Eriksen E, Friberg UM, Haraldsen CV, et al. [Results after assisted reproduction at a public fertility clinic]. Tidsskr Nor Laegeforen. 2012;132(8):947-51.
13. Rocha JC, Passalia F, Matos FD, Maserati MP, Jr., Alves MF, Almeida TG, et al. Methods for assessing the quality of mammalian embryos: How far we are from the gold standard? JBRA Assist Reprod. 2016;20(3):150-8.
14. Assistert befruktning [Internett]. Oslo: Ønskebarn; 2020 [updated 2020; cited 2022 15.03]. Available from: <https://onskebarn.no/assistert-befruktning>.
15. Goisis A, Håberg SE, Hanevik HI, Magnus MC, Kravdal Ø. The demographics of assisted reproductive technology births in a Nordic country. Hum Reprod. 2020;35(6):1441-50.
16. Craig Niederberger AP, Jacques Cohen, David K. Gardner, Gianpiero D. Palermo, et al. Forty years of IVF,. Fertility and Sterility,. 2018;Volume 110, Issue 2,:Pages 185-324.e5,.
17. Assistert befruktning [Internett]. Oslo: Bioteknologirådet; 2022 [updated 01.01.2022; cited 2022 14.05]. Available from: <https://www.bioteknologiradet.no/temaer/assistert-befruktning/>.
18. Infertility [Internett]. Geneva: WHO; 2020 [cited 2021 16.01]. Available from: https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab_1.
19. Kuhnt AK, Passet-Wittig J. Families formed through assisted reproductive technology: Causes, experiences, and consequences in an international context. Reprod Biomed Soc Online. 2022;14:289-96.
20. Fauser BC. Towards the global coverage of a unified registry of IVF outcomes. Reprod Biomed Online. 2019;38(2):133-7.

