

# Laparoskopsko bušenje desnog jajnika toplinskom energijom prilagođenom volumenu jajnika u žena sa sindromom policističnih jajnika

---

Šunj, Martina

Doctoral thesis / Disertacija

2013

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:149737>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-25**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET

Martina Šunj

**LAPAROSKOPSKO BUŠENJE DESNOG JAJNIKA  
TOPLINSKOM ENERGIJOM PRILAGOĐENOM  
VOLUMENU JAJNIKA U ŽENA SA SINDROMOM  
POLICISTIČNIH JAJNIKA**

DOKTORSKI RAD

Split, 2013. godina

Rad je izrađen u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog  
bolničkog centra Split.

Voditelj rada je doc. dr. sc. Tomislav Čanić iz Klinike za ženske  
bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD.....  | 7  |
| 1.1. Povijest .....   | 8  |
| 1.2. Definicija .....   | 9  |
| 1.3. Dijagnostički kriteriji.....   | 9  |
| 1.4. Incidencija .....  | 10 |
| 1.5. Dijagnoza i klinička slika .....   | 11 |
| 1.5.1. Oligo - anovulacija .....  | 11 |
| 1.5.2. Klinički hiperandrogenizam i / ili biokemijska hiperandrogenemija..... | 12 |
| 1.5.3. Ultrazvučni nalaz policističnih jajnika.....                           | 14 |
| 1.5.4. Bolesti koje se slično manifestiraju.....                              | 14 |
| 1.6. Etiologija .....   | 14 |
| 1.7. Patogeneza .....   | 15 |
| 1.7.1. Folikulogeneza .....   | 15 |
| 1.7.2. Steroidogeneza .....   | 16 |
| 1.8. Posljedice i rizici PCOS .....   | 17 |
| 1.9. Reprodukcijski poremećaji .....  | 18 |
| 1.10. Liječenje neplodnosti.....  | 18 |
| 1.10.1. Redukcija tjelesne težine .....                                       | 19 |
| 1.10.2. Indukcija ovulacije .....   | 19 |
| 2. HIPOTEZA.....  | 25 |
| 3. CILJEVI.....   | 27 |
| 4. ISPITANICE I METODE.....   | 29 |
| 4.1. Ispitanice.....  | 30 |
| 4.2. Metode .....   | 31 |
| 4.2.1. Biokemijska analiza .....  | 31 |
| 4.2.2. Hormonski parametri.....   | 31 |
| 4.2.3. Određivanje koncentracije FSH .....                                    | 32 |
| 4.2.4. Određivanje koncentracije LH .....                                     | 32 |
| 4.2.5. Određivanje koncentracije AMH .....                                    | 32 |
| 4.2.6. Određivanje koncentracije ukupnog testosteroe .....                    | 33 |
| 4.2.7. Određivanje koncentracije SHBG .....                                   | 33 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 4.2.8. | Određivanje koncentracije progesterona .....   | 33 |
| 4.2.9. | Određivanje koncentracije prolaktina .....   | 33 |
| 4.3.   | Klinička analiza .....   | 34 |
| 4.4.   | Operativni postupak.....   | 34 |
| 4.5.   | Postoperacijsko praćenje .....   | 36 |
| 4.6.   | Protokol .....   | 36 |
| 4.7.   | Statistička obrada.....  | 38 |
| 4.8.   | Etička načela.....   | 38 |
| 5.     | REZULTATI .....  | 40 |
| 5.1.   | Predoperativne kliničke i hormonalne značajke ispitanica (osnovni podatci) .....   | 41 |
| 5.2.   | Stopa ovulacije u odnosu na stranu i volumen jajnika .....   | 42 |
| 5.3.   | Promjene hormonskih parametara nakon LOD .....   | 45 |
| 5.3.1. | Predoperativni parametri u respondera i nonrespondera .....  | 46 |
| 5.3.2. | Promjene hormonskih parametara u prvom mjesecu nakon LOD .....   | 47 |
| 5.3.3. | Promjene hormonskih parametara šest mjeseci nakon LOD .....  | 48 |
| 5.3.4. | Promjene hormonskih parametara u kasnih respondera („ <i>late responders</i> “ -<br>ovulirale u šestom mjesecu nakon LOD)..... | 49 |
| 5.4.   | Utjecaj LOD na parametre pričuva jajnika.....  | 52 |
| 5.4.1. | Usporedba promjene markera pričuva jajnika između dvije skupine .....  | 52 |
| 5.4.2. | Analiza promijena AFC i volumena koda ULOD skupine .....   | 55 |
| 6.     | RASPRAVA .....   | 56 |
| 6.1.   | Ograničenje studije .....  | 57 |
| 6.2.   | Ovulacija i trudnoća.....  | 57 |
| 6.2.1. | Strana i volumen kao predoperativni prediktori ovulacije i trudnoće .....  | 57 |
| 6.2.2. | Energija kao prediktor ovulacije .....   | 58 |
| 6.3.   | Hormonski parametri kao pokazatelji ovulacije nakon LOD .....  | 59 |
| 6.3.1. | AMH.....   | 59 |
| 6.3.2. | Androgeni.....   | 60 |
| 6.3.3. | LH.....  | 61 |
| 6.3.4. | Promjene parametara šest mjeseci nakon LOD.....  | 62 |
| 6.4.   | Pričuva jajnika .....  | 62 |
| 6.4.1. | AMH i pričuva.....   | 61 |
| 6.4.2. | FSH i pričuva jajnika.....   | 63 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 6.4.3. | AFC i pričuva jajnika .....                                   | 63 |
| 6.4.4. | Ukupni volumen i pričuva jajnika.....                         | 64 |
| 6.4.5. | Razlika u ovarijskoj pričuvi između ULOD i BLOD skupine ..... | 64 |
| 7.     | ZAKLJUČAK.....  | 66 |
| 8.     | SAŽETAK .....   | 68 |
| 9.     | SUMMARY.....  | 71 |
| 10.    | LITERATURA.....   | 74 |
| 11.    | ŽIVOTOPIS .....   | 84 |

## **POPIS KARTICA**

**A** - androstendion;

**AMH** - anti-Müllerov hormon;

**AFC** - broj folikula u oba jajnika (engl. antral follicle count, AFC);

**BLOD** - bilateralno bušenje jajnika (engl. Bilateral laparoscopic ovarian drilling)

**BMI** - indeks tjelesne mase;

**DHEAS** - dehidroepiandrosteron sulfat;

**FAI** - slobodni androgeni indeks (engl. free androgen index);

**FSH** - folikulo-stimulirajući hormon;

**LH** - luteinizirajući hormon;

**LOD** - laparoscopsko bušenje jajnika (eng. laparoscopic ovarian drilling)

**OGTT** - test oralne podnošljivosti glukoze (engl. glucose tolerance test);

**P4** - progesteron;

**PRL** - prolaktin;

**SHBG** - globulin koji veže spolne hormone (engl. sex hormone binding globulin);

**T**- ukupni testosteron;

**ULOD** – unilateralno bušenje jajnika (eng. unilateral laparoscopic ovarian drilling)

**V** - ukupni volumen (volumen oba jajnika / zbroj).

# **1. UVOD**



Sindrom policističnih jajnika (PCOS) je endokrinološki, metabolički i reproduksijski poremećaj. Manifestira se čitavim nizom kliničkih značajki i simptoma od kojih su tri najčešća: poremećaj ovulacije, povećano stvaranje androgena i ultrazvukom utvrđen policističan izgled jajnika (1). Iako su debljina, poremećaj u lučenju gonadotropina i inzulinska rezistencija često udružene s ovim sindromom, ove karakteristike ne smatraju se ključnim za postavljanje dijagnoze (2).

Žene s policističnim jajnicima imaju povećan rizik za neplodnost i čitav niz drugih ginekoloških problema (disfunkcijska krvarenja, hiperplazija, rak endometrija) i komplikacija u trudnoći (spontani pobačaji, gestacijski dijabetes, hipertenzija, preeklampsija) (3). Ipak, izuzetan značaj je ovaj sindrom dobio kada je ustanovljeno da žene s PCOS imaju veći rizik nastanka debljine, inzulinske rezistencije, dijabetesa tip 2, dislipidemije i hipertenzije (metabolički sindrom!). Poremećaj vaskularne i endotelne funkcije uz navedene čimbenike povisuje rizik nastanka kardiovaskularnih bolesti (4). Značaj ove bolesti nisu samo njezini zdravstveni rizici već i velika učestalost u populaciji. Upravo zbog navedenog, PCOS se danas smatra najvećim zdravstvenim rizikom, najčešćim endokrinim poremećajem i vodećim uzrokom neplodnosti žena reproduksijske dobi (5).

Obzirom na različite kliničke karakteristike neplodnih žena s PCOS, u novije vrijeme pokušavaju se pronaći obilježja kojima se može predvidjeti ovulacijski odgovor na različite tretmane. Postojanje ili definiranje takvih kliničkih karakteristika povezanih s boljim ovulacijskim odgovorom na određeni tretman može pomoći kliničaru u izboru najpovoljnijeg tretmana (6).

## **1.1. Povijest**

Još 1721. godine Antonio Vallisineri opisao je anatomske značajke ovog sindroma. Ranih godina 20. stoljeća (1920) Stein i Leventhal su definirali povezanost policističnih jajnika s amenorejom, hirzutizmom i pretilošću, stoga je i izvorni naziv sindroma Stein - Leventhal. U tridesetim godinama dvadesetog stoljeća dijagnoza se bazira na kliničkim i histološkim obilježjima, a tijekom sedamdesetih razvojem imunoanalize androgena i gonadotropina na biokemijskim osobinama sindroma (7). U kasnim sedamdesetim dvadesetog stoljeća razvija se ultrazvučna tehnologija, Swanson i sur. su bili prvi koji su opisali ultrazvučni nalaz povezan s PCOS (8).

## 1.2. Definicija

Zbog nejasnog uzročnog čimbenika kao i patogenetskog mehanizma PCOS se definira na osnovu kliničkih simptoma i isključenja bolesti koje se slično manifestiraju. Sindrom se manifestira vrlo heterogeno, a kliničkom slikom dominiraju: povećano stvaranje androgena, poremećaj ovulacije i ultrazvučni nalaz policističnih jajnika.

## 1.3. Dijagnostički kriteriji

Nema jedinstvenog dijagnostičkog kriterija za PCOS, u uporabi su tri kriterija. Dijagnostički postupnik ovisi o kriterijima kojima se koristimo za postavljanje dijagnoze. U Republici Hrvatskoj koristi se Rotterdamski kriterij (2).

Američki nacionalni institut za zdravlje (engl. US National Institute of Health – NIH) iz 1990. godine postavlja dijagnozu PCOS temeljem nazočnosti sljedećih karakteristika (*NIH kriterij*): klinički znaci hiperandrogenizma i/ili biokemijski potvrđena hiperandrogenemija; kronična anovulacija; isključenje bolesti koje se slično manifestiraju (9). Ovaj kriterij obuhvaća dva osnovna fenotipa PCOS: žene s kliničkim i / ili biokemijskim hiperandrogenizmom, oligo / anovulacijama i policističnim izgledom jajnika utvrđenim ultrazvukom i žene s kliničkim i / ili biokemijskim hiperandrogenizmom, oligo - anovulacijom, a bez ultrazvučnog prikaza policističnog izgleda jajnika.

Evropsko društvo za humanu reprodukciju i embriologiju (engl. European Society for Human reproduction and Embriology - ESHRE) i Američko društvo za reprodukciju medicinu (engl. American Society for Reproductive Medicine - ASRM) u Rotterdamu 2003. godine objavljuju konsenzus prema kojem se dijagnoza PCOS temelji na dva od tri kriterija (*Rotterdamski kriterij*): oligo / anovulacija, hiperandrogenemija (klinički ili biokemijski) i ultrazvučni prikaz policističnih jajnika (10). Rotterdamski kriterij uključuje dva dodatna fenotipa: žene s ultrazvučno dokazanim policističnim jajnicima te prisutnim kliničkim i/ili biokemijskim znacima hiperandrogenizma, a bez prisutnih znakova poremećaja ovulacije; i žene s ultrazvučno dokazanim policističnim jajnicima i poremećajem ovulacije, a bez prisutnih kliničkih ili biokemijskih znakova hiperandrogenizma.

Organizacija za stanja povezana s povećanim stvaranjem androgena i sindrom policističnih jajnika (engl. Androgen Excess and PCOS Society - AES - PCOS) objavila je treći konsenzus (11). Prema ovom konsenzusu dijagnoza se postavlja na osnovu prisustva tri parametra (*AES kriteriji*): kliničkog i / ili biokemijskog dokaza pretjeranog stvaranja androgena; disfunkcije jajnika (oligo - anovulacije i/ili ultrazvukom dokazanih policističnih jajnika) i isključenja bolesti koje se slično manifestiraju. Policistični izgled jajnika u ovom kriteriju je alternativa oligo - anovulaciji, a ne zaseban parametar kao u Rotterdamskom kriteriju. Prema ovom kriteriju hiperandrogenizam je osnovni uvjet za postavljanje dijagnoze i fenotip s oligo/anovulacijama, policističnim izgledom jajnika, a bez hiperandrogenizma je isključen.

Uz četiri ključne dijagnostičke značajke (oligomenoreja / amenoreja, klinički i / ili biokemijski hiperandrogenizam i policistični jajnici na ultrazvuku) postoje mnogi potencijalni fenotipovi (11). Uključivanje ispitanica u studije samo na osnovu dijagnostičkih kriterija nije primjereno ako se prati određeni klinički ishod. Na primjer kada se prati stopa ovulacije kao ishod trebalo bi uzeti u obzira sve fenotipove koji se razlikuju u odnosu na postojanje ili odsustvo ovulacije. U našu studiju bile su uključene žene s fenotipskim karakteristikama: oligo / anovulacije, hiperandrogenemije i policističnim izgledom oba jajnika na ultrazvučnom pregledu.

#### **1.4. Incidencija**

Prema Rotterdamskom kriteriju koji je korišten za postavljanje dijagnoze u ovom istraživanju, učestalost sindroma je 15 - 22 % žena reproduktivne dobi (12). Sindrom se češće dijagnosticira u adolescentnoj dobi (25 %). Starenjem i fiziološkim smanjenjem ovarijske pričuve (smanjenjem broja antralnih folikula), ublažava se hiperandrogenemija i češće su ovulacije.

## 1.5. Dijagnoza i klinička slika

PCOS se može manifestirati različitim kliničkima slikama: psihološkim problemima (smanjena kvaliteta života, umanjeno samopoštovanje, depresija, tjeskoba) (13), reproduktivnim manifestacijama (hirzutizam, neplodnost i komplikacije u trudnoći) (14) i metaboličkim implikacijama (inzulinska rezistencija, metabolički sindrom, dijabetes melitus i kardiovaskularni problemi) (15). Psihološke i reproduktivne manifestacije obično počinju u adolescenciji te se tijekom vremena javljaju problemi s neplodnošću i metaboličke komplikacije.

Prema konsenzusu iz Rotterdama 2003, potrebna su dva od tri navedena kriterija za dijagnozu PCOS:

- oligo / anovulacija,
- klinički ili biokemijski znaci povišenih androgena (hiperandrogenemija i / ili hiperandrogenizam),
- policistični jajnici na transvaginalnom ultrazvučnom pregledu (UZV).

### 1.5.1. Oligo - anovulacija

Kliničkom slikom kod PCOS dominiraju poremećaji ciklusa zbog anovulacije (90 %) koji se najčešće manifestiraju oligomenorejom, a rjeđe amenorejom (20 - 30 %) (16). Anovulacije zbog neoponiranog djelovanja estrogena na endometrij, povezane su s disfunkcijskim krvarenjima, menoragijama, hiperplazijom i karcinomom endometrija (17). Žene s redovitim ciklusima također mogu imati PCOS na temelju novijih dijagnostičkih kriterija (11). Određivanjem razine progesterona u 2. fazi ciklusa u žena s PCOS i normalnim menstruacijskim ciklusima, nađena je anovulacija u 20 - 30 % žena (18). Redoviti ciklusi su rijetki, a poremećaj ovulacije je glavni razlog smanjenja plodnosti ovih žena (7).

Kod funkcionalnih hipotalamičkih amenoreja također može biti prisutna kronična anovulacija i ultrazvučni policističan izgled jajnika (19). Stoga je potrebno kod kroničnih anovulacija određivanje vrijednosti prolaktina (PRL) i luteinizirajućeg hormona (LH) u serumu, kako bi se isključila bolest hipotalamusa i / ili hipofize. Međutim, u tim stanjima karakteristične su niske vrijednosti estrogena u plazmi te niske ili normalne vrijednosti gonadotropina.

## **1.5.2. Klinički hiperandrogenizam i / ili biokemijska hiperandrogenemija**

### **1.5.2.1. Hiperandrogenizam**

Klinički i / ili biokemijski znaci viška androgena u PCOS rezultat su povećane sinteze i lučenja androgena iz jajnika. Povišena aktivnost androgena klinički se manifestira poremećajem pilosebaceozne jedinice u vidu hirsutizma, rjeđe akni (uglavnom kod mladih žena) i androgene alopecije (uglavnom kod starijih žena). Hirsutizam je jedan od najvažnijih simptoma PCOS (20). Definira se povećanim rastom dlaka prema muškom načinu distribucije. Čak 85 - 95 % žena s hirsutizmom ima PCOS. Težina hirsutizma procjenjuje se modificiranom Ferriman - Gallweyevom ljestvicom, jednostavnom za uporabu, koja bodovima od 1 - 4 ocjenjuje izraženost hirsutizma na devet određenih mjesta (20). Ukoliko je zbroj bodova više od 8, govorimo o hirsutizmu. Iako se smatra primarnim kliničkim indikatorom hiperandrogenizma, postoje ograničenja jer je ocjena hirsutizma subjektivna: bolesnice uobičajeno odstranjuju dlakavost prije kliničkog pregleda, a zbog genetski uvjetovanog smanjenog broja i / ili osjetljivosti pilosebaceozne jedinice na androgene neke žene s hiperandrogenemijom nikada ne razviju kliničke znakove hiperandrogenizma. Upravo zbog navedenog, bolesnice s hirsutizmom bez hiperandrogenemije, nismo uključili u našu studiju.

Akne i alopecija javljaju s jednakom učestalošću u žena s PCOS kao i u općoj populaciji (11,21). Zato se ne drže dovoljno pouzdanim znacima hiperandrogenizma. Ipak, svakoj ženi s aknama koje ne nestaju prestankom puberteta, odnosno postpubertalno nastalim aknama, treba odrediti androgene. Ostale značajke uključuju virilizaciju i klitoromegaliju koje trebaju isključenje drugih uzroka hiperandrogenemije (nadbubrežne uzroke ili tumore jajnika koji luče androgene) (22).

### **1.5.2.2. Biokemijska hiperandrogenemija**

Biokemijska hiperandrogenemija prisutna je u većine žena s PCOS. Dijagnosticira se mjerenjem ukupnog testosterona u serumu (T), proteina koji veže spolne hormone (*engl. sex hormone binding protein* - SHBG) i izračunom frakcije slobodnog testosterona (*engl. free androgen index* - FAI) (4). Definiranje hiperandrogenemije ima ograničenja zbog nedefiniranih granica normalnih vrijednosti u žena i varijabilnosti laboratorijskih metoda (23).

Stoga se preporučuje izračun slobodnog testosterona (FAI) iz SHBG i ukupnog testosterona (4). Koncentracija drugih androgena, androstendiona ili adrenalnog dihidroepiandrosteron sulfata (DHEAS), povišena je u manje od 10 % žena s PCOS. Rutinsko određivanje ovih hormona u serumu nije nužno (11). Najčešće povišen biokemijski marker je testosteron u 70 % slučajeva, dok se snižena koncentracija globulina koji veže spolne hormone (SHBG) javlja u 50 % slučajeva i dovodi do povećanja slobodnog androgenog indeksa (FAI) (Tablica 1). Stoga je FAI osjetljiviji od ukupne koncentracije androgena u procjeni hiperandrogenemije i smatra se korisnim markerom za PCOS (7). Treba naglasiti da 20 - 30 % pacijentica s hiperandrogenizmom nema povišene androgene, a isto toliko žena s hiperandrogenemijom nema hiperandrogenizam (2).

**Tablica 1. Biokemijska obilježja PCOS (7)**

| Hormon         | Vrijednosti u serumu | Žene (%) |
|----------------|----------------------|----------|
| LH             | ↑ > 10 IU / l        | 60       |
| LH / FSH omjer | ↑ > 2                | 95       |
| Testosteron    | ↑ > 2,5 nmol / l     | 70       |
| Androstendion  | ↑ > 10 nmol / l      | 10       |
| SHBG           | ↓                    | 50       |
| FAI            | ↑ > 5                | 75       |

FAI, slobodni androgeni indeks; FSH, folikulostimulirajući hormon; LH, luteinizirajući hormon; SHBG, protein koji veže spolne hormone

LH i / ili LH / FSH omjer smatraju se korisnim sekundarnim parametrima u definiciji PCOS, iako nisu uključeni u ESHRE / ASRM (Rotterdam) revidirane kriterije. LH zbog povećane amplitude i frekvencije impulsa (iznad 95. percentila normalnog) povišen je u 60 % žena s PCOS (Tablica 1). Povišen LH / FSH omjer je značajka do 95 % ispitanica (Tablica 1).

Intolerancija glukoze razvija se u 50 %, a dijabetes u 20 % pretilih žena s PCOS. Procjena tolerancije glukoze je dakle važna u pretilih žena s PCOS (7).

### **1.5.3. Ultrazvučni nalaz policističnih jajnika**

Ultrazvučni dijagnostički kriteriji za policistične jajnike su: 12 i više folikula (2 - 9 mm promjera) u svakom jajniku i volumen jajnika veći od 10 cm<sup>3</sup> (dovoljno je takav nalaz samo jednog jajnika) (24). U ultrazvučni kriterij ne ulaze ehogenost i debljina strome (folikuli poput ogrlica od perli). Vrijednost ultrazvučne dijagnostike neupitan je u PCOS zbog:

- najjednostavnijeg primarnog probira,
- ocjene težine PCOS pomoću broja antralnih folikula (AFC),
- ocjene rizika za endometriju,
- planiranja liječenja i indukcije ovulacije,
- izbora lijekova i doza,
- smanjenja rizika hiperstimulacije jajnika (OHSS) i višeplođnih trudnoća.

Od svih žena s ultrazvučnim nalazom policističnih jajnika 90 % ima PCOS (24).

