

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Zdenka Palčić**

**ANALIZA OVARIJSKE REZERVE PACIJENTICA LIJEČENIH POSTUPCIMA  
MEDICINSKI POTPOMOŽNUTE OPLODNJE NA ZAVODU ZA GINEKOLOŠKU  
ENDOKRINOLOGIJU I HUMANU REPRODUKCIJU, KLINIKE ZA ŽENSKÉ  
BOLESTI I PORODE KBC SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina 2016./2017.**

**Mentor:**

**Doc. dr. sc. Jelena Marušić, dr. med.**

**Split, srpanj 2017.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Zdenka Palčić**

**ANALIZA OVARIJSKE REZERVE PACIJENTICA LIJEČENIH POSTUPCIMA  
MEDICINSKI POTPOMOŽNUTE OPLODNJE NA ZAVODU ZA GINEKOLOŠKU  
ENDOKRINOLOGIJU I HUMANU REPRODUKCIJU, KLINIKE ZA ŽENSKÉ  
BOLESTI I PORODE KBC SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina 2016./2017.**

**Mentor:**

**Doc. dr. sc. Jelena Marušić, dr. med.**

**Split, srpanj 2017.**

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
<b>1.1. Plodnost i neplodnost žena .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Ovarijska rezerva žena .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Biljezi ovarijske rezerve .....</b>	<b>5</b>
1.3.1 Broj antralnih folikula (AFC).....	6
1.3.1. Folikulostimulirajući hormon (FSH).....	7
1.3.2. Estradiol (E2) .....	7
1.3.3. Inhibin B.....	8
1.3.4. Klomifen citrat test (CC test) .....	8
1.3.5. Antimüllerov hormon (AMH).....	8
<b>1.4. Odgovor jajnika na stimulaciju i AMH.....</b>	<b>11</b>
<b>1.5. Predikcija trudnoća i AMH .....</b>	<b>15</b>
<b>1.6. Menopauza i AMH .....</b>	<b>16</b>
<b>1.7. Utjecaj različitih parametara na vrijednosti serumskog AMH i ovarijsku rezervu .....</b>	<b>16</b>
1.7.1. Testosteron i AMH.....	17
1.7.2. Dob žene i odgađanje rađanja .....	17
1.7.3. Jatrogena oštećenja i ovarijska rezerva .....	17
1.7.4. Autoimuni poremećaji i AMH .....	18
1.7.5. Genski i kromosomski defekti i AMH .....	19
1.7.6. Tjelesna masa i AMH.....	20
1.7.7. Alkohol i pušenje duhana .....	21
1.7.8. Endometrioza i AMH .....	22
1.7.9 Kirurške intervencije i AMH.....	24
1.7.10 Sindrom policističnih jajnika (PCOS).....	25
1.7.11 Etnička pripadnost.....	26

<b>1.8. Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO)</b> .....	27
2. CILJ ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE.....	30
3. ISPITANICI I POSTUPCI.....	32
4. REZULTATI .....	34
5. RASPRAVA .....	43
6. ZAKLJUČCI.....	48
7. POPIS CITIRANE LITERATURE .....	50
8. SAŽETAK .....	60
9. SUMMARY.....	63
10. ŽIVOTOPIS.....	65

*Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Jeleni Marušić na strpljenju i pomoći u izradi  
diplomskog rada.*

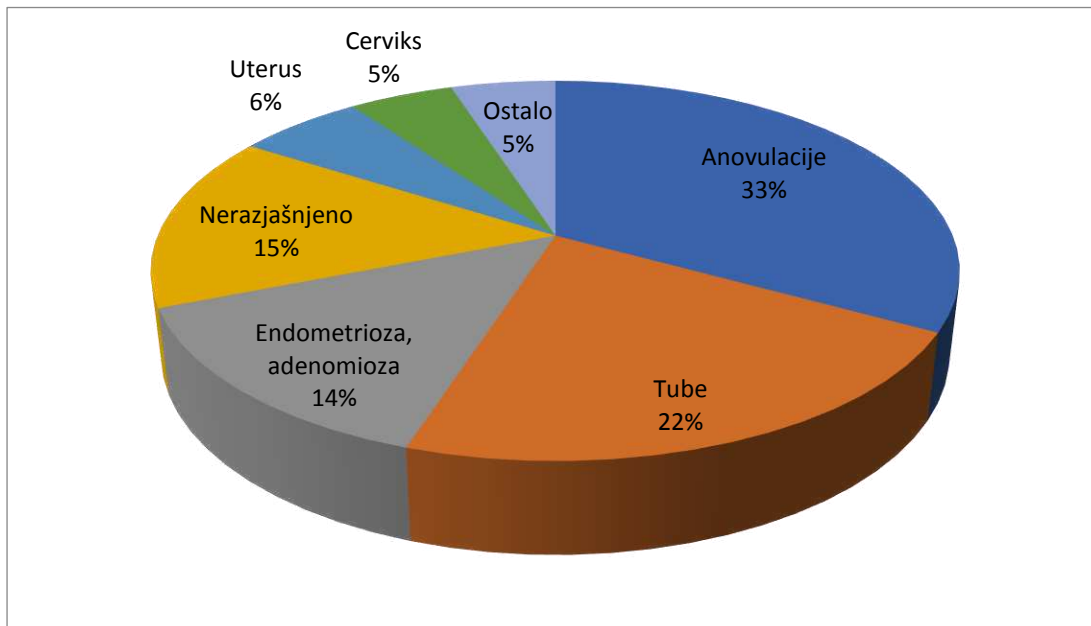
*Veliko hvala roditeljima, bratu i svim prijateljima na neizmjernoj podršci, ljubavi i  
razumijevanju tijekom svih godina studiranja.*

## **1. UVOD**

## 1.1. Plodnost i neplodnost žena

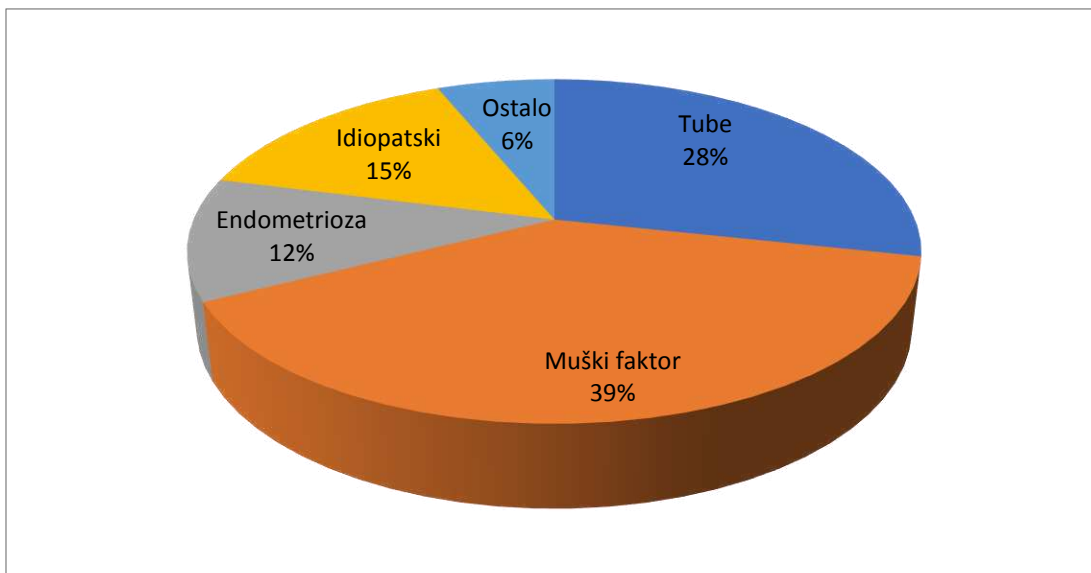
U današnjem razvijenom svijetu unatoč svim dostignućima plodnost je u blagom, ali trajnom opadanju. Razlog tome uglavnom je nepoznat, ali se može povezati s nekoliko medicinskih (ženski, muški ili idiopatski faktor neplodnosti) te nemedicinskih (socijalni, ekonomski, svjetonazorski faktori) čimbenika. Pomiču se granice prvih trudnoća pa je tako u Hrvatskoj danas prosjek rađanja prvog djeteta s 29,2 godine, 31% svih porođaja događa se između 30. i 35. godine, a 14% žena ima 3 ili više djece (1). Važnost podatka o kasnijem odlučivanju žena na rađanje je i u tome što zbog posljedičnog pada plodnosti starenjem imamo i konstantni porast liječenja medicinski potpomognutom oplodnjom svake godine za otprilike 10% (1). Važno je naglasiti i da je plodnost čovjeka manja nego u drugih vrsta te je i kod mladog para u normalnim okolnostima reproduksijska sposobnost izložena brojnim reproduksijskim rizicima kao što su monoovulacije, osjetljivost spermatogeneze, složeni i nesavršeni mehanizam selekcije gameta, česte aneuploidije, osjetljiva receptivnost endometrija i implatacije, učestale reproduksijske pogreške te epigenetski utjecaji (1). Prema brojnim istraživanjima je utvrđeno da u mladog para bez dokazane neplodnosti, uz redovite spolne odnose dolazi do reproduksijskog gubitka od 70% što nam dalje govori da na 100 ciklusa u 25% izostaje oplodnja, a samo u 45% ostvari se blastocista. Učestalost neplodnosti u razvijenim zemljama je 12-18% parova, a definiramo je kao izostanak trudnoće nakon jedne godine redovitih spolnih odnosa (2). U Hrvatskoj je broj parova sa smanjenom ili umanjenom plodnošću 80 000, a zabrinjavajući podatak je da više od polovine ne traži pomoć liječnika ili se prekasno odlučuju na liječenje. Kao posljedica starije dobi često se kao uzrok neplodnosti javljaju i pridružene bolesti koje mogu postojati i u mlađih žena, ali su dva do tri puta učestalije u žena starijih od 40 godina. U te bolesti ubrajamo anovulacije u 30-40% slučajeva, neplodnosti zbog posljedica upala 30%, ciste jajnika 20-30%, endometrioza i adenomioza 10-15%, miomi 10-20%, prijašnje operacije 15%, idiopatski 14% te posljedice onkoloških bolesti. U 45% ukupnog broja pacijentica nalazimo kombinirane uzroke neplodnosti. U liječenju neplodnosti koristimo se različitim metodama: stimulacijama i indukcijama ovulacije, kirurškim liječenjem, artifičijelnom inseminacijom te konačno IVF/ ICSI metodama (in vitro fertilizacija/ intracitoplazmatsko injiciranje spermija) (1).

Na Slici 1. nalazi se prikaz pojedinačnih uzroka učestalosti ženske neplodnosti (1).



**Slika 1.** Uzroci ženske neplodnosti.

Na Slici 2. prikazani su glavni uzroci neplodnosti liječeni IVF-om/ ICSI-om (3).



**Slika 2.** Uzroci neplodnosti liječeni IVFom/ICSI-om



## 1.2. Ovarijska rezerva žena

Ovarijsku rezervu jajnika označava broj preostalih antralnih folikula za folikulogenezu (4). Smanjenjem pričuve malih antralnih folikula smanjuje se mogućnost optimalnog odabira kohorte za folikulogenezu. Testovima pričuve jajnika mjerimo serumske razine hormona koji odražavaju broj preostalih antralnih folikula. Istraživanje rezerve jajnika obuhvaća biokemijska i ultrazvučna mjerenja. Primjenjujemo različita mjerenja u koje spadaju: bazalna razina FSH (folikulostimulirajući hormon) i estradiola, clomiphen citrat dinamički test (CC test), inhibin B, antimüllerov hormon (AMH), broj antralnih folikula (AFC *eng. antral follicular count*) te ultrazvučno mjeren volumen jajnika. CC test i inhibin B zamijenjeni su danas s FSH, E2 (estradiol) i preciznijim testovima kao što su serumsko određivanje AMH i ultrazvučno određivanje AFC-a (1).

Testiranje ovarijske rezerve spada u rutinsku pripremu žene za liječenje neplodnosti i stimulaciju ovulacije. Naravno, niti jedan od ovih testova još uvijek ne može služiti kao sigurni prediktor trudnoće u IVF ciklusima, već kao prediktor odgovora na stimulaciju (5). Testiranje ovarijske rezerve koristi se u pacijentica starijih od 35 godina, neobjašnjene neplodnosti, prijevremene obiteljske menopauze, pušenja, ginekoloških operacija u anamnezi, kemoterapije, zračenja, za planiranje doze lijekova kod stimulacije ovulacije te kod povišenog rizika od sindroma ovarijske hiperstimulacije (1). Postoje različiti mehanizmi koji mogu uzrokovati prijevremeno smanjenje ili gubitak ovarijske rezerve kao što su inicijalni manjak primordijalnih folikula, ubrzana folikularna atrezija i promjene u sazrijevanju primordijalnih folikula. Brojni su mogući uzroci nastanka prijevremenog smanjenja ovarijske rezerve kao što su genski, kromosomski, jatrogeni, autoimuni čimbenici, prijašnje operacije, ginekološka oboljenja i drugo (6). Za daljnje razumijevanje sniženja ovarijske rezerve važno je razlučiti nekoliko pojmova.

Snižena ovarijska rezerva može označavati fiziološko (starenjem žene) ili patološko smanjenje broja folikula uz prisutne mensturacijske cikluse. Nadalje, zaseban pojam vezan uz sniženje ovarijske rezerve je i primarna ovarijska insuficijencija (POI) koju karakteriziraju amenoreje duže od 6 mjeseci u žena mlađih od 40 godina te FSH vrijednosti  $>40$  IU. Osim kao samostalni entitet, primarna ovarijska insuficijencija može biti dio kliničke slike različitih tjelesnih i genetskih oboljenja (7).

Karakteristična klinička slika pacijentica jest da se žale na nemogućnost zanošenja, uz anamnezu normalnog nastupa menarhe i redovitih ciklusa nakon kojih nastupa oligomenoreja ili nagla amenoreja te pojava simptoma perimenopauze poput noćnog znojenja, nesanice, naglog crvenila lica i vrata i dr. (8). Vrlo često se simptomi javljaju nakon trudnoće ili prestanka uzimanja oralnih hormonskih kontraceptiva, nakon čega se više nikada ne uspostavi normalan menstruacijski ciklus (6).

### **1.3. Biljezi ovarijske rezerve**

Najraniji pokazatelji smanjenja ovarijske rezerve su AMH i inhibin B. Koristimo ih za praćenje ovarijske rezerve i preventivno u pacijentica u kojih postoji rizik ranijeg nastupa menopauze te moraju krenuti u liječenje neplodnosti. Koristimo se još i ultrazvučnim procjenama za određivanje broja antralnih folikula, volumena jajnika i debljine endometrija. U žena s prijevremenom menopauzom postoji smanjen broj antralnih folikula, smanjen volumen jajnika te tanak i atrofičan endometrij. Osim toga, važno je i višekratno određivanje FSH i estradiola. Parametri kojima se koristimo za procjenu ovarijske rezerve detaljno su prikazani u Tablici 1 (6).

**Tablica 1.** Parametri za procjenu ovarijske rezerve.

---

<b>Oligo/amenoreja</b>	
<b>FSH</b>	Dvokratno > 40 i.j/L
<b>Estradiol</b>	< 50 pg/ml
<b>Inhibin B</b>	< 40 pmol/L
<b>Antimüllerov hormon (AMH)</b>	< 7 pmol/L
<b>UZV jajnika</b>	Manji volumen Broj antralnih folikula < 4 (AFC)
<b>UZV endometrija</b>	Tanak atrofičan endometrij

---

### 1.3.1 Broj antralnih folikula (AFC)

AFC se definira kao broj folikula veličine 2-10 mm u promjeru. Pretraga se vrši ultrazvučno na oba jajnika te se smatra izravnim pokazateljem ovarijske rezerve. Broj izmjerenih folikula između 8 i 10 smatramo predikcijskim brojem za normalni odgovor jajnika na stimulaciju, dok izmjereno više od 14 folikula smatramo predikcijskim brojem za prenaplašen odgovor jajnika (9, 10). Broj folikula od 4 do 10 smatra se smanjenom ovarijskom rezervom te se kod broja folikula od 4-10 smatra da će i odgovor na stimulaciju biti lošiji. Zbog različitih standarda ultrazvučne opreme u različitim centrima, uz AFC potrebno je napraviti i biokemijske testove, pri čemu je najbolja korelacija AFC sa serumskim razinama AMH (11, 12, 13).