21. Tønnessen M. Verdens befolkning [Internett]. Store norske leksikon; 2022 [updated 04.01.2022; cited 2022 04.05]. Available from: https://snl.no/verdens_befolkning.
22. Forskrift om krav til kvalitet og sikkerhet ved håndtering av humane celler og vev (forskrift om håndtering av humane celler og vev) [Internett]. 2018 [Available from: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2015-12-07-1430>].
23. Godkjenning av virksomheter som tilbyr assistert befruktning og fertilitetsbevarende behandling [Internett]. Oslo: Helsedirektoratet; 2019 [updated 21.01.2022; cited 2022 15.03]. Available from: <https://www.helsedirektoratet.no/tema/assistert-befruktning/godkjente-virksomheter-for-assistert-befruktning>.
24. Lov om humanmedisinsk bruk av bioteknologi [Internett]. 2021 [Available from: <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2003-12-05-100>].
25. Risa M. Bioteknologiloven - hva ble endret [Internett]. Oslo: Bioteknologirådet; 2020 [updated 26.06.2020; cited 2020 02.10]. Available from: <https://www.bioteknologiradet.no/2020/06/bioteknologiloven-hva-ble-endret/>.
26. Haugen TB. Sæddonasjon – en historie om hemmelighold. Aftenposten. 2019.
27. Prioriteringsveileder, infertilitet [Internett]. Oslo: Helsedirektoratet; 2021 [updated 04.06.2021; cited 2022 10.05.2022]. Available from: <https://www.helsedirektoratet.no/veiledere/prioriteringsveiledere/kvinnesykdommer/tilstander-for-kvinnesykdommer/infertilitet>.
28. Fødte, Samlet fruktbarhetstall, kvinner (F) 1968 - 2021, [Internett]. Oslo: SSB; 2021 [updated 2022; cited 2022 10.03]. Available from: <https://www.ssb.no/statbank/table/04232>.
29. Store norske leksikon. Samlet fruktbarhetstall [Internett]. Store norske leksikon: Store norske leksikon; 2021 [updated 28.02.2021; cited 2022 10.03]. Available from: https://snl.no/samlet_fruktbarhetstall.
30. Fruktbarhetstall [Internett]. Oslo: FN - sambandet; 2020 [updated 2020; cited 2022 04.05]. Available from: <https://www.fn.no/Statistikk/fruktbarhet>.
31. Simonsen MCA. Flere fødsler etter pandemi-nedstenging [Internett]. Oslo: Dagens medisin; 2021 [updated 18.03.2022; cited 2022 10.03]. Available from: <https://www.dagensmedisin.no/artikler/2021/10/28/flere-fodsler-etter-pandemi-nedstenging/>
32. Dolonen KA. Koronapandemien ser ut til å gi Norge en liten babyboom [Internett]. Oslo: Sykepleien.no; 2022 [updated 21.01.2022; cited 2022 18.03]. Available from: <https://sykepleien.no/2022/01/koronapandemien-ser-ut-til-gi-norge-en-liten-babyboom>
33. Andersen E. Økt fruktbarhet for første gang på 12 år [Internett]. Oslo: SSB; 2022 [updated 09.03.2022; cited 2022 10.03]. Available from: <https://www.ssb.no/befolkning/fodte-og-dode/statistikk/fodte/artikler/okt-fruktbarhet-for-forste-gang-pa-12-ar>.
34. Har registrert fødsler i femti år [Internett]. Oslo: FHI; 2017 [updated 25.10.2017; cited 2022 10.03]. Available from: <https://www.fhi.no/hn/helseregistre-og-registre/mfr/femti-ar-med-fodsler-i-norge/>.
35. Sønnebø A. Rekordlav fruktbarhet for tredje år på rad [Internett]. Oslo: Statistisk sentralbyrå (SSB); 2020 [updated 11.03.2020; cited 2021 05.01]. Available from: <https://www.ssb.no/befolkning/artikler-og-publikasjoner/rekordlav-fruktbarhet-for-tredje-ar-pa-rad>.
36. Fødte, foreldrenes gjennomsnittlige fødealder ved første barns fødsel 1961 - 2021 [Internett]. Oslo: Statistisk sentralbyrå (SSB); 2022 [updated 2022; cited 2022 12.03.]. Available from: <https://www.ssb.no/statbank/table/07872/>.