### **1.5.4. Bolesti koje se slično manifestiraju**

Za dijagnozu PCOS nužno je isključiti niz rijetkih stanja sličnih tom sindromu. Najčešće su to bolesti sa sličnim ultrazvučnim promjenama na jajniku (24). Diferencijalno dijagnostički treba isključiti: bolesti štitnjače, hiperprolaktinemiju, gonadotropinom, neklasičnu kongenitalnu adrenalnu hiperplaziju, Cushingov sindrom, virilizirajuće tumore, hipotalamičke amenoreje, akromegaliju, glukokortikoidnu rezistenciju, inzulinsku rezistenciju, hipertekozu te korištenje nekih lijekova. Određivanjem gonadotropina, folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteotropnog hormona (LH) isključuju se hipotalamo-hipofizni razlozi anovulacija. Mjerenjem prolaktina (PRL) isključuje se hiperprolaktinemija, a tireotropin stimulirajućeg hormona (TSH) poremećaj štitne žlijezde. Određivanjem 17 - hiproksiprogesterona (17 - OHP) isključuje se neklasična kongenitalna adrenalna hiperplazija (NKAH), a određivanje kortizola u 24 satnom urinu isključuje Cushingovu bolest.

## **1.6. Etiologija**

Unatoč kliničkim i biokemijskim smjernicama, etiologija sindroma još uvijek je nejasna. Sve je više dokaza da poremećaj sinteze androgena u teka stanicama jajnika ima ključnu

ulogu u patogenezi PCOS (7). Tri moguća mehanizma tog poremećaja su: genetski poremećaj funkcije teka satnica, hipertrofija teka stanica, hipersekrecija luteinizirajućeg hormona (LH) ili hiperinzulinemia (7,17). Međutim, karakterističan način nasljeđivanja unutar obitelji govori u prilog teoriji da je sindrom ipak genetski uvjetovan (25). Poznato je da 35 % majki i 40 % sestara žena s PCOS ima ovaj poremećaj, ali i braća imaju veću učestalost dislipidemije, inzulinske rezistencije i hiperandrogenemije (26). PCOS se smatra vrlo kompleksnim genetskim poremećajem gdje čitav niz predisponirajućih gena potaknutih nekim čimbenicima okoliša dovode do nastanka bolesti (27). Do poremećaja sinteze androgena dolazi već tijekom intrauterinog života fetusa. U djece majki s PCOS odmah postpartalno nađene su povišene vrijednosti AMH, što govori u prilog povišene intrauterine androgene aktivnosti fetalnih jajnika (28). Hiperandrogenizam majke može aktivirati fetalnu nadbubrežnu žlijezdu i jajnike i dovesti do nastanka PCOS, dok aromataza posteljice i visok SHBG u serumu tijekom trudnoće štite fetus od povišenih vrijednosti androgena (29).

## **1.7. Patogeneza**

Rezultat kronične anovulacije kod PCOS su abnormalna folikulogeneza i steroidogeneza.

### **1.7.1. Folikulogeneza**

Razvoj folikula počinje prije rođenja od primordijalnog folikula (pod nepoznatim stimulansom) koji se transformira u primarni, sekundarni i mali antralni folikul (2 - 5 mm). Ovaj početni razvoj zahtjeva nisku razinu FSH i traje 70 - 80 dana. Nakon toga folikuli postaju ovisni o FSH. Ako izostane FSH poticaj nastaje atrezija. U kasnoj luteinskoj fazi normalnog ovulacijskog ciklusa, rast FSH iznad određenog praga regrutira nekoliko malih antralnih folikula koji su spašeni od atrezije i nastavljaju rast za novi ciklus. Kada jedan vodeći folikul dosegne promjer 9 - 10 mm, njegove granulosa stanice dobivaju LH receptore i u daljnjem razvoju folikul postaje ovisan o LH. Rast proizvodnje estrogena u vodećem folikulu izaziva pad FSH i porast LH, dominantni folikul i dalje sazrijeva (ima više receptora za FSH), dok ostali podliježu atreziji.

U PCOS unatoč normalnom broju primordijalnih folikula i normalnom ranom folikularnom razvoju nezavisnom od FSH, rast folikula zaustavljen je na razini malih



antralnih folikula bez mogućnosti dominacije i prirodnog procesa atrezije. To dovodi do povećanja broja primarnih, sekundarnih i antralnih (2 - 9 mm) folikula. Granuloza stanice malih antralnih folikula stječu prerano LH receptore što rezultira LH - induciranom aktivnošću aromataze. Povećana je proizvodnja estrogena zbog povećane dostupnosti prekursora (androgena) za proizvodnju estrogena u granuloza stanicama. Povišena razina cirkulirajućih estrogena rezultira pozitivnom povratnom informacijom za LH i negativnom povratnom informacijom za FSH i tako uzrokuje neurednu folikulogenezu (7). Mehanizam poremećaja folikulogeneze ostaje nepoznat, postoje razne teorije: relativni nedostatak FSH, abnormalan poticaj LH, nedostatak lokalnih čimbenika rasta. Međutim u novije vrijeme uzrok se pripisuje i višku proizvodnje anti-Müllerian hormona (AMH) iz malih antralnih folikula (30,31). Poznavanje stvarne funkcije AMH u jajniku je ograničeno, a velik dio informacija koje imamo je iz studija o miševima (32). Proizvode ga granuloza stanice malih antralnih folikula od 36. tjedana trudnoće do menopauze. Proizvodnja se smanjuje kako folikuli rastu, a kada jedan folikul dostigne veličinu na kojoj je dominantan, proizvodnja uglavnom prestane (33). Čini se da je važan uvjet za izbor dominantnog folikula smanjenje AMH i napredovanje do ovulacije, jer AMH inhibicijom aromataze smanjuje osjetljivost folikula na FSH (33). AMH je dva do tri puta veći u serumu žena s PCOS nego u žena s normalnim jajnicima (34). Pretpostavlja se da viša razina kod PCOS nije zbog povećanja broja malih antralnih folikula, već da je proizvodnja lokalizirana i djeluje na okolne folikule i njihov odaziv na FSH, čime doprinosi folikularnom arestu (35). Uglavnom serumska koncentracija AMH kod PCOS u korelaciji je s težinom simptoma, a uzrok povećanja može biti posljedica proizvodnje androgena (30,31,36).

### **1.7.2. Steroidogeneza**

U normalnom ciklusu sekundarni folikul ima teka sloj stanica s LH receptorima i steroidogeni kapacitet (LH potiče steroidogenezu, proizvodnju progesterona i luteinizaciju), dok granuloza stanice sadrže FSH receptore. LH stimulira teka stanice na proizvodnju androgena koji se u granuloza stanicama pod utjecajem FSH (koji povisuje aktivnost P<sub>450</sub> aromataze) pretvaraju u estrogene. U prisutnosti veće količine androgena, granuloza stanice dominantnog folikula i dalje proizvode veće razine estrogena, unatoč smanjenju razine FSH. Porast estrogena uzrokuje pad FSH i porast LH, posebno u sredini ovulacijskog ciklusa kada

zajedno s progesteronom, mehanizmom pozitivne povratne sprege, inducira nagli porast LH i ovulaciju.

U patogenezi PCOS centralno zbivanje je višak proizvodnje androgena u jajniku. Iako je moguće da povećan broj malih antralnih folikula stvara višak androgena, moguće je i da genetski određena hipersekrecija androgena uzrokuje poremećaj u folikulogenezi. Zbog povišenih vrijednosti androgena izostaje selekcija dominantnog folikula i porast vrijednosti progesterona. Niske vrijednosti progesterona uzrokuju povišenu pulsatilnost GnRH i potiču lučenje LH u odnosu na FSH. Povišen LH dodatno stimulira teka stanice folikula na stvaranje androgena, a zbog lokalnih parakrinih učinaka androgena i AMH smanjena je aktivnost FSH u jajniku (17).

## **1.8. Posljedice i rizici PCOS**

Djeca s PCOS intrauterino pokazuju veću učestalost zastoja u rastu. U prvoj godini brzi prirast tjelesne težine povećava rizik kasnije u životu za inzulinsku rezistenciju i šećernu bolest tipa 2 (37). Djevojčice s PCOS imaju prijevremenu pubarhu i prijevremenu menarhu (38). Česti su neredoviti menstruacijski ciklusi, akne, neplodnost i karcinom endometrija. Hiperplazija i karcinoma endometrija nastaju zbog stimulacije endometrija estrogenom i nedostataka progesterone (39). Povišena je prevalencija inzulinske rezistencije i dijabetesa tip 2, čak i kada je BMI nizak (40). Veća je učestalost spontanih pobačaja, gestacijskog dijabetesa, hipertenzije i preeklampsije (5). Uglavnom, kao rezultat komplikacija u trudnoći češći su porodi carskim rezom, veća učestalost prijevremenih poroda i viši perinatalni mortalitet (5). Povišen rizik nastanka kardiovaskularnih bolesti nađena je kod žena u postmenopauzi koje su prethodno bolovale od PCOS (41). Češća je apneja u spavanju, masna degeneracija jetre i depresija (1). Centralna akumulacija masti, inzulinska rezistencija i kompenzatorna hiperinzulinemija također su česte abnormalnosti. Metabolički sindrom se razvija u 46 % slučajeva, njegova učestalost kod žena s PCOS u dobi od 40 godina jednaka je učestalosti kod žena od 70 godina bez PCOS. Brojne studije ukazuju na povišenu učestalost ateroskleroze u odnosu na opću populaciju (42).

## **1.9. Reprodukcijski poremećaji**

PCOS je najčešći (90 % do 95 %) uzrok anovulacijskih neplodnosti. Reprodukcijski poremećaji su anovulacija, subfertilnost i rani gubitak trudnoće (5). Temelj patogeneze svih reprodukcijskih poremećaja je u poremećenoj folikulogenezi i steroidogenezi. Ipak, 60 % žena s ovim sindromom je plodno (sposobnost začeti u roku od 12 mjeseci), iako je vrijeme začeća često produženo (16).

Visoka je stopa pobačaja (30 - 50 %) u usporedbi s općom populacijom (17). Hipersekrecija LH, hiperandrogenemija i/ili hiperinsulinemija su mogući mehanizmi ranog gubitka trudnoće. U žena s normalnim ovulacijskim ciklusima, predovulacijski porast LH dovodi do nastavka mejoze i završnog sazrijevanja jajne stanice. U PCOS, na granulosa stanicama LH receptori se javljaju prerano i pod utjecajem LH dolazi do preranog sazrijevanja jajne stanice, zbog djelovanja LH na inhibitore sazrijevanja oocite. Visoke koncentracije androgena imaju štetan učinak na funkciju endometrija u folikulinskoj i luteinskoj fazi, te mogu utjecati na njegovu receptivnost (17).

## **1.10. Liječenje neplodnosti**

Stein i Leventhal 1935. godine napravili su klinastu resekciju jajnika, koja je usvojena kao standardna metoda indukcije ovulacije u PCOS. Ovulacijske stope su bile visoke, ali je stopa trudnoća bila znatno niža, vjerojatno zbog velike učestalosti priraslica nakon kirurškog zahvata. To je endokrini uzrok neplodnosti pretvorilo u mehanički. Kasnije 1960., uvođenjem indukcije ovulacije klomifen citratom (CC) i gonadotropinima, klinasta resekcija se napušta i CC postaje standardni tretman u liječenju neplodnosti kod PCOS. U kasnim šezdesetim ponovno se započinje kirurškim liječenjem i tretmanom na oba jajnika (bilateralno). Laparoskopsko bušenje jajnika prvi put je opisano 1984. (8 - 15 uboda, s 300 do 400 W u trajanju od 2 - 4 sekunde) (43). Neke studije su izvjestile o dobrim rezultatima korištenjem lasera (CO<sub>2</sub>, argon, KTP ili Nd-YAG). Međutim, objavljeni rezultati laserskih operacija su inferiorni u odnosu na one s elektrokauterizacijom.

U današnje vrijeme, kontroverze oko liječenja neplodnosti kod ovog zagonetnog sindroma dovele su do druge međunarodne radionice ESHRE / ASRM, održane u Solunu (44). Prema tom konsenzusu indukciji ovulacije prethodi liječenje štetnih životnih stilova (pretilost, fizička neaktivnost, alkohol, duhan). Klomifen citrat (CC) primjenjuje se kao prva linija liječenja, druga linija liječenja su gonadotropini ili laparoskopsko bušenje jajnika (*engl. Laparoscopic ovarian drilling - LOD*), a treća in vitro oplodnja. Primarni ishod liječenja neplodnosti kod PCOS je rođenje zdravog djeteta, a osnovni preduvjet je uspostavljanje ovulacije.

### **1.10.1. Redukcija tjelesne težine**

Predkonceptijskim savjetovanjem u žena s PCOS utvrđuju se faktori rizika za reprodukcijski neuspjeh i pokušavaju ispraviti prije liječenja. Pretilost je povezana s neuspjehom ili odgođenim odgovorom na razne indukcijske tretmane (klomifen, gonadotropine i laparoskopsko bušenje) (45,46) i većim rizikom od pobačaja (16). Idealno bi težinu trebalo optimizirati prije trudnoće i liječenja. Gubitak tjelesne težine od 5 % povezan je s poboljšanom stopom spontanijih ovulacija (47). Povećana tjelesna aktivnost i upotreba farmakoloških preparata za mršavljenje u predkonceptijskom razdoblju su potencijalno štetni. Sve postupke mršavljenja treba provoditi prije trudnoće, a ne istodobno s liječenjem neplodnosti.

### **1.10.2. Indukcija ovulacije**

Stimulacija ovulacije u pacijentica s PCOS mora biti vrlo stručna i oprezna zbog visokog rizika od hiperstimulacije jajnika. Kako jajnici s PCOS imaju veliku pričuvu malih i osjetljivih folikula, viša doza fertilitetnih lijekova može izazvati pojačan odgovor. Osnovni princip svih metoda indukcije ovulacije kod PCOS je koristiti najmanju moguću dozu lijeka ili energije (45).

Početak liječenja i odluka o vrsti indukcije ovulacije trebao bi biti individualan i temeljiti se na početnim karakteristikama sindroma (44). Individualni pristupi međusobno su različiti između različitih linija liječenja i mogu dovesti do odstupanja od prve, druge ili treće linije liječenja u dobro definiranih podskupina žena (44).

### **1.10.2.1. Klomifen citrat (CC)**

Primjenjuje se kao prva linija liječenja neplodnosti u PCOS. Uz njegovu primjenu stopa ovulacija je 60 - 85 %, a stopa trudnoća 30 - 40 % (48). Nepovoljna mu je strana stopa pobačaja do 40 %, povećan rizik od višeplođnih trudnoća i rizik od sindroma hiperstimulacije jajnika (OHSS) (49). Produženje tretmana više od 6 mjeseci kod izostanka ovulacije ili trudnoće ne poboljšava rezultate, pacijentice se smatraju otpornim na liječenje (44). U takvim okolnostima laparoskopsko bušenje jajnika može biti predloženo kao prva, druga ili treća linija liječenja (50). Prije liječenja treba uzeti u obzir BMI i dob žene. Početna doza trebala bi biti 50 mg/dan (pet dana od 2 - 5. dana ciklusa). Maksimalna dnevna doza je 150 mg/dan, jer ne postoji dokaz učinkovitosti većih doza (44). Vazomotorni simptomi i glavobolja su nuspojave tijekom liječenja, ali se CC općenito dobro podnosi.

### **Alternativne terapije**

Tamoksifen je učinkovit kao CC za indukciju ovulacije, ali nije licenciran za tu svrhu. Može biti alternativa u žena koje imaju vazomotorne simptome uz CC terapiju. Letrozol je također učinkovit kao CC za indukciju ovulacije, ali također nije odobren za liječenje neplodnosti. Može biti opcija za neke žene nakon procjene rizika i koristi primjene (44).

### **1.10.2.2. Antihiperlikemici**

Koriste se za liječenje dijabetesa, što je razlog za njihovo korištenje u liječenju PCOS. Primarni rizik metformina je mliječna acidoza (51), tiazolidin dionim je hepatotoksičan, a roziglitazon povećava kardiovaskularni morbiditet (52). Što se tiče korištenja tih lijekova tijekom trudnoće, metformin je lijek B kategorije prema Agenciji za hranu i lijekove (*engl. Food and Drug Administration - FDA*), što znači da u životinja nema povećanog fetalnog rizika, ali nema studija na ljudima. Pioglitazon i roziglitazon spadaju u C kategoriju, jer su u istraživanjima na životinjama pokazali negativne učinke na fetus (44). Korištenje metformina treba ograničiti samo na pacijentice s intolerancijom glukoze. Manja mu je učinkovitost od CC u indukciji ovulacije i nema prednosti kombinacija metformina i CC u usporedbi sa samim CC tretmanom (48).

### 1.10.2.3. Gonadotropini

U mnogim centrima gonadotropinska terapija je druga linija u indukciji ovulacije. Nadalje, metoda izbora je kod klomifen citrat rezistentnih žena (17). Koristi se više protokola stimulacije.

#### Step - up protokol

Stimulacija započinje malom dnevnom dozom FSH (obično 50 - 75 IJ), koja se nastavlja duže razdoblje (obično 14 dana), a zatim postupno povećava (npr. 25 - 37,5 IJ) svakih 5 - 7 dana do porasta dominantnog folikula. Ovakvim pristupom postižu se visoke stope monofolikulogeneze (70 %), stopa trudnoće od 20 % po ciklusu te niska stopa višeplođnih trudnoća (5 %) i hiperstimulacijskog sindroma (OHSS < 1 %). Glavni problem je dugo trajanje liječenja.

#### Step - down protokol

Terapija započinje s 150 IJ FSH dnevno, smanjuje se za 37,5 IJ kada jedan folikul dostigne promjer od 10 mm. Daljnje smanjenje je 3 dana kasnije na 75 IJ dnevno do davanja HCG-a. Ovaj protokol zahtijeva strože praćenje folikula.

Alternativa je **sekvencijski protokol** koji počinje step - down protokolom, slijedi step - up protokol kad je jedan dominantni folikul promjera 14 mm.

Trajanje terapije gonadotropinima ne bi trebalo prelaziti šest ovulacijskih ciklusa. Nedostatak ove stimulacije je opasnost od OHSS i rizik od višeplođnih trudnoća. Ovi protokoli su učinkoviti u postizanju ovulacije, ali je potreban intenzivan nadzor folikularnog rasta da bi se smanjile komplikacije i osigurala učinkovitost (44).

### 1.10.2.4. Laparoskopsko bušenje jajnika (LOD)

Laparoskopsko bušenje primjenjuje se kao druga linija liječenja za indukciju ovulacije u pacijentica s PCOS rezistentnih na CC (53), daje stopu ovulacija od 80 % i stopu trudnoća od 60 - 80 % (54). Tkivo jajnika uništava se određenom količinom energije minimalno invazivnim putem. Mehanizam djelovanja nije jasan i ne zna se da li LOD djeluje kroz direktan utjecaj na jajnik ili kroz sistemski endokrini mehanizam. Uništenjem tkiva smanjuje se proizvodnja androgena jajnika kroz smanjenje stromalne mase ili ometanje protoka krvi (55,56). Konverzija iz androgenog u estrogeno okruženje daje poticaj gonadotropinima za

razvoj folikula i ovulaciju (57). Nakon prolaznog povećanja LH u prvih 24 do 48 sati nakon operacije slijedi njegov pad. Smanjuje se uglavnom amplituda, a ne frekvencija impulsa što ukazuje na endokrini učinak na razini hipofize (58). Iako AMH nije dio negativne povratne petlje koja uključuje gonadotropine, ipak njegov pad nakon LOD zbog nestanka inhibicije potiče gonadotropine na razvoj folikula i ovulaciju (59). Promjena u koncentraciji AMH kao rezultat LOD može značiti da LOD djeluje lokalno na smanjenje izlučivanja AMH unutar jajnika, čime se olakšava nastavak folikulogeneze ili pak da smanjenje AMH nastaje zbog atrezije malih folikula kao dio normalnog folikularnog razvoja i nije uzrok već posljedica ovulacije (60). Svakako, smanjenje AMH bitan je dio reproduktivnog odgovora nakon liječenja bilateralnim laparoskopskim bušenjem i one žene s višim koncentracijama prije liječenja imaju najgori ishod (33,60).

Učinak LOD za razliku od gonadotropinske stimulacije rezultira monoovulacijama bez rizika OHSS ili višeplođnih (trojki) trudnoća (45). Intenzivno praćenje folikularnog razvoja nije potrebno (45). Ispravljajući endokrini poremećaj viška lučenja LH i androgena smanjuje rizik od pobačaja koji je povećan kod ovog sindroma (30 - 50 %) (61,62). Potreban je samo jedan tretman i stoga manji trošak liječenja za razliku od gonadotropinske terapije (54). Koristan učinak LOD može se održati i do 9 godina i oko dvije trećine žena nakon LOD imaju redovite cikluse (63). Korisna je metoda za pacijentice koje žive daleko od bolnice i nisu u mogućnosti za intenzivna praćenja folikularnog razvoja koja su potrebna u toku gonadotropinske terapije. LOD također omogućava brzu provjeru anatomije zdjelice i prohodnosti jajovoda, izbjegavajući potrebu za histerosalpingogramom, koji je potreban prije tretmana s gonadotropinima. Poremećaji anatomije zdjelice, kao što su endometrioza i priraslice, koji bi mogli negativno utjecati na plodnost, mogu se otkriti i liječiti tijekom LOD. Kirurškom terapijom može se izbjeći ili smanjiti potreba za gonadotropinima ili se može olakšati njihovo korištenje, jer LOD povećava osjetljivost na gonadotropine.

Nedostatci koji LOD sprečavaju kao primarni pristup liječenju su rizici koji su svojstveni svakom kirurškom zahvatu, ipak komplikacije u toku samog zahvata su rijetke (45). Dugoročni rizici su formiranje priraslica i moguće oštećenje pričuve jajnika (64). Ipak, može se koristiti kao prva linija liječenja ako je indicirana laparoskopija zbog drugih razloga (57).

Učestalost postoperativnih priraslica kreće se od 19 % do 43 %, čak i do 82 % (57). Priraslice jajnika su za stjenku zdjelice (81,9 %), jajovod (8,4 %), omentum (7,2 %), i debelo crijevo (2,4 %) (65). Lijevi jajnik (64 %) za razliku od desnog (36 %) skloniji je razvoju teških priraslica (66). Predispozicija lijeve strane može se objasniti smanjenim kretanjem fluida na lijevoj strani zdjelice zbog blizine sigme (67). Priraslice mogu izazvati neplodnost,

bol u zdjelici i gastrointestinalne poremećaje. Varijacije u kirurškim tehnikama također mogu utjecati na stopu priraslica (57), stopa priraslica je veća kod korištenja lasera nego elektrokauterizacije (68).