### 1.3.1. Folikulostimulirajući hormon (FSH)

Folikulostimulirajući hormon (FSH) je glikoproteinski hormon sastavljen od 2 podjedinice ( $\alpha$  i  $\beta$ ). Alfa subjedinica slična je podjedinici LH, hCG i TSH. Razlikuju se u beta podjedinici koja je biokemijski specifična za FSH. FSH izlučuju bazofilne stanice iz prednjeg režnja hipofize koje se označuju kao gonadotropne stanice (14).

Gonadotropin-oslobađajući hormon (GnRH) koji se izlučuje iz hipotalamusa kontrolira oslobađanje FSH iz adenohipofize. FSH stimulira rast i sazrijevanje folikula i izlučivanje estradiola za vrijeme prve polovine menstrualnog ciklusa. Upravo zbog ove promjenjivosti lučenja FSH tijekom ciklusa vrijeme uzimanja uzorka za mjerenje FSH vrlo je važno za pravilno tumačenje rezultata. Razine FSH smatramo niskima kod vrijednosti nižih od 0,5 IU/L što povezujemo s prestankom lučenja GnRH iz hipotalamusa. Visoke vrijednosti FSH veće od 20 IU/L smatramo pokazateljem ovarijske insuficijencije (15).

### 1.3.2. Estradiol (E2)

Estradiol je po sastavu steroidni hormon koji nastaje mehanizmom aromatizacije androgena. Odgovoran je za razvoj sekundarnih spolnih obilježja žene, normalni menstrualni ciklus te pripremu maternice za prihvata oplođenog jajašca. U djece i žena nakon menopauze koncentracije estradiola su snižene. Glavni je hormon u žena koji izlučuje folikul jajnika te je znak rasta i sazrijevanja folikula (15).

U krvotoku se nalazi 1-3% kao slobodni, 40% je vezan za SHBG (*eng. sex-hormone binding globulin*) i ostatak je vezan na albumine. Vrijednosti estradiola u serumu koriste se i za procjenu disfunkcije gonada kao i kod predpubertetske feminizacije, primarne amenoreje, ovulacije i za procjenu estrogena izlučenih iz tumora u muškaraca. U pacijentica s amenorejom koja je praćena s hirzutizmom, debljinom i policističnim jajnicima u folikularnoj fazi koncentracija estradiola je normalna. Pacijentice s patološkim promjenama hipotalamusa ili hipofize imaju nisku razinu estradiola. Niska razina estradiola ispod 55 pmol/L obično upućuje na insuficijenciju jajnika. Laboratorijski nalazi moraju se interpretirati uvijek u odnosu na fazu menstrualnog ciklusa. Povišene vrijednosti estradiola nalazimo kod

dobročudnih i zloćudnih novotvorina jajnika, endometrioze, PCOS (sindrom policističnih jajnika) i ostalih bolesti (16).

### 1.3.3. Inhibin B

Inhibin B je heterodimeran glikoprotein koji luče granuloza stanice folikula. Dosadašnjim istraživanjima pokazalo se kako razine inhibina B nisu dovoljno siguran pokazatelj stanja ovarijske rezerve zbog čega se danas više ne koristi u rutinskim pretragama (17, 18).

### 1.3.4. Klomifen citrat test (CC test)

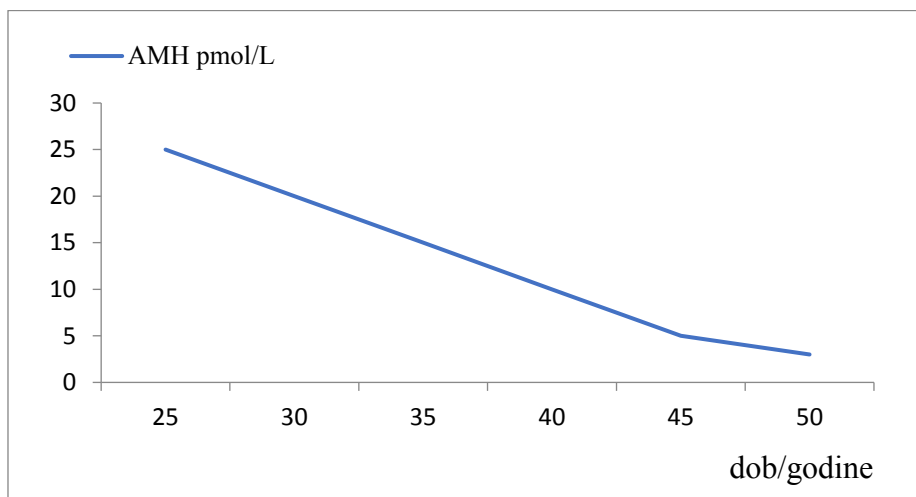
CC test dinamički je test koji uključuje primjenu 10mg klomifen citrata pet dana uzastopno od petog dana ciklusa. Zatim se mjere bazalne vrijednosti FSH trećeg dana ciklusa te vrijednosti FSH nakon stimulacije deseti dan. Ukoliko se treći ili deseti dan pokažu abnormalne vrijednosti FSH zaključujemo da se radi o lošem odgovoru jajnika (19). U metaanalizama studija koje su proučavale CC test te bazalna mjerenja FSH zaključeno je da CC test nema veću predikcijsku vrijednost u prognoziranju odgovora ovarija te se danas gotovo i ne koristi u rutinskoj praksi (20).

### 1.3.5. Antimüllerov hormon (AMH)

AMH je po sastavu glikoproteinski hormon povezan disulfidnim mostom, a spada u grupu proteina transformirajućeg faktora rasta (TGF- $\beta$ ) (21). Luče ga granuloza stanice rastućih folikula (preantralni, mali antralni i antralni folikul). Vrijednosti AMH hormona u krvi reflektiraju broj antralnih i preantralnih folikula koji su prisutni u jajniku. AMH je široko prihvaćen kao pouzdani marker ovarijske rezerve. U prilog tome ide i činjenica da je AMH

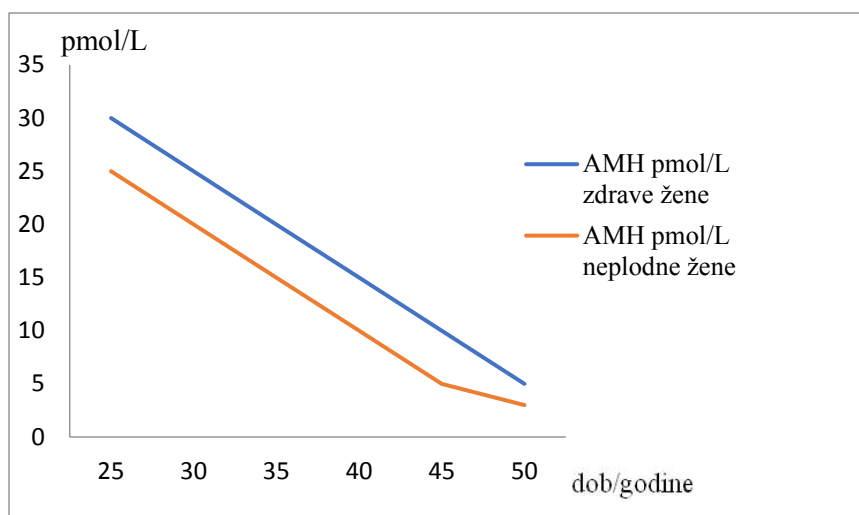
generalno stabilan tijekom menstruacijskog ciklusa. Nedavna istraživanja potvrdila su AMH kao „čuvara“ folikula koji ograničava inicijaciju rasta folikula prije selekcije i posljedično smanjuje proizvodnju estradiola iz malih antralnih folikula (22). Tehnike detektiranja AMH se sve više razvijaju, ali neki tehnički problemi i dalje ostaju: još uvijek ne postoji internacionalna standardizacija u mjerenju AMH. Promjene u izlučivanju AMH tijekom životnog vijeka mogu se okvirno podijeliti u nekoliko faza, s vrškom u ranim 20-tim godinama te postepenim padom vrijednosti sve do menopauze, uz snažnu korelaciju s brojem preostalih folikula za folikulogenezu (23).

Na Slici 3. prikazana je razina AMH prema dobi žena. Jasno je uočljivo opadanje vrijednosti serumskog AMH sa starenjem žene (23).



**Slika 3.** Prikaz kretanja vrijednosti AMH po dobi žena.

Na Slici 4. prikazane su razine AMH prema dobi zdravih žena te žena liječenih od neplodnosti. Iz grafičkog prikaza jasno se može uočiti razlika u početnim razinama AMH kod zdravih žena i žena na liječenju od neplodnosti. Zdrave žene imaju početno više razine AMH po dobi, dok žene liječene od neplodnosti imaju početno niže razine AMH (24).



**Slika 4.** Odnos vrijednosti AMH zdravih i neplodnih žena.

Danas se u svakodnevnoj kliničkoj praksi koristimo referentnim vrijednostima AMH kojima procjenjujemo fertilni potencijal žene. Prema vrijednosti AMH u serumu procjenjujemo je li plodnost žene optimalna, zadovoljavajuća, smanjena, izrazito smanjena kod vrlo niskih vrijednosti AMH te poremećena kod povišenih vrijednosti AMH budući da su one vezane uz pojavu PCOS (25). Referentni intervali koji se koriste za procjenu plodnosti na temelju vrijednosti AMH navedeni su u Tablici 2. (26).

**Tablica 2.** Razine AMH i plodnost

Fertilni potencijal	pmol/L	ng/ml
Vrlo niske koncentracije	0,0-2,2	0,0-0,3
Smanjena plodnost	2,20-15,7	0,3-2,2
Zadovoljavajuća plodnost	15,7-28,6	2,2-4,0
Optimalna plodnost	28,6-48,5	4,0-6,8
Povećana koncentracija	>48,5	>6,8

AMH smatramo najpouzdanijim biokemijskim markerom ovarijske funkcije u brojnim kliničkim stanjima (menopauza, hiperstimulacijski odgovor jajnika, postoperativno praćenje itd.), kako u djetinjstvu, tako i u odrasloj dobi. Time je reproduksijska biologija na raspolaganje dobila jednostavnu mjeru za pregled broja preostalih folikula u jajnicima (5, 22). Međutim, zbog različitih pogrešaka samog procesa mjerenja serumskog AMH, AMH može pokazivati analitičku nestabilnost. Stoga su nam potrebni standardizirani i specifični protokoli (27).

#### **1.4. Odgovor jajnika na stimulaciju i AMH**

Utvrđivanjem rezerve jajnika možemo predvidjeti normalan, slab ili prenaplašen odgovor jajnika. Odgovor jajnika na stimulaciju u postupcima MPO vrlo je kompleksno područje koje pokušava uravnotežiti primjenu odgovarajuće doze lijekova s predviđenim odgovorom jajnika, što bi sve trebalo biti u najvećoj mjeri prilagođeno svakoj ženi individualno. Danas postoje različite smjernice koje pokušavaju odrediti okvirne referentne vrijednosti prema do sada poznatim rezultatima iz kliničke prakse. AMH i FSH zasad su se pokazali kao dobri pokazatelji očekivanog odgovora jajnika na stimulaciju. Očekivani odgovor jajnika na stimulaciju ovulacije normalan je kod vrijednosti FSH 3-9 IU/L te vrijednosti AMH između 8-20 pmol/L uz broj oocita između 8-12. Očekivani odgovor na stimulaciju ovulacije s procjenama rezerve jajnika prikazane su u Tablici 3. (24, 28). Iz navedenih podataka u Tablici 3. odabiremo vrstu daljnjeg protokola za stimulaciju ovulacije (24).



**Tablica 3.** Rezerva jajnika i očekivani odgovor na stimulaciju ovulacije

<b>ODGOVOR JAJNIKA</b>	<b>AMH pmol/L</b>	<b>FSH IUI/L</b>	<b>AFC Folikuli 2-10 mm</b>
<b>NR 8-12 oocita</b>	8-20	3-9	10-15
<b>LR 4 oocite</b>	4-7	10-13	5-8
<b>VLR/NR 1 ili 0 oocita</b>	<4.0	≥14	<4
<b>HR &gt;20 oocita</b>	>25	2-5 (LH > 10)	≥20

NR- normalan odgovor, LR- slab odgovor, VLR/NR- vrlo slab/izostaje odgovor, HR- prenatlašen odgovor

U Tablici 4. prikazane su vrijednosti AMH kojima procjenjujemo normalan i prenatlašen odgovor jajnika. Moramo naglasiti da je AMH samo pokazatelj ovarijskog odgovora na stimulaciju, ali u konačnici ne i pokazatelj uspjeha trudnoće (24). Postoji vrlo mali broj istraživanja koja povezuju vrijednosti AMH s prenatlašenim odgovorom jajnika. U studiji Leeja i suradnika su se do sada izmjerene vrijednosti AMH pokazale u dobroj korelaciji s izmjerenim brojem folikula na dan primjene hCG (humani korionski gonadotropin), čime je omogućena primjena preventivnih mjera u slučaju viših vrijednosti AMH koje su nam prediktivne za prenatlašen odgovor jajnika, što je prikazano u Tablici 4. (29).

**Tablica 4.** Prediktivne vrijednosti AMH

	<b>Broj oocita</b>	<b>Osjetljivost</b>	<b>AMH pmol/L</b>	<b>OHSS</b>
<b>NR</b> <b>n= 666</b>	10.5	75%	13.1	1.5%
<b>HR</b> <b>n= 933</b>	>20	73%	31.7	40%

OHSS- ovarijski hiperstimulacijski sindrom, NR- normalan odgovor jajnika, HR- prenatlašen odgovor jajnika

Slab odgovor jajnika na stimulaciju nije rijedak u MPO postupcima zbog čega nam je vrlo važna temeljita obrada pacijentica te vrijednost AMH koju koristimo kao prediktivan parametar za odgovor jajnika. U Tablici 5. je prikazana razina AMH u žena sa slabim odgovorom jajnika (24).

**Tablica 5.** Razina AMH u žena sa slabim odgovorom jajnika

<b>Istraživanja</b>	<b>N</b>	<b>Osjetljivost</b>	<b>Specifičnost</b>	<b>LR/PR</b>	<b>AMH pmol/L</b>
Metaanaliza 18 studija	2008	76,10%	79,2%	<4 oocite ili odustajanje	6,9 1,8-12 raspon

LR- slab odgovor jajnika, PR- loš odgovor jajnika

Važnost podatka o slabom odgovoru jajnika je velika. Time izbjegavamo provođenje skupih i najčešće neuspješnih tretmana u pacijentica sa slabim odgovorom jajnika. Opće je prihvaćeno da se i u pacijentica sa slabim odgovorom jajnika pokuša barem s jednim ciklusom liječenja MPO postupcima, budući da testovi ovarijske rezerve služe ipak kao umjereno dobar prognostički pokazatelji za postizanje trudnoće, a ne kao apsolutna smjernica za neprovođenje liječenja (30).

Nadalje, za mjerenje odgovora jajnika tijekom započete stimulacije određujemo hormone na samom početku stimulacije i ultrazvučno pratimo u razmacima od dva dana rast potaknutih folikula.

U nizu istraživanja prikazano je da su rezultati IVF-a bolji ako se protokoli odabiru na temelju vrijednosti AMH. Stimulaciju ovulacije zato provodimo na temelju utvrđene rezerve jajnika kao što je prikazano u Tablici 6. (24).