37. Nok en gang rekordlav fruktbarhet [Internett]. Oslo: Statistisk sentralbyrå (SSB); 2021 [updated 2022; cited 2022 29.03]. Available from: <https://www.ssb.no/befolkning/artikler-og-publikasjoner/nok-en-gang-rekordlav-fruktbarhet>.
38. Tuv N. Slik måles fruktbarhet i statistikken [Internett]. Oslo: Statistisk sentralbyrå (SSB); 2020 [updated 09.03.22; cited 2022 23.04]. Available from: <https://www.ssb.no/befolkning/fodte-og-dode/statistikk/fodte/artikler/slik-males-fruktbarhet-i-statistikken>.
39. Fallende fruktbarhet i Norge [Internett]. Oslo: FHI; 2020 [updated 24.02.2020; cited 2020 20.08]. Available from: <https://www.fhi.no/publ/2020/fallende-fruktbarhet-i-norge/>.

40. Jakobsen SE. Det vanlige er å utsette å få barn i krisetider. I Norge ga pandemien oss en babyboom [Internett]. Oslo: Forskning.no; 2021 [updated 29.10.2021; cited 2022 01.03]. Available from: <https://forskning.no/covid19-demografi-samfunn/det-vanlige-er-a-utsette-a-fa-barn-i-krisetider-i-norge-ga-pandemien-oss-en-babyboom/1929600>.
41. Baby-boom startet ni måneder etter korona-nedstengningen [Internett]. Oslo: FHI; 2021 [updated 03.01.2022; cited 2022 10.03]. Available from: <https://www.fhi.no/nyheter/2021/baby-boom-startet-ni-maneder-etter-korona-nedstengningen/>.
42. Hagerup IOL. Forsker avlyser koronababyboom [Internett]. Bergen: Universitetet i Bergen (UiB); 2021 [updated 09.02.2021; cited 2022 06.01]. Available from: <https://www.uib.no/pandemi/142577/forsker-avlyser-koronababyboom>.
43. Global Burden of Disease Study [Internett]. Wikipedia; 2020 [Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Global_Burden_of_Disease_Study].
44. Disease GBo. Population and fertility by age and sex for 195 countries and territories, 1950-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet. 2018;392(10159):1995-2051.
45. m.fl. BHS. Sosiale helseforskjeller i Norge [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet; 2018 [updated 14.05.2018; cited 2021 05.01]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/hin/grupper/sosiale-helseforskjeller/>.
46. m.fl. TFV. Røyking og snusbruk i Noreg [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet; 2018 [updated 06.04.2022; cited 2022 14.05]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/hin/levenaner/royking-og-snusbruk-i-noreg/#sosiale-forskjellar-i-roeyking-og-snusbruk>.
47. Røyking i svangerskapet og sosial ulikhet [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet; 2017 [updated 26.04.2017; cited 2020 07.10.]. Available from: <https://www.fhi.no/nyheter/2017/royking-i-svangerskapet-og-sosial-ulikhet/>.
48. Statistikk og historikk om røyking, snus og e-sigaretter [Internett]. Oslo: Helsedirektoratet; 2020 [updated 18.01.2022. Available from: <https://www.helsedirektoratet.no/tema/tobakk-royk-og-snus/statistikk-om-royking-bruk-av-snus-og-e-sigaretter>].
49. Helserisiko ved bruk av snus [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet; 2016 [updated 12.04.2016; cited 2021 05.01]. Available from: <https://www.fhi.no/publ/2014/helserisiko-ved-bruk-av-snus/>.
50. Mæland. Forebyggende helsearbeid. 4 ed. Oslo: Universitetsforlaget; 2016.
51. Grasdal Astrid L, Lommerud Kjell E. Barnløshet blant menn i Norge. Tidsskrift for velferdsforskning.22(4):268-84.
52. Grasdal A, Lommerud K. Barnløshet blant menn i Norge