Razaranjem normalnog tkiva jajnika, posebno korištenjem većeg broja uboda i većih doza energije, javlja se briga za smanjenje pričuve (*engl. decreased ovarian reserve, DOR*) i prijevremenog zatajenja jajnika (*engl. premature ovarian failure, POF*) (69). Pojam pričuva jajnika označava bazen primordijalnih folikula u jajniku. Smanjenje pričuve odražava proces folikularnog osiromašenja i pad kvalitete jajne stanice, te je usko povezan s reproduktivnim potencijalom i mogućnosti uspješne trudnoće (70,71). U PCOS čini se da je veća pričuva jajnika u usporedbi sa ženama bez PCOS. Za veću pričuvu odgovorni su patofiziološki mehanizmi koji dovode od visoke aktivnosti jajnika, anovulacije i drugih endokrinoloških poremećaja (72). Laparoskopskim ovarijskim bušenjem zbog uništenja tkiva ta pretjerana aktivnost jajnika svodi se na fiziološke razine (73,74). Međutim, bez obzira na višu pričuvu u PCOS, nakon LOD je zapaženo prijevremeno zatajenje jajnika (70,75). Budući je broj takvih prijavljenih slučajeva u literaturi ograničen, ne mogu se izvući čvrsti zaključci o toj asocijaciji (70). Povezanost između oštećenja pričuve jajnika nije opisana samo nakon laparoskopskog bušenja već i nakon drugih kirurških zahvata na jajniku (npr. cistektomija) (76). Kako se DOR i POF odnose na broj prisutnih primordijalnih folikula, mjerenjem pričuve jajnika može se dokazati ili odbaciti povezanost s LOD (70). Količina toplinske energije primjenjene tijekom LOD je presudna i za liječenje i za očuvanje pričuve jajnika (72). Stoga je predloženo da bi doza energije i broj uboda trebao biti što je moguće više prilagođen svakom pacijentu. Jedini slučaj akutnog zatajenja jajnika prikazan u literaturi nastao je upotrebom prekomjerne energije od 16000 J u odnosu na uobičajnu dozu od 600-1200 J (75). Druge pak studije su izvijestile da se DOR može dogoditi nakon bilateralnog (960-1600J), ali ne i nakon unilateralnog bušenja ili indukcije klomifen citratom (70,77).

Učinak LOD (unilateralnog ili bilateralnog) ovisi dakle o uništenju određene količine tkiva, bilo da se radi o jednom ili oba jajnika. Bilateralnim bušenjem (BLOD) statistički značajna stopa ovulacija i trudnoća postiže se energijom od 1200 J (74). Četiri uboda po jajniku prilikom bilateralnog bušenja, uz snagu od 30 W u trajanju od 5 sekundi po ubodu ( $30 \text{ W} \times 5 \text{ s} \times 4 = 600 \text{ J}$  po jajniku, ili 1200 J na volumen oba jajnika) dostatni su za optimalnu reakciju - stopa ovulacije 67 % (74). Međutim, korištenjem takve energije identične za sve pacijentice ne može se postići optimalna stopa ovulacije, posebno kod pacijentica s velikim volumenom jajnika (78). Ako se koristi veća količina energije može se uništiti reproduksijska funkcija, a primjenom nedovoljne ili manje količine energije kirurški zahvat može biti



neučinkovit (74). Energijom prilagođenom volumenu jajnika kod bilateralnog bušenja ( $60 \text{ J/cm}^3$  oba jajnika) postignuta je veća stopa ovulacije (87,9 %) nego kod bilateralnog bušenja energijom od 1200J (78). Doza energije izračunata je kao srednja vrijednost na osnovu četiri studije koje su koristile najmanje učinkovite energije kod bilateralnog bušenja (640 J, 450 J, 600 J, i 800 J po jajniku) i dobivena je energije od 625 J po jajniku. Volumen jajnika bio je u rasponu od  $9,6 - 12 \text{ cm}^3$ , a srednja vrijednost iznosila je  $10,3 \text{ cm}^3$  (78). Dakle, energija je izračunata na sljedeći način:  $625 \text{ J}/10 \text{ cm}^3 = 60 \text{ J/cm}^3$ . Broj uboda računao se dijeljenjem ukupne izračunate energije prema formuli: energija = broj uboda x 30 W x 5 s (78). Međutim, ukupna doza energije primijenjena na ukupni volumen jajnika kretala se i do 2160 J, a poznato je da veća ozljeda (broj uboda!) na površini jajnika nosi veći rizik od priraslica i oštećenja tkiva jajnika (57,74). Nedostatak bilateralnog bušenja su priraslice posebno na lijevom jajniku i potencijalno smanjenje pričuve zbog većeg oštećenja tkiva, većeg broja uboda i većih doza energije (65,66,69). Iako zasad dugoročna praćenja tih žena daju ohrabrujuće rezultate, ipak literatura preporučuje odabir najmanje agresivne metode za LOD (69).

Još 1994. god. Balen je u studiji na 10 pacijentica dokazao da tretman na jednom jajniku (ULOD) ostvaruje svoje djelovanje ispravljanjem nenormalnosti na razini jajnik-hipofiza, što rezultira stimulacijom rasta folikula i dovodi do aktivnosti oba jajnika (79). Stopa trudnoće u toj studiji bila je 75 % (69,79). Youssef i Royy u svojim studijama također navode da je unilateralna metoda (600 - 640 J) učinkovita kao i bilateralna (1200 J) s nižom stopom komplikacija (80). Korist od takvog pristupa je minimaliziranje postoperativnih priraslica, manje oštećenje tkiva jajnika i kraće trajanje zahvata (80). Međutim, unilateralni tretman još nije prihvaćena kao kirurški održiva opcija za LOD i zahtijeva daljnju procjenu (66,69). Za taj postupak još uvijek nije određena optimalna doza energije koja pouzdano stimulira ovulacijski ciklus (57,69). Nijedna studija do sada nije obradila unilateralno bušenje energijom prilagođenom volumenu jajnika.

## **2. HIPOTEZA**

Postavili smo hipotezu kako je stopa ovulacije veća nakon primjene unilateralnog laparoskopskog bušenja energijom koja je prilagođena volumenu desnog jajnika nego nakon primjene bilateralnoga laparoskopskog bušenja nepromjenljivom energijom. Razlozi su:

- Primjena energije optimizirane volumenu povezana je s boljim ovulacijskim odgovorom nakon LOD.
- Energija prilagođena volumenu jednog jajnika uzrokuje endokrine promjene dostatne za uspostavu folikulogeneze.
- Unilateralno laparoskopsko bušenje jajnika manje oštećuje pričuvu jajnika od bilateralnog bušenja.

### **3. CILJEVI**

## **Glavni cilj:**

Glavni cilj ove studije je razlika u stopi ovulacije između dviju metoda (ULOD i BLOD) s obzirom na ulazne parametre:

- kliničke parametre: volumen i stranu jajnika
- dozu primijenjene energije
- biokemijske parametre: AMH i androgene

## **Sporedni cilj:**

- Ispitati da li unilateralno laparoskopsko bušenje energijom prilagođenom volumenu ima pošteniji učinak na pričuvu jajnika od bilateralnog laparoskopskog bušenja fiksnom energijom.

## **4. ISPITANICE I METODE**

## 4.1. Ispitanice

Ova prospektivna, longitudinalna, kohortna studija provedena je u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split. U istraživanju je sudjelovalo 96 neplodnih žena s PCOS otpornih na liječenje klomifen citatom (150 mg / dan tijekom pet dana) čija je životna dob bila između 25 i 35 godina nakon upisa u istraživanje. Dijagnoza PCOS postavljena je prema kriterijima Rotterdamskog konsenzusa (2). Dijagnostički kriteriji uključivali su sljedeće karakteristike:

1. oligomenoreja / anovulacija,
2. biokemijski znaci viška androgena (testosteron  $> 2.5$  nmol / L),
3. ultrazvučne značajke policističnih jajnika sa sljedećim dijagnostičkim parametrima: 12 ili više folikula promjera 2 - 9 mm u oba jajnika ili volumen jednog jajnika  $> 10$  cm<sup>3</sup> (24).

Ostali kriteriji uključivanja bili su: BMI  $< 30$  kg/m<sup>2</sup>, neplodnost 1-3 godine, LH  $\geq 10$  ili LH:FSH omjer  $\geq 2$ , FAI  $> 4$ , uredan spermogram partnera (WHO, 2010) i normalan OGTT. Samo su ispitanice s fenotipskim karakteristikama oligo / anovulacija, hiperandrogenemije i policističnih jajnika na ultrazvučnom pregledu bile upisane u studiju.

Oligoanovulacija je bila definirana prisutnošću oligomenoreje (intermenstrualni interval od 36 dana do 6 mjeseci). Amenoreja je bila definirana intermenstrualnim intervalnom dužim od 6 mjeseci. Izabrali smo navedene kriterije jer su se pokazali kao prediktori uspjeha za LOD (17,44). Predoperativne razine LH  $> 10$  IU / l povezuju se s višim stopama trudnoće nakon LOD. Stopa ovulacije i trudnoća je niža kod predoperativnih vrijednosti testosterona  $\geq 4,5$  nmol / l nego kod umjereno povišenih vrijednosti od 2,6 do 4,4 nmol / l (17). Osim toga, LH i LH / FSH omjer su dobri prediktori trajanja blagotvornog učinka LOD (17).

Kriteriji isključenja bile su potvrdne dijagnoze bolesti koje se slično očituju: adrenalna hiperplazija, bolesti štitnjače, Cushing, hiperprolaktinemija, povišeni androgeni uz tumor. Veličina uzorka utvrđena je na temelju testa primarne hipoteze o većoj stopi ovulacije u skupini liječenoj unilateralnom metodom. U pilot istraživanju provedenom na 61 ispitanici procijenjene su stope ovulacije od 44 % za skupinu s bilateralnim LOD i 69 % za skupinu s unilateralnim LOD. Uz pretpostavku za razinu statističke značajnosti od 5 % i snagu testa od 80 %, izračunata je minimalno potrebna veličina uzorka za jednostrani statistički test od 96 ispitanica (48 ispitanika po skupini).

Ispitanice su bile podijeljene naizmjenično u dvije skupine prema upisu u protokol operacije. U prvoj skupini primijenio se LOD samo na jedan desni jajnik, a u drugoj na oba jajnika. Hormonsko i ultrazvučno praćenje bilo je identično u obje skupine.

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Biokemijska analiza

Korištena hormonsko - biokemijska analiza spada u standardni protokol koji se koristi prije početka medikamentoznog (klomifen) liječenja žena s PCOS. Uzorci krvi pred operaciju za analizu sakupljali su se svim ženama uključenim u studiju u ranoj folikulinskoj fazi (2.-5. dan) spontanog ili progesteronom inducirano anovulatornog menstruacijskog ciklusa. Iz periferne krvi određivali su se hormoni: luteinizirajući hormon (LH), folikulo-stimulirajući hormon (FSH), anti-Müllerov hormon (AMH), ukupni testosteron (T), globulin koji veže spolne hormone (engl. sex hormone binding globulin, SHBG), progesteron (P<sub>4</sub>) i prolaktin (PRL). FAI (engl. free androgen index) se računao iz omjera ukupnog testosterona i SHBG x 100 (4).

### 4.2.2. Hormonski parametri

**Tablica 2. Referentne vrijednosti hormonskih parametara**

| Hormon              | Referentni raspon     |
|---------------------|-----------------------|
| FSH (IU/L)          | 1,8-9,4 (fol. faza)   |
| LH (IU/L)           | 0,8-10,4 (fol. faza)  |
| AMH(ng/ml)          | 2,2-4                 |
| T (ukupni) (nmol/L) | 0,2-2,5               |
| SHBG (nmol/L)       | 20-85                 |
| P4 (nmol/L)         | 14,5-55,8 (lut. faza) |
| PRL (mIU/L)         | 81-597                |

AMH, anti-milerov hormon; FSH, folikulostimulirajući hormon; LH, luteinizirajući hormon; PRL, prolaktin; P<sub>4</sub>, progesteron; SHGB, globulin koji veže spolne hormone; T, ukupni testostosterone.



#### **4.2.3. Određivanje koncentracije FSH**

Koncentracija FSH određena je radioimunološkom analizom IRMA - metodom (mjeri se radioaktivnost obilježenog kompleksa s  $^{125}\text{J}$ , scintilacijski brojač - Capintec. Proizvođač: DIASource FSH-IRMA Kit, Louvin - la - Neuve, Belgija).

Analitička osjetljivost ove metode je 0,1 mIU/mL, mjerni raspon od 0 - 152 mIU/mL, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 1,8 %. Križna reakcija s LH 300 mIU/mL, te s TSH 300  $\mu\text{IU/mL}$ .

#### **4.2.4. Određivanje koncentracije LH**

Koncentracija LH određena je radioimunološkom analizom IRMA - metodom (mjeri se radioaktivnost obilježenog kompleksa s  $^{125}\text{J}$ , scintilacijski brojač - Capintec. Proizvođač: DIASource LH-IRMA, Louvin - la - Neuve, Belgija).

Analitička osjetljivost ove metode je 0,2 mIU/mL, mjerni raspon od 0 - 194 mIU/mL, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 1,4 %. Križna reakcija s FSH 300 mIU/mL, te s TSH 300  $\mu\text{IU/mL}$ .

#### **4.2.5. Određivanje koncentracije AMH**

Za pretragu AMH princip metode je AMH Gen II ELISA (enzimska imunološka metoda) na testovima firme Beckman Coulter, na uređaju ELISYS UNO (Human, Wiesbaden, Njemačka).

Osjetljivost je 0,08 ng/ml, test je specifičan za AMH. Nema križne reakcije s Inhibinom A, aktivinom A, FSH i LH. To vrijedi za koncentracije koje su 2x veće od fizioloških. Mjerni raspon je od 0,01 do 22,5 ng/ml. Faktor preračunavanja:  $1 \text{ ng/ml} \times 7,14 = \text{pmol/L}$ .

#### **4.2.6. Određivanje koncentracije ukupnog testostero**

Koncentracija ukupnog T određena je radioimunološkom analizom RIA - metodom (mjeri se radioaktivnost obilježenog kompleksa s 125 J, scintilacijski brojač - Capintec. Proizvođač: DIASource LH-RIA Kit, Louvin - la - Neuve, Belgija).

Analitička osjetljivost ove metode je 0,5 pg/mL, mjerni raspon od 0 - 16,4 pg/mL, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 3,3 %.

#### **4.2.7. Određivanje koncentracije SHBG**

Koncentracija SHBG određena je radioimunološkom analizom RIA - metodom (mjeri se radioaktivnost obilježenog kompleksa s 125 J, scintilacijski brojač - Capintec. Proizvođač: DIASource LH-RIA Kit, Louvin - la - Neuve, Belgija).

Analitička osjetljivost ove metode je 0,26 nmoL/L, mjerni raspon od 0 - 250 nmoL/L, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 3,3 %.

#### **4.2.8. Određivanje koncentracije progesterona**

Koncentracija progesterona određena je radioimunološkom analizom, RIA - metoda (mjeri se radioaktivnost obilježenog kompleksa s 125J, scintilacijski brojač - Capintec. Proizvođač: DIASource LH-RIA Kit, Louvin - la - Neuve, Belgija).

Analitička osjetljivost ove metode je 0,05 ng/mL, mjerni raspon od 0 - 36 ng/mL, a koeficijent varijacije iz dana u dan nisu veći od 3,3 %. Križna reakcije s ukup.T, DHEA - S - CT,  $\beta$  estradiol, cortisterone, cortisol.

#### **4.2.9. Određivanje koncentracije prolaktina**

Koncentracija PRL određena je radioimunološkom analizom IRMA - metodom (mjeri se radioaktivnost obilježenog kompleksa s 125J, scintilacijski brojač - Capintec. Proizvođač: DIASource LH-IRMA Kit, Louvin - la - Neuve Rue, Belgija).

Analitička osjetljivost ove metode je 0,35 ng/mL, mjerni raspon od 0-133 ng/mL, a koeficijenti varijacije iz dana u dan nisu veći od 3,3 %. Križna reakcija je s FSH, LH, TSH, hCG .

### **4.3. Klinička analiza**

Tijekom istog posjeta kada je uzeta krv za hormonsko - biokemijsku analizu (2 - 5. dan ciklusa) svim pacijenticama napravio se i transvaginalni ultrazvučni pregled (volumen i AFC). Volumen jajnika računao se prema formuli za volumen sferoida: dužina x širina x visina u centimetrima pomnožen s 0,523 (24). Folikuli su se brojili na fiksnoj (zamrznutoj) slici u ravnini u kojoj se najveći broj folikula vizualizirao. AFC označava broj folikula u oba ovarija. Ultrazvučni pregledi obavljali su se na ultrazvučnom uređaju Aloka Collor Doppler SSD - 3500SX (AlocaCo, Tokyo, Japan) s transvaginalnom sondom (UST - 9124).

### **4.4. Operativni postupak**

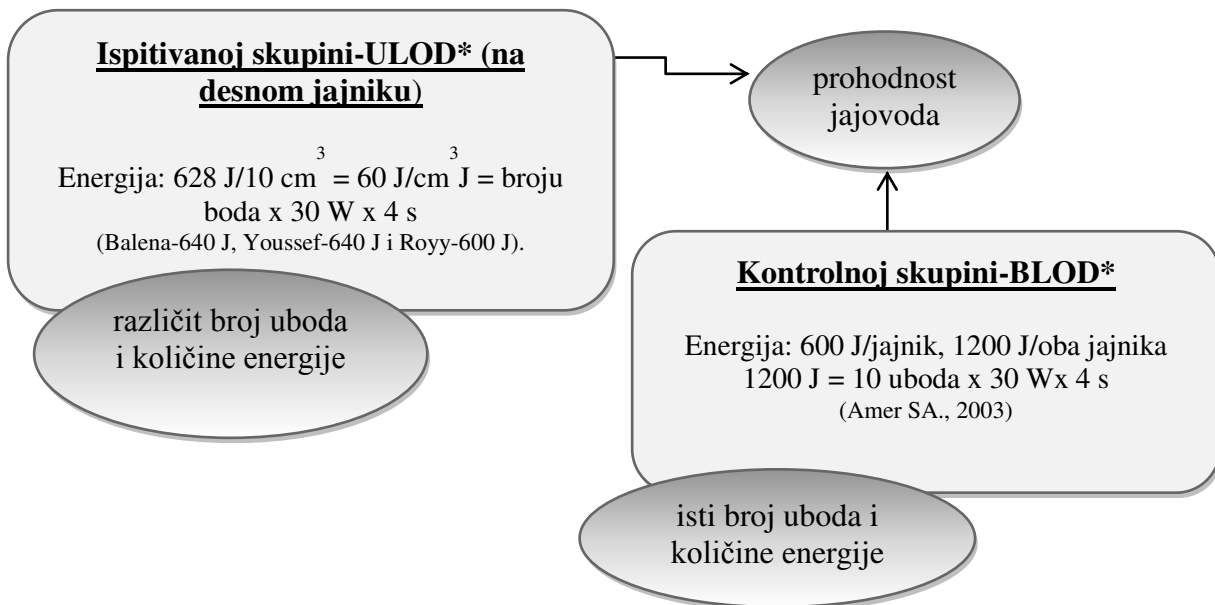
Nakon uvida u kliničke i laboratorijske značajke sve ispitanice su podvrgnute laparoskopskom zahvatu u općoj anesteziji. Na trbušnoj stijenci napravila su se tri uboda, jedan 10 milimetarski kroz koji se uvodio teleskop s kamerom i dva 5 milimetarska uboda za instrumente. Operativni postupak se obavio na uređajima Evisexera II video systemcenter (Olympus CV - 180, Tokyo, Japan) uz korištenje electrosurgicalunit (UES - 40, Tokyo, Japan). Koristila se posebno dizajnirana monopolarna HF-elektroda, igla (Olympus, Tokyo, Japan).

Iako je kod PCOS uspjeh liječenja klomifenom i metforminom povezan s volumenom lijevog jajnika (6), odabrali smo pristup na desni jajnik kod ULOD skupine. Razlozi zbog kojih smo izabrali desni jajnik bili su: LOD za razliku od navedenih stimulacija (klomifen i metformin) drugim mehanizmom izaziva ovulaciju kod PCOS i jer je dokazan veći postotak priraslica koje ometaju plodnost na lijevom jajniku nakon LOD (57). Budući je Balen još 1994. godine utvrdio da jednostrani tretman potiče aktivnost u oba jajnika, naša pretpostavka je bila da će se pristupom na desni jajnik kod ULOD skupine normalizirati pretjerana aktivnost jajnika i stvoriti isti ili barem slični uvjeti kao u jajnicima žena bez PCOS. Dakle, ispitivanoj skupini radio se unilateralni LOD (samo na desnom jajniku!). Doza energije koja se primjenila na  $\text{cm}^3$  jednog jajnika izračunata je iz srednje vrijednosti fiksnih energija na

osnovu tri studije o unilateralnom bušenju (Balena - 640 J, Youssef - 640 J i Royy - 600 J). Dobivena vrijednost bila je  $628 \text{ J}/10 \text{ cm}^3 = 60 \text{ J}/\text{cm}^3$ . Pred operaciju (2 - 5. dan ciklusa) izmjeren je volumen jajnika, na osnovu kojeg je izračunata doza energije (J) za svaku ispitanicu, koja je primjenjena na desni jajnik kako je prethodno navedeno ( $60 \text{ J}/\text{cm}^3$ ). Broj uboda također za svaku ispitanicu ( $N_p$ ) je izračunat po slijedećoj formuli:

$$N_p = (60 \text{ J}/\text{cm}^3) / 30 \text{ W} \times 4 \text{ s} \text{ (Slika 1).}$$

Kontrolnoj skupini radio se bilateralni LOD. Energija od 600 J primijenila se na svaki jajnik, ukupno 1200 J na oba jajnika. Svim ispitanicama kontrolne skupine napravilo se pet uboda po jajniku snagom od 30 W u trajanju od 4 sekunde po ubodu (5 uboda x 4 s x 30 W) (Slika 1).



**Slika 1.** Operativni postupak. BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje jajnika; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje jajnika.

Dakle, u ispitivanoj skupini primijenio se različit broj uboda i količina energije na jedan desni jajnik na osnovu njegovog volumena. Sve ispitanice kontrolne skupine imale su isti broj uboda i istu količinu energije na oba jajnika. U toku zahvata u ispitanica obje skupine vršila

se procjena zdjelice i provjeravala prohodnost jajovoda. Jajnici su se hladili fiziološkom otopinom nakon bušenja i ostavilo se 200 - 300 ml u trbušnoj šupljini nakon zahvata (65).