**Tablica 6.** Programiranje stimulacije za IVF prema procjeni ovarijske rezerve.

<b>Vrijednost AMH pmol/L</b>	<b>Odgovor jajnika</b>	<b>Postupak/ doza FSH/dan</b>	
<b>AMH &gt;25</b>	PCOS HR	FSH 50-125 IU Antagonisti/Agonisti umjesto HCG-a	
<b>AMH 10-20</b>	NR	FSH 100-250 IU Agonisti/antagonisti	
<b>AMH 5-9</b>	LR	FSH 225-300 IU Agonisti/antagonisti	Prirodni ciklus
<b>AMH &lt;5.0</b>		FSH 225-375 IU Odustajanje	Blagi protokol CC/ letrozol + FSH/L
<b>FSH &gt;15 IU/L</b>	VRL	↓ Donacija oocita	

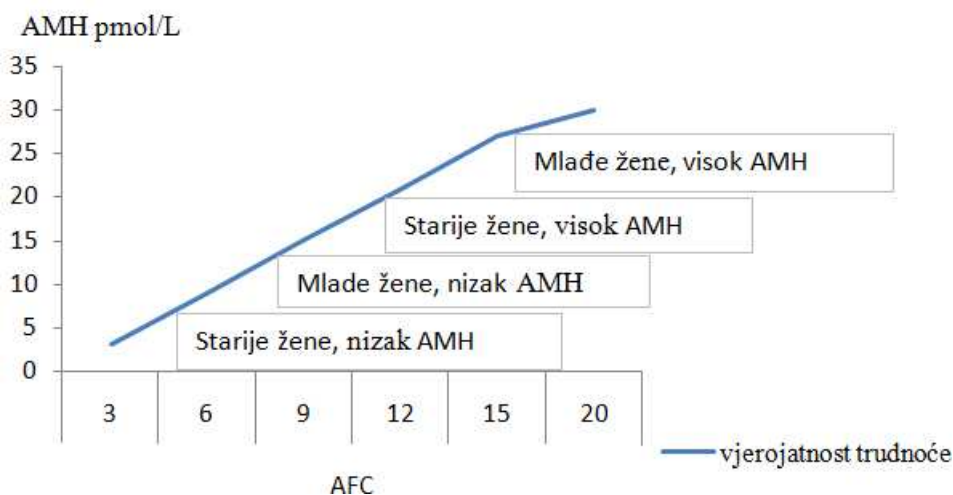
HR – hiper responders, NR – normoresponders, LR – low responders, VLR – very (extreme) low responders, CC – klomifen citrat

## 1.5. Predikcija trudnoća i AMH

Prema dosadašnjim studijama povezanost AMH s predikcijom implantacija i kliničkih trudnoća također je slaba. AMH, iako odličan pokazatelj ovarijske rezerve, nije pokazatelj kvalitete same jajne stanice te različitih čimbenika koji osim samog broja preostalih folikula mogu utjecati na začeće (31). Predmet jednog od istraživanja bila je mogućnost predikcije implantacija i kliničkih trudnoća, a ispitanice su bile žene s PCOS i žene sa smanjenom ovarijskom rezervom. U žena sa smanjenom ovarijskom rezervom uočena je ipak bolja korelacija AMH i postizanja trudnoće, ali ne statistički značajno (32).

Metaanaliza studija koje su obuhvaćale postupke MPO i razine AMH pokazala je da se serumski AMH može koristiti za predviđanje ishoda trudnoće, međutim tek nakon provedenog postupaka MPO s izračunatom osjetljivošću u rasponu od 7-83% te specifičnosti 21-89%. Također, postoji i pozitivna korelacija serumskog AMH i nemogućnosti začeća te su na osnovi 7 studija izračunali vrlo široke raspone za osjetljivost 21-65% i specifičnost 69-85% mjerenih rezultata AMH s nemogućnošću začeća (33). Iako su pronađene korelacije, potrebna su dodatna istraživanja ovih rezultata s ujednačenim parametrima zbog velike heterogenosti među studijama (ispitanici, uključeni parametri, metode istraživanja) što je u rezultatima i uzrokovalo velike raspone osjetljivosti i specifičnosti testova za predviđanje ishoda trudnoće nakon MPO postupaka te se još uvijek ove korelacije ne mogu smatrati vjerodostojnima (33).

Na Slici 5. prikazana je vjerojatnost postizanja trudnoće u mlađih i starijih žena s visokim AMH te mlađih i starijih žena s niskim AMH u odnosu na AFC. Broj folikula i koncentracija AMH pokazuju odličnu korelaciju time što u mlađih žena s visokim AMH imamo i visoke razine AFC, zatim u žena koje i u starijoj dobi imaju zadovoljavajuće vrijednosti AMH uvidamo i prateće zadovoljavajuće vrijednosti AFC-a. U mlađih žena s niskim razinama AMH imamo i nižu razinu AFC-a, kao i u starijih žena s niskim razinama AMH (1). Iako krivulja vjerojatnosti trudnoće raste proporcionalno s vrijednostima AMH i AFC, ipak u dosadašnjim istraživanjima nije pronađena statistički značajna povezanost s postizanjem trudnoće (32, 33).



**Slika 5.** Vjerojatnost postizanja trudnoće prema dobi, AFC i AMH

## 1.6. Menopauza i AMH

Još uvijek se istražuje i pokušava dokazati povezanost razina AMH i dobi ulaska u menopauzu. Brojna početna istraživanja ukazuju na mogućnost predviđanja dobi menopauze na temelju izmjerenih vrijednosti AMH, ali su još uvijek nepouzdana rezultati zbog velike količine različitih okolišnih čimbenika koji mogu utjecati na dob ulaska žene u menopauzu (34).

## 1.7. Utjecaj različitih parametara na vrijednosti serumskog AMH i ovarijsku rezervu

Prema dosadašnjim istraživanjima pokazalo se da su vrijednosti AMH najbolji dosadašnji marker za procjenu ovarijske rezerve i reakcije jajnika na stimulaciju ovulacije. Međutim, za predviđanje trudnoća i živorođenosti djece te fertilitnosti nakon onkot terapije i određivanja kada postoperativno mjeriti AMH, da bismo bili sigurni da je to konačna vrijednost, još uvijek nije provedeno dovoljno istraživanja (35). Prema dosadašnjim studijama AMH je predložen kao najbolji predikcijski faktor za hiperstimulacijski odgovor jajnika na stimulaciju ovulacije, za dob ulaska u menopauzu i za praćenje jatrogenih oštećenja ovarijske rezerve (7). Također se istražuje moguće korištenje AMH u postavljanju dijagnoze sindroma policističnih jajnika umjesto dosadašnjih dijagnostičkih kriterija (12).

U brojnim studijama istraživali su se različiti parametri koji mogu utjecati na serumske vrijednosti AMH te posljedično i na stanje ovarijske rezerve. Među njima smo izdvojili skupine najznačajnijih čimbenika i bolesti kao što su: dob žena i odgađanje rađanja, jatrogena

oštećenja, autoimuni poremećaji, genski i kromosomski defekti, tjelesna masa, alkohol i pušenje duhana, endometriozna, kirurške intervencije, PCOS, testosteron te etnička pripadnost.

#### 1.7.1. Testosteron i AMH

U studiji na granulosa stanicama miša pokazalo se da je testosteron povećavao sekreciju AMH u granulosa stanicama što bi značilo da testosteron može utjecati na folikularni rast i razvoj (36). U ovoj studiji rezultati se temelje na mjerenju vrijednosti AMH iz granulosa stanica samo antralnih folikula, međutim potrebna su daljnja istraživanja i s uključenjem preantralnih folikula jer se u prijašnjim istraživanjima pokazalo da prenatalni tretman testosteronom može smanjiti ekspresiju AMH u granulosa stanicama preantralnih folikula, a u antralnim folikulima povećava ekspresiju (37).

#### 1.7.2. Dob žene i odgađanje rađanja

Visoka dob žene čest je razlog nemogućnosti začeca. Općenito vrijedi da se veći pad plodnosti bilježi od 32. godine, a nagli pad nakon 38. godine. Djevojčice se rađaju s konačnim brojem jajnih stanica (oko 1 000 000 jajnih stanica), a pred menarhu imaju oko 300 000 oocita te nakon 35. godine života samo 25 000. Budući da nakon 35. godine imamo prirodno smanjenje ovarijske rezerve, probir za ovulaciju postaje sve neuspješniji. Jajne stanice su češće lošije kvalitete zbog aneuploidija čija je učestalost u dobi između 35. i 39. godine viša od 50%, a nakon 40. godine 90% oocita je kromosomski abnormalno (1).

#### 1.7.3. Jatrogena oštećenja i ovarijska rezerva

Jatrogeno oštećenje jajnika kao rezultat citotoksičnog i radijacijskog liječenja prvi je poznati uzrok prijevremenog smanjenja ovarijske rezerve. Sljedeći poznati uzrok jatrogenog smanjenja ovarijske rezerve su kirurške intervencije u ginekološkim bolestima poput ooforektomije ili histerektomije koje mogu dovesti do smanjena broja folikula ili povećane atrezije oocita tijekom reproduktivnog razdoblja. Operacije cista na jajniku izravno mogu

ugroziti ovarijsku rezervu, kao i operacije endometrioma jajnika zbog mogućeg oštećenja zdravih folikula uklanjanjem bolesnog tkiva te smanjenjem krvožilnog protoka što može uzrokovati dodatnu atreziju folikula (4). Dodatni problem stvaraju nerazjašnjene povezanosti operacije crvuljka s oštećenjem funkcije jajnika, jer iako izravno nepovezani, zbog upalnih čimbenika i stvaranja priraslica između jajovoda i okolnih struktura mogu dovesti do smanjenja ovarijske rezerve (6).

#### 1.7.4. Autoimuni poremećaji i AMH

Mogući uzrok smanjenja ovarijske rezerve su i autoimuni poremećaji. Otprilike 10-20% žena s prijevremenom menopauzom imaju neku od tkivno specifičnih autoimunih bolesti kao što su Addisonova bolest, miastenija gravis, hipotireoza, dijabetes tipa I, sistemni lupus eritematosus, pozitivna antinuklearna protutijela i reumatoidni faktor. U žena koje liječe neplodnost postupcima MPO učestalost hipotiroidizma je 5-6%, vrlo često se utvrdi pri rutinskoj obradi pa nakon nadoknade tiroksina može doći do spontane trudnoće. Međutim, neprepoznati hipotiroidizam umanjuje rezultate MPO postupaka, može dovesti do pobačaja, zastoja u rastu i prijevremenog porođaja (6).

Povezanost hipotiroidizma i snižene ovarijske rezerve pokazala se statistički značajna u istraživanju hipotiroidizma i neplodnosti. Anti tirodina protutijela pronađena su u folikularnoj tekućini žena s hipotiroidizmom što se može povezati s nižom stopom fertilizacije jajne stanice te trudnoća u postupcima MPO i višom stopom spontanih pobačaja nego u kontrolnoj skupini žena (38). Zbog malog broja pacijentica u ovoj studiji potrebno je bilo proširiti ova istraživanja te su u sljedećoj studiji povećali broj ispitanica. U ovoj studiji istraživala se također povezanost smanjenja ovarijske rezerve s hipotiroidizmom za cilj je imala odrediti postoji li povećana prevalencija hipotiroidizma U žena sa smanjenom ovarijskom rezervom te postoji li među ženama s niskom ovarijskom rezervom zbog poznatog uzroka (npr. Turnerov sindrom) povećana prevalencija hipotireoidizma. Rezultati su pokazali da ne postoji statistički značajna prevalencija žena s pozitivnim anti tireoperoksidaza protutijelima (anti TPO protutijela) kao ni statistički značajna razlika u ovarijskoj rezervi u skupinama žena s niskom, normalnom i povećanom ovarijskom rezervom (39).

### 1.7.5. Genski i kromosomski defekti i AMH

Različite genske i kromosomske mutacije mogu biti uzrokom smanjenja ovarijske rezerve. U klinički najznačajnije ubrajamo bilo koji defekt spolnog kromosoma X (najčešće Turnerov sindrom). Prijevremena menopauza može se javiti i kod rijetkih bolesti poput galaktozemije, blefarofimoze i fragilnog X kromosoma (6).

Genski defekti povezani sa smanjenom ovarijskom rezervom zasad se još intenzivno istražuju. U kliničkoj praksi svaka žena kojoj su svi drugi uzroci isključeni, trebala bi napraviti citogenetičku analizu. Studija koja je identificirala gene povezane sa smanjenom ovarijskom rezervom pronašla je sljedeće mutacije kao značajne za smanjenje ovarijske rezerve: mutacije jednog gena (FMR1), genske polimorfizme (GDF9, FSHR i ESR1) te sedam diferencijacijskih gena između kontrolne skupine i žena sa smanjenom ovarijskom rezervom (AMH, LHCGR, IGF1, IGF2, IGF1R, IGFR2 i GREM1). U istraživanju na miševima pronađeno je još 6 potencijalnih gena povezanih sa smanjenjem ovarijske rezerve što ostavlja prostora za daljnja istraživanja kako bi se utvrdilo postoje li iste mutacije i kod žena. Postoje i dva objavljena slučaja s kromosomskim translokacijama povezanim sa smanjenom ovarijskom rezervom. Među navedenim genskim mutacijama, najznačajniju povezanost s ovarijskom rezervom pokazao je FMR1 (*eng. Fragile X mental retardation 1*), dok su ostali navedeni geni pokazali povezanosti, ali zbog malog broja ispitanika nisu se pokazali klinički značajni te ih je potrebno detaljnije istražiti na većem broju ispitanika. Povezanost FMR1 gena i povećane incidencije POI pokazala se u žena koje su imale premutacijska ponavljanja CGG nukleotida između 50-200, što je veće od normalnog broja ponavljanja. Osim toga pokazalo se da utječe i na kraće trajanje menstrualnog ciklusa zbog kraće folikularne faze te povišene vrijednosti FSH i snižene vrijednosti inhibina A i B (40-42).

Kod broja ponavljanja većih od 35 pronađena je i povećana incidencija smanjene ovarijske rezerve, pri čemu se incidencija povećavala s povećanjem broja ponavljanja. Ponavljanja CGG nukleotida pokazala su i pozitivnu korelaciju s povećanjem vrijednosti FSH te sniženjem vrijednosti AMH na razinu  $<1.0$  ng/mL. Budući da se ove vrijednosti razlikuju od podataka u literaturi, potrebno je provesti studiju na većem broju ispitanica. Za sada, rezultati upućuju na pozitivnu povezanost smanjenja ovarijske rezerve u skupini intermedijarnog broja ponavljanja tripleta nukleotida što je potvrđeno u nekolicini studija (6, 40, 43, 44).



Turnerov sindrom (45, X) jedan je od značajnijih genskih bolesti povezanih s smanjenom ovarijskom rezervom. Pacijentice s ovim sindromom imaju gonadalnu disgenezu s primarnom amenorejom uz gubitak ovarijske rezerve prije puberteta zbog nedostatka X kromosoma. 10% pacijentica s potpunim gubitkom X kromosoma mogu imati menarhe, dok je kod mozaicizma moguće imati redovite cikluse nekoliko godina prije razvijanja POI (45).

#### 1.7.6. Tjelesna masa i AMH

Debljina majke „loše“ utječe na plod tijekom njegova intrauterinog razvoja. Posljedice toga mogu biti rađanje makrosomnog djeteta, intrauterini zastoje u rastu (IUGR), rizik za kasniji razvoj PCOS te brojni drugi metabolički i reproduktivski poremećaji (46).