– hvem er de, og hvor bor de? Tidsskrift for velferdsforskning. 2019;Volume 22

Nr. 4

268 - 84.

53. Kravdal Ø, Grundy E, Skirbekk V. Fertility history and use of antidepressant medication in late mid-life: a register-based analysis of Norwegian women and men. Aging Ment Health. 2017;21(5):477-86.
54. Rostad B, Schei B, Sundby J. Fertility in Norwegian women: results from a population-based health survey. Scand J Public Health. 2006;34(1):5-10.
55. Senapati S. Infertility: a marker of future health risk in women? Fert Steril. 2018;110(5):783-9.
56. Ahrens KP, M. Aldrig har så mange mænd boet alene: De dør tidligere, tjener mindre og får færre børn [Internett]. København: Indland (DK); 2020 [updated 20.01.2020; cited 2022 01.04.2022]. Available from: <https://www.dr.dk/nyheder/indland/aldrig-har-saa-mange-maend-boet-alene-de-doer-tidligere-tjener-mindre-og-faar-faerre>.

57. Tønnesen M. Aldring i Norge. *Sosiologi i dag*. 45, 3/2015 ed. Oslo: Novus forlag; 2015. p. 7-23.
58. Foulds J, Ramstrom L, Burke M, Fagerström K. Effect of smokeless tobacco (snus) on smoking and public health in Sweden. *Tob Control*. 2003;12(4):349-59.
59. Snus rundt om i verden [Internett]. Oslo: SnusHejm.no; 2019 [updated 09.09.2019; cited 2021 05.01]. Available from: <https://www.snushjem.no/snusmagasinet/snus-rundt-om-i-verden/>.
60. Røyk, alkohol og andre rusmidler [Internett]. Oslo: Statistisk sentralbyrå; 2019 [updated 18.01.2022; cited 2022 14.05.2022]. Available from: <https://www.ssb.no/royk>.
61. Helse og omsorg [Internett]. Oslo: Regjeringen.no; 2021 [cited 2020 02.09]. Available from: <https://www.regjeringen.no/no/tema/helse-og-omsorg/id917/>.
62. Lov om vern mot tobakksskader [Internett]. 2020 [Available from: <https://lovdata.no/dokument/NL/lov/1973-03-09-14>].
63. Lov om folkehelsearbeid [Internett]. 2012 [Available from: <https://www.regjeringen.no/no/tema/helse-og-omsorg/folkehelse/innsikt/folkehelsearbeid/id673728/>].
64. Folkehelsemeldinga - gode liv i eit trygt samfunn [Internett]. 2019 [Available from: <https://www.regjeringen.no/contentassets/84138eb559e94660bb84158f2e62a77d/nn-no/pdfs/stm201820190019000dddpdfs.pdf>].
65. Framework Convention on Tobacco Control [Internett]. Geneva: WHO; 2021 [updated 2022; cited 2021 09.03]. Available from: <https://www.who.int/fctc/cop/about/en/>.
66. Tobacco [Internett]. Brussels: European union (EU); 2021 [cited 2021 09.03]. Available from: https://ec.europa.eu/health/tobacco/overview_en.
67. Helsedirektoratet. Folkehelse og bærekraftig samfunnsutvikling [Internett]. Oslo: Helsedirektoratet; 2018 [updated 2019; cited 2020 02.09]. Available from: https://www.helsedirektoratet.no/rapporter/folkehelse-og-baerekraftig-samfunnsutvikling/Folkehelse%20og%20b%C3%A6rekraftig%20samfunnsutvikling.pdf/_attachment/inline/3bee41d0-0b38-4957-913e-bedad965e37a:a89f2b8d35a30992c90f2f4c4f872d2ffdd0abaa/Folkehelse%20og%20b%C3%A6rekraftig%20samfunnsutvikling.pdf.
68. FN's bærekraftsmål [Internett]. Oslo: FN - sambandet; 2022 [updated 11.05.2022; cited 2022 20.03]. Available from: <https://www.fn.no/om-fn/fns-baerekraftsmaal>.
69. Den norske røykeloven [Internet]. Oslo: NRK radio; 2019 [cited 29.01.2019]. Podcast. Available from: https://radio.nrk.no/podkast/hele_historien/sesong/den-norske-roeykeloven/l_33792d03-d813-4d23-b92d-03d813fd23a7
70. Lund K. Snus [Internett]. Oslo: Store norske leksikon; 2018 [updated 09.10.2018; cited 2020 10.04]. Available from: <https://snl.no/snus>.
71. «Snuskrigen – Slik ble vi hekta» [Internet]. Oslo: NRK radio; 2021 [cited 25.10.2021]. Podcast. Available from: https://radio.nrk.no/podkast/oppdatert/l_49dfd3c4-4d64-424f-9fd3-c44d64b24f72
72. Dahlin S, Gunnerbeck A, Wikström AK, Cnattingius S, Edstedt Bonamy AK. Maternal tobacco use and extremely premature birth - a population-based cohort study. *Bjog*. 2016;123(12):1938-46.
73. England LJ, Levine RJ, Mills JL, Klebanoff MA, Yu KF, Cnattingius S. Adverse pregnancy outcomes in snuff users. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189(4):939-43.
74. Gould GS, Havard A, Lim LL, The Psanz Smoking In Pregnancy Expert G, Kumar R. Exposure to Tobacco, Environmental Tobacco Smoke and Nicotine in Pregnancy: A Pragmatic Overview of Reviews of Maternal and Child Outcomes, Effectiveness of Interventions and Barriers and Facilitators to Quitting. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(6).
75. Mínguez-Alarcón L, Chavarro JE, Gaskins AJ. Caffeine, alcohol, smoking, and reproductive outcomes among couples undergoing assisted reproductive technology treatments. *Fertil Steril*. 2018;110(4):587-92.