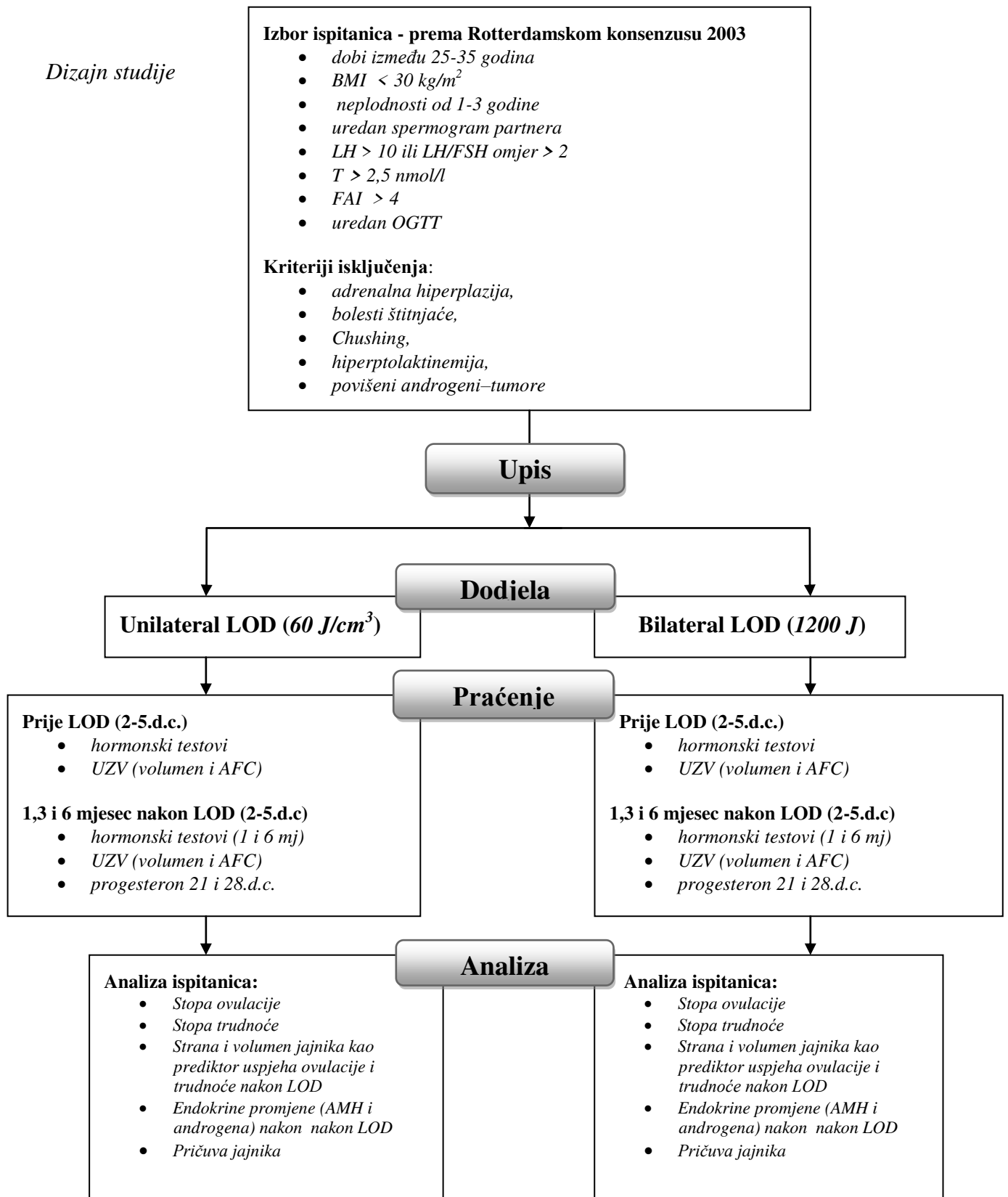
#### **4.5. Postoperacijsko praćenje**

Sljedeći uzorci krvi prikupljaju se u 1. i 6. mjesecu (2 - 5. dan ciklusa) nakon LOD za mjerenje: FSH, LH, AMH, T, SHBG. Ultrazvučno praćenje volumena ovarija i AFC napravilo se također (2 - 5. dan) u 1, 3. i 6. ciklusu nakon LOD. U svakom od tih ciklusa 21. dan mjerila se i koncentracija progesterona. Ovulacija je bila dijagnosticirana kod vrijednosti  $\geq 25$  nmol/l. Ako su vrijednosti bile ispod 25 nmol/L mjerenje se ponovilo 28. dan ciklusa. Trajanje liječenja bilo je šest menstruacijskih ciklusa nakon LOD za sve ispitanice.

#### **4.6. Protokol**

Ispitanice su bile svrstane u dvije skupine. Hormonsko i ultrazvučno praćenje bilo je identično u obje skupine, razlika je bila samo u kirurškoj tehnici. U prvoj skupini primijenio se LOD samo na jedan (desni) jajnik, a u drugoj na oba jajnika. (Slika 2)

## Dizajn studije



**Slika 2. Dizajn studije.** AFC, broj antralnih folikula; AMH, anti-milerov hormone; BMI, indeks tjelesne mase; FAI, slobodni androgeni indeks; FSH, folikulo stimulirajući hormon; LH, luteinizirajući hormon; LOD, laparoskopsko bušenje jajnika; OGTT, test oralne tolerancije glukoze; T, ukupni testosteron, UZV; transvaginalni ultrazvučni pregled.

## 4.7. Statistička obrada

U analizi podataka koristile su se metode opisne i inferencijske statistike. Aritmetičke sredine ili medijani i interkvartilni rasponi su korišteni za opisivanje distribucije kvantitativnih podataka, dok su apsolutne stope i postotci korišteni za opisivanje kategoričkih podataka. Klinički značajne razlike u aritmetičkoj sredini ili medijanu osnovnih karakteristika (dob, BMI, razine hormona, volumen jajnika) između skupina bolesnika su zaključene devedeset-pet postotnim intervalom pouzdanosti (95 % CI) razlika i/ili iz statističkih testova. T - testom za nezavisne uzorke usporedile su se između skupina prosječne vrijednosti metričkih varijabli s normalnom raspodjelom podataka, primjerice kod analize markera pričuve jajnika (apsolutnih vrijednosti i promjena). Alternativno, u analizi metričkih varijabli čiji podatci ne slijede normalnu raspodjelu koristio se Mann - Whitney U test. Da bi utvrdili je li stopa ovulacije u prvom ciklusu nakon LOD značajno veća u skupini liječenom unilateralnom metodom u odnosu na skupinu liječenu bilateralnom metodom koristio se jednostrani z-test. Smanjenje absolutnog rizika uz 95 % interval pouzdanosti (CI) je korišteno za procjenu snage odnosa između ovulacije i tretmana liječenja. Kaplan-Meierova metoda koristila se za procjenu vjerojatnosti trudnoća u periodu do 6 mjeseci nakon LOD, pri čemu su se krivulje izvedene na ispitivanim skupinama uspoređivale s log - rank testom.

Za korelacije između mjerenih varijabli i ovulacije koristili smo *point biserial* koeficijent korelacije (rpb), dok je Pearsonov koeficijent korelacije korišten pri procjeni povezanosti ukupne energije i promjene razine hormona. Višestruka logistička regresija koristila se za stvaranje optimalnog modela za predviđanje ovulacije određivanjem najsnažnijih prediktora. Rezultati su se interpretirali na razini značajnosti  $P \leq 0.05$ . Analize su izrađene uz pomoć statističkog paketa Statistica 10.0 (StatSoft, Tulsa, USA).

## 4.8. Etička načela

Navedeno istraživanje provedeno je u skladu s etičkim načelima i po principima dobre kliničke prakse. Svi postupci u ovom istraživanju odobreni su od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split, Klasa: 500-03/11-01/01; Ur.br.: 2181-147-11-01/01-M.J. Ispitanice su detaljno, usmenim i pismenim putem, upoznate i informirane o korištenim metodama koje se i inače rutinski koriste u kliničkoj praksi. Sve ispitanice prije početka

istraživanja potpisale su informirani pristanak o sudjelovanju u istraživanju i informirani pristanak za operativni zahvat i anesteziju. Studija je također registrirana na stranici [www.ClinicalTrials.gov](http://www.ClinicalTrials.gov)., registracijski broj studije NCT01833949.



## **5. REZULTATI**

## 5.1. Predoperativne kliničke i hormonalne značajke ispitanica (osnovni podatci)

Sve ispitanice uključenjem u studiju završile su ispitivanje u prvom mjesecu praćenja. Šest mjeseci nakon LOD, 17 ispitanica ULOD skupine i 15 BLOD skupine je izgubljeno za praćenje zbog trudnoće. One su se smatrale responderima jer su ovulirale u periodu od 6 mjeseci nakon LOD. Između skupina (ULOD / BLOD) nije bilo značajne razlike u predoperativnim demografskim podacima ili osnovnim značajkama (Tablica 3). Srednja razlika (MD) ukupnog testosterona između skupina od 0,2 nmol/l u žena s BMI < 30 ne smatra se klinički značajnom (81).

**Tablica 3. Preoperativne karakteristike 96 žena s PCOS uključenih u studiju**

| Preoperativni parametri                            | Aritmetička sredina±SD<br>/medijan (IQR) |                         | MD (95% CI)**                  |
|--|--|-------------------------|--------------------------------|
|  | ULOD<br>skupina<br>n=49                  | BLOD<br>skupina<br>n=47 |                                |
| Dob [godine]                                       | 29,3±3,31                                | 29,3±3,05               | 0,08 (-1,23; 1,38)             |
| BMI [kg/m <sup>2</sup> ]                           | 25,1±1,94                                | 25,0±2,10               | 0,02 (-0,81; 0,85)             |
| FSH [IU/L]   | 5,5±1,19                                 | 5,1±1,15                | 0,38 (-0,09; 0,86)             |
| LH [IU/L]  | 13,0±2,64                                | 12,3±3,50               | 0,68 (-0,58; 1,95)             |
| FAI  | 7,8 (1,4)                                | 8,0 (3,3)               | -0,4 (-1,4; 0,2)               |
| T [nmol/L]   | 2,7 (0,6)                                | 3,0 (1,1)               | -0,2 (-0,5; -0,1) <sup>‡</sup> |
| SHBG [nmol/L]                                      | 35,0±9,32                                | 39,0±10,45              | -4,02 (-8,07; 0,03)            |
| AMH [ng/ml]  | 5,9 (2,7)                                | 6,5 (3,6)               | -0,7 (-1,6; 0,1)               |
| Srednja vrijednost uk. volumena [cm <sup>3</sup> ] | 11,3±1,79                                | 11,4±2,74               | -0,13 (-1,08; 0,82)            |
| Volumen lijevog jajnika [cm <sup>3</sup> ]         | 11,1±2,53                                | 11,7±3,67               | -0,03 (-1,31; 1,26)            |
| Volumen desnog jajnika [cm <sup>3</sup> ]          | 11,6±1,54                                | 11,5±2,47               | 0,04 (-0,80; 0,88)             |
| Srednja vrijednost AFC                             | 15,0±2,37                                | 14,8±3,20               | 0,21 (-0,94; 1,37)             |
| PRL [mIU/L]  | 294,0±96,27                              | 284,4±78,08             | 9,6 (-26,03;45,18)             |

AFC, zbroj antralnih folikula u oba jajnika; AMH, antimilerov hormone; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; BMI, indeks tjelesne mase; FAI, slobodni androgeni indeks; FSH, folikulostimulirajući hormon; IQR, interkvartilni raspon ; LH, luteinizirajući hormon; n, broj ispitanica; nonresponderi, ispitanice koje nisu ovulirale; PCOS, sindrom policističnih ovarija; PRL, prolaktin; responderi, ispitanice koje su ovulirale; SD, standardna devijacija; SHGB, globulin koji veže spolne hormone; T, ukupni testosteron; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

\*\* srednja razlika aritmetičke sredine/medijana s 95% rasponom pouzdanosti (CI)

‡ Razina značajnosti  $\alpha = 0.05$ , ali klinički neznajno

## 5.2. Stopa ovulacije u odnosu na stranu i volumen jajnika

Stopa ovulacije u prvom menstruacijskom ciklusu nakon LOD bila je značajno veća u ULOD nego u BLOD skupini (ARR -0,25; 95 % CI; -0,44 do -0,03, P = 0,014), dok je razlika u kumulativnoj stopi ovulacije između skupina šest mjeseci nakon LOD bila na granici značajnosti (ARR -0,18; 95 % CI; -0,35 do 0,02, P = 0,050) (Tablica 4).

**Tablica 4. Frekvencija distribucije ispitanica po ovulaciji i trudnoći**

| Period nakon LOD | ULOD skupina (n=49) |           | BLOD skupina (n=47) |           |
|------------------|---------------------|-----------|---------------------|-----------|
|                  | Ovulacija           | Trudnoća  | Ovulacija           | Trudnoća  |
| 1 mjesec         | 36 (73 %)           | 10 (20 %) | 23 (49 %)           | 4 (9 %)   |
| 6 mjeseci        | 40 (82 %)           | 27 (55 %) | 30 (64 %)           | 21 (45 %) |

BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; LOD, laparoskopsko bušenje jajnika; n, broj ispitanica; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

Uočili smo zanimljiv odnos između ovulacije i volumena jajnika u periodu od šest mjeseci nakon LOD. Između ispitanica koje su ovulirale (responderi) i onih koje nisu ovulirale (nonresponderi) nije bilo statistički značajne razlike u volumenu njihovog desnog jajnika (srednja razlika artimetričnih sredina, 0,46 cm<sup>3</sup>; 95 % CI; -0,47 do 1,38, t-test P = 0,332), međutim nonresponderi su imali značajno veći lijevi jajnik u usporedbi s desnim jajnikom (4,1 cm<sup>3</sup>; 95 % CI; 3,01 do 4,97; t-test; P < 0,0001). Također, nije zabilježena nikakva asocijacija između ovulacije i ukupne toplinske doze aplicirane po pacijentu (rpb = -0,18; 95% CI; -0,378 do 0,041; P = 0,078) i po tretiranom jajniku (rpb = 0,14; 95 % CI; -0,053 do 0,322; P = 0,164).

Dodatno smo analizirali ovisi li ovulacija o tome da li je veći jajnik na lijevoj ili desnoj strani (Tablica 5). U ULOD skupini, tretman je značajno povećao šanse za ovulaciju u periodu šest mjeseci u ispitanica s većim desnim u odnosu na one s veći lijevim jajnikom (100 % vs 36 % stopa ovulacije, ARR, -0,64; 95 % CI, -0,84 do -0,37; P = 0,004). Svi nonresponderi imali su veći lijevi jajnik (9 od 9), dok je 88 % (35 od 40) respondera imalo veći desni jajnik. Zanimljivo i u BLOD skupini veće izgleda za ovulaciju imale su ispitanice s većim desnim u odnosu na one iste skupine s većim lijevim jajnikom (88 % vs 33 % stopa ovulacije, ARR -0,55; 95 % CI -0,73 do -0,28; P = 0,002). U objema skupinama dominiraju

ispitanice s većim desnim jajnikom (71 % za ULOD i 55 % za BLOD), tako da se skupine nisu značajno razlikovale u tom pogledu (hi-kvadrat = 2,687; df = 1, p = 0,153).

**Tablica 5. Frekvencija distribucije ispitanica prema ovulaciji i strani većeg jajnika**

| Veći jajnik   | ULOD skupina (n=49) |                          |            | BLOD skupina (n=47) |                           |            |
|---------------|---------------------|--------------------------|------------|---------------------|---------------------------|------------|
|               | Responderi<br>n=40  | Non<br>responderi<br>n=9 | Ukupno     | Responderi<br>n=30  | Non<br>responderi<br>n=17 | Ukupno     |
| Desni, N (%)  | 35 (100 %)          | 0 (0 %)                  | 35 (100 %) | 23 (88 %)           | 3 (12 %)                  | 26 (100 %) |
| Lijevi, N (%) | 5 (36 %)            | 9 (64 %)                 | 14 (100 %) | 7 (33 %)            | 14 (67 %)                 | 21 (100 %) |

BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; n, broj ispitanica; nonresponderi, ispitanice koje nisu ovulirale; responderi, ispitanice koje su ovulirale; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

Provjerili smo i da li volumen desnog jajnika utječe na ovulacijski status ili je ta veza posljedica interakcije primijenjene termalne doze i strane na kojoj se nalazi veći jajnik, te smo dodatno napravili korelaciju između ovulacije i toplinske doze primijenjene na veći i manji jajnik, potom i SED (SED po ispitanici i SED lijevog, desnog, manjeg i većeg jajnika).

Konkretno, u ULOD skupini energija je bila primjenjena na desni jajnik koji je bio veći u 71 % ispitanica, tako da je bilo važno razlučiti da li je na ovulaciju utjecao tretman "većeg desnog jajnika" ili samo tretman "većeg jajnika". Međutim, nije uočena veza između ovulacije i ukupne energije primjenjene na desni jajnik (rpb 0,09; 95 % CI; -0,26 do 0,39, P = 0,540) ili na veći jajnik (rpb 0,0; P = 1,00, toplinska doza u rasponu od 0-849 J). U ispitanica kojima je lijevi jajnik bio veći, doza energije primjenjena na manji desni jajnik (u rasponu od 0-840 J) negativno je korelirala s ovulacijom (rpb -0,27; 95 % CI; -0,55 do -0,01; P = 0,046). Također, kod njih smo uočili snažnu negativnu korelaciju između ovulacije i SED većeg jajnika (rpb -0,42; 95 % CI; -0,76 do -0,02; P = 0,003). Sveukupno, rezultati pokazuju da je primjena toplinske doze na veći jajnik bliža energetske optimumu i veća je vjerojatnost da će doći do ovulacije.

U BLOD skupini kod koje je korištena jednaka toplinska doza (600 J po jajniku) za sve ispitanice, ovulacija je negativno korelirala sa svim parametrima SED (SED većeg, manjeg, desnog i lijevog jajnika, kao i sa SED po ispitanici). Ti rezultati pokazuju što je veća SED da je manja vjerojatnost za ovulaciju (rpb, -0,384 do -0,428; P ≤ 0,008). Multivarijantna logistička regresija pokazala je da je najjači prediktor ovulacije strana većeg jajnika i SED lijevog jajnika (kombinirani model: 90 % osjetljivost, 76 % specifičnost, pozitivni i negativni

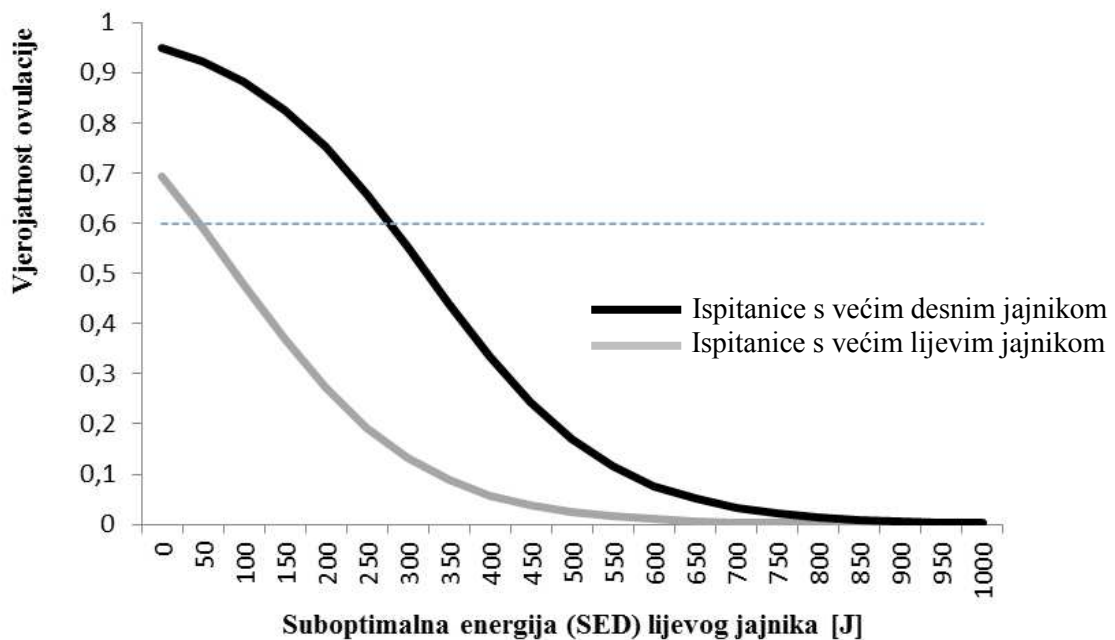
omjeri vjerojatnosti, 3,8 i 0,13). Modelom je točno predviđeno ukupno 85 % ovulacija uz Nagelkerke's R2 od 62 %. Tablica 6. pokazuje veću šansu za ovulaciju dobivenu s optimalnim višestrukim logističkim regresijskim modelom ovulacijskih događaja, a Slika 3. prikazuje teoretsku vjerojatnost ovulacije u roku od 6 mjeseci kod BLOD u odnosu na veći jajnik i SED lijevog jajnika.

U skladu s navedenim nalazima, stopa trudnoća bila je viša u ispitanica s većim desnim jajnikom u obje skupine (log - rank,  $P < 0,001$ , za obe usporedbe) (Slika 4A, 4B).

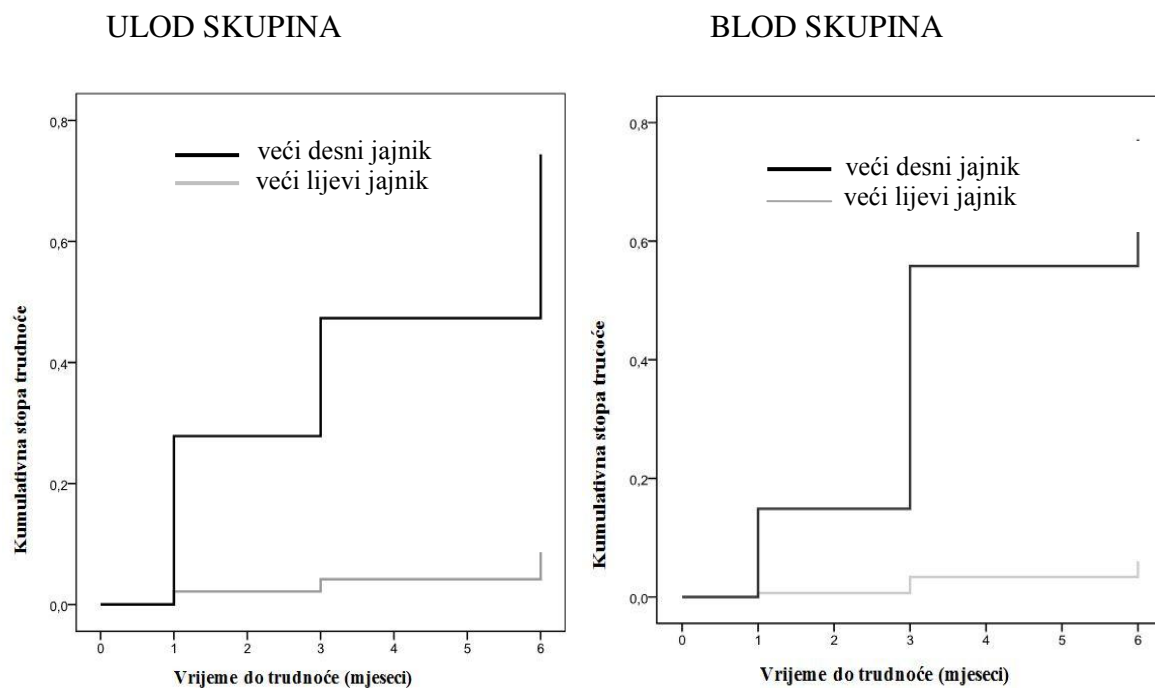
**Tablica 6. Višestruki logistički regresijski model za predviđanje ovulacije**

| Prediktor           | OR       | 95% CI      | P value |
|---------------------|----------|-------------|---------|
| Desni jajnik veći   | 8,10     | 1,37-48,02  | 0,021   |
| SED lijevog jajnika | 0,99/ 1J | 0,984-0,997 | 0,006   |

CI, raspon pouzdanosti; OR, omjer izgleda; SED, suboptimalna energija



**Slika 3.** Teorijska vjerojatnost ovulacije za BLOD ispitanice s većim desnim (crna linija), i većim lijevim jajnikom (siva linija) u odnosu na SED lijevog jajnika. Isprekidana crta pokazuje klinički značajan prag od 0,6 (60 %). Najveća vjerojatnost (tj. sigurni događaj) jednaka 1.