Utjecaj pretilosti na reproduktivske funkcije intenzivno se istražuje. Iako je utjecaj pretilosti na reproduktivske funkcije negativan, mehanizam djelovanja još uvijek nije u potpunosti jasan zbog velikog broja čimbenika koji djeluju zajedno. U pretilih žena dolazi do poremećaja u neuroregulaciji osi hipotalmus-hipofiza-gonade zbog povećane periferne aromatizacije androgena u estrogene čime se negativnom povratnom spregom utječe na gonadotropine. To dovodi do smanjenja lučenja hormona rasta, IGF (*eng. insulin like growth factor*) te SHBG (*eng. sex hormone binding globulin*), dok su razine leptina, LH i androgena povišene. Ove promjene posljedično dovode do oštećenja funkcije jajnika i endometrija. Posljedice poremećaja neuroregulacije hormona u reprodukciji su smanjene mogućnosti začeća, povećane stope spontanih pobačaja i komplikacija u trudnoći i povećana incidencija mrtvorodenčadi, zatim anovulacije te razvoj PCOS sindroma (47, 48).

Kvaliteta jajnih stanica može biti smanjena zbog endokrinoloških i metaboličkih promjena kod pretilosti, što može utjecati na razvoj embrija te implantaciju i ishod trudnoće. Osim toga, smanjena mogućnost postizanja trudnoće može biti povezana i s poremećajima funkcije endometrija koji se javljaju kod pretilosti, što je dokazano korištenjem donorskih jajnih stanica pri čemu se pokazalo da i dalje postoji redukcija implantacije i povećan rizik od spontanih pobačaja (48, 49).

Važan podatak nam je da je u SAD-u samo 28% neplodnih pacijentica s normalnim BMI (body mass index), dok je u Hrvatskoj samo 37% pacijentica s normalnim BMI indeksom (1).

Uspješnost postupaka MPO opada povećanjem BMI indeksa, također ishodi trudnoća iz MPO postupaka imaju povećan rizik od komplikacija. S povećanjem BMI indeksa se rizici od komplikacija značajno povisuju, pogotovo kod upotrebe autolognih oocita ( $p < 0,0001$ ), te kod žena mlađih od 35 godina ( $p < 0,0001$ ). Ovi rezultati pokazali su se u skladu s rezultatima dosadašnjih studija u kojima se također pokazalo da viši BMI indeks uzrokuje poteškoće u postizanju trudnoća bez medicinskih intervencija i u MPO postupcima (49, 50).

Povezanosti AMH i BMI bile su predmet istraživanja brojnih studija, međutim, pronađeni su međusobno suprotni rezultati. U nekim studijama pokazano je kako porastom BMI opada serumski AMH, ali objavljene su i studije sa suprotnim rezultatima pa bi ovo pitanje trebalo dodatno istražiti (13).

Nadalje, kada je u tijelu udio masnog tkiva ispod 20%, nedostatni biosignali dovode do poremećaja u neurosekreciji, do anovulacija i čestih amenoreja te je i u pacijentica s niskim BMI znatno poremećena mogućnost zanošenja (1). U istraživanju utjecaja niskog BMI na ishode trudnoća i kvalitetu jajnih stanica u žena na MPO postupcima pokazalo se da žene s niskim BMI imaju značajnu prevalenciju lošije kvalitete jajnih stanica te manji broj dobivenih jajnih stanica u usporedbi sa ženama normalnog BMI. Ipak, pokazalo se da lošija kvaliteta jajnih stanica nije značajno utjecala na razvoj embrija i stope trudnoća (51).

Daljnji utjecaj niskog BMI u žena (ispod 20,19 ili 18,5) pokazuje se u nižim stopama trudnoća nego u žena s normalnim BMI. Također, povećan je i rizik od spontanih pobačaja u žena s niskim BMI u odnosu na žene s normalnim BMI (52, 53).

Iz svega navednog u liječenju neplodnosti najvažnije mjere u žena s poremećajima tjelesne težine jest rješavanje prvo problema s težinom, a nakon toga neplodnosti (1).

#### 1.7.7. Alkohol i pušenje duhana

Duhan se smatra najsnažnijim epigenetskim pokretačem promjena na gametama. Usporedbama s nepušačima rizik neplodnosti u pušača je 60% viši (1). U provedenim studijama postoje dokazi da pušenje može izravno ubrzati smanjenje ovarijske rezerve i time ubrzati ulazak žene u menopauzu (54, 55).

Mehanizam djelovanja duhana na jajne stanice nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da duhan i njegovi metaboliti uzrokuju prijevremen ulazak u menopauzu tako što potiču atreziju folikula čime posljedično imamo smanjene razine AMH te povišenje razina FSH. U

istraživanjima na miševima pokazalo se da dolazi do smanjenja ovarijske rezerve kod miševa izloženih duhanu. Izloženost duhanu u trudnoći miševa pokazalo je i smanjenje ovarijske rezerve u potomaka (56).

U studiji koja je istraživala utjecaj pušenja na ovarijsku rezervu u žena na MPO postupcima pokazalo se da u žena koje konzumiraju duhan postoje više razine bazalnog FSH, posebno u žena mladih od 36 godina te im je u postupcima MPO potrebna veća doza gonadotropina za ovarijsku stimulaciju nego u nepušačica. Dobiven je i manji broj jajnih stanica u žena koje konzumiraju duhan te veća stopa neuspjeha MPO postupaka (57).

Anamnestički podatak prijašnjeg pušenja nije pokazao nikakav utjecaj na razine AMH u odnosu na nepušače. Ispitane su i razine FSH te se pokazalo da su razine u granicama normalne u žena koje su prestale pušiti više od dvije godine prije provođenja studije (58).

Budući da postoje studije koje imaju suprotstavljene rezultate u vidu jednakih vrijednosti AMH i u skupini žena koje konzumiraju duhan i u onih koje ne konzumiraju duhan, potrebno je ove povezanosti dodatno ispitati (13, 59-62).

Dugotrajna umjerena konzumacija alkohola značajno povećava serumske razine FSH, smanjuje volumen ovarija i broj antralnih folikula te uzrokuje povećanje incidencije za pojavu poremećaja menstrualnog ciklusa. Postoji nekoliko teorija mehanizma uzrokovanja ovarijske difunkcije alkoholom. Etanol povećava sintezu sintetaze dušičnog oksida i time povećava aktivnost dušičnog oksida, smanjuje razine estradiola što posljedično ima negativan učinak na ovarijsku funkciju (63). Drugi pretpostavljeni mehanizam je izravno oštećenje funkcija hipofize etanolom što je istraživano na ženama štakora (64). Međutim, u slijedećem istraživanju nisu pronađene smanjene razine LH, estradiola, prolaktina ni testosterona (60).

Zajednička konzumacija alkohola i duhana ima sinergistički učinak na smanjenje plodnosti (1).

#### 1.7.8. Endometrioza i AMH

Endometrioza predstavlja nalaz endometralnog tkiva izvan šupljine maternice. Najčešće lokacije ektopičnog tkiva maternice su jajnik, ligamenti maternice, retrovaginalni septum, zdjelični peritoneum, jajovodi i vrat maternice (65).

Simptomi uvelike ovise o smještaju ektopičnog tkiva maternice, a mogu obuhvaćati dismenoreju, dipaureniju, neplodnost, disuriju i bol pri defekaciji. Liječimo je protupalnim lijekovima, lijekovima za potiskivanje funkcije jajnika i rasta endometrija, kirurškim odstranjenjem ektopičnog endometrija i kao zadnja opcija ostaje odstranjenje maternice i jajnika. Endometrioza uzrokuje upalu koja za posljedicu ima odlaganje fibrina što uzrokuje stvaranje priraslica te ožiljkavanje okolnog tkiva (66).

Prevalencija endometrioze u Hrvatskoj (Klinika u Petrovoj) danas iznosi 14% te je u stalnom porastu. U žena koje se liječe od neplodnosti udio žena s endometriozom je čak 11,5% (1).

U studiji koja je istraživala povezanost benignih ginekoloških bolesti i utjecaj na ovarijsku rezervu došli su do rezultata da endometriomi ovarija mogu biti uzrok smanjenja volumena zdravog tkiva, posljedično i manje gustoće folikula uz gubitak specifične strome kore jajnika što posljedično dovodi do mogućeg gubitka ovarijske rezerve (4). U neplodnih pacijentica s blagom endometriozom pronađene su niže vrijednosti AMH nego kod kontrolne skupine koja je imala samo tubarnu opstrukciju bez endometrioze (67). Daljnje smanjenje AMH pronađeno je u pacijentica s težim stadijima endometrioze u usporedbi s AMH vrijednostima u pacijentica iste dobi i BMI-a (68).

Za kirurško liječenje endometrioma pronađeno je sniženje vrijednosti AMH u serumu nakon uklanjanja endometrioma. Također, veći pad vrijednosti se nalazi kod operacija bilateralnih endometrioma. Nakon operacije unilateralnog endometrioma pronađen je smanjen broj antralnih folikula u odnosu na zdravi jajnik (69).

U postoperativnom praćenju u trajanju od 6-9 mjeseci nakon kirurškog uklanjanja endometrioma pronađen je daljnji statistički značajni pad AMH (70).

Međutim, studije koje su pratile razine AFC nakon operacija, pokazale su kako nema značajnog pada njegovih vrijednosti jer je niska razina bila prisutna i prije i nakon operacije. Nadalje, postavili su pitanje pouzdanosti AMH kao markera ovarijske rezerve u praćenju postoperacijskih promjena ovarijske rezerve posebno kod pacijentica s unilateralnim oboljenjima jer AMH pokazuje stanje iz oba jajnika (71).

### 1.7.9 Kirurške intervencije i AMH

Utjecaj ginekoloških i drugih operacija na ovarijsku rezervu proučavan je u brojnim istraživanjima. Bilo koja kirurška manipulacija ovarija povezana je s gubitkom ovarijskih folikula s posljedičnim smanjenjem izlučivanja AMH (4).

Cistektomije zbog endometrioma i drugih benignih ovarijskih tumora, salpingektomije zbog hidrosalpinksa i UAE (embolizacije uterinih arterija) zbog mioma nerijetko se provode kao dio liječenja neplodnosti. Sve te intervencije mogu oštetiti ovarijsku rezervu na nekoliko načina: gubitak ovarijske kore ili oštećenje cirkulacije ovarija (72). Cistektomije zbog cista su uzrokovali mali, ali statistički značajni pad razina AMH (73). Cistektomije endometrioma su pokazale veći pad vrijednosti AMH od cistektomija neendometrijskih cisti (74, 75). Pronađene su razlike u padu vrijednosti AMH u pacijentica na laparotomijskim i laparoskopskim operacijama, veći pad je bio kod laparotomijskih operacija (76). Cistektomije kod teratoma pokazale su pad AMH, ali manji od cistektomija zbog endometrioma (68). Pacijentice s operacijama hidrosalpinksa nisu pokazale značajnije promjene u vrijednostima AMH (77). Pacijentice koje su histerektomirane imale su značajniji pad AMH u serumu nakon 4 mjeseca u usporedbi s kontrolnom skupinom (78). Ipak u nekim studijama rezultati pokazuju kako je moguće i da ne dolazi do značajnijih promjena AMH u pacijentica nakon histerektomije što ostavlja prostora za daljnje istraživanje ove skupine pacijentica. Također, u nekim studijama istraživali su razine AMH nakon histerektomije i UAE te se pokazalo da je značajniji pad razine AMH kod UAE (79). Kod operacije mioma ne dolazi do značajnije promjene vrijednosti AMH (80).

Bipolarna elektrodijatermija jajnika uzrokuje smanjenje ovarijske rezerve što je vidljivo u vrijednostima AFC i AMH. Bipolarnu elektrodijatermiju jajnika koristimo kao princip liječenja u pacijentica s iznimno povišenim vrijednostima AMH (pacijentice s PCOS) (81, 82).

Istraživanje o utjecaju salpingektomije na ovarijsku rezervu kratkoročno nije pokazalo statistički značajne promjene u pacijentica mlađih od 40 godina. Dugoročno se još ne može sa sigurnošću tvrditi da nema utjecaja na smanjenje ovarijske rezerve (83).

### 1.7.10 Sindrom policističnih jajnika (PCOS)

Sindrom policističnih jajnika (hiperandrogena kronična anovulacija) je endokrinopatijski sindrom koji zapravo predstavlja skup znakova i simptoma kao što su debljina, nepravilne mensturacije ili amenoreja uz znakove viška androgena. Manifestira se nizom kliničkih značajki i simptoma od kojih su najčešći poremećaji ovulacije, pojačano stvaranje androgena uz ultrazvučni nalaz policističnih jajnika. Rotterdamski kriteriji za dijagnozu PCOS obuhvaćaju oligo/anovulacije s posljedičnom amenorejom, hiperandrogenizam te ultrazvučni nalaz policističnih jajnika uz isključenje bolesti koje se slično manifestiraju te moraju biti pozitivna najmanje dva simptoma zajedno. Nadalje, za ultrazvučno dijagnosticiranje 12 ili više folikula moraju biti između 2-9 mm promjera i volumen jajnika veći od 10 mL (84).

Sindrom policističnih jajnika predstavlja još uvijek nejasno stanje povezano s visokim razinama AMH i time zapravo lažno povećanom ovarijskom rezervom. Sindrom policističnih jajnika je ovarijska endokrinopatija s prevalencijom 6-10% među ženama reproduktivnog razdoblja te značajno povišenom prevalencijom među ženama koje se liječe od neplodnosti. Karakteriziran je različitom kombinacijom kliničkih, biokemijskih i ovarijskih morfoloških promjena (85).

Povezanost AMH i PCOS analizirana je u nekoliko studija u kojima je potvrđen nalaz 2-3 puta većih vrijednosti AMH u žena s PCOS nego u zdravih žena. Danas se serumske razine AMH razmatraju kao mogući dodatni dijagnostički marker za PCOS. Uz to, AMH korelira s ostalim kriterijima za PCOS kao što su hiperandrogenizam i oligomenoreja. Ovi rezultati mjereni su u žena slične dobi. Specifičnost i osjetljivost dijagnosticiranja PCOS korištenjem AMH bili su 79.4%, odnosno 82.8%, što nas također navodi do zaključka kako bi serumsko određivanje AMH bilo dobra zamjena za volumen jajnika i broj folikula iz Rotterdamskih kriterija, dakle upotrebljavao bi se kao vrijedan novi dijagnostički marker za PCOS (86).

Metaanaliza koja je istraživala povezanost laparaskopskog ovarijskog drillinga s ovarijskom rezervom pokazala je pad AMH za 2.13 ng/mL što predstavlja pad za 43% od prijašnje serumske koncentracije AMH. Pretpostavljeni mehanizam pada vrijednosti AMH jest da dolazi do smanjenje sinteze AMH zbog gubitka primarnih, preantralnih i malih

antralnih folikula zbog termalnog oštećenja tijekom drillinga. Ipak u šestomjesečnom praćenju vrijednosti AMH, nakon početnog pada, nije došlo do značajnijeg snižavanja (87).

Također, pokazano je da jednako smanjenje AMH uzrokuju unilateralni i bilateralni drilling tretmani (88). Iz rezultata nam ipak ostaje nejasno označava li smanjenje ovarijske rezerve stvaran pad ili normalizaciju prijašnje visokih razina AMH koje su karakteristične za PCOS te bi daljnje studije trebale biti provesti mjerenja prije i nakon ovarijskog drillinga uz višemjesečno praćenje kako bi utvrdili postoji li stvaran pad vrijednosti ovarijske rezerve (89).

#### 1.7.11 Etnička pripadnost

U studiji koja je uspoređivala vrijednosti AMH s etničkom pripadnosti žena (bijela, žuta, crna i latinoamerička rasa) pokazano je da su razine AMH niže kod latinoameričkih žena u odnosu na žene bijele boje puti. Nadalje, razine AMH bile su niže kod žena crne i žute puti od razina žena bijele puti u kategorijama mlađe i srednje dobi te su vrijednosti AMH bile više kod žena crne puti u odnosu na latinoameričke žene i žene žute puti u kategoriji starije dobi. Ovi rezultati upućuju kako afroameričke žene imaju niže razine AMH već u mlađoj dobi, ali im se starenjem manje snižava razina AMH. Iako su ovim istraživanjem postavljene implikacije da latinoamerikanke i žene žute puti imaju manju ovarijsku rezervu, potrebno je dalje istražiti postoji li povezanost rasne pripadnosti i serumskih razina AMH (90).