76. Baba S, Wikström AK, Stephansson O, Cnattingius S. Influence of snuff and smoking habits in early pregnancy on risks for stillbirth and early neonatal mortality. *Nicotine Tob Res.* 2014;16(1):78-83.
77. Budani MC, Fensore S, Di Marzio M, Tiboni GM. Cigarette smoking impairs clinical outcomes of assisted reproductive technologies: A meta-analysis of the literature. *Reprod Toxicol.* 2018;80:49-59.
78. Zhang RP, Zhao WZ, Chai BB, Wang QY, Yu CH, Wang HY, et al. The effects of maternal cigarette smoking on pregnancy outcomes using assisted reproduction technologies: An updated meta-analysis. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2018;47(9):461-8.
79. Klonoff-Cohen H. Female and male lifestyle habits and IVF: what is known and unknown. *Hum Reprod Update.* 2005;11(2):179-203.
80. Weigert M, Hofstetter G, Kaipl D, Gottlich H, Krischker U, Bichler K, et al. The effect of smoking on oocyte quality and hormonal parameters of patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *J Assist Reprod Genet.* 1999;16(6):287-93.
81. Lyngsø J, Kesmodel US, Bay B, Ingerslev HJ, Pisinger CH, Ramlau-Hansen CH. Female cigarette smoking and successful fertility treatment: A Danish cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(1):58-66.
82. Kreyberg I, Nordhagen LS, Bains KES, Alexander J, Becher R, Carlsen KH, et al. An update on prevalence and risk of snus and nicotine replacement therapy during pregnancy and breastfeeding. *Acta Paediatr.* 2019;108(7):1215-21.
83. Rygh E, Gallefoss F, Grøtvedt L. Trends in maternal use of snus and smoking tobacco in pregnancy. A register study in southern Norway. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;19(1):500.
84. Lein M. Mange kvinner fortsetter å snuse selv om de blir gravide [Internett]. Oslo: NHI; 2020 [updated 27.02.2020; cited 2022 09.05]. Available from: <https://nhi.no/familie/graviditet/mange-kvinner-fortsetter-a-snuse-selv-om-de-blir-gravide/>.
85. Snusinfo.no. Gravid? Kutt snusen [Internett]. Oslo: Swedish match Norge; 2020 [cited 2020 26.02]. Available from: <https://www.snusinfo.no/gravid-kutt-snusen/>.
86. Ferenc Macsali mf. Helse under svangerskap, fødsel og i nyfødtpperioden [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet; 2018 [updated 03.02.2022; cited 2020 05.10]. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/hin/grupper/svangerskap/>.
87. Sengupta P, Dutta S, Krajewska-Kulak E. The Disappearing Sperms: Analysis of Reports Published Between 1980 and 2015. *Am J Mens Health.* 2017;11(4):1279-304.
88. Sengupta P, Borges E, Jr., Dutta S, Krajewska-Kulak E. Decline in sperm count in European men during the past 50 years. *Hum Exp Toxicol.* 2018;37(3):247-55.
89. Sharma R, Harlev A, Agarwal A, Esteves SC. Cigarette Smoking and Semen Quality: A New Meta-analysis Examining the Effect of the 2010 World Health Organization Laboratory Methods for the Examination of Human Semen. *Eur Urol.* 2016;70(4):635-45.
90. Pärn T, Grau Ruiz R, Kunovac Kallak T, Ruiz JR, Davey E, Hreinsson J, et al. Physical activity, fatness, educational level and snuff consumption as determinants of semen quality: findings of the ActiART study. *Reprod Biomed Online.* 2015;31(1):108-19.
91. Kasman AM, Zhang CA, Li S, Lu Y, Lathi RB, Stevenson DK, et al. Association between preconception paternal health and pregnancy loss in the USA: an analysis of US claims data. *Hum Reprod.* 2020.
92. Boedt T, Vanhove A-C, Vercoe M, Matthys C, Dance E, Fong S. Preconception lifestyle advice for people with infertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;4:1465-858.
93. Richardson A, Brearley S, Ahitan S, Chamberlain S, Davey T, Zujovic L, et al. A clinically useful simplified blastocyst grading system. *Reprod Biomed Online.* 2015;31(4):523-30.
94. Atlas of human embryology [Internett]. Belgium: ESHRE; 2016 [updated 2016; cited 2020 02.09]. Available from: <http://atlas.eshre.eu/>.
95. Body mass index - BMI [Internett]. WHO; 2021 [cited 2021 05.01]. Available from: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>.

96. Rothman. *Epidemiology An introduction*. 2. ed. New York: Oxford university press; 2012.
97. Imterat M, Agarwal A, Esteves SC, Meyer J, Harlev A. Impact of Body Mass Index on female fertility and ART outcomes. *Panminerva Med*. 2019;61(1):58-67.
98. Medicine. ESIGoEaASiR. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(5):494-510.
99. Lipsitch M, Tchetgen Tchetgen E, Cohen T. Negative controls: a tool for detecting confounding and bias in observational studies. *Epidemiology*. 2010;21(3):383-8.
100. Weisskopf MG, Tchetgen Tchetgen EJ, Raz R. Commentary: On the Use of Imperfect Negative Control Exposures in Epidemiologic Studies. *Epidemiology*. 2016;27(3):365-7.
101. Freour T, Masson D, Dessolle L, Allaoua D, Dejoie T, Mirallie S, et al. Ovarian reserve and in vitro fertilization cycles outcome according to women smoking status and stimulation regimen. *Arch Gynecol Obstet*. 2012;285(4):1177-82.
102. Bachmann A, Kissler S, Laubert I, Mehrle P, Mempel A, Reissmann C, et al. An eight centre, retrospective, clinical practice data analysis of algorithm-based treatment with follitropin delta. *Reprod Biomed Online*. 2021.
103. Choi BC, Zhou C, Ye H, Sun Y, Zhong Y, Gong F, et al. A comparative, observational study evaluating dosing characteristics and ovarian response using the recombinant human follicle-stimulating hormone pen injector with small-dose dial in assisted reproductive technologies treatment in Asia: IMPROVE study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2022;20(1):15.