**Slika 4 (A-B). Kaplan - Meier.** Vrijeme do prva spontane trudnoće kod pacijentica s većim desnim (crna linija) i većim lijevim (siva linija) jajnikom. BLOD, bilateralno laparoscopsko bušenje; ULOD, unilateralno laparoscopsko bušenje.

### 5.3. Promjene hormonskih parametara nakon LOD

U ovom istraživanju analizom endokrinih promjena (androgena i AMH) pokušao se razjasniti bolji reproduktivni ishod (stopa ovulacije) nakon unilateralnog bušenja i mehanizam djelovanja dviju metoda.

U prvom mjesecu praćenja skupine se značajno razlikuju u promjenama AMH, T, FAI i LH (Tablica 7). Razina T, FAI i LH pada više u unilateralnoj skupini, a AMH u bilateralnoj skupini. U 6. mjesecu praćenja ove razlike između skupina se izjednačavaju. Jedina značajna razlika ostala je u  $\Delta$ AMH, koja je bila veća u bilateralnoj skupini.

**Tablica 7. Endokrine promjene u prvom i šestom mjesecu praćenja**

| Parameteri ( $\Delta^*$ ) | 1 mjesec praćenja                           |               |                   | 6 mjesec praćenja                           |               |                  |
|---------------------------|---|---------------|-------------------|---|---------------|------------------|
|                           | BLOD skupina                                | ULOD skupina  | MD (95% CI)**     | BLOD skupina                                | ULOD skupina  | MD (95% CI)**    |
|                           | n=47  | n=49          |                   | n=32†                                       | n=32†         |                  |
|                           | Aritmetička sredina $\pm$ SD /medijan (IQR) |               |                   | Aritmetička sredina $\pm$ SD /medijan (IQR) |               |                  |
| $\Delta$ AMH [ng/mL]      | 1.3 (1.1)                                   | 1.8 (2.3)     | -0.6 (-1.1,-0.1)‡ | 1.2 (0.9)                                   | 1.9 (2.5)     | -0.7(-1.4,-0.1)‡ |
| $\Delta$ T [nmol/L]       | 0.9 (0.6)                                   | 0.4 (0.6)     | 0.2 (0.02, 0.4)‡  | 0.8 (0.7)                                   | 0.7 (0.6)     | 0.2 (-0.1, 0.4)  |
| $\Delta$ FAI              | 2.4 (2.4)                                   | 0.5 (3.8)     | 1.1 (0.1, 1.9)‡   | 2.7 (3.5)                                   | 2.5 (4.7)     | 0.5 (-0.7, 1.9)  |
| $\Delta$ LH [IU/L]        | 7.0 $\pm$ 3.2                               | 5.0 $\pm$ 3.8 | 2.08 (0.9, 3.3) † | 6.6 $\pm$ 3.4                               | 5.7 $\pm$ 3.9 | 0.9 (-0.9, 2.8)  |

AMH, anti-Milerov hormon; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FAI, slobodni androgeni indeks; IQR, interkvartilni raspon; LH, luteinizirajući hormon; n, broj ispitanica; SD, standardna devijacija; T, ukupni testosteron; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

\*\* srednja razlika s 95% rasponom pouzdanosti (CI)

† šest mjeseci nakon LOD, 17 ispitanica ULOD skupine i 15 BLOD skupine izbuđljeno je za praćenje zbog trudnoće.

‡ Razina značajnosti P<0.05

### 5.3.1. Predoperativni parametri u respondera i nonrespondera

Usporedbom respondera s nonresponderima u obje skupine otkriven je sličan obrazac hormonskih promjena. Responderi su imali značajno niže predoperativne vrijednosti BMI, AMH,T i FAI od nonrespondera (Tablica 8).

**Tablica 8. Predoperativne vrijednosti dobi, BMI, AMH, T, FAI i LH u respondera / nonrespondera**

| Preoperativni parametri  | ULOD (n=49)       |                      |                     | BLOD (n=47)       |                       |                    |
|--------------------------|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
|                          | Medijan (IQR)     |                      | MD (95% CI)*        | Medijan (IQR)     |                       | MD (95% CI)**      |
|                          | Responderi (n=40) | Non responderi (n=9) |                     | Responderi (n=30) | Non responderi (n=17) |                    |
| dob [godine]             | 29 (7)            | 29 (4)               | 0,0 (-3,0; 3,0)     | 28 (5)            | 31 (5)                | -2,0 (-3,0; 1,0)   |
| BMI [kg/m <sup>2</sup> ] | 24 (2)            | 27 (2)               | -3,0 (-4,0;-2,0) †  | 24 (2)            | 26 (3)                | -3,0 (-4,0; 2,0) † |
| LH [IU/L]                | 13,1 (3,7)        | 10,9 (5,1)           | 1,7 (-0,8; 3,6)     | 12,5 (5,6)        | 11,0 (2,7)            | 1,0 (-1,0; 3,0)    |
| AMH [ng/ml]              | 5,8 (1,5)         | 9,5 (3,4)            | -3,9 (-5,3; -2,6) † | 6,1 (1,0)         | 9,7 (5,4)             | -3,5 (-5,5; 1,7) † |
| T [nmol/L]               | 2,6 (0,3)         | 3,8 (1,5)            | -1,0 (-1,5; -0,5) † | 2,8 (0,7)         | 3,8 (1,4)             | -0,9 (-1,4; 0,4) † |
| FAI                      | 7,4 (1,1)         | 10,2 (7,7)           | -3,1 (-8,6; -1,8) † | 7,5 (2,9)         | 10,4 (4,2)            | -1,8 (-3,5; 0,4) † |

AMH, anti-Milerov hormon; BLOD, bilateralno laparoscopsko bušenje; FAI, slobodni androgeni indeks; IQR, interkvartilni raspon; LH, luteinizirajući hormon; n, broj ispitanica; nonresponderi, ispitanice koje nisu ovulirale; responderi, ispitanice koje su ovulirale; T, ukupni testosteron; ULOD, unilateralno laparoscopsko bušenje

\*\* srednja razlika aritmetičke sredine/medijana s 95% rasponom pouzdanosti (CI)

† Razina značajnosti  $\alpha = 0.05$

### 5.3.2. Promjene hormonskih parametara u prvom mjesecu nakon LOD

Tablica 9. pokazuje značajan pad vrijednosti ukupnog testosterona i FAI u respondera u odnosu na nonrespondere nakon oba tretmana. Pri tome je i u respondera i nonrespondera nakon ULOD tretmana pad vrijednosti hormona bio znatno veći nego u odgovarajućim skupinama liječenim BLOD (Tablica 9).

Responderi unilateralne skupine pokazali su značajno veći pad LH od respondera bilateralne skupine, kao i u odnosu na nonrespondere iste skupine (Tablica 9).

Sve podskupine imale su pad vrijednosti AMH nakon LOD (medijan  $\Delta$ AMH od 1,3 do 2,0 ng/ml). Pad je bio izraženiji u bilateralnoj skupini (kod respondera i nonrespondera) (medijan razlike 1,3 i 1,6 za ULOD vs 2,0 i 1,9 za BLOD), ali nije dosegao statističku značajnost (Tablica 9). Međutim, kada smo usporedili skupine neovisno o ovulacijskom odgovoru, dobili smo statistički značajno veći pad AMH u BLOD skupini (MD = -0,6 ng/mL; 95 % CI; -1,1 do -0,1) (Tablica 9). Nadalje, srednje vrijednosti AMH u prvom mjesecu značajno su se razlikovale između ULOD i BLOD nonrespondera ( $7,6 \pm 2,3$  ng/mL in vs.  $5,8 \pm 1,7$  ng/mL; MD = 1,8; 95 % CI; 0,45 do 3,15), dok su vrijednosti za respondere bile usporedive ( $4,1 \pm 0,8$  ng/mL vs.  $4,1 \pm 1,1$  ng/mL).



**Tablica 9. Promjene vrijednosti AMH, T, FAI i LH u prvom mjesecu nakon LOD kod respondera/ nonrespondera**

| Parametri ( $\Delta^*$ ) | ULOD (n=49)       |                       |                  | BLOD (n=47)       |                       |                   |
|--------------------------|-------------------|-----------------------|------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
|                          | Median (IQR)      |                       | MD (95% CI)**    | Median (IQR)      |                       | MD (95% CI)**     |
|                          | Responderi (n=36) | Non responderi (n=13) |                  | Responderi (n=23) | Non responderi (n=24) |                   |
| $\Delta$ LH [IU/L]       | 7,6 (2,7)         | 4,6 (4,0)             | 2,7 (1,2; 4,4)†  | 4,5 (4,9)         | 4,0 (3,7)             | 0,4 (-1,5; 2,4)   |
| $\Delta$ AMH[ng/m]       | 1,3 (1,5)         | 1,6 (1,9)             | 0,0 (-0,7; 0,9)  | 2,0 (1,7)         | 1,9 (2,7)             | -0,45 (-1,4; 0,4) |
| $\Delta$ T [nmol/L]      | 1,0 (0,4)         | 0,6 (0,8)             | 0,3 (0,01; 0,6)† | 0,9 (0,4)         | 0,3 (0,6)             | 0,6 (0,3; 0,7)†   |
| $\Delta$ FAI             | 3,2 (2,6)         | 1,7 (2,0)             | 1,4 (0,5; 2,4)†  | 2,9 (2,1)         | 0,1 (1,9)             | 2,9 (2,0; 4,1)†   |

| ULOD vs. BLOD    |                  |
|------------------|------------------|
| MD (95% CI)**    |                  |
| Responderi       | Nonresponderi    |
| 2,6 (1,2; 4,2)†  | 0,3 (-1,9; 2,3)  |
| -0,5 (-1,0; 0,2) | -0,8 (-1,8; 0,2) |
| 0,0 (-0,2; 0,2)  | 0,2 (-0,1; 0,6)  |
| 0,0 (-1,0; 0,9)  | 1,6 (0,3; 2,7)†  |

AMH, anti-Milerov hormon; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FAI, slobodni androgeni indeks; IQR, interkvartilni raspon; LH, luteinizirajući hormon; n, broj ispitanica; nonresponderi, ispitanice koje nisu ovulirale; responderi, ispitanice koje su ovulirale; T, ukupni testosteron; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

\* $\Delta$  razlika između predoperativnih vrijednosti i vrijednosti u prvom mjesecu nakon LOD

\*\* srednja razlika aritmetičke sredine/medijana s 95% rasponom pouzdanosti (CI)

† 0.05 razina značajnosti

### 5.3.3. Promjene hormonskih parametara šest mjeseci nakon LOD

Šest mjeseci nakon operacije razlika između respondera dvije skupine je nestala. U obje podskupine respondera imali smo trend smanjenja vrijednosti LH i FAI od predoperativne razine, dok su razine T i AMH porasle prema predoperativnim razinama (Tablice 8 i 9). Za razliku od respondera, razine LH i FAI kod non respondera približile su se predoperativnim vrijednostima u obje skupine (Tablica 10). Jedina značajna razlika između skupina bio je veći pad AMH u BLOD nonrespondera (MD = -1,2; 95 % CI; -3,0 do -0,1), i to je jedina podskupina u kojoj se dogodio daljnji pad razine AMH u odnosu na 1. mjesec nakon LOD.

**Tablica 10. Promjene vrijednosti AMH, T, FAI i LH, šest mjeseci nakon LOD kod respondera / nonrespondera**

| Parametri<br>( $\Delta^*$ ) | ULOD (n=32)†         |                         |                  | BLOD (n=32)†         |                          |                  |
|-----------------------------|----------------------|-------------------------|------------------|----------------------|--------------------------|------------------|
|                             | Median (IQR)         |                         | MD<br>(95% CI)** | Median (IQR)         |                          | MD<br>(95% CI)** |
|                             | Responderi<br>(n=23) | Non responderi<br>(n=9) |                  | Responderi<br>(n=15) | Non responderi<br>(n=17) |                  |
| $\Delta$ LH [IU/L]          | 7,9 (3,9)            | 4,2 (3,1)               | 4,3 (2,4; 6,4)‡  | 6,8 (7,0)            | 3,9 (3,8)                | 2,4 (-0,2; 5,4)  |
| $\Delta$ AMH[ng/ml]         | 1,2 (0,7)            | 0,8 (2,0)               | 0,4 (-0,6; 1,0)  | 1,4 (1,3)            | 2,0 (3,9)                | -0,6 (-2,1; 0,5) |
| $\Delta$ T [nmol/L]         | 0,8 (0,6)            | 0,7 (0,5)               | 0,2 (-0,1; 0,6)  | 0,8 (0,6)            | 0,3 (0,5)                | 0,5 (0,3; 0,8)‡  |
| $\Delta$ FAI                | 4,3 (3,2)            | 1,2 (3,5)               | 1,9 (0,01; 3,4)‡ | 4,3 (3,3)            | 0,0 (2,6)                | 4,1 (2,8; 5,6)‡  |

| ULOD vs. BLOD    |                   |
|------------------|-------------------|
| MD (95% CI)**    |                   |
| Responderi       | Nonresponderi     |
| 0,9 (-2,0; 3,6)  | 0,5 (-3,1; 1,2)   |
| -0,3 (-1,1; 0,2) | -1,2 (-3,0; 0,1)‡ |
| -0,1 (-0,3; 0,2) | 0,3 (-0,01; 0,6)  |
| -1,0 (-2,3; 0,1) | 1,2 (-0,2; 2,9)   |

AMH, anti-Milerov hormon; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FAI, slobodni androgeni indeks; IQR, interkvartilni raspon; LH, luteinizirajući hormon; n, broj ispitanica; nonresponderi, ispitanice koje nisu ovulirale; responderi, ispitanice koje su ovulirale; T, ukupni testosteron; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

\* $\Delta$  razlika između predoperativnih vrijednosti i vrijednosti u prvom mjesecu nakon LOD

\*\* srednja razlika aritmetičke sredine/medijana s 95% rasponom pouzdanosti (CI)

† Šest mjeseci nakon LOD, 17 ispitanica u ULOD skupini i 15 u BLOD skupini je izgubljeno za praćenje zbog trudnoće

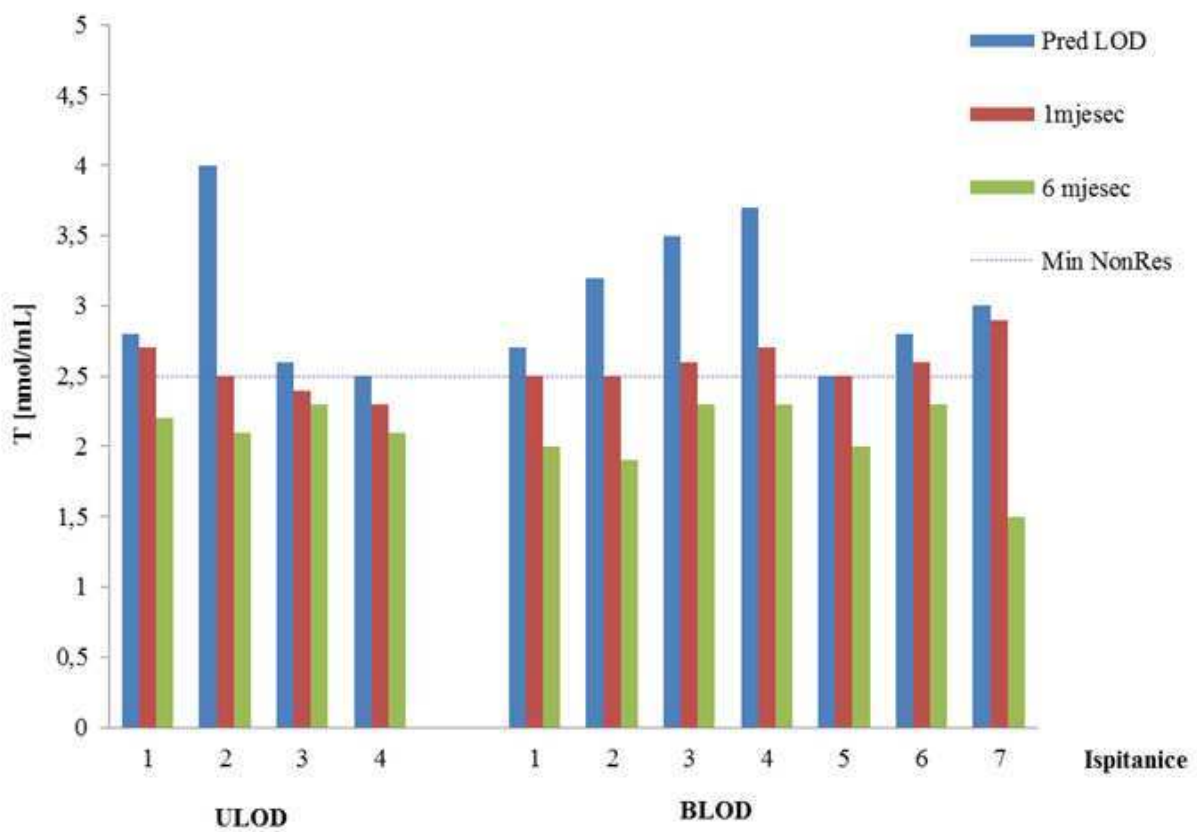
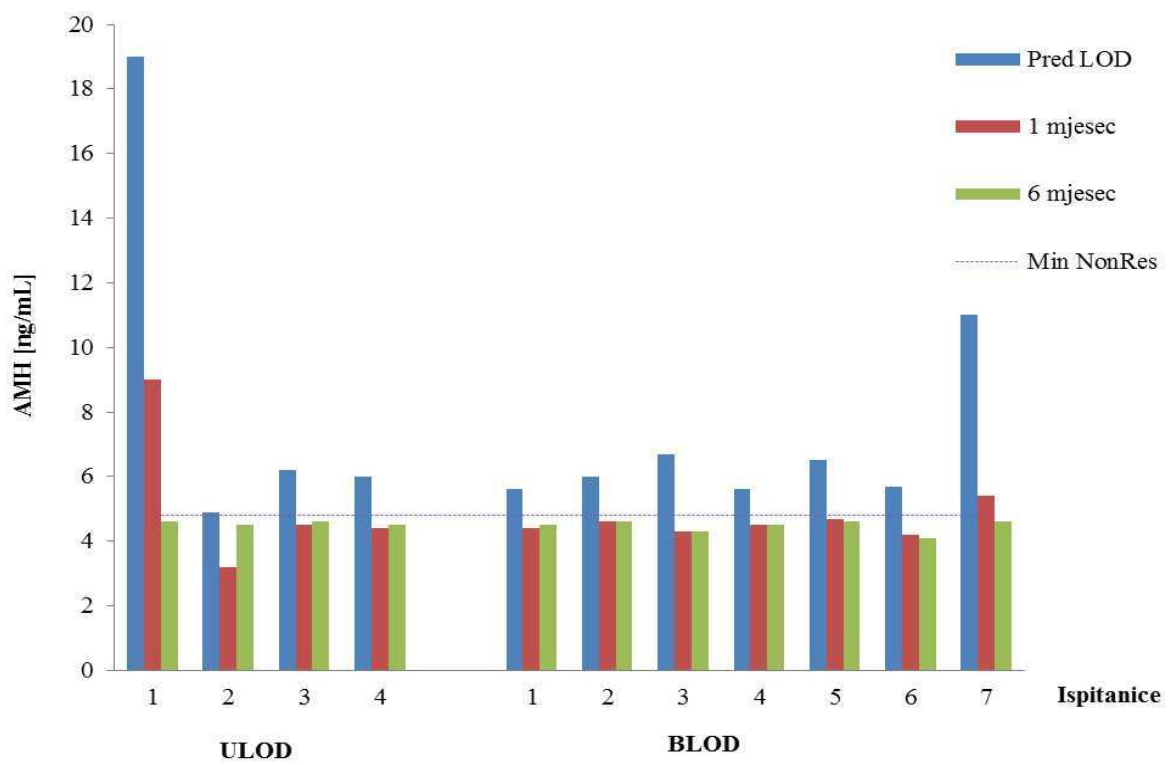
‡ 0.05 razina značajnosti

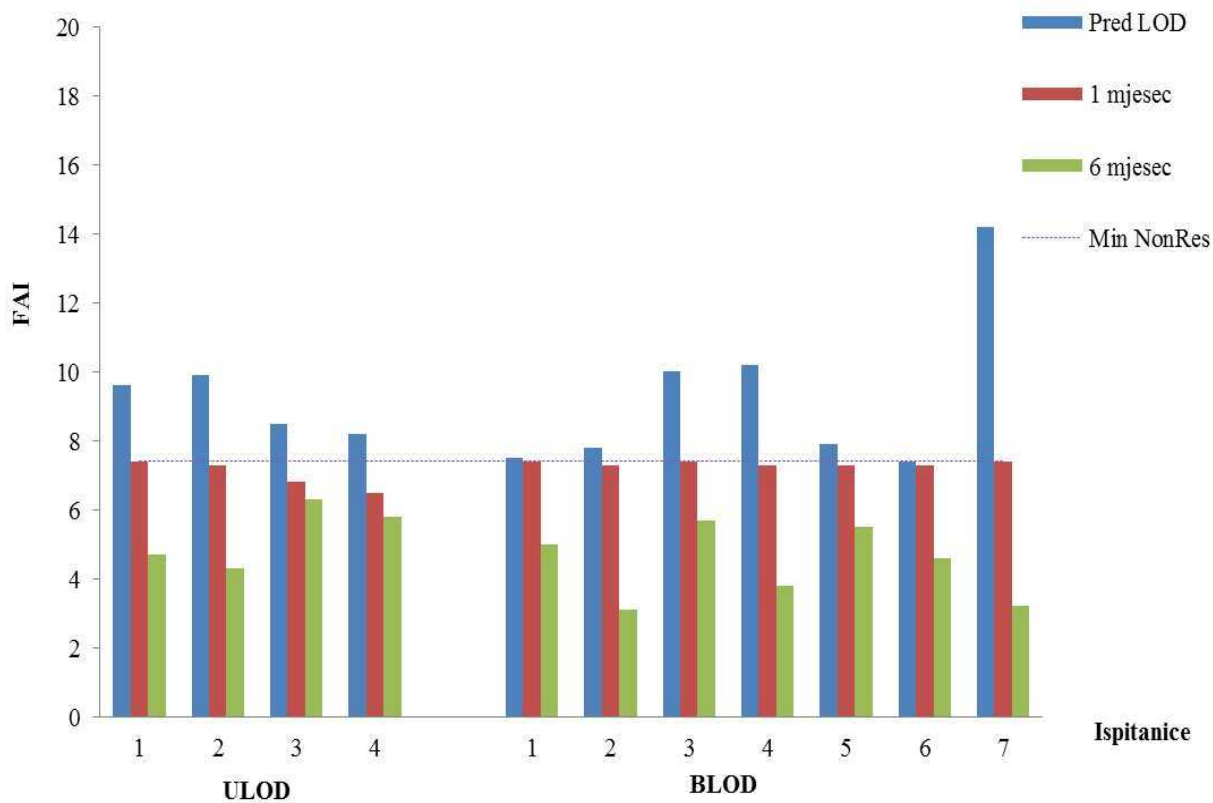
### 5.3.4. Promjene hormonskih parametara u kasnih respondera („late responders“-ovulirale u šestom mjesecu nakon LOD)

Slika 5. (A - C) pokazuje promjene AMH, T i FAI u ispitanica koje su odgovorile na liječenje u šestom mjesecu praćenja (*kasni odgovor*, eng. „late responders“). AMH razine u prvom i šestom mjesecu poslije operacije bile su komparabilne između skupina, ali u 4 od ukupno 11 kasnih respondera obje skupine razina AMH bila je veća u šestom mjesecu od one u prvom mjesecu (Slika 5A. ispitanice 2, 3, i 4 u ULOD i ispitanica 1 u BLOD skupini). U prvom mjesecu praćenja, devet od jedanaest kasnih respondera imale su AMH ispod najniže razine izmjerene u nonrespondera (4,8 ng/ml). Taj minimum tj. najniža razina, može se smatrati "pragom ovulacije za AMH" ispod kojeg je ovulacija vjerojatna kod PCOS.