U studiji Iglesias C. i suradnika koja je istraživala razlike u vrijednostima AMH između Indijki i Španjolki došli su do rezultata da su vrijednosti AMH niže u Indijki (91).

U Kini je provedena i studija kojom su se istraživale moguće referentne vrijednosti AMH te korelacije s FSH, LH, testosteronom i prolaktinom u populaciji zdravih Kineskinja između 20-55 godina u 6 regija. Dobiveni rezultati pokazali su pad vrijednosti AMH starenjem žene te su pronađene pozitivne korelacije s AFC, testosteronom, LH i prolaktinom te negativne korelacije AMH s BMI i FSH. Korelacije nisu pronađene s vrijednostima estradiola (92).

Druga studija koja je ispitivala vrijednosti AMH u kineskinja dobila je slijedeće rezultate. U žena mlađih od 30 godina raspon AMH je bio od 0,01-13,3 ng/mL, dok je u žena

starijih od 30 godina raspon bio 1,3-8,5 ng/mL. U ovoj studiji pronađena je i pozitivna korelacija između testosterona i razine AMH ( $p= 0.007$ ) (93).

### **1.8. Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO)**

MPO obuhvaća sve metode liječenja u kojima se pomaže ostvarivanje oplodnje, trudnoće i poroda. To uključuje homologne i heterologne postupke, odnosno liječenje gametama neplodnog para ili jednom od gameta darovatelja/ darovateljice (94).

Metode koje spadaju u MPO su:

- Intrauterina inseminacija (IUI) ili intratubarna inseminacija (ITI)
  - inseminacija sjemenom supruge (AIH)
  - inseminacija sjemenom darovatelja (AID)
- Izvantjelesna oplodnja- *in vitro* fertilizacija (IVF)
  - homologni i heterologni postupci
- Intracitoplazmatska mikroinjekcija spermija (ICSI)
  - homologni i heterologni postupci
- Prijenos gameta ili zigota u jajovod (GIFT, ZIFT) (94).

IVF je postupak za učinkovito liječenje ženske neplodnosti, a metoda razvijena za teške oblike muške neplodnosti jest ICSI. Napretkom tehnologije razvile su se i dodatne embriološke metode koje mogu poboljšati rezultate kao što su kirurško dobivanje spermija, zamrzavanje i odmrzavanje gameta i zametaka, pomoć izlaganju zametaka iz zone pelucide, *in vitro* maturacija oocita, onkofertilni postupci, preimplatacijska genska dijagnostika, selekcija spola iz medicinskih razloga. Uspjeh IVF/ICSI postupka danas iznosi 40-50% što se zajedno sa zamrzavanjem povećava i do 60%. Ovaj uspjeh najveći je u mlađih žena, dok se u žena iznad 38. godina znatno smanjuje, a nakon 44. godine žene se upućuju na liječenje darovanim jajnim stanicama ukoliko one to žele. Nadalje uspjeh će povećati broj i kvaliteta prenesenih zametaka u embriotransferu (ET). Danas se preporuča primjena ET s dva zametka ili još bolje jednog zametka čime se postiže smanjenje broja rizičnih višeplođnih trudnoća. Danas je cilj liječenja neplodnosti rađanje jednog živog i zdravog djeteta u terminu, blizanačke trudnoće su nepoželjne, a trojke, četvorke se smatraju komplikacijom u liječenju MPO postupcima (94).



Izvantjelesna oplodnja obično je zadnji korak u liječenju neoplodnosti nakon što su sve druge metode iskušane, zbog skupoće i rizičnosti MPO metoda. Nerazjašnjene neoplodnosti liječe se intrauterinom inseminacijom, kasnije zbog dobi i neuspjeha intrauterine inseminacije prelazi se na IVF/ICSI postupke. Indikacije za prelazak na IVF/ICSI su dugotrajna neoplodnost, dob žene starija od 35 godina, uznapredovala endometriozna, teža muška neoplodnost i onkofertilni postupci, a prikazani su detaljno u Tablici 7 (94).

**Tablica 7.** Indikacije za IVF/ICSI

<b>IVF*</b>	<b>ICSI*</b>
Tubarna neoplodnost	Teža muška neoplodnost
Endometriozna (III i IV stadija)	Višestruko oštećenje spermatogeneze
Recidiv endometrioma	Izostanak oplodnje u IVF-u
Blaža do srednja muška neoplodnost	Ponavljani neuspjeh IVF-a <ul style="list-style-type: none"> <li>• Poor responders</li> </ul>
Neuspješno liječenje	Neejakulirano sjeme <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kirurški dobiveno</li> <li>• Retrogradna ejakulacija</li> </ul>
Dugogodišnji sterilitet <ul style="list-style-type: none"> <li>• Idiopatski</li> <li>• Muški</li> </ul>	Onkofertilni postupci
Dob žene >35 godina	Višestruko oštećenje spermatogeneze
	Sekundarni ICSI

\* in vitro fertilizacija (IVF), intracitoplazmatsko injiciranje spermija (ICSI)

Moguće pretrage kod pacijenata za IVF/ICSI postupke navedene su u Tablici 8 (3).

**Tablica 8.** Pretrage u pripremi za IVF/ICSI (3)

---

<b>Općenito</b>	Anamneza, fiziklani pregled, BMI Ginekološki pregled Mikrobiološke pretrage: HIV, CB, hepatitis Serološke pretrage, ejakulat Zdravstveni rizici Bazalna temperatura, cervikalna sluz Pregled UZV-om
<b>Dokaz ovulacije i ciklus</b>	Razina progesterona 19.-22. dan ciklusa Bazalno FSH, E2, PRL, FT4, TSH Endometrijska biopsija FSH, inhibin B
<b>Rezerva jajnika</b>	AMH UZV- AFC, sono AVC, volumen
<b>Sjeme- partner</b>	Spermiogram 2-3 puta, PCT Mikrobiološka analiza DNK fragmentacija Analiza kromosoma Analiza hormona
<b>Tube- uterus/cerviks- jajnik</b>	UZV pretrage, položaj jajnika, ciste HSG Laparoskopija Histeroskopija Fertiloskopija
<b>Ostalo</b>	Imunološke pretrage Trombofilija Koagulogram APA, natural killer cells Homocistein

---

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE**

U ovom istraživanju cilj nam je bio:

- Odrediti referentne vrijednosti hormona važnih za procjenu ovarijske rezerve žena koje su se liječile od neplodnosti u KBC Split. Proučavali smo vrijednosti sljedećih hormona: AMH, LH, FSH, estradiol, testosteron, TSH (tiroidni stimulirajući hormon), prolaktin. Osim prosječnih vrijednosti svih hormona cilj nam je bio odrediti i odnose estradiola, FSH, TSH, LH, testosterona i prolaktina s AMH.
- Odrediti prosječnu dob žena liječenih MPO postupcima te prosječne vrijednosti AMH prema dobi žena
- Odrediti učestalost uzroka neplodnosti u populaciji žena liječenih u KBC Split u 2016. godini.
- Odrediti odnos pojedinih uzroka neplodnosti s AMH: PCOS, operativni zahvati, operacije jajnika, operacije jajovoda, endometrioze, idiopatski.
- Odrediti povezanost AMH s brojem dobivenih zametaka i jajnih stanica u postupku MPO
- Odrediti povezanost AMH s trudnoćama i dobi žena

## **HIPOTEZE**

1. Povezanost između FSH i AMH bit će obrnuto proporcionalna u žena u postupku MPO
2. Usporedba vrijednosti LH, estradiola, TSH, testosterona i prolaktina s AMH neće pokazati povezanosti u žena u postupku MPO
3. Vrijednosti AMH opadati će s dobi ispitanica
4. U žena s PCOS vrijednosti AMH bit će 2-3 puta veće vrijednosti nego u zdravih ispitanica
5. Kirurški zahvati uzrokovat će značajna smanjenja ovarijske rezerve
6. Pacijentice s većim razinama AMH imat će veći broj jajnih stanica i zametaka
7. Veće vrijednosti AMH pokazat će povezanost s postizanjem trudnoća

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

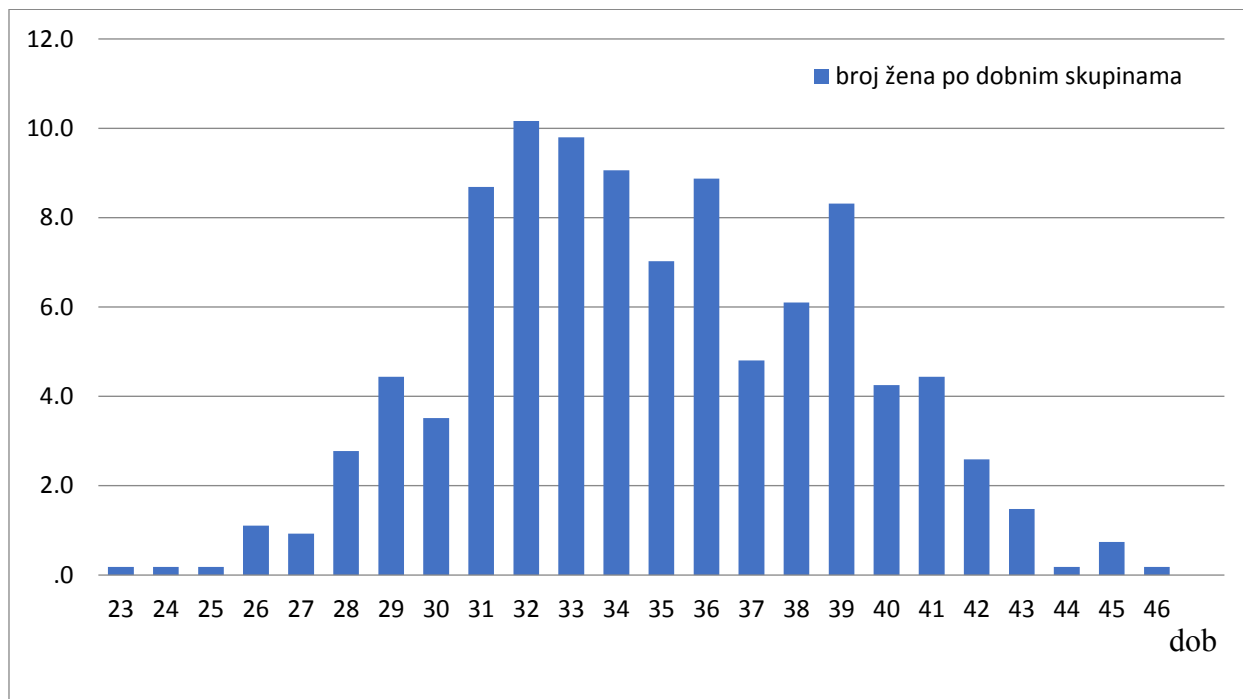
U istraživanju smo se koristili medicinskom dokumentacijom Zavoda za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode KBC Split. Nakon prikupljanja podataka iz medicinske dokumentacije žena na liječenju od neplodnosti koji su ispunjavali kriterije za ulazak u istraživanje, podatke smo statistički obradili i prikazali.

Obradom smo obuhvatili 541 pacijenticu, broj žena u nekim podacima varira zbog nedostajanja izmjerenih vrijednosti za pojedine analizirane parametre. SPSS statistički program korišten je za obradu prikupljenih podataka. Koristili smo se deskriptivnom statistikom za određivanje srednjih vrijednosti iz prikupljenih podataka. Inferencijalnom statistikom preko Pearsonovog koeficijenta korelacije, jednosmjerne analize varijance (ANOVA) te T testa za nezavisne uzorke smo odredili potrebne korelacije i statističke značajnosti prikupljenih uzoraka, koja je određena vrijednošću  $p < 0.05$ .

#### **4. REZULTATI**

Ukupan broj uključenih ispitanica bio je 541. Srednja vrijednost dobi žena bila je 34,8, s minimalnom dobi od 23 godine te maksimalnom od 46 godina.

Na Slici 6. prikazan je broj žena po dobnim skupinama.



**Slika 6.** Broj žena po dobnim skupinama

Srednje vrijednosti analiziranih hormona podijelili smo po dobnim skupinama. Rezultati su prikazani u tablicama koje slijede.

**Tablica 9.** Vrijednosti FSH

Dob	FSH mIU/L	SD±
do 29	6,49	2,12
30-35	7,74	5,12
36-39	7,10	3,11
40-42	7,91	3,38
>43	7,38	3,10

SD- standardna devijacija



**Tablica 10.** Vrijednosti LH

<b>Dob</b>	<b>LH mIU/L</b>	<b>SD±</b>
<b>Do 29</b>	4,73	3,10
<b>30-35</b>	5,02	3,12
<b>36-39</b>	4,77	2,67
<b>40-42</b>	4,96	2,89
<b>&gt;43</b>	6,08	5,27

SD- standardna devijacija

**Tablica 11.** Vrijednosti AMH

<b>Dob</b>	<b>AMH pmol/L</b>	<b>SD±</b>
<b>Do 29</b>	20,88	15,20
<b>30-35</b>	19,56	16,04
<b>36-39</b>	18,83	19,81
<b>40-42</b>	7,66	6,78
<b>&gt;43</b>	3,62	3,23

SD- standardna devijacija

**Tablica 12.** Vrijednosti estradiola

<b>Dob</b>	<b>Estradiol nmol/L</b>	<b>SD±</b>
<b>Do 29</b>	0,41	0,50
<b>30-35</b>	0,52	0,61
<b>36-39</b>	0,34	0,48
<b>40-42</b>	0,51	0,56
<b>&gt;43</b>	0,78	0,67

SD- standardna devijacija

**Tablica 13.** Vrijednosti testosterona

<b>Dob</b>	<b>Testosteron nmol/L</b>	<b>SD±</b>
<b>Do 29</b>	1,88	1,11
<b>30-35</b>	1,66	1,19
<b>36-39</b>	1,59	0,98
<b>40-42</b>	1,35	0,80
<b>&gt;43</b>	1,45	0,82

SD- standardna devijacija

**Tablica 14.** Vrijednosti TSH

<b>Dob</b>	<b>TSH mIU/L</b>	<b>SD±</b>
<b>Do 29</b>	2,02	0,847
<b>30-35</b>	2,10	0,846
<b>36-39</b>	2,02	0,794
<b>40-42</b>	2,21	0,871
<b>&gt;43</b>	1,54	0,660

SD- standardna devijacija

**Tablica 15.** Vrijednosti prolaktina

<b>Dob</b>	<b>PROLAKTIN mIU/L</b>	<b>SD±</b>
<b>Do 29</b>	363,3	158,3
<b>30-35</b>	383,2	163,5
<b>36-39</b>	346,6	157,8
<b>40-42</b>	291,2	99,7
<b>&gt;43</b>	268,0	129,2

SD- standardna devijacija

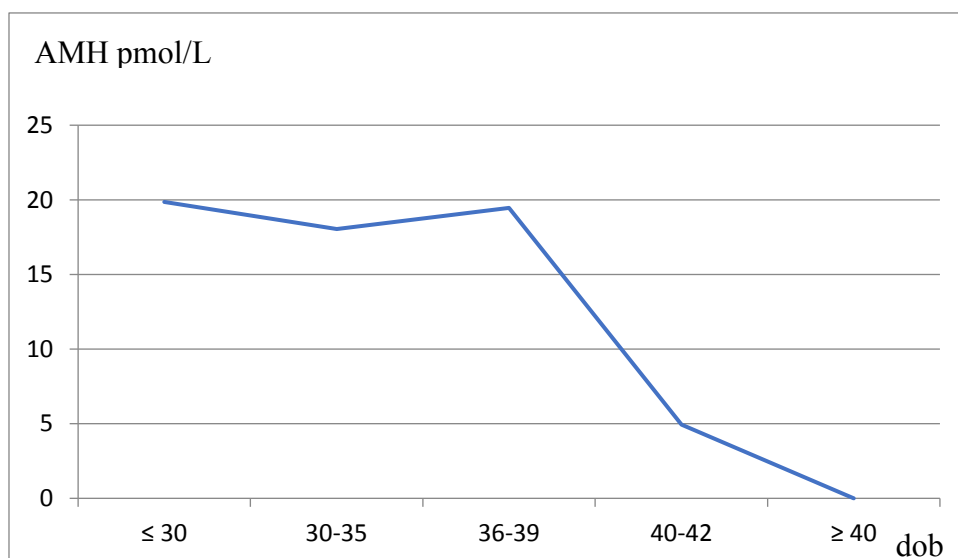
Među odabranim dijagnozama uzroka neplodnosti istražili smo srednje vrijednosti AMH za svaku dijagnozu posebno te dobili sljedeće rezultate prikazane u tablici 16.

**Tablica 16.** Srednje vrijednosti AMH u odabranim dijagnozama

	<b>N</b>	<b>AMH pmol/L *</b>	<b>SD±</b>
<b>ENDOMETRIOZA</b>	41	17,15	12,49
<b>PCOS</b>	47	37,53	21,45
<b>OPERATIVNI ZAHVATI</b>	57	15,84	14,11
<b>IDIOPATSKI</b>	202	13,06	13,31
<b>ZDRAVE ŽENE</b>	157	16,99	14,81

SD- standardna devijacija, \* srednja vrijednost AMH pmol/L

Vrijednosti AMH po godinama prikazane su i na Slici 7. Vršne vrijednosti nalaze se u dvadesetim godinama, zatim stabilno opadaju tijekom tridesetih te se naglo smanjuju u kasnim tridesetim godinama.



**Slika 7.** AMH vrijednosti po dobi kod zdravih žena

Iz skupine operativnih zahvata posebno smo izdvojili skupine žena s operacijama jajnika i operacijama jajovoda te smo dobili sljedeće rezultate prikazane u Tablici 17.

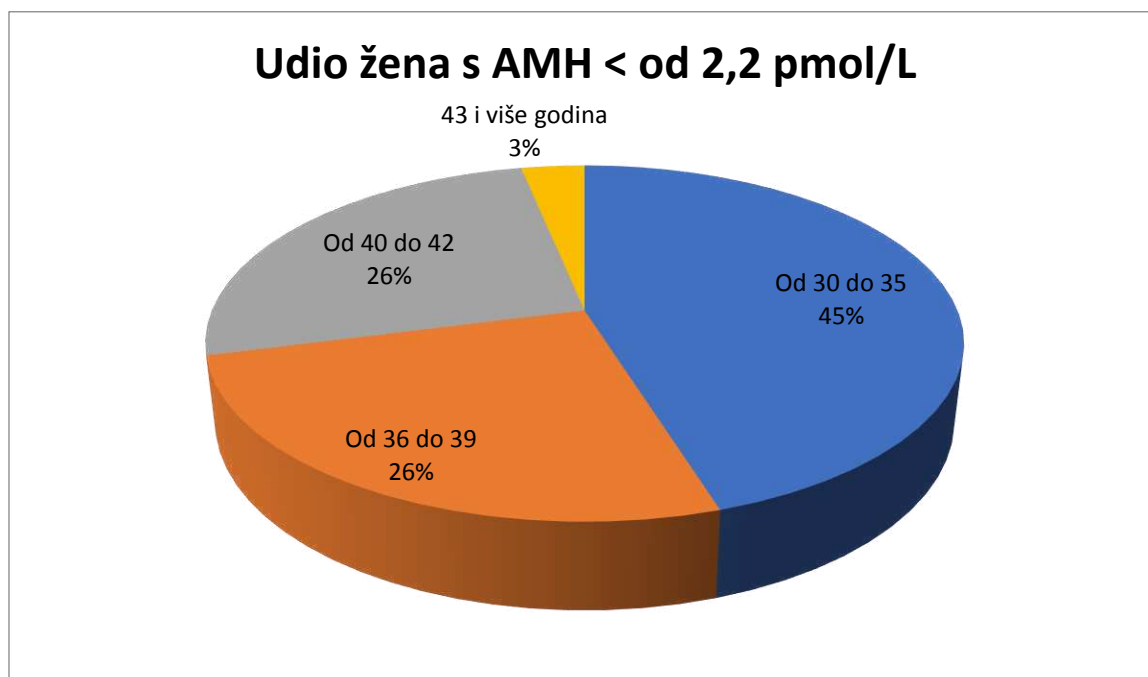
**Tablica 17.** Srednje vrijednosti AMH kod pacijentica s operacijama tuba i jajnika

		N	Srednja vrijednost	SD±
<b>AMH</b> <b>pmol/l</b>	Operacija tuba	29	17,05	14,63
	Operacija jajnika	34	18,18	15,22

SD- standardna devijacija

Nakon dobivenih srednjih vrijednosti razina AMH u skupinama žena s operacijama jajovoda i operacijama jajnika napravili smo T test s kojim se pokazalo da ne postoji statistički značajna razlika između vrijednosti AMH u ovim skupinama žena ( $p > 0,05$ ). Usporedbom ovih rezultata sa srednjim vrijednostima AMH zdravih žena nije se pokazala statistički značajna razlika među razinama AMH žena operiranih jajnika i jajovoda u odnosu na razine AMH zdravih žena.

U skupini idiopatskih uzroka neplodnosti izdvojili smo žene koje smo kategorizirali u skupinu izrazito smanjene ovarijske rezerve kod kojih nam je kriterij bio  $AMH < 2,2$  pmola/L te smo dobili sljedeće rezultate prikazane na Slici 8.



**Slika 8.** Udio žena po dobi s  $AMH < 2,2$  pmol/L

Ukupan broj stimulacijom dobivenih jajnih stanica bio je 1496, minimalni broj dobivenih jajnih stanica bio je 0, maksimalni broj dobivenih jajnih stanica bio je 20. Ukupan broj zametaka bio je 917, minimalan broj dobivenih zametaka bio je 0, a maksimalan broj dobivenih bio je 14.

Ispitivanjem povezanosti serumske vrijednosti AMH i vrijednosti analiziranih hormona (FSH, LH, E2, TSH, prolaktin i testosteron) te brojem zametaka i brojem jajnih stanica dobiveni su sljedeći rezultati.

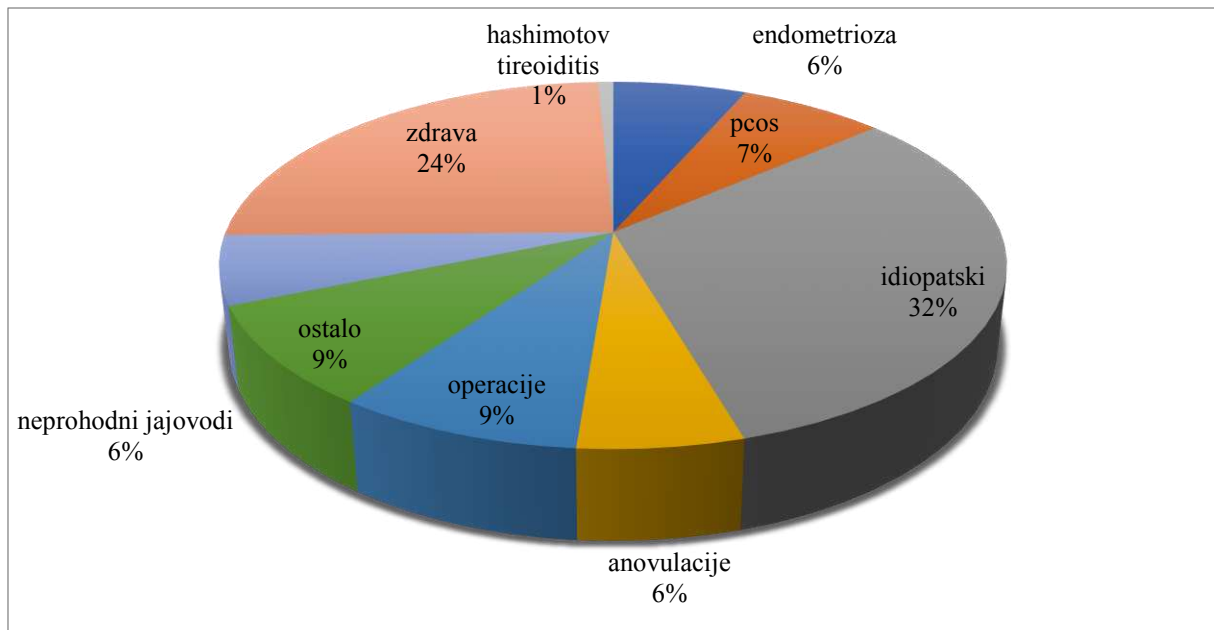
Pronađene su statistički značajne korelacije u odnosima

- FSH mIU/L i AMH pmol/L,  $r=-0,218$ ,  $p<0,01$
- Broj zametaka i AMH pmol/L,  $r=0,324$ ,  $p<0,01$
- Broj jajnih stanica i AMH pmol/L,  $r=0,353$ ,  $p<0,01$

Statistički značajne korelacije nisu pronađene u odnosima

- LH mIU/L i AMH pmol/L  $r=0,003$ ,  $p>0,05$
- Estradiol nmol/L i AMH pmol/L  $r=-0,103$ ,  $p>0,05$
- TSH mIU/L i AMH pmol/L  $r=0,060$ ,  $p>0,05$
- Testosteron nmol/L i AMH pmol/L  $r=0,084$ ,  $p>0,05$
- Prolaktin mIU/L i AMH pmol/L  $r=-0,034$   $p>0,05$

Učestalosti pojedinačnih uzroka neplodnosti žena u MPO postupku KBC Split prikazane na Slici 9. Ukupan broj ispitanica bio je 541. U podjelu je uključena skupina žena s anovulacijama u koje ubrajamo i pacijentice s PCOS (ukupno 8,37%). U skupini Ostalo ubrojili smo žene s miomima, povećanom tjelesnom masom, trombofilijama, polipima endometrija i cerviksa, hiperprolaktinemijom. Najbrojnija skupina pokazala se idiopatska skupina unutar koje smo ubrojili žene kod kojih su svi nalazi standardnih pretraga uredni, ali i žene kojima je zbog dobi prirodno smanjena rezerva, međutim dob nismo karakterizirali kao uzrok neplodnosti, već smo uzroke neplodnosti u tih žena razmatrali kao idiopatske što je u konačnici rezultiralo povećanom učestalosti idiopatske neplodnosti u ovim rezultatima.



**Slika 9.** Učestalost pojedinačnih uzroka neplodnosti žena na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti porode KBC Split.

Jednosmjernom analizom varijance smo odredili postoje li razlike među dobnim skupinama žena u razinama AMH te smo da u određenim skupinama postoje statistički značajne razlike ( $F=9,818$ ,  $p<0,05$ )

Zatim smo post Hoc testovima ispitali točno o kojim se dobnim skupinama radi, što je prikazano u Tablici 18.

**Tablica 18.** Usporedbe razlika AMH prema dobnim skupinama

Dobna skupina		Statistička značajnost p vrijednost
≤29	30-35	0,991
	36-39	0,962
	40-42	<b><u>0,001</u></b>
	≥43	<b><u>0,020</u></b>
30-35	≤29	0,991
	36-39	0,996
	40-42	<b><u>0,000</u></b>
	≥43	<b><u>0,018</u></b>
36-39	≤29	0,962
	30-35	0,996
	40-42	<b><u>0,000</u></b>
	≥43	<b><u>0,033</u></b>
40-42	≤29	<b><u>0,001</u></b>
	30-35	<b><u>0,000</u></b>
	36-39	<b><u>0,000</u></b>
	≥43	0,955
≥43	≤29	<b><u>0,020</u></b>
	30-35	<b><u>0,018</u></b>
	36-39	<b><u>0,033</u></b>
	40-42	0,955

Podcrtane vrijednosti pokazatelj su statistički značajne razlike ( $p < 0,05$ ) među skupinama

Ispitivanjem povezanosti dobi žene i broja dobivenih jajnih stanica dokazano je da postoji statistički značajna korelacija između ispitivanih varijabli ( $r = -0,303$ ,  $p < 0,01$ ).

Ukupan broj trudnoća bio je 114. T testom smo istražili povezanost razine AMH i trudnoća te smo dobili da ne postoje statistički značajne razlike u razinama AMH kod žena i trudnoća ( $p > 0,05$ ). Međutim, pronađene su statistički značajne razlike u dobi žene i postizanja trudnoće te dobi žene i razine AMH ( $p < 0,05$ ).

## **5. RASPRAVA**



Plodnost žena u današnje vrijeme u stalnom je opadanju te se pokazala logična potreba za traženjem uzroka i načina liječenja te mogućnosti prevencije prijevremenog iscrpljivanja ovarijske rezerve. U Hrvatskoj i u svijetu trend odgađanja rađanja danas je u porastu pa je time dob rađanja prvog djeteta porasla na prosječno 29,2 godine, što znači da bi sljedeći porodi prosječno bili u srednjim tridesetim godinama. Posljedično raste broj MPO postupaka, što bi se informiranjem i pravovremenim javljanjem liječniku moglo umanjiti, ako ne i prevenirati(1). Porastom dobi žene posljedično dolazi i do pada kvalitete jajnih stanica (aneuploidije, epigenetske promjene) te je time šansa za postizanje kliničke trudnoće značajno umanjena. U više studija pokazalo se da odgađanje rađanja povećava zdravstvene rizike pojave različitih bolesti kod potomstva (PCOS, diabetes mellitus, i dr.) (95, 96).

U ovom radu glavni fokus bio je na analiziranju odnosa različitih parametara s AMH, naznačajnijim parametrom za procjenu ovarijske rezerve.

Jedan od najznačajnijih problema koji se pokazao u našem istraživanju za podatke Centra za humanu reprodukciju KBC Split jest dob žena koje se javljaju na liječenje. Najveći broj žena, prema našim rezultatima, javlja se na liječenje između 31-39 godine s naglašenijim porastom prema drugoj polovici tridesetih godina kada je ovarijska rezerva već prirodno smanjena. Prosječna dob javljanja je od 34,8 godina, a prema fekunditetu koji je optimalan od 20 do 30 godine, pokazalo se da se naše ispitanice prosječno javljaju s gotovo nekoliko godina zakašnjenja za početak liječenja. S obzirom na opći trend odgađanja rađanja te odluke za rađanje prvog djeteta iza tridesete godine života pacijentice, nažalost, problem u vezi plodnosti nisu mogle ranije ni uočiti (1). Srednje vrijednosti AMH žena u našim rezultatima pokazale su trend opadanja po dobi što se potpuno podudara trendom opadanja AMH prema dobi objavljenim u dostupnoj literaturi (23, 97). Dakle, u naših ispitanica postoji vršna vrijednost u dobi do 29 godina gdje se AMH održava stabilno, nakon toga kreće strmovit pad do dobi od 39 godina kada ulazi u fazu stabilnog smanjenja do ulaska u menopauzu.

Međutim, prema istraživanju u kojem su dobiveni rezultati za Kineskinje mlađe i starije od 30 godina naši rezultati po dobnim skupinama pokazuju manje vrijednosti AMH, što možemo objasniti time da vrijednosti koje smo mjerili nisu uključivale samo zdrave žene, već su obuhvaćale sve žene koje su se liječile od neplodnosti i zato je opravdano očekivati i dobiti niže vrijednosti AMH posebice ako je riječ o ženskoj neplodnosti kao uzroku. Potrebno je dodatno istražiti ove rezultate samo za zdrave žene budući da je i u drugim istraživanjima pokazano da žene bijele puti imaju prosječno veće vrijednosti AMH od žena žute puti (90, 93).