Testosteron i FAI pokazuju suprotno ponašanje (Slika 5B i 5C). U prvom mjesecu praćenja razine T kasnih respondera bile su na apsolutnom minimumu razina T nonrespondera (2,5 nmol/mL; ispitanica 2 u ULOD skupini i ispitanice 1, 2, 5 BLOD skupine), ili veće od tog minimuma (ispitanica 1 u ULOD i ispitanice 3,4 i 7 BLOD skupine). Međutim u šestom mjesecu praćenja vrijednost T pada ispod tog minimuma u svih kasnih respondera. To sugerira da se razina T od 2,5 nmol /mL može se uzeti kao prag za ovulaciju. Situacija je bila slična i s FAI. Dok je u prvom mjesecu praćenja FAI jednak apsolutnom minimumu nonrespondera (7,4; ispitanica 1 u ULOD i ispitanice 1, 3 i 7 BLOD skupine), ili blizu minimuma (7,3; ispitanica 2 u ULOD i ispitanice 2, 4 - 6 u skupini BLOD), vrijednost je dramatično pala u svih kasnih respondera u šestom mjesecu.

Korištenjem minimalnih vrijednosti testosterona uočenih u nonrespondera kao prag za ovulaciju, predvidili smo 92 % ishoda ovulacija u prvom mjesecu i 95 % u šestom mjesecu praćenja. Slična preciznost dobivena je i kada smo postavili ovulacijski prag za FAI, s jednom razlikom: nijedna predoperativna razina T nije bila niža od praga 2,5 nmol/mL, dok su predoperativne vrijednosti FAI u 29 (30 %) ispitanica obje skupine bile niže od predoperativnog praga za FAI 7,4 (Slika 5B - C).





**Slika 5 (A-C).** Vrijednosti AMH (A), T (B), i FAI (C) u kasnih respondera. Isprekidane linije značavaju najnižu razinu AMH, T i FAI kod nonrespondera. AMH, anti-Milerov hormon; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FAI, slobodni androgeni indeks; T, testosteron; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

## 5.4. Utjecaj LOD na parametre pričuve jajnika

### 5.4.1. Usporedba promjene markera pričuve jajnika između dvije skupine

U obe skupine došlo je do smanjena AMH, a porasta FSH razina. Ispitanice koje su ostale trudne u periodu od šest mjeseci, smatrale su se izgubljenim za analizu. Promjene volumena i AFC bile su neočekivane (Tablica 11).

**Tablica 11. Promjene parametara pričuve između skupina (ULOD / BLOD)**

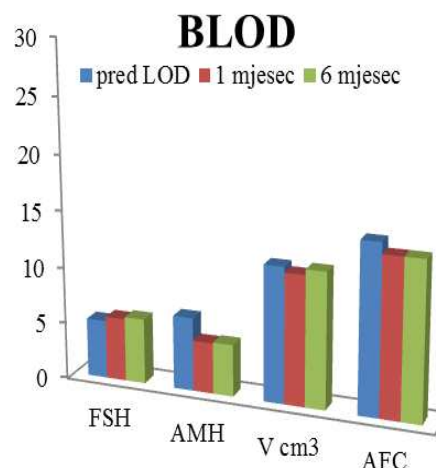
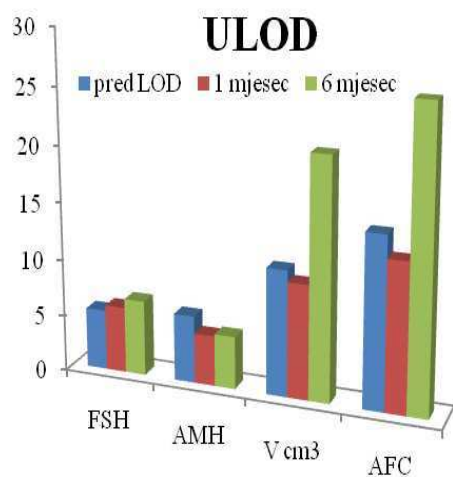
| Promjena od bazalne vrijednosti                | Vrijeme [mjesec]** | Aritmetička sredina ±SD /median (raspon) |                                      | P vrijednost |
|--|--------------------|--|--------------------------------------|--------------|
|  |                    | ULOD                                     | BLOD                                 |              |
|  |                    | 1 mjesec (n=49)<br>6 mjesec (n=32**)     | 1 mjesec (n=49)<br>6 mjesec (n=32**) |              |
| Δ AMH[ng/ml]                                   | 1                  | -1,3 (-10; 0)                            | -2 (-9,1;0)                          | 0,018*       |
|  | 6                  | -1,15 (-14,4; 0,3)                       | -1,9 (-7,5;0)                        | 0,023*       |
| ΔFSH [IU/L]                                    | 1                  | 0,49±1,18                                | 0,42±1,17                            | 0,749        |
|  | 6                  | 0,9±1,11                                 | 0,6±1,25                             | 0,309        |
| ΔAFC [n]                                       | 1                  | -2 (-4; 0)                               | -1 (-7; 16)                          | 0,162        |
|  | 6                  | 11 (-2; 19)                              | -1 (-7; 16)                          | <0,001*      |
| ΔVolumen <sub>(total)</sub> [cm <sup>3</sup> ] | 1                  | -1 (-5; 0)                               | -0,5 (-3; 15)                        | 0,003*       |
|  | 6                  | 9 (-1; 16)                               | 0 (-3; 15)                           | 0,013*       |

AFC, zbroj antralnih folikula u oba jajnika; AMH, antimileroov hormone; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FSH, folikulostimulirajući hormon; n, broj ispitanica; SD, standardna devijacija; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje

\*Razina značajnosti  $\alpha = 0.05$ ; Mann-Whitney U test ili Samples t-test

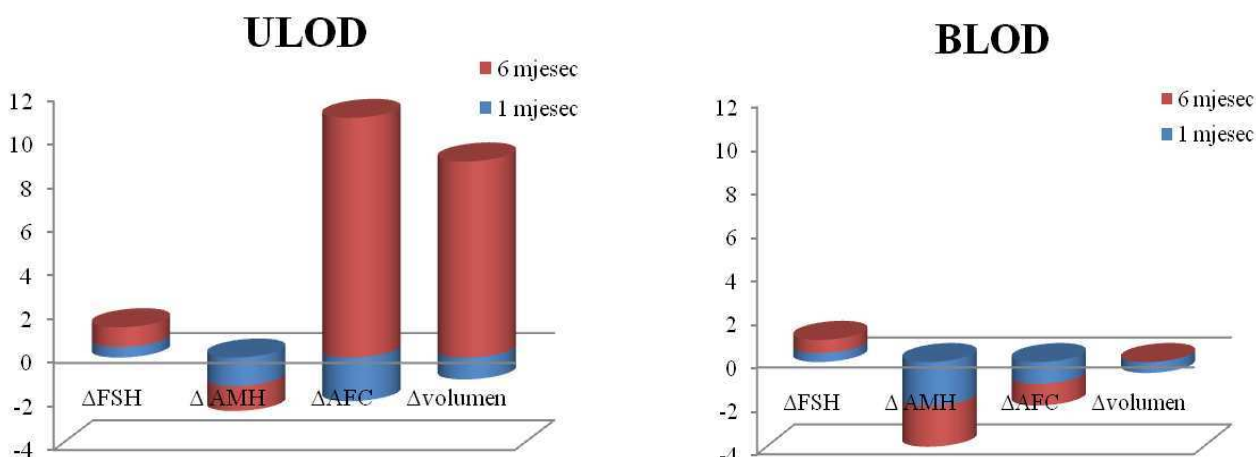
\*\* Nedostaju podaci za ispitanice koje su zatrudnile u periodu 6 mjeseci od LOD (17 pacijenata liječenih ULOD i 15 pacijenata liječenih BLOD)

Samnjenje AMH bilo je izraženije u BLOD nego u ULOD skupini (P = 0,018 u 1. mjesecu i P = 0,023 u 6.) (Tablica 11) (Slika 6. A - B). Nije bilo značajnije razlike u promjenama AFC između ULOD i BLOD skupine u prvom mjeseca, ali u šestom mjesecu kod ULOD skupine dolazi do porasta AFC i promjene se znatno razlikuju od promjena u BLOD skupini (Mann - Whitney U test, P < 0,001) (Tablica 11, Slika 6. A - B). Ukupni volumen jajnika pokazao je sličan obrazac promjena kao i AFC. U prvom mjesecu ukupni volumen se smanjio u obje skupine u odnosu na početne vrijednosti, ali je pad bio značajan samo u ULOD skupini (P = 0,003), dok je u šestom mjesecu praćenja promjena volumena bila značajno veća u ULOD nego u BLOD skupini (P = 0,013) (Tablica 11).



**Slika 6 (A-B).** FSH, AMH, volumen i AFC pred LOD, u 1. i 6. mjesecu nakon LOD. AFC, zbroj antralnih folikula u oba jajnika; AMH, antimilerov hormon; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FSH, folikulostimulirajući hormon; ULOD, unilateralno laparoskopsko bušenje.

Dakle nakon BLOD tretmana imali smo pad AMH i AFC, koji su ujedno i najpouzdaniji markeri pričuve jajnika (Slika 7A), dok nakon ULOD imamo samo kratkotrajni pad AFC i volumena u prvom mjesecu, te porast njihovih vrijednosti šest mjeseci nakon operacije. Promjene volumena jajnika i AFC nakon ULOD su najistaknutije i neočekivane (Slika 7B).



**Slika 7 (A-B). Grafički prikaz promjena FSH, AMH, volumena i AFC nakon ULOD i BLOD u odnosu na predoperativne vrijednosti.** AFC, zbroj antralnih folikula u oba jajnika; AMH, antimilerov hormon; BLOD, bilateralno laparoskopsko bušenje; FSH, folikulostimulirajući hormon; ULOD, unilateralno laparoskopski bušenje.

#### 5.4.2. Analiza promijena AFC i volumena koda ULOD skupine

Da bi utvrdili promjene AFC i volumena nakon ULOD s obzirom na primijenjenu toplinsku energiju, podijelili smo ULOD grupu u dvije podskupine: ispitanice koje su primile manje 720 J (medijana energije za ULOD grupu je 720 J) i ispitanice koje su primile toplinsku energiju jednaku ili veću od 720 J. Prije operacije nije bilo značajnih razlika u učestalosti većeg desnog jajnika između podskupina (hi - kvadrat = 4.3,  $P = 0.116$ ), ali je podskupina koja je primila  $\geq 720$ J imala značajno viši AFC i ukupni volumen od podskupine  $< 720$ J ( $P < 0.002$ ). Međutim, ta preoperativna razlika se nije odrazila na promjenu AFC i volumena jajnika između podskupina nakon ULOD tijekom praćenja u 1. mjesecu ( $P = 0.285$ ) i 6. mjesecu ( $P = 0.620$ ). Dakle, unilateralno bušenje energijom prilagođenom volumenu jajnika dovodi do promjena parametara pričuve koje ne ovise o preoperativnom volumenu i ukupnoj primijenjenoj energiji. Možda su promjene AFC i volumena kod ULOD skupine nastale zbog pristupa na jedan jajnik i mehanizma kojim pristup na jedan jajnik izaziva folikulogenezu u oba jajnika (80).



## **6. RASPRAVA**

Unilateralno laparoskopsko bušenje termalnom dozom prilagođenom volumenu jajnika ( $60 \text{ J/cm}^3$ ) učinkovitija je metoda od bilateralnog fiksnom termalnom dozom (1200 J). Ispitanice tretirane s ULOD imale su 25 % veću vjerojatnost ovulacije nego ispitanice tretirane s BLOD.

Ovi rezultati potvrđuju ranije izvještaje da ULOD zahtijeva niže doze toplinske energije za postizanje ovulacije (66,79,80) i da energija prilagođena volumenu jajnika optimizira učinkovitost postupka (78).

## **6.1. Ograničenje studije**

Glavno ograničenje ove studije je da se ULOD primjenio samo na desni jajnik. Dakle, optimalan učinak ULOD liječenja mogao je biti i djelomično zbog činjenice što je većina pacijenata u ULOD skupini imala veći desni jajnik, koji je dobio optimalnu razinu energije. Osim toga razlika uspješnosti stope ovulacije između skupina opada s vremenom. Šest mjeseci praćenja je bilo prekratko da bi se moglo tvrditi da li bi stopa ovulacije postala usporediva između dvije metode u nekom kasnijem periodu. Buduće studije bi trebale ispitati da li je bitna strana i volumen jajnika na koji se primjenjuje ULOD ili je toplinska energija prilagođena volumenu jajnika glavni razlog razlike u stopi ovulacije između dva LOD postupka. Praćenje dulje od 6 mjeseci moglo bi dati odgovore na postavljena pitanja.

## **6.2. Ovulacija i trudnoća**

Prvi mjesec nakon dijatermije stopa ovulacije bila je značajno veća u ULOD skupini nego u BLOD [N = 36 (73 %) vs. N = 23 (49 %)]. Šest mjeseci poslije ovulirale su još četiri ispitanice u unilateralnoj i sedam pacijentica u bilateralnoj skupini.

### **6.2.1. Strana i volumen kao predoperativni prediktori ovulacije i trudnoće**

U ovoj studiji utvrđena je snažna korelacija između većeg desnog jajnika i uspjeha ovulacije, bez obzira na tretman koji se koristi. Ispitanice u objema skupinama (ULOD ili BLOD) s većim desnim jajnikom imale su veće šanse za ovulaciju od onih s manjim desnim jajnikom (ULOD: 100 % vs 36 %; BLOD: 88 % vs 33 %). U našem šestomjesečnom praćenju

nismo utvrdili razliku u vjerojatnosti trudnoće između dvije ispitivane skupine. Vjerojatnost da dođe do trudnoće u objema skupinama bila je prosječno četiri do pet mjeseci. Međutim, kad smo uzeli u obzir stranu većeg jajnika, zabilježili smo značajno višu stopu trudnoća u obe skupine pacijentica s većim desnim jajnikom.

Naši rezultati u skladu su s nalazima Jokubkiene i sur. (2012), koji je dokazao da je u plodnih i neplodnih žena bez PCOS u dobi od 20 - 29 godina volumen desnog jajnika veći od lijevog i da je u toj dobi veći broj folikula u desnom jajniku (82). Oni su također utvrdili da ta razlika nestaje s vremenom (0,19 %) (82). Pretpostavka za tu razliku u volumenu je različita vaskularizacija desnog i lijevog jajnika, jer se vena iz desnog jajnika ulijeva u donju šuplju venu, dok se vena lijevog jajnika ulijeva u bubrežnu venu (83). Devetogodišnje istraživanje Fukude i sur. (2000) koje je obuhvatilo podatke iz više od 2000 ciklusa plodnih i neplodnih žena pokazalo je da su češće ovulacije na desnom jajniku (55 %), da je trudnoća češća iz oocite desnog jajnika (64,6 %) te da je koncentracija testosterona i estradiola veća 7. dan nakon ovulacije iz desnog jajnika, u odnosu na lijevi jajnik (84). Mehanizam prednosti desne strane nije u potpunosti poznat (84). Moguće je uzrok anatomski asimetrija i različita vaskularizacija (84). Međutim, sve to ne isključuje mogućnost da jajna stanica iz desnog jajnika iz zasad nepoznatog razloga ima bolji plodni potencijal (84). Asinhronija aktivnosti između jajnika nije samo privilegija ljudskog roda. Studije na životinjama pokazale su također dominaciju, ili desne ili lijeve strane (84). Kod ptica, kitova i činčila lijevi jajnik je aktivan, a desni u stanju mirovanja (84). Nasuprot tome, na desnoj strani češća je ovulacija kod krava (85) i miševa (uključujući trudnoće) (86).

### **6.2.2. Energija kao prediktor ovulacije**

Naši rezultati nisu našli nikakvu korelaciju između ovulacije i ukupne toplinske doze primjenjene po pacijentici ili po tretiranom jajniku. Međutim, za svaki jajnik u BLOD skupini u kojoj energetske doze nisu bile prilagođene volumenu i za netretirani lijevi jajnik ULOD skupine izračunata je suboptimalna energija (SED). *Definicija suboptimalne energije:* SED je dakle razlika između energije koju je trebao primiti jajnik na temelju njegovog predoperativnog volumena ( $60 \text{ J/cm}^3$  tkiva jajnika) i toplinske doze koju je primio. Isto tako, SED po pacijentu se računao oduzimanjem ukupne energije primjenjene u ispitanica od optimalne energije bazirane na ukupnom volumenu jajnika prije liječenja, da bi utvrdili učinak primjenjene energije i SED na ishod ovulacije.

Dakle, kada smo analizirali energiju i SED ('missing' energy) na veći tj. manji jajnik kod ULOD skupine nismo imali jaku pozitivnu korelaciju između energije ( $60 \text{ J/cm}^3$ ) primjenjene na većem desnom jajniku i ovulacije, za razliku od jake negativne korelacije ovulacije i energije ( $60 \text{ J/cm}^3$ ) primjenjene na manjem desnom jajniku. Dakle, vjerojatnost ovulacije kod ULOD je ipak manja u slučaju kada se ona primjeni na manji desni jajnik, pa čak i kada je energija optimalna s obzirom na njegov volumen.

Kod BLOD je analizirana SED s obzirom na manji, veći, lijevi i desni jajnik. Najsnažniji prediktori ovulacije bili su strana većeg jajnika i SED na lijevi jajnik. Ispitanice koje su imale veći desni jajnik imale su 8 puta veće izgleda da ovuliraju od pacijentica s većim lijevim jajnikom, dok je povećanje SED na lijevi jajnik umanjivalo izgleda ovulacije za 0.99 za svaki suboptimalni J. Krivulja vjerojatnosti izvedena iz regresijskog modela kod pacijentica s većim lijevim jajnikom ukazuje na vrlo ograničen raspon za SED kod koje BLOD ima klinički značajan učinak. Naravno, potrebno je ovaj nalaz potvrditi u budućim studijama na drugačijem uzorku. Dakle, naši rezultati potvrđuju dosadašnja izvješća da bi kod BLOD primjena energije prilagođene volumenu izazvala veću stopu ovulacije (u našem slučaju na lijevi jajnik, jer bi tad taj jajnik dobio optimalnu dozu energije) (78). Međutim, to povećava dozu energije koju primaju oba jajnika.

### **6.3. Hormonski parametri kao pokazatelji ovulacije nakon LOD**

U ovom istraživanju utvrdili smo povezanost između ovulacije u periodu od 6 mjeseci nakon LOD i predoperativnih nižih razina AMH, FAI, T i BMI kod obje tretirane skupine. Nakon bilateralnog postupka imali smo veći pad razine AMH, dok je do većeg pada T i FAI došlo nakon unilateralnog postupka .

#### **6.3.1. AMH**

Značajnih razlika u predoperativnim vrijednostima AMH između skupina koje su podvrgnute različitim tretmanima nije bilo. Postoperativno snižavanje razine AMH u skupini liječenoj ULOD bilo je manje izraženo nego u BLOD skupini. Poznato je da veća toplinska doza izaziva veći pad razine AMH, dok je u našem istraživanju bolja stopa ovulacije

postignuta kod ULOD skupine s nižim dozama energije i manjim padom AMH. Veća doza energije potrebna za veći pad vrijednosti AMH kod BLOD nije utjecala na veću uspješnost tog postupka. Ukoliko je AMH okidač ovulacije, a ne posljedica LOD / ovulacije, za očekivati je bilo da će kod uspješnije metode doći i do većeg pada razine AMH, međutim to nije bio slučaj u ovom istraživanju (60).

Responderi obje skupine imali su niže predoperativne vrijednosti AMH od nonrespondera. To je u skladu s istraživanjem Amera i sur. prema kojemu predoperativna koncentracija AMH može biti koristan prediktor ishoda BLOD (60). Nadalje, promjena u razinama AMH u pacijentica s kasnim odgovorom („*late responders*“) također dovodi u pitanje pretpostavku da li pad AMH aktivira ovulaciju. U čak 36 % njih razina AMH bila je niža u prvom mjesecu u kojemu nije došlo do ovulacije od one u šestom mjesecu kada je došlo do ovulacije. Osim toga, u prvom mjesecu 9 od 11 kasnih respondera imalo je razinu AMH ispod minimalne vrijednosti razine AMH nonrespondera. Uspostavom folikulogeneze u oba jajnika nakon ULOD vjerojatno dolazi do održavanja vrijednosti AMH na razinama kod kojih nema inhibicije na FSH, onoliko dugo koliko traje učinak LOD. Stoga smo mišljenja da je smanjenje AMH nakon ULOD rezultat atrezije malih folikula kao dio normalnog folikularnog razvoja koji dovodi do ovulacije, a ne njen uzrok kako se pretpostavlja (60). Ono što dodatno podupire naše uvjerenje je pad razine AMH od 15 % utvrđen i nakon klomifen citrat tretmana (60).