Učestalosti endometrioze i muškog faktora neplodnosti u našim rezultatima pokazalesu se nešto nižima od učestalosti tih uzroka u Klinici u Petrovoj, ali to možemo objasniti malim brojem uzorka ispitanica koje su imale endometriozu (N=44), odnosno muški faktor neplodnosti (N=166) pa bi trebalo proširiti studiju na veći uzorak ispitanica kako bismo utvrdili postoje li stvarne razlike u učestalosti endometrioze, odnosno muškog faktora neplodnosti kod pacijentica na postupcima MPO na našem Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju u odnosu na Klinik u Petrovoj (1). Učestalost PCOS se pokazala očekivano unutar vrijednosti iz dostupne literature.

U ispitanih žena dokazali smo blagi porast vrijednosti estradiola porastom dobi žena što objašnjavamo time da u prvoj fazi perimenopauze blago raste serumska vrijednost FSH, LH u toj fazi ostaje isti te privremeno raste nivo estradiola što se pokazalo i u ovom istraživanju (98).

Istraživanje uzroka neplodnosti kao što je neoperirana endometriozna te razine AMH pokazalo je da su vrijednosti AMH ( $17,15 \pm 12,49$  pmol/L, N=41) u granicama zadovoljavajuće plodnosti ( $15,7-28,6$  pmol/L) u ispitivanih žena, što ostavlja mjesta za detaljnija istraživanja budući da je u istraživanju benignih ginekoloških stanja i ovarijske rezerve pokazano da postoji pad vrijednosti AMH kod žena koje imaju endometriozu (endometriome) koje nisu kirurški liječene. Daljnje istraživanje ove skupine žena trebalo bi provesti nad većom skupinom ispitanica kako bi se ovi rezultati mogli smatrati referentnima (4).

Kod sindroma policističnih jajnika pokazalo se da su vrijednosti AMH ( $37,53 \pm 21,45$  pmol/L, N=47) unutar granica optimalne plodnosti ( $28,6-48,5$  pmol/L). U skupini zdravih žena smo dobili vrijednosti AMH  $16,99$  pmol/L čime se pokazalo da su vrijednosti AMH u žena s PCOS 2,2 puta veće od zdravih žena. Time bi naši rezultati potvrđivali rezultate metaanalize u kojoj su rezultati vrijednosti AMH žena s PCOS 2-3 puta veći od zdravih žena. U toj studiji je također obrađen i utjecaj ovarijskog drillinga na ovarijsku rezervu što u našim rezultatima nismo prikazali zbog malog broja ispitanica na našem Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju koje su liječene tom procedurom (86). Budući da se i u našim rezultatima pokazalo da postoje povišene vrijednosti serumskog AMH u žena s PCOS, trebalo bi razmisliti o studiji s većim brojem ispitanika kojom bismo potvrdili povezanost AMH kao dijagnostičkog kriterija za PCOS (86, 87).

Idiopatski uzrok neplodnosti pokazao se kao najčešći uzrok s najbrojnijom skupinom žena. U toj skupini razine AMH bile su unutar granica zadovoljavajuće plodnosti ( $13,06 \pm 13,31$  pmol/L, N=202). U ovoj skupini žena obuhvatili smo žene koje uza sve uredne nalaze standardnih pretraga nisu uspjele začeti te žene kojima je zbog dobi prirodno smanjena ovarijska rezerva, a nisu imale drugi poznati uzrok neplodnosti. Razlozi idiopatske neplodnosti intenzivno se istražuju te se svakim novim istraživanjem dolazi do novih spoznaja. Dijagnostički pristup idiopatskoj neplodnosti vrlo je složen i najčešće obuhvaća cijeli niz osjetljivih postupaka jer se međusobno isprepleće više potencijalnih uzroka (99). U našim rezultatima nismo mogli obuhvatiti sve moguće čimbenike kao što su povećan BMI, konzumiranje alkohola i duhana te različite rasne skupine što ostavlja prostora za dodatno istraživanje potencijalnih čimbenika koji mogu utjecati na idiopatsku neplodnost žena tako što „lažno“ povećavaju broj žena u skupini idiopatske neplodnosti, a zapravo je riječ od neplodnosti uzrokovanoj okolišnim čimbenicima i stilom života (1, 13, 63, 90). Posebno smo izdvojili pacijentice (N=31) kojima izrazito smanjena ovarijska rezerva kod kojih su vrijednosti AMH bile ispod 2,2 pmol/L te smo od izdvojenih žena dobili da je najveći udio (45% žena, N=14) bilo u skupini 30-35 godina sa srednjom vrijednosti AMH 1,15 pmol/L, zatim u dobnoj skupini 36-39 godina sa srednjom vrijednosti 0,93 pmol/L (26% žena, N=8), skupina 40-42 sa srednjom vrijednosti 1,34 pmol/L (26% žena, N=8) te skupina >43 godine sa srednjom vrijednosti 0,3 pmol/L (3% žena, N=1). Ovim radom nismo ulazili u uzroke izrazito smanjene funkcije jajnika ovih žena što bi bilo zanimljivo pitanje za buduća istraživanja.

U skupini žena koje su u anamnezi imale operativne zahvate obuhvatili smo žene s kirurškim operacijama jajnika, jajovoda i mioma. Ukupan broj žena bio je 57, sa srednjim vrijednostima AMH  $15,84 \pm 14,11$  pmol/L, čime i ovi rezultati ulaze u zadovoljavajuću plodnost, ali ipak na njenoj donjoj granici. Budući da nismo imali podataka o vrijednostima AMH prije operacija, zapravo ne možemo opovrgnuti rezultate studija u kojima je pokazano da kirurške operacije jajnika, jajovoda ili tuba dovode do smanjenja ovarijske rezerve (4). U istraživanju srednjih vrijednosti pojedinačno operacija jajnika i jajovoda dobili smo da su srednje vrijednosti AMH u kirurškim operacijama jajovoda manje od vrijednosti kod kirurških operacija jajnika te nisu pronađene statistički značajne razlike u serumskim koncentracijama AMH u ove dvije skupine. Budući da se naše rezultati serumskog AMH nalaze u granicama zadovoljavajuće plodnosti, možemo reći da kirurškim operacijama u našem istraživanju ovarijska rezerva ipak nije smanjena na nezadovoljavajuću razinu (26). Ipak, trebalo bi ispitati hormonske vrijednosti prije i nakon operacije uz postoperativno praćenje vrijednosti

tijekom nekoliko mjeseci te proširiti podatke s razlikama u vrijednostima AMH kod pojedinačnih manipulacija (operacije „običnih“ cista, endometrioma, razlike laparotomijskih i laparoskopskih operacija, histerektomije, ovarijski drilling) kako bi mogli utvrditi stvarne povezanosti vrijednosti AMH i navedenih zahvata.

Dobivene korelacije FSH i AMH, broja zametaka i AMH te broja jajnih stanica i AMH pokazale su nam se statistički značajnima čime smo zapravo pokazali i u našem istraživanju da se primjenom programirane stimulacije jajnika po vrijednostima AMH i FSH dobije broj jajnih stanica koji smo predvidjeli s vrijednostima AMH izmjerenim na početku postupka (24, 28).

Korelacije AMH s ostalim hormonima: LH, estradiolom, TSH, testosteronom te prolaktinom nisu pokazale statističku značajnost u našoj studiji, čime se rezultati djelomično razlikuju od istraživanja provedenim u Kini gdje su pronađene korelacije AMH s hormonima: LH, estradiolom, FSH, testosteronom, kao i povezanosti AMH s testosteronom s vrijednostima AMH u istraživanjima na granulosa stanicama miša. Pojedinačne povezanosti trebalo bi detaljnije istražiti u smislu etničkih razlika i različitih vrijednosti hormona te njihovim povezanostima (92, 36, 37).

Konačno, povezanost prediktivne vrijednosti AMH u postizanju trudnoće nije se pokazala statistički značajnom budući da je AMH dobar za predikciju rezultata stimulacije (odlična korelacija s brojem jajnih stanica), ali ne i za predikciju trudnoće zbog nemogućnosti korelacije s kvalitetom jajnih stanica te ostalim čimbenicima koji mogu utjecati na začeće. Očekivano korelacija dobi i postizanje trudnoće pokazala je statističku značajnost, povećanjem dobi žene šanse za postizanje trudnoće su umanjene (32).

Uza sve navedeno, važnost prevencije i ranog prepoznavanja problema s plodnosti ne smije se zaboraviti pa bi sustavno informiranje i mjerenje vrijednosti AMH u žena u ranijoj dobi moglo dovesti do pravovremenog liječenja neplodnosti, posebno kod rizičnih skupina žena koje imaju u obiteljskoj anamnezi uže članice obitelji kod kojih je rano nastupila menopauza, u osobnoj anamnezi imaju podatak o endometriozu te ostalim bolestima i zahvatima koje mogu uzrokovati smanjenje ovarijske rezerve.

## **6. ZAKLJUČCI**

S obzirom na dobivene rezultate te postavljene hipoteze, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Povezanost između FSH i AMH pokazala se obrnuto proporcionalna i statistički značajna
2. Nisu pronađene statistički značajne razlike usporedbom vrijednosti LH, estradiola, TSH, testosterona i prolaktina s vrijednostima AMH
3. Vrijednosti AMH pokazale su stabilan pad prema starijoj dobi ispitanica
4. U žena s PCOS vrijednosti AMH pokazale su se 2,2 puta veće nego u zdravih ispitanica
5. Kirurški zahvati uzrokuju smanjenje ovarijske rezerve
6. Žene u postupcima MPO s većim razinama AMH imaju i veći broj jajnih stanica i zametaka ( $p < 0,01$ )
7. Nije pronađena statistički značajna povezanost vrijednosti AMH i broja postignutih trudnoća ( $p < 0,05$ )

U današnje vrijeme neplodnost je u porastu zbog čega se pokazala potreba za preciznijim pokazateljima ovarijske rezerve žena kao što je AMH. Najznačajniji podatak koji smo istražili bila je povezanost AMH i dobi žene, odnosno činjenica da starenjem žene opada i njen AMH.

Daljnja istraživanja uzroka neplodnosti trebalo bi provesti kod žena idiopatske skupine, te bi trebalo temeljito istražiti epigenetske faktore koji mogu biti uzrok smanjene ovarijske rezerve žena u primarnoj ovarijskoj insuficijenciji.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Šimunić V. Plodnost i neplodnost čovjeka. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str.119-40.
2. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de MJ, Ishihara O, i sur. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril.* 2009;92:1520–4.
3. Šimunić V. Izvantjelesna oplodnja – in vitro fertilizacija. U: Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 485-503.
4. Iwase A, Nakamura T, Nakahara T, i sur. Assessment of ovarian reserve using anti-Müllerian hormone levels in benign gynecologic conditions and surgical interventions: a systematic narrative review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12:125.
5. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, i sur. A validated model of serum Anti-Müllerian hormone from conception to menopause. *Vitzthum VJ, ed. PLoS ONE.* 2011;6:22024.
6. Goldštajn Šprem M. Umanjena funkcija jajnika i prijevremena menopauza. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 297-307.
7. Greene AD, Patounakis G, Segars JH. Genetic associations with diminished ovarian reserve: a systematic review of the literature. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2014;31:935-46.
8. Fortuño C, Labarta E. Genetics of primary ovarian insufficiency: a review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2014;31:1573-85.
9. Haadsma MA, Bukman A, Groen H, i sur. The number of small antral follicles (2-6 mm) determines the outcome of endocrine ovarian reserve tests in a subfertile population. *Hum Reprod.* 2007;22:1932–41.
10. Kwee J, Elting ME, Schats R, i sur. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007;5:9.
11. Christianson MS, Shoham G, Tobler KJ, i sur. Measurement of antral follicle count in patients undergoing in vitro fertilization treatment: Results of a worldwide web-based survey. *J Assist Reprod Genet.* 2015;32(10):1435–40.



12. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, i sur. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):370–85.
13. La Marca A, Grisendi V, Griesinger G. How much does AMH really vary in normal women? *Int J Endocrinol*. 2013;959487.
14. Guyton, Hall. Hormoni hipofize i njihova kontrola hipotalamusom. U: Kukulja Taradi S, Andreis I. *Medicinska fiziologija- udžbenik*. Zagreb; Medicinska naklada; 2012. str. 895-906.
15. Šimunić V i sur. Hormoni- produkcija, djelovanje i značaj određivanja u ginekologiji. U: Ciglar S i Suchanel E. *Ginekologija*. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. str. 17-29.
16. Poliklinika Analiza. Estradiol. Analiza Hrvatska, 2017. [Dostupno na : <http://poliklinika-analiza.hr/usluge?task=2&id=130>]. Citirano 6. srpnja 2017.
17. Corson SL, Gutmann J, Batzer FR, i sur. Inhibin-B as a test of ovarian reserve for infertile women. *Hum Reprod*. 1999;14:2818–21.
18. Hall JE, Welt CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Hum Reprod*. 1999;14:409–15.
19. Jirge PR. Ovarian reserve tests. *Journal of Human Reproductive Sciences*. 2011;4:108-13.
20. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril*. 2004;82:180–5.
21. Radonjić V. Antimilerov hormon. *MedicalCGOnline*, 2017. [Dostupno na: <http://www.medicalcg.me/broj-28/antimilerov-hormon/>]. Citirano 6. srpnja 2017.
22. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, i sur. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod* 2013;19:519-27.
23. La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, i sur. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod* 2006; 21: 3103-7.
24. Šimunić V. Kako poboljšati rezultate izvantjelesne oplodnje. U: Šimunić V i sur. *Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF*. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 567-601.

25. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, i sur. Anti-Müllerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab.*2004; 89: 318-23.
26. Malpani infertility clinic. AMH test to determine fertility. Malpani infertility clinic, 2015. [Dostupno na: <https://www.drimalpani.com/knowledge-center/infertility-testing/amh>]. Citirano 25. lipnja 2017.
27. Rustamov O, Smith A, Roberts SA, i sur. The measurement of anti-müllerian hormone: A critical appraisal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:723–32.
28. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update.* 2014;20: 124-40.
29. Lee TH, Liu CH, Huang CC, i sur. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod.* 2008; 23:160-7.
30. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, i sur. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART), *Hum Reprod Update.*2010; 16: 113-30.
31. Rambags BP, van Boxtel DC, Tharasanit T, i sur. Advancing maternal age predisposes to mitochondrial damage and loss during maturation of equine oocytes in vitro. *Theriogenology* 2014;81:959–65.
32. Tal R, Tal O, Seifer BJ. Antimullerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2015;103:119–30.
33. Yao L, Zhang W, Li H, i sur. The role of serum AMH and FF AMH in predicting pregnancy outcome in the fresh cycle of IVF/ICSI: A meta-analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:1755–67.
34. Depmann M, Broer SL, van der Schouw YT, i sur. Can we predict age at natural menopause using ovarian reserve tests or mother's age at menopause? A systematic literature review. *Menopause.* 2016;23:224–32.
35. Loh JS, Maheshwari A. Anti-Müllerian hormone is it a crystal ball for predicting ovarian ageing? *Hum Reprod.* 2011;26:2925–32.
36. Zhang Y, Wang SF, Zheng JD, i sur. Effects of testosterone on the expression levels of AMH, VEGF and HIF-1 $\alpha$  in mouse granulosa cells. *Exp Ther Med.* 2016;12:883–8.

37. Veiga-Lopez A, Ye W, Padmanabhan V. Developmental programming: Prenatal testosterone excess disrupts anti-Müllerian hormone expression in pre antral and antral follicles. *Fertil Steril*. 2012;97:748–56.
38. Monteleone P, Parrini D, Faviana P, i sur. Female infertility related to thyroid autoimmunity: the ovarian follicle hypothesis. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66:108 – 14.
39. Polyzos NP, Sakkas E, Vaiarelli A, i sur. Thyroid autoimmunity, hypothyroidism and ovarian reserve: a cross-sectional study of 5000 women based on age-specific AMH values. *Hum Reprod* 2015;30:1690-6.
40. Pastore LM, Young SL, Baker VL, i sur. Elevated prevalence of 35–44 FMR1 trinucleotide repeats in women with diminished ovarian reserve. *Reprod Sci*. 2012;19:1226–31.
41. Bretherick KL, Fluker MR, Robinson WP. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. *Hum Genet*. 2005;117:376–82.
42. Welt CK, Smith PC, Taylor AE. Evidence of early ovarian aging in fragile X premutation carriers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4569–74.
43. Barasoain M, Barrenetxea G, Huerta I, i sur. Study of FMR1 gene association with ovarian dysfunction in a sample from the Basque country. *Gene*. 2013;521:145–9.
44. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. A pilot study of premature ovarian senescence: I. Correlation of triple CGG repeats on the FMR1 gene to ovarian reserve parameters FSH and anti-mullerian hormone. *Fertil Steril*. 2009;91:1700–6.
45. Welt CK. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;68:499–509.
46. Cresswell JL, Barker DJ, Osmond C, i sur. Fetal growth, length of gestation, and polycystic ovaries in adult life. *Lancet*. 1997;350:1131–5.
47. Parihar M. Obesity and infertility. *Reviews in Gynecological Practice*. 2003;3:120–6.
48. Bellver J, Melo MA, Bosch E, i sur. Obesity and poor reproductive outcome: the potential role of the endometrium. *Fertility and sterility*. 2007;88:446–51.
49. Wang JX, Davies M, Norman RJ. Body mass and probability of pregnancy during assisted reproduction treatment: retrospective study. *BMJ: British Medical Journal*. 2000;321:1320-1.

50. van der Steeg JW, Steures P, Eijkemans MJC, i sur. Mol BWJ. Obesity affects spontaneous pregnancy chances in subfertile, ovulatory women. *Hum Reprod* 2008; 23: 324-8.
51. Brower M, Wang E, Alexander C, i sur. The effect of low body mass index on pregnancy outcomes and oocyte quality in IVF cycles. *Fertil Steril*. 2014; 102: 338.
52. Davies DM, Caswell WA, Reed J, i sur. Are the adverse effects of weight on reproductive potential an embryo or endometrial factor? *Fertil Steril*. 2013;100: 85-6.
53. Li Y, Yang D, Zhang Q. Impact of overweight and underweight on IVF treatment in Chinese women. *Gynecol Endocrinol* 2010; 26:416-22.
54. La Marca A, Sighinolfi G, Papaleo E, i sur. Prediction of age at menopause from assessment of ovarian reserve may be improved by using body mass index and smoking status. *PLoS ONE*. 2013;8:57005.
55. Dechanet C, Anahory T, MathieuDaude JC, i sur. Effects of cigarette smoking on reproduction. *Human ReproductionUpdate*. 2011;17:76-95.
56. Midgette AS, Baron JA. Cigarette smoking and the risk of natural menopause. *Epidemiology*. 1990;1:474-80.
57. El-Nemr A, Al-Shawaf T, Sabatini L, i sur. Effect of smoking on ovarian reserve and ovarioan stimulation in in- vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod*. 1998;13:2192-8.
58. Cooper GS, Baird DD, Hulka BS, i sur. Follicle stimulating hormone concentrations in relation to active and passive smoking. *Obstet Gynecol*. 1995;85:407-11.
59. Freour T, Masson D, Mirallie S, i sur. Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reproductive BioMedicine Online*. 2008;16:96-102.
60. Plante BJ, Cooper GS, Baird DD, i sur. The impact of smoking on antimüllerian hormone levels in women aged 38 to 50 years. *Menopause*. 2010;17:571-6.
61. Freour T, Masson D, Dessolle L, i sur. Ovarian reserve and in vitro fertilization cycles outcome according to women smoking status and stimulation regimen. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2012;285:1177-82.
62. Waylen AL, Jones GL, Ledger WL. Effect of cigarette smoking upon reproductive hormones in women of reproductive age: a retrospective analysis. *Reproductive BioMedicine Online*. 2010;20:861-5.
63. Srivastava VK, Hiney JK, Rettori V i sur. Effects of ethanol on intraovarian nitric oxide production in the prepubertal rat. *J Endocrinol* 1999; 161: 69-75

64. Li N, Shi X, Fu S, i sur. Chronic alcohol administration increases serum prolactin level and pituitary cell proliferation, and alters hypothalamus neurotransmitters in rat. *Neuro Endocrinol Lett* 2011; 32: 170–5.
65. Šimunić V. Endometrijoza. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 205-24.
66. Šimunić V i sur. Endometrijoza. U: Ciglar S i Suchanel E. Ginekologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. str. 241-7.
67. Lemos NA, Arbo E, Scalco R, i sur. Decreased anti-Mullerian hormone and altered ovarian follicular cohort in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *Fertil Steril*. 2008;89:1064–8.
68. Kim JY, Jee BC, Suh CS, i sur. Preoperative serum anti-mullerian hormone level in women with ovarian endometrioma and mature cystic teratoma. *Yonsei Med J*. 2013;54:921–6.
69. Somigliana E, Berlanda N, Benaglia L, i sur. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: A systematic review on serum antimüllerian hormone level modifications. *Fertil Steril*. 2012;98:1531–8.
70. Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:3146–54.
71. Muzii L, Di Tucci C, Di Felicianantonio M, i sur. The effect of surgery for endometrioma on ovarian reserve evaluated by antral follicle count: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2014;29:2190–8.
72. Hehenkamp WJ, Volkers NA, Broekmans FJ, i sur. Loss of ovarian reserve after uterine artery embolization: a randomized comparison with hysterectomy. *Hum Reprod*. 2007;22:1996–2005.
73. Iwase A, Hirokawa W, Goto M, i sur. Serum anti-Mullerian hormone level is a useful marker for evaluating the impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2010;94:2846–9.
74. Chang HJ, Han SH, Lee JR, i sur. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Mullerian hormone levels. *Fertil Steril*. 2010;94:343–9.

75. Kwon SK, Kim SH, Yun SC, i sur. Decline of serum antimullerian hormone levels after laparoscopic ovarian cystectomy in endometrioma and other benign cysts: a prospective cohort study. *Fertil Steril*. 2014;101:435–41.
76. Mohamed ML, Nouh AA, El-Behery MM, i sur. Effect on ovarian reserve of laparoscopic bipolar electrocoagulation versus laparotomic hemostatic sutures during unilateral ovarian cystectomy. *Int J Gynaecol Obstet*. 2011;114:69–72.
77. Ercan CM, Sakinci M, Coksuer H, i sur. Ovarian reserve testing before and after laparoscopic tubal bipolar electrodesiccation and transection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;166:56–60.
78. Atabekoglu C, Taskin S, Kahraman K, i sur. The effect of total abdominal hysterectomy on serum anti-Mullerian hormone levels: a pilot study. *Climacteric*. 2012;15:393–7.
79. Lee DY, Park HJ, Kim BG, i sur. Change in the ovarian environment after hysterectomy as assessed by ovarian arterial blood flow indices and serum anti-Mullerian hormone levels. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010;151:82–5.
80. Wang, Hai-Ying i sur. Comparison of serum anti-Mullerian hormone levels following hysterectomy and myomectomy for benign gynaecological conditions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;171:368–71.
81. Pergialiotis V, Prodromidou A, Frountzas M, i sur. The effect of bipolar electrocoagulation during ovarian cystectomy on ovarian reserve: A systematic review. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213:620–8.
82. Takashima A, Takeshita N, Otaka K, i sur. Effects of bipolar electrocoagulation versus suture after laparoscopic excision of ovarian endometrioma on the ovarian reserve and outcome of in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013; 39: 1246–52
83. Mohamed AA, Yosef AH, James C, i sur. Ovarian reserve after salpingectomy: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017; 96:795–803.
84. Baldani Pavičić D. Kronične anovulacije - Sindrom policističnih jajnika. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 276-96.
85. Šimunić V i sur. Poremećaji menstruacijskog ciklusa (Amenoreja, Oligomenoreja i kronične anovulacije) U: Ciglar S i Suchanel E. Ginekologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. str. 195-223.

86. Iliodromiti S, Kelsey TW, Anderson RA, i sur. Can anti-Müllerian hormone predict the diagnosis of polycystic ovary syndrome? A systematic review and meta-analysis of extracted data. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:3332–40.
87. Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, i sur. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. *Human Reproduction.* 2011;26 3123–9.
88. Rezk M, Sayyed T, Saleh S. Impact of unilateral versus bilateral laparoscopic ovarian drilling on ovarian reserve and pregnancy rate: a randomized clinical trial. *Gynecological Endocrinology.* 2016;32 399–402.
89. Amer SA, Shamy TT El, James C, i sur. The impact of laparoscopic ovarian drilling on AMH and ovarian reserve: a meta-analysis. *Reproduction.* 2017;154: 13–21.
90. Bleil ME, Gregorich SE, Adler NE, i sur. Race/ethnic disparities in reproductive age: an examination of ovarian reserve estimates across four race/ethnic groups of healthy, regularly cycling women. *FertilSteril.* 2014;101:199–207.
91. Iglesias C, Banker M, Mahajan N, i sur. Ethnicity as a determinant of ovarian reserve: Differences in ovarian aging between Spanish and Indian women. *Fertil Steril.* 2014;102:244–9.
92. Du X, Ding T, Zhang H, i sur. Age-Specific Normal Reference Range for Serum Anti-Müllerian Hormone in Healthy Chinese Han Women. *Reprod Sci.* 2016;23:1019–27.
93. Zhu J, Wang Y, Chen Y, i sur. Anti-Müllerian Hormone Levels in Chinese Women Younger Than 30 Years and 30 Years or Older and Correlated Biochemical Indices. *Obstetrical & Gynecological Survey.* 2017 Jan;72:33-38.
94. Šimunić V. Medicinski potpomognuta oplodnja. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 471-7.
95. Wang YA, Farquhar C, Sullivan EA. Donor age is a major determinant of success of oocyte donation/recipient programme. *Human Reproduction,* 2012;27:118–25.
96. Gale EA. Maternal age and diabetes in childhood. *BMJ,* 2010;340: 623.
97. Iliodromiti S, Anderson RA, Nelson SM. Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum Reprod Update.* 2015;21:698–710.
98. Šimunić V i sur. Klimakterij, menopauza i postmenopauza U: Ciglar S i Suchanel E. Ginekologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. str. 368-88.

99. Šimunić V i sur. Bračna neplodnost U: Ciglar S i Suchanel E. Ginekologija. Zagreb:  
Naklada Ljevak; 2001. str. 349-57.



## **8. SAŽETAK**

## Cilj:

Cilj ovog istraživanja je bio: odrediti referentne vrijednosti hormona važnih za procjenu ovarijske rezerve žena koje su se liječile od neplodnosti u KBC Split. Proučavali smo vrijednosti sljedećih hormona: AMH, LH, FSH, estradiol, testosteron, TSH (tiroidni stimulirajući hormon), prolaktin. Osim prosječnih vrijednosti svih hormona cilj nam je bio odrediti i odnose estradiola, FSH, TSH, LH, testosterona i prolaktina s AMH. Nadalje, cilj nam je bio odrediti prosječnu dob žena liječenih MPO postupcima te prosječne vrijednosti AMH prema dobi žena, zatim odrediti učestalost uzroka neplodnosti u populaciji žena liječenih u KBC Split u 2016. godini, odrediti odnos pojedinih uzroka neplodnosti s AMH: PCOS, operativni zahvati, operacije jajnika, operacije jajovoda, endometrioze, idiopatski. U istraživanju smo odredili i povezanost AMH s brojem dobivenih zametaka i jajnih stanica u postupku MPO te povezanost AMH s trudnoćama i dobi žena.

## Ispitanici i postupci:

Obradom smo obuhvatili 541 pacijenticu, broj žena u nekim podacima varira zbog nedostajanja izmjerenih vrijednosti za pojedine analizirane parametre. Prikupljene podatke obradili smo statističkim analizama ovisno o traženoj vrijednosti.

## Rezultati:

Prosječna dob žena koje su se javljale na Zavod za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju iznosila je 34,78 godina. Vrijednosti AMH prema dobi pokazale su vršnu vrijednost u dvadesetim godinama, zatim polagano opadanje do sredine tridesetih godina te konačno strmiji pad nakon sredine tridesetih godina sve do ulaska u menopauzu. Razine AMH kod endometrioze pokazale su se unutar granica zadovoljavajuće plodnosti, dok su se vrijednosti AMH u žena s PCOS pokazale 2,2 puta veće od vrijednosti kod skupine zdravih žena. U skupini žena s kirurškim manipulacijama nije pronađena statistički značajna razlika u vrijednostima AMH kod operacija jajovoda i jajnika te je u srednjim vrijednostima ukupnih kirurških manipulacija pronađeno da AMH odgovara razinama za zadovoljavajuću plodnost žena. U korelacijama AMH s FSH, AMH s brojem zametaka i AMH s brojem jajnih stanica pronađena je statistički značajna povezanost. Korelacije AMH i trudnoća nisu pronađene.

## Zaključak:

U današnje vrijeme neplodnost je u porastu zbog čega se pokazala potreba za preciznijim pokazateljima ovarijske rezerve žena kao što je AMH. Najznačajniji podatak koji smo istražili bila je povezanost AMH i dobi žene, odnosno činjenica da starenjem žene opada i njen AMH. Popratne bolesti kao što su endometrioza te sindrom policističnih jajnika u našim rezultatima nisu se pokazali kao značajni uzroci smanjene rezerve, kao ni kirurške manipulacije na jajnicima i jajovodima. Daljnja istraživanja uzroka neplodnosti trebalo bi provesti kod žena idiopatske skupine. Uz sve navedeno, važnost prevencije ne smije se zaboraviti pa bi sustavno informiranje i mjerenje vrijednosti AMH u žena u ranijoj dobi moglo dovesti do uspješnijeg liječenja neplodnosti, posebno kod rizične skupine žena koje imaju u obiteljskoj anamnezi prijevremen ulazak u menopauzu, endometriozu i ostale bolesti te kirurške operacije koje mogu uzrokovati smanjenje ovarijske rezerve.

## **9. SUMMARY**

Thesis title:

Analyses of ovarian reserve in patients treated with Assisted reproductive technology procedures in ART Centre KBC Split.

Objective:

The aim of this study was to determine Reference Range values for Serum Anti-Müllerian Hormone in women in ART procedures in Reproductive Health Centre, KBC Split.

Patients and methods:

There were in total 541 females undergoing treatments for infertility, the needed data was extracted from their medical documentation, and, accordingly, statistically analysed and evaluated.

Results:

Our findings were that the average age women are applying for ART procedures is 34,78 years. The AMH values showed peak at 20s, with gradually lowering values until middle 30s, and a significant fall in values after mid 30s until menopause. AMH values in patients with endometriosis were within the range of satisfactory fertility. The AMH values in patients with PCOS showed 2,2 times higher average values than values in group of healthy patients. Group of patients with surgical interventions showed AMH values within the range of satisfactory fertility, also without statistical significance between patients with surgical interventions on ovary and tubes. Correlations between AMH and FSH, number of embryos, and AMH, as well as number of egg cell and AMH, were statistically significant.

Conclusion:

Infertility treatments are gaining more and more patients every day. Prevention and informing health professionals and public can at least help in a way that women would ask for help earlier, since the average age of seeking assistance is 34,78 years. Referent ranges for AMH in our study showed values between satisfactory fertility values.

## **10. ŽIVOTOPIS**

Ime i Prezime: Zdenka Palčić

Datum i mjesto rođenja: 11.06.1993, Split

Državljanstvo: Hrvatsko

Adresa stanovanja: Glagoljaška 6, 21000, Split

E-mail: palcic.zdenka@gmail.com

Obrazovanje:

1999-2007 Osnovna škola Lučac, Split

2007-2011 IV.Gimnazija Marko Marulić, Split

2011-2017 Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu

Aktivnosti:

Dugogodišnje pjevanje u raznim zborovima

Osnivanje studentskog pjevačkog zbora Medicinskog fakulteta Split

Volonter na Zavodu za hitnu medicinu Ličko-senjske županije, Ispostava Novalja

Vještine: aktivno služenje engleskim jezikom, poznavanje talijanskog i njemačkog jezika.