### **6.3.2. Androgeni**

Pad razine testosterona i FAI nakon BLOD u literaturi je zabilježen samo u žena koje su primile veće doze toplinske energije (74). Postoperativni pad testosterona i FAI u ovom istraživanju u skladu je s prethodnim izvještajima (60,87), jedina razlika je u činjenici da smo veći pad razina T i FAI postigli korištenjem nižih toplinskih doza (600 - 720 J, samo u dva slučaja bilo je primjenjeno 840 J i u dva 480 J) (74). Veći pad androgena kod ULOD skupine u ovom istraživanju sugerira da je optimizirana toplinska doza volumenu jednog jajnika dovoljna za smanjenje razine androgena i uspostavu folikulogeneze.

Nedostatak studije je statistički značajna razlika u razinama T između skupina od 0,2 nmol/l ( < 10 % vrijednosti) nakon podjele. Međutim na temelju podataka iz literature zaključeno je da je razlika klinički irelevantna (81). Ta činjenica je potvrđena i u ovom istraživanju u kojem FAI koji je predoperativno uravnotežen između skupina pokazuje

identičan obrazac promjena kao i T. Također, uslijed neravnomjerne raspodjele ispitanica prema ovulacijskom odgovoru, broj uzorka u podskupinama nonrespondera nije bio jednak (ULOD n = 13, BLOD n = 24), pa je statističku značajnost bilo teže dokazati. Međutim, nakon što smo analizirali razlike između dvije skupine neovisno o ovulacijskome odgovoru dokazali smo veći pad AMH kod BLOD skupine, a veći pad T i FAI kod ULOD.

U našoj studiji, kod svih ispitanica utvrđen je značajan pad T i FAI u 1. i 6. mjesecu nakon LOD. Veći pad androgena u respondera je ujedno i jedina značajna promjena koja je zajednička za obje ispitivane skupine. Indikativno je da su promjene T i FAI bile veće kod svih podskupina (respondera i nonrespondera) ULOD skupine i u 1. i 6. mjesecu. Rezultati upućuje da je pad androgena primarna posljedica uništenja tkiva i poticaj za folikulogenezu nakon LOD.

Analiza promjene hormona na individualnoj razini ukazuje da je ovulacijski ishod usko povezan s razinama T. Koristeći granične vrijednosti (prag) T od 2,5 nmol/L na 96 ispitanica uspješno je predviđeno 92 % ovulacijskih ishoda u 1. mjesecu i 96 % u 6. mjesecu. Identični rezultati dobiveni su i s FAI. Prag FAI od 7,4 pokazao je identičnu preciznost praćenja. Međutim, manje je moćan kao pokazatelj ovulacija jer je čak 30 % ispitanica prije operacije imalo FAI ispod granične vrijednosti od 7,4 (kad su sve ispitanice bile anovulatorne). Nasuprot tome, niti jedna ispitanica predoperativno nije imala razinu testosterona nižu od predviđenog praga.

### **6.3.3. LH**

Iako nije uključen u revidirane kriterije za dijagnozu PCOS, povišena serumska razina LH se smatra korisnim sekundarnim parametrom u definiciji tog sindroma (7). U svih ispitanica došlo je do pada u razinama LH s obzirom na početne vrijednosti. Statistički značajno veći pad dogodio se kod ULOD i to posebno u respondera. Prema Ameru i sur. (74) uništenje tkiva jajnika odgovonog za proizvodnju androgena i konverziju androgenog u estrogeno okruženje unutar oba jajnika, rezultira inhibicijom pozitivne povratne informacije i padom LH (60).

#### **6.3.4. Promjene parametara šest mjeseci nakon LOD**

Šest mjeseci nakon LOD  $\Delta$ AMH bila je veća u bilateralnoj skupini. Razlike između BLOD i ULOD respondera više nisu bile značajne, pri čemu su u odnosu na prvi mjesec razine LH i FAI dodatno pale, dok su se razine AMH i T približile predoperativnim vrijednostima. Kod nonrespondera utvrđen je suprotni proces. Razine LH i FAI su se približile predoperativnim vrijednostima, dok se razina AMH nakon BLOD i dalje snizila. Veći pad AMH u BLOD skupini ukazuje da bilateralni postupak većom dozom energije uzrokuje veće oštećenje bazena primordijalnih folikula (pričuva jajnika) od unilateralnog postupka energijom prilagođenom volumenu.

#### **6.4. Pričuva jajnika**

Većina testova pričuve jajnika u kliničkoj uporabi imaju nisku prediktivnu točnost i zato se smatraju testovima probira (89). Bez obzira na nisku osjetljivost i specifičnost ovi testovi su pomogli postizanju veće stope trudnoća kod neplodnih pacijentica (89). POF se klinički definira se kao potpuni izostanak menstrualnih ciklusa prije 40 godina, s razinama FSH iznad 40 IU/L i AMH ispod praga menopauze (90). DOR predstavlja blaži stupanj gonadalne disfunkcija s FSH < 12 IU/L i/ili neprirodno niskim vrijednostima AMH za dob (90,91). Prag od 2,8 pmol/L (0,39 ng/mL) za AMH je optimalan za predviđanje menopauze (92). Dok su prag za DOR vrijednosti AMH cut-off < 7,5 pmol/L (1,05 ng/mL) (93). Ipak, dokazano je da se klinička trudnoća može dogoditi na svim AMH razinama, čak i na nemjerljivim razinama AMH (93).

Ako se LOD primjenjuje pravilno, normalizira pretjerana morfološka i endokrinološka svojstva jajnika kod PCOS, pa se većina promjena u markerima pričuve jajnika nakon LOD može tumačiti normalizacijom funkcije, a ne smanjenjem pričuve (94). Stoga je primjenjivost ovih biljega u PCOS upitna, ipak mjerenjem tih markera može se predvidjeti budućnost odgovora jajnika nakon LOD (94).

U ovoj studiji korišteni su testovi pasivne procjene pričuve jajnika (AMH, FSH, AFC, volumen ovarija) (95) i uspoređeni su između dviju skupina. Nije uočen niti jedan slučaj DOR ili POF, što je u skladu s istraživanjima drugih autora kod kojih su korištene doze energije do 1200J (63).

#### **6.4.1. AMH i pričuva jajnika**

Razine AMH u žena s PCOS su dva do tri puta veće nego u zdravih kontrola (96). Kao dijagnostički marker za PCOS, AMH nudi relativno visoku specifičnost i osjetljivost (97). U posljednjih nekoliko godina AMH se vodi kao jedan od najboljih markera oštećenja i pričuve jajnika (98). Opseg oštećenja koji utječe na pričuvu jajnika korelira s količinom uništenog tkiva i vaskularizacije tijekom laparoskopije (69).

U ovoj studiji u obje skupine nakon operacije dolazi do pada u koncentraciji AMH. Serumske koncentracije AMH značajno se smanjuju u prvom i šestom mjesecu nakon BLOD, što je u skladu s drugim istraživanjima (99).

#### **6.4.2. FSH i pričuva jajnika**

Visoke razine AMH u bolesnica s PCOS mogu smanjiti osjetljivost folikula na FSH (100). Ravnoteža između FSH i AMH bitna je za aktivnost aromataze (96). U našoj studiji iako smo imali rast vrijednosti FSH nakon LOD u obje skupine, nije dostigao statistički značajnu razliku između skupina kao što je to bio slučaj za AMH. To možemo objasniti činjenicom da AMH nudi bolju specifičnost kod PCOS jer primarno se proizvodi u jajniku, a FSH reflektira uglavnom gonadotropin - osjetljive folikule prije ovulacije i za njegov porast moramo imati primarno pad estrogena, tj puno manju ponudu androgena granulosa stanicama (93). Pad FSH nakon BLOD zabilježen je samo kod broj uboda preko 16 po jajniku, tj kod većih oštećenja tkiva jajnika (70). Veći porast FSH kod energija korištenih u ovoj studiji vjerojatno se i događa uspostavom ovulacije na duže vrijeme od šest mjeseci.

#### **6.4.3. AFC i pričuva jajnika**

AFC se smatra najpouzdanijim pokazateljem primordijalnog folikularnog bazena (101) i snažno korelira sa serumskim razinama AMH (102). U našem istraživanju između skupina nakon LOD u prvom i šestom mjesecu imali smo statistički značajnu razliku u promjenama vrijednosti AFC. U obje skupine u prvom mjesecu nakon LOD dolazi do pada AFC s obzirom na početne vrijednosti, bez statistički značajne razlike između skupina, iako je pad bio veći



kod ULOD. Statistički značajna razlika javlja se tek šest mjeseci nakon operacije zbog porasta AFC kod unilateralne skupine, dok je kod BLOD skupine promjena ostala ista kao u prvom mjesecu. Porast AFC nakon ULOD možemo pripisati manjem uništenju tkiva, zbog manjeg broja uboda i primjenjene energije na ukupni volumen. Isti trend rasta AFC dogodio se u istraživanju Pados i sur. (2010.) nakon operacije endometrioma kod primjene poštenije kirurške tehnike (103).

#### **6.4.4. Ukupni volumen i pričuva jajnika**

Volumen jajnika također je pouzdan pokazatelj pričuve jajnika, koji se može koristiti za mjerenje preostalog primordijalnog folikularnog bazena (103,104). Slično kao i s AFC dogodilo se i s promjenom ukupnog volumena jajnika u našoj studiji, dakle promjena volumena pratila je promjenu AFC. U istraživanju Pados i sur. (2010.) nakon operacija endometrioma kod žena bez PCOS korištenjem poštenije tehnike nastao je porast AFC šest mjeseci nakon operacije, ali ne i porast volumena (103). Tu razliku možemo objasniti činjenicom da se kod PCOS povećanjem broja malih antralnih folikula, povećava i volumen jajnika, što je u skladu s drugima istraživanjima o snažnoj pozitivnoj korelaciji između volumena i AFC kod PCOS (70). Ili pak činjenicom da promjena volumena kod nekih pacijentica koje ne boluju od PCOS ne mora pratiti promjenu drugih parametara pričuve jajnika (105).

#### **6.4.5. Razlika u ovarijskoj pričuvi između ULOD i BLOD skupine**

Laparoskopija može dovesti do ozljede u ovariju i izazvati smanjenje pričuve jajnika vjerojatno samo kod energije i broja uboda koji su veći od onih korištenih u ovom istraživanju. Ako uzmemo AMH kao jedan od najboljih i najsigurnijih markera pričuve jajnika (98) (budući je njegov pad zabilježen u brojnim studijama nakon kirurgije jajnika za razliku od promjena drugih parametara), možemo zaključiti da je njegov statistički veći pad kod BLOD povezan s većim oštećenjem tkiva zbog većeg broja uboda i količine energije primjenjene kod te metode. Iako smo nakon BLOD imali značajan pad svih parametara osim FSH, do njihovog daljnjeg pada nije došlo u šestom mjesecu nakon operacije.

Što se tiče AFC i volumena jajnika pokazalo se da njihove promjene korištenjem energije prilagođene volumenu ( $60 \text{ J/cm}^3$ ) na jedan jajnik ne pokazuju nikakvu korelaciju s AMH. Da li je rezultat toga normaliziranje funkcije jajnika nakon bušenja (63) ili se proizvodnja AMH događa u pojedinačnim folikulima (35), te stoga nema korelacije s AFC i volumenom, treba još ispitati. Povećanje AFC i volumena u šestom mjesecu možemo objasniti kompenzatornom reakcijom nakon unilateralnog bušenja (103), što možda znači da je učinak ULOD u normalizaciji funkcije jajnika kod PCOS kratkoročan. Da bi to dokazali potrebno je praćenje dulje do šest mjeseci.

Što se tiče promjena navedenih parametara, rezultati pokazuju da LOD nema veći i trajniji učinak na oštećenje pričuve jajnika, osim pada AMH od predoperativne vrijednosti koje i dalje ostaju iznad prosjeka za žene bez PCOS. Do daljnjeg pada AMH kod ULOD najvjerojatnije ne može doći nakon šest mjeseci od postupka s obzirom na kretanje svih ostalih parametara. Međutim, smatramo da je ipak potrebno dugoročno praćenje žena nakon LOD posebno nakon BLOD. Naime, broj primordijalnih folikula kod žena s PCOS je jednak kao i kod zdravih žena, policistični jajnici sadrže samo tri puta veći broj antralnih folikula. Stoga se i kod PCOS bez obzira na povišene vrijednosti AMH i AFC pričuva jajnika smanjuje s dobi, a povišene vrijednosti AMH i AFC ne nastaju zbog povećanja bazena primordijalnih folikula već su posljedica kompenzatornog mehanizma zbog poremećaja folikulogeneze.

## **7. ZAKLJUČAK**

Unilateralno laparoskopsko bušenje toplinskom energijom ( $60 \text{ J/cm}^3$ ) prilagođenom volumenu jajnika učinkovitija je opcija u indukciji ovulacije za neplodne žene s PCOS od bilateralnog fiksnom energetsom dozom. Tretman većeg desnog jajnika povećava šansu za ovulaciju i trudnoću, neovisno o LOD postupku koji se primjenjuje.

Manji pad AMH kod uspješnije unilateralne metode te konzistentnost ovulacijskog odgovora u respondera idu u prilog hipotezi da je smanjenje AMH posljedica, a ne uzrok uspostave folikulogeneze nakon ULOD (60). Veći pad androgena je početni okidač nakon uništenja tkiva i primarni poticaj za folikulogenezu. Zajednički obrazac endokrinoloških promjena kod obje LOD metode je značajan pad razine T i FAI u respondera, a ti hormoni su se pokazali kao snažan pokazatelj ovulacijskih ishoda. Uz prag T od  $2,5 \text{ nmol/L}$  i prag FAI od  $7,4$ , postotak dobro predviđenih ishoda bio je  $92 \%$  u prvom i  $96 \%$  u šestom mjesecu.

Parametri pričuve jajnika nakon unilateralne dijatermije oporavljaju se već nakon šest mjeseci. Njihov pad u prvom mjesecu nakon unilateralne dijatermije odražava normalizaciju funkcije, a ne trajno oštećenje pričuve jajnika. Veći i konstantniji pad parametara pričuve jajnika zabilježen je samo nakon bilateralne dijatermije.

Mehanizam kojim jednostrani tretman manjim uništenjem tkiva i manjom količinom energije izaziva bolji učinak na razini jajnik - hipofiza i ovulaciju na oba jajnika ne možemo objasniti i prelazi okvire ove studije. Da li je je različit bazalni mehanizam djelovanja koji dovodi do ovulacije između dvije metode ili strana i primjena energije prilagođene volumenu jajnika igraju ključnu ulogu, treba još ispitati.

Potrebne su daljnje studije o unilateralnom laparoskopskom bušenju, s primjenom energije prilagođene volumenu lijevog i / ili većeg jajnika, da bi se sa sigurnošću moglo zaključiti da li je superiorniji pristup na desni ili na veći jajnik. Također je potrebno i dulje praćenje od šest mjeseci da bi se donio definitivni i sigurni zaključak o mogućem dugoročnom utjecaju LOD na pričuvu jajnika, jer bi ocjena učinaka LOD na pričuvu trebala biti u dobi u kojoj nastane menopauza.

## **8. SAŽETAK**

## **Laparoskopsko bušenje desnog jajnika toplinskom energijom prilagođenom volumenu jajnika u žena sa sindromom policističnih jajnika**

Sindrom policističnih jajnika (PCOS) je jedan od najčešćih endokrinih poremećaja i vodeći uzrok neplodnosti žena reproduktivne dobi. Primarni ishod liječenja neplodnosti kod PCOS je rođenje zdravog djeteta, preduvjet je osigurati ovulaciju.

### **Ispitanice i metode:**

Ovo prospektivno longitudinalno kohortno istraživanje uključilo je 96 neplodnih žena sa sindromom policističnih jajnika rezistentnih na klomifen citrat. Ispitanice su bili podijeljene u dvije skupine, jedna skupina podvrgnuta je laparoskopskom bušenju samo desnog jajnika (ULOD), dok su oba jajnika bila tretirana u drugoj skupini (BLOD). ULOD skupina (n = 49) primila je toplinske doze prilagođene volumenu desnog jajnika ( $60 \text{ J/cm}^3$ ), a BLOD skupina (n = 47) fiksne doze od 600 J po jajniku, bez obzira na volumen. Obje skupine podudarale su se u broju ispitanica, dobi i osnovnim parametrima. Nakon operacije, skupine su praćene 6 mjeseci da bi se ocijenio ovulacijski odgovor.

### **Rezultati:**

Stopa ovulacije tijekom prvog menstrualnog ciklusa nakon LOD bila je značajno viša u ULOD skupini nego u BLOD (73 % vs 49 %; smanjenje apsolutnog rizika (ARR), -0,25; 95 % interval pouzdanosti (CI), -0,44 do -0,03; P = 0,014). ULOD na desnom jajniku značajno povećava šanse za ovulaciju u ispitanica s većim desnim jajnikom u odnosu na one s manjim desnim jajnikom (100 % vs 36 %; ARR, -0,64; 95 % CI, -0,84 do -0,37; P = 0,004). Zanimljivo je da su šanse za ovulaciju također značajno veće u ispitanica BLOD skupine s većim desnim u odnosu na one s manjim desnim jajnikom (88 % vs 33 %; ARR, -0,55; 95 % CI, -0,73 do -0,28; P = 0,002). Stopa trudnoće također je značajno veća u ispitanica s većim desnim jajnikom u odnosu na one s manjim desnim jajnikom, bez obzira na tretman. Mjesec dana nakon operacije, AMH je bio značajno niži u BLOD nego u ULOD skupini [srednja razlika (MD): -0,6 ng / ml], dok je pad testosterona (T) i slobodnog androgenog indeksa (FAI) bio je značajno veći u ULOD nego u BLOD skupini (MD 0,2 nmol / L za T; 1.1 za FAI). Pad AMH bio je izraženiji u BLOD i u prvom mjesecu (P = 0,018) i u šestom mjesecu (P =

0,023). Nasuprot tome, u šestom mjesecu ULOD skupina pokazala je značajno veći porast AFC [ULOD vs BLOD,  $P < 0,001$ ] i volumena jajnika [ULOD vs BLOD,  $P = 0,013$ ].

### **Zaključak:**

Unilateralna dijatermija toplinskom energijom prilagođenom volumenu jajnika učinkovitija je od bilateralne dijatermije fiksnim dozama. Šanse za ovulaciju su veće u ispitanica s većim desnim jajnikom bez obzira koja se laparoscopska tehnika koristi. Dijatermija prvenstveno smanjuje razine androgena i za razliku od AMH, T i FAI su konzistentni pokazatelji ovulacije nakon ULOD.

Unilateralna dijatermija s prilagođenim termalnim dozama nije samo učinkovitija u smislu ovulacijske reakcije, već manje oštećuje i pričuva jajnika od bilateralne dijatermije.

### **Ključne riječi**

Sindrom policističnih jajnika, laparoscopska ovarijska dijatermija, volumen jajnika, strana jajnika, pričuva jajnika.

## **9. SUMMARY**



## **Laparoscopic drilling of the right ovary thermal energy adjusted to ovarian volume in women with polycystic ovary syndrome**

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrine disorders and the leading cause of infertility in women of reproductive age. The primary outcome measure of PCOS-related infertility management is the birth of a healthy child. The prerequisite however is to ensure ovulation.

### **Subjects and methods:**

This prospective, longitudinal, cohort study included 96 infertile women with PCOS who were unresponsive to clomiphene citrate treatment and underwent either unilateral laparoscopic ovarian drilling (ULOD) or bilateral drilling (BLOD). Patients were assigned to two groups; one group underwent laparoscopic ovarian drilling of the right ovary alone, while both ovaries were treated in the second group. The ULOD group (n = 49) received thermal doses adjusted to the volume of the right ovary (60 J/cm<sup>3</sup>). The BLOD group (n = 47) received fixed doses of 600 J per ovary, regardless of its volume. The two treatment groups were matched by the number of participants, age and baseline parameters. After surgery, the groups were followed up for 6 months to assess ovulatory response.

### **Results:**

The ovulation rate during the first menstrual cycle after LOD was significantly higher in the ULOD group than in the BLOD group (73 % versus 49 %; absolute risk reduction (ARR), -0,25; 95 % confidence interval (CI), -0,44 to -0,03; P = 0,014). Treatment with ULOD on the right ovary significantly increased the chances of ovulation in patients with a larger right ovary compared to those who had a smaller right ovary (100 % versus 36 %; ARR, -0,64; 95 % CI, -0,84 to -0,37; P = 0,004). Interestingly, the chances of ovulation were also significantly higher in patients in the BLOD group who had a larger right ovary compared to those who had a smaller right ovary (88 % versus 33 %; ARR, -0,55; 95 % CI -0,73 to -0,28; P = 0,002). The pregnancy rate was also significantly higher in patients with a larger right ovary compared to those with a smaller right ovary, regardless of the treatment group. One month after surgery, AMH was significantly lower in the BLOD than in the ULOD group [median difference (MD): -0,6 ng/mL]. A drop in testosterone (T) and free androgen index (FAI) was significantly greater in the ULOD than in the BLOD group (MD

0,2 nmol/L for T; 1.1 for FAI). The decrease in AMH was more pronounced in the BLOD in the first month ( $P = 0.018$ ) and in the sixth month follow-up ( $P = 0,023$ ). In contrast, in the sixth follow-up month, the ULOD group showed a significantly greater increase in AFC from baseline [ULOD vs. BLOD,  $P < 0,001$ ] and in ovarian volume [ULOD vs. BLOD ;  $P = 0,013$ ].

### **Conclusions:**

Although unilateral laparoscopic ovarian drilling (ULOD) using adjusted thermal doses is more efficient than bilateral drilling (BLOD) using fixed doses, the chances of ovulation were improved in patients with larger right ovary irrespective of the laparoscopic technique used. Ovarian diathermy primarily reduces androgen levels. Unlike AMH, T and FAI turned out to be consistent predictors of ovulation response. And finally, unilateral diathermy with adjusted thermal doses is more efficient in terms of ovulatory response and diminishes ovarian reserve less than bilateral diathermy.

### **Key words**

Polycystic ovary syndrome, laparoscopic ovarian diathermy, ovary volume, side of the ovary, reserve ovary.

## **10. LITERATURA**

1. Hart R, Hickey M, Franks S. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004;18(5):671-83.
2. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Fertil Steril* 2004;81(1):19-25.
3. Haakova L, Cibula D, Rezabek K, Hill M, Fanta M, Zivny J. Pregnancy outcome in women with PCOS and in controls matched by age and weight. *Hum Reprod* 2003;18(7):1438-41.
4. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet* 2007;370(9588):685-97.
5. Goldenberg N, Glueck C. Medical therapy in women with polycystic ovarian syndrome before and during pregnancy and lactation. *Minerva Ginecol* 2008 2008;60(1):63-75.
6. Zhang H, Legro RS, Zhang J, Zhang L, Chen X, Huang H, et al. Decision trees for identifying predictors of treatment effectiveness in clinical trials and its application to ovulation in a study of women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2010;25(10):2612-21.
7. Saad A.K.Amer. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management of related infertility. *Clin Endocrinol (Oxf)* 9 A.D.;33(5):585-92.
8. Swanson M, Sauerbrei EE, Cooperberg PL. Medical implications of ultrasonically detected polycystic ovaries. *J Clin Ultrasound* 1981;9(5):219-22.
9. Azziz R. Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: the Rotterdam criteria are premature. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(3):781-5.
10. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19(1):41-7.
11. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(11):4237-45.
12. Belosi C, Selvaggi L, Apa R, Guido M, Romualdi D, Fulghesu AM, et al. Is the PCOS diagnosis solved by ESHRE/ASRM 2003 consensus or could it include ultrasound examination of the ovarian stroma? *Hum Reprod* 2006;21(12):3108-15.

13. Deeks AA, Gibson-Helm ME, Teede HJ. Anxiety and depression in polycystic ovary syndrome: a comprehensive investigation. *Fertil Steril* 2010;93(7):2421-3.
14. Boomsma CM, Eijkemans MJ, Hughes EG, Visser GH, Fauser BC, Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2006;12(6):673-83.
15. Moran L, Teede H. Metabolic features of the reproductive phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2009;15(4):477-88.
16. Brassard M, AinMelk Y, Baillargeon JP. Basic infertility including polycystic ovary syndrome. *Med Clin North Am* 2008;92(5):1163-92.
17. Amer SA. Reproductive consequences of polycystic ovarian syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;33(5):585-92.
18. Rosenfield RL. Clinical review: Identifying children at risk for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(3):787-96.
19. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril* 2009;91(2):456-88.
20. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1961;21:1440-7.
21. Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Extensive clinical experience: relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(1):2-6.
22. Teede H, Deeks A, Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med* 2010;8:41.
23. Huang A, Brennan K, Azziz R. Prevalence of hyperandrogenemia in the polycystic ovary syndrome diagnosed by the National Institutes of Health 1990 criteria. *Fertil Steril* 2010;93(6):1938-41.
24. Balen AH, Laven JS, Tan SL, Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: international consensus definitions. *Hum Reprod Update* 2003;9(6):505-14.
25. Franks S, McCarthy MI, Hardy K. Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. *Int J Androl* 2006;29(1):278-85.

26. Govind A, Obhrai MS, Clayton RN. Polycystic ovaries are inherited as an autosomal dominant trait: analysis of 29 polycystic ovary syndrome and 10 control families. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(1):38-43.
27. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7(4):219-31.
28. Hart R, Sloboda DM, Doherty DA, Norman RJ, Atkinson HC, Newnham JP, et al. Circulating maternal testosterone concentrations at 18 weeks of gestation predict circulating levels of antimullerian hormone in adolescence: a prospective cohort study. *Fertil Steril* 2010;94(4):1544-7.
29. Abbott DH, Barnett DK, Bruns CM, Dumesic DA. Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental aetiology for polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod Update* 2005;11(4):357-74.
30. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S, et al. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(12):5957-62.
31. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(1):318-23.
32. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, et al. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002;143(3):1076-84.
33. Pellatt L, Rice S, Mason HD. Anti-Mullerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high? *Reproduction* 2010;139(5):825-33.
34. Fallat ME, Siow Y, Marra M, Cook C, Carrillo A. Mullerian-inhibiting substance in follicular fluid and serum: a comparison of patients with tubal factor infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis. *Fertil Steril* 1997;67(5):962-5.
35. Pellatt L, Hanna L, Brincat M, Galea R, Brain H, Whitehead S, et al. Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(1):240-5.
36. Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Gal M, Ben-Chetrit A, Algur N, Zylber-Haran E, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels during controlled ovarian hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Hum Reprod* 2005;20(7):1814-9.

37. Jaquet D, Gaboriau A, Czernichow P, Levy-Marchal C. Insulin resistance early in adulthood in subjects born with intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(4):1401-6.
38. Ibanez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M, de ZF. Catch-up growth in girls born small for gestational age precedes childhood progression to high adiposity. *Fertil Steril* 2011;96(1):220-3.
39. Pillay OC, Te Fong LF, Crow JC, Benjamin E, Mould T, Atiomo W, et al. The association between polycystic ovaries and endometrial cancer. *Hum Reprod* 2006;21(4):924-9.
40. Moran LJ, Misso ML, Wild RA, Norman RJ. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2010;16(4):347-63.
41. Groot PC, Dekkers OM, Romijn JA, Dieben SW, Helmerhorst FM. PCOS, coronary heart disease, stroke and the influence of obesity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011;17(4):495-500.
42. Rocha MP, Maranhao RC, Seydell TM, Barcellos CR, Baracat EC, Hayashida SA, et al. Metabolism of triglyceride-rich lipoproteins and lipid transfer to high-density lipoprotein in young obese and normal-weight patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2010;93(6):1948-56.
43. Felemban A, Tan SL, Tulandi T. Laparoscopic treatment of polycystic ovaries with insulated needle cautery: a reappraisal. *Fertil Steril* 2000;73(2):266-9.
44. Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2008;23(3):462-77.
45. Balen A. Surgical treatment of polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20(2):271-80.
46. Gjonnaess H. Ovarian electrocautery in the treatment of women with polycystic ovary syndrome (PCOS). Factors affecting the results. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994;73(5):407-12.
47. Pasquali R, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Gambineri A. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update* 2003;9(4):359-72.
48. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2007;356(6):551-66.

49. Franks S, Adams J, Mason H, Polson D. Ovulatory disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Obstet Gynaecol* 1985;12(3):605-32.
50. Fauser BC, Tarlatzis BC, Rebar RW, Legro RS, Balen AH, Lobo R, et al. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 2011.
51. Alivannis P, Giannikouris I, Paliouras C, Arvanitis A, Volanaki M, Zervos A. Metformin-associated lactic acidosis treated with continuous renal replacement therapy. *Clin Ther* 2006;28(3):396-400.
52. Nissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007;356(24):2457-71.
53. Gjonnaess H. Polycystic ovarian syndrome treated by ovarian electrocautery through the laparoscope. *Fertil Steril* 1984;41(1):20-5.
54. Farquhar C, Lilford RJ, Marjoribanks J, Vandekerckhove P. Laparoscopic 'drilling' by diathermy or laser for ovulation induction in anovulatory polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(3):CD001122.
55. Greenblatt E, Casper RF. Endocrine changes after laparoscopic ovarian cautery in polycystic ovarian syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156(2):279-85.
56. Lemieux S, Lewis GF, Ben-Chetrit A, Steiner G, Greenblatt EM. Correction of hyperandrogenemia by laparoscopic ovarian cautery in women with polycystic ovarian syndrome is not accompanied by improved insulin sensitivity or lipid-lipoprotein levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(11):4278-82.
57. Mercorio F, Mercorio A, Di Spiezio SA, Barba GV, Pellicano M, Nappi C. Evaluation of ovarian adhesion formation after laparoscopic ovarian drilling by second-look minilaparoscopy. *Fertil Steril* 2008;89(5):1229-33.
58. Rossmannith WG, Keckstein J, Spatzier K, Lauritzen C. The impact of ovarian laser surgery on the gonadotrophin secretion in women with polycystic ovarian disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1991;34(3):223-30.
59. La MA, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De L, V. Mullerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril* 2004;82(4):970-2.
60. Amer SA, Li TC, Ledger WL. The value of measuring anti-Mullerian hormone in women with anovulatory polycystic ovary syndrome undergoing laparoscopic ovarian diathermy. *Hum Reprod* 2009;24(11):2760-6.



61. Gjonnaess H. The course and outcome of pregnancy after ovarian electrocautery in women with polycystic ovarian syndrome: the influence of body-weight. *Br J Obstet Gynaecol* 1989;96(6):714-9.
62. Saad Amer. Reproductive consequences of polycystic ovarian syndrome. *Current Obstetrics & Gynaecology* 2006;16(5): 273-280. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;33(5):585-92.
63. Amer SA, Banu Z, Li TC, Cooke ID. Long-term follow-up of patients with polycystic ovary syndrome after laparoscopic ovarian drilling: endocrine and ultrasonographic outcomes. *Hum Reprod* 2002;17(11):2851-7.
64. Armar NA, Lachelin GC. Laparoscopic ovarian diathermy: an effective treatment for anti-oestrogen resistant anovulatory infertility in women with the polycystic ovary syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100(2):161-4.
65. Naether OG, Fischer R. Adhesion formation after laparoscopic electrocoagulation of the ovarian surface in polycystic ovary patients. *Fertil Steril* 1993;60(1):95-8.
66. Roy KK, Baruah J, Moda N, Kumar S. Evaluation of unilateral versus bilateral ovarian drilling in clomiphene citrate resistant cases of polycystic ovarian syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 2009;280(4):573-8.
67. Al-Fozan H, Tulandi T. Left lateral predisposition of endometriosis and endometrioma. *Obstet Gynecol* 2003;101(1):164-6.
68. Balen AH, Braat DD, West C, Patel A, Jacobs HS. Cumulative conception and live birth rates after the treatment of anovulatory infertility: safety and efficacy of ovulation induction in 200 patients. *Hum Reprod* 1994;9(8):1563-70.
69. Fernandez H, Morin-Surrucá M, Torre A, Faivre E, Deffieux X, Gervaise A. Ovarian drilling for surgical treatment of polycystic ovarian syndrome: a comprehensive review. *Reprod Biomed Online* 2011;22(6):556-68.
70. Kandil M, Selim M. Hormonal and sonographic assessment of ovarian reserve before and after laparoscopic ovarian drilling in polycystic ovary syndrome. *BJOG* 2005;112(10):1427-30.
71. Sills ES, Alper MM, Walsh AP. Ovarian reserve screening in infertility: practical applications and theoretical directions for research. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;146(1):30-6.
72. Api M. Is ovarian reserve diminished after laparoscopic ovarian drilling? *Gynecol Endocrinol* 2009;25(3):159-65.

73. Malkawi HY, Qublan HS, Hamaideh AH. Medical vs. surgical treatment for clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol* 2003;23(3):289-93.
74. Amer SA, Li TC, Cooke ID. A prospective dose-finding study of the amount of thermal energy required for laparoscopic ovarian diathermy. *Hum Reprod* 2003;18(8):1693-8.
75. Dabirashrafi H. Complications of laparoscopic ovarian cauterization. *Fertil Steril* 1989;52(5):878-9.
76. Somigliana E, Ragni G, Infantino M, Benedetti F, Arnoldi M, Crosignani PG. Does laparoscopic removal of nonendometriotic benign ovarian cysts affect ovarian reserve? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006;85(1):74-7.
77. Weise HC, Naether O, Fischer R, Berger-Bispink S, Delfs T. [Results of treatment with surface cauterization of polycystic ovaries in sterility patients]. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1991;51(11):920-4.
78. Zakherah MS, Kamal MM, Hamed HO. Laparoscopic ovarian drilling in polycystic ovary syndrome: efficacy of adjusted thermal dose based on ovarian volume. *Fertil Steril* 2011;95(3):1115-8.
79. Balen AH, Jacobs HS. A prospective study comparing unilateral and bilateral laparoscopic ovarian diathermy in women with the polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1994;62(5):921-5.
80. Youssef H, Atallah MM. Unilateral ovarian drilling in polycystic ovarian syndrome: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online* 2007;15(4):457-62.
81. Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin-sensitising drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;5:CD003053.
82. Jokubkiene L, Sladkevicius P, Valentin L. Number of antral follicles, ovarian volume, and vascular indices in asymptomatic women 20 to 39 years old as assessed by 3-dimensional sonography: a prospective cross-sectional study. *J Ultrasound Med* 2012;31(10):1635-49.
83. Deb S, Kannamannadiar J, Campbell BK, Clewes JS, Raine-Fenning NJ. The interovarian variation in three-dimensional ultrasound markers of ovarian reserve in women undergoing baseline investigation for subfertility. *Fertil Steril* 2011;95(2):667-72.

84. Fukuda M, Fukuda K, Andersen CY, Byskov AG. Right-sided ovulation favours pregnancy more than left-sided ovulation. *Hum Reprod* 2000;15(9):1921-6.
85. Nation DP, Burke CR, Rhodes FM, Macmillan KL. The inter-ovarian distribution of dominant follicles is influenced by the location of the corpus luteum of pregnancy. *Anim Reprod Sci* 1999;56(3-4):169-76.
86. Wiebold JL, Becker WC. Inequality in function of the right and left ovaries and uterine horns of the mouse. *J Reprod Fertil* 1987;79(1):125-34.
87. Armar NA, McGarrigle HH, Honour J, Holownia P, Jacobs HS, Lachelin GC. Laparoscopic ovarian diathermy in the management of anovulatory infertility in women with polycystic ovaries: endocrine changes and clinical outcome. *Fertil Steril* 1990;53(1):45-9.
88. Ott J, Wirth S, Nouri K, Kurz C, Mayerhofer K, Huber JC, et al. Luteinizing hormone and androstendione are independent predictors of ovulation after laparoscopic ovarian drilling: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:153.
89. Clemente N, Wilson C, Faure E, Boussin L, Carmillo P, Tizard R, et al. Cloning, expression, and alternative splicing of the receptor for anti-Mullerian hormone. *Mol Endocrinol* 1994;8(8):1006-20.
90. Carvalho BR, Rosa e Silva AC, Rosa E Silva JC, dos Reis RM, Ferriani RA, Silva de Sa MF. Ovarian reserve evaluation: state of the art. *J Assist Reprod Genet* 2008;25(7):311-22.
91. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, et al. Anti-Mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(3):786-92.
92. Tehrani FR, Solaymani-Dodaran M, Azizi F. A single test of antimullerian hormone in late reproductive-aged women is a good predictor of menopause. *Menopause* 2009;16(4):797-802.
93. Barad DH, Weghofer A, Gleicher N. Comparing anti-Mullerian hormone (AMH) and follicle-stimulating hormone (FSH) as predictors of ovarian function. *Fertil Steril* 2009;91(4 Suppl):1553-5.
94. Weerakiet S, Lertvikool S, Tingthanatikul Y, Wansumrith S, Leelaphiwat S, Jultanas R. Ovarian reserve in women with polycystic ovary syndrome who underwent laparoscopic ovarian drilling. *Gynecol Endocrinol* 2007;23(8):455-60.

95. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12(6):685-718.
96. Diamanti-Kandarakis E, Christakou C, Kandarakis H. Polycystic ovarian syndrome: the commonest cause of hyperandrogenemia in women as a risk factor for metabolic syndrome. *Minerva Endocrinol* 2007;32(1):35-47.
97. Pigny P, Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Serum anti-Mullerian hormone as a surrogate for antral follicle count for definition of the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(3):941-5.
98. Maheshwari A, Gibreel A, Bhattacharya S, Johnson NP. Dynamic tests of ovarian reserve: a systematic review of diagnostic accuracy. *Reprod Biomed Online* 2009;18(5):717-34.
99. Elmashad AI. Impact of laparoscopic ovarian drilling on anti-Mullerian hormone levels and ovarian stromal blood flow using three-dimensional power Doppler in women with anovulatory polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2011;95(7):2342-6, 2346.
100. La MA, De L, V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L, et al. Anti-Mullerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. *J Soc Gynecol Investig* 2005;12(7):545-8.
101. Visser JA, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005;234(1-2):81-6.
102. van DJ, Lambalk CB, Kwee J, Looman CW, Eijkemans MJ, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod* 2010;25(1):221-7.
103. Pados G, Tsolakidis D, Assimakopoulos E, Athanatos D, Tarlatzis B. Sonographic changes after laparoscopic cystectomy compared with three-stage management in patients with ovarian endometriomas: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2010;25(3):672-7.
104. Wallace WH, Kelsey TW. Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum Reprod* 2004;19(7):1612-7.
105. Kupesic S, Kurjak A. Predictors of IVF outcome by three-dimensional ultrasound. *Hum Reprod* 2002;17(4):950-5.

## **11. ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 15. siječnja 1969. godine u Splitu gdje sam završila osnovnu i srednju školu. Diplomirala sam na Medicinskom studiju u Splitu, Sveučilište u Zagrebu 1994. Specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije započela sam 1998. godine u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split, a specijalistički ispit položila 2003. godine. Završila sam 2006. poslijediplomski znanstveni studij iz Temeljne i kliničke medicinske znanosti u Splitu. Područje mog užeg znanstvenog i stručnog interesa je humana reprodukcija i ginekološka endokrinologija i 2011. stekla sam naziv užeg specijaliste iz humane reprodukcije, položivši ispit pred ispitnom komisijom Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi. Aktivno sam sudjelovao u radu domaćih i nekoliko međunarodnih znanstvenih skupova iz područja ginekološke endokrinologije i humane reprodukcije. Asistent sam na Medicinskom fakultetu Split od 2007. Na Odjelu humane reprodukcije i ginekološke endokrinologije Klinike za ženske bolesti i porode, Kliničkog bolničkog centra Split radim od 2003. godine, a od 2011. pročelnik sam Odjela.

*Stručne edukacije:*

- 2002. tečaj I kategorije dijabetes i trudnoća, Zagreb
- 2002. tečaj I kategorije hipertenzija u trudnoći, Zagreb
- 2003. poslijediplomski tečaj iz ginekološke endokrinologije, Dubrovnik
- 2004. mjesec dana usavršavanje iz ginekološke laparoskopske kirurgije u Klinici za ženske bolesti i porode, KBC Zagreb
- 2004. poslijediplomski tečaj iz humane reprodukcije, Zagreb
- 2004. poslijediplomski tečaj ginekološke kirurgije i endoskopije „Kurt Sem“ s međunarodnim sudjelovanjem
- 2005. usavršavanje iz ginekološke laparoskopije u Tagesklinik Altonear Str., Hamburg (dr Galliant) i Stadtishes Klinikum Dpt. Of Gynecology (Prof. Heinnrich), Pforzheim
- 2012. predavač na tečaju iz UZV I kategorije, KBC Split

Kongresi Europske udruge za humanu reprodukciju (ESHRE):

- 2006. Prag, 2007. Lyon, 2009. Amsterdam, 2010. Rim, 2011. Stockholm, 2013 London
- 2006. simpozij o PCOS, Bjelolasica

*Pozvani predavač:*

- 2009. VII. hrvatski kongres o ginekološkoj endokrinologiji, humanoj reprodukciji i menopauzi s međunarodnim sudjelovanjem, Brijuni
- 2010. 1. hrvatskom kongresu o medicinskoj oplodnji, NP Plitvička jezera
- 2011. VIII. hrvatski kongres o ginekološkoj endokrinologiji, humanoj reprodukciji i menopauzi s međunarodnim sudjelovanjem, Brijuni
- 2012. 2. hrvatski kongres o reprodukcijskom zdravlju, planiranju obitelji i kontracepciji, Zadar
- 2013. IX hrvatski kongres o ginekološkoj endokrinologiji, humanoj reprodukciji i menopauzi s međunarodnim sudjelovanjem, Brijuni

#### *Članstvo i aktivnosti*

Hrvatskog društva za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (HDGEHR) i Hrvatskog društva za menopauzu

#### *Publikacije:*

1. Sunj M, Canic T, Baldani DP, Tandara M, Jeroncic A, Palada I. Does unilateral laparoscopic diathermy adjusted to ovarian volume increase the chances of ovulation in women with polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod* 2013;28:2417-2424.
2. Sunj M, Canic T, Tandara M, Palada I. Diagnosing genitourinary tuberculosis by exclusion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;163(2):241-2.
3. Sunj M, Tomislav Canic T, Agnic I, Tandara M, Palada I. Ovarian Torsion in Adolescent with Chronic Immune Thrombocytopenia. *Collegium Anreopologicum* (accepted September 20, 2012).
4. Marijan Tandara, Ana Bajić, Leida Tandara, Martina Šunj, Zrinka Jurišić, Marko Jukić. " Correlation between proportions of sperm with DNA fragmentation assessed by Halosperm test and values of standard quality parameters of semen and possible impact on embryo quality. *Slovenian Medical Journal* 2013;82:298-307.
5. Tandara M, Šunj M. Utjecaj infekcije na spermije i kvalitetu zametaka. U: Karelović D i sur. *Infekcije u ginekologiji i perinatologiji*. Zagreb: Medicinska naklada, 2012, str. 66-73. (Udžbenik Sveučilišta u Splitu)
6. Karelović D, Banović I, Šunj M, Meštrović Z. Utjecaj ratnih prilika na tumorska morfološka obilježja i preživljenje bolesnika s rakom dojke. *Gynaecol Perinatol* 2001;10 (Suppl 1):154. (EM)

|  |    |
|--|----|
| Slika 1. Operativni postupak.....  | 35 |
| Slika 2. Dizajn studije. ....  | 37 |
| Slika 3. Teorijska vjerojatnost ovulacije .....  | 44 |
| Slika 4 (A-B). Kaplan - Meier. Vrijeme do prva spontane trudnoće kod pacijentica s većim desnim (crna linija) i većim lijevim (siva linija) jajnikom. . .... | 45 |
| Slika 5 (A-C). Vrijednosti AMH (A), T (B), i FAI (C) u kasnih respondera. ....   | 52 |
| Slika 6 (A-B). FSH, AMH, volumen i AFC pred LOD, u 1. i 6. mjesecu nakon LOD. ....   | 54 |
| Slika 7 (A-B). Grafički prikaz promjena FSH, AMH, volumena i AFC nakon ULOD i BLOD u odnosu na predoperativne vrijednosti. ....                              | 55 |
| <br>   |    |
| Tablica 1. Biokemijska obilježja PCOS (7) .....  | 13 |
| Tablica 2. Referentne vrijednosti hormonskih parametara .....  | 31 |
| Tablica 3. Preoperativne karakteristike 96 žena s PCOS uključenih u studiju .....  | 41 |
| Tablica 4. Frekvencija distribucije ispitanica po ovulaciji i trudnoći .....   | 42 |
| Tablica 5. Frekvencija distribucije ispitanica prema ovulaciji i strani većeg jajnika .....  | 43 |
| Tablica 6. Višestruki logistički regresijski model za predviđanje ovulacije.....   | 44 |
| Tablica 7. Endokrine promjene u prvom i šestom mjesecu praćenja.....   | 46 |
| Tablica 8. Predoperativne vrijednosti dobi, BMI, AMH, T, FAI i LH u respondera / nonrespondera .....   | 47 |
| Tablica 9. Promjene vrijednosti AMH, T, FAI i LH u prvom mjesecu nakon LOD kod respondera/ nonrespondera .....   | 48 |
| Tablica 10. Promjene vrijednosti AMH, T, FAI i LH, šest mjeseci nakon LOD kod respondera / nonrespondera .....   | 49 |
| Tablica 11. Promjene parametara pričuve između skupina (ULOD / BLOD).....  | 53 |