

# Uspješnost medicinski potpomognute oplodnje u pacijentica s endometriozom

---

**Trogrić, Antea**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:842321>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-03**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Antea Trogrlić**

**USPJEŠNOST MEDICINSKI POTPOMOŽNUTE OPLODNJE U PACIJENTICA S  
ENDOMETRIOZOM**

**Diplomski rad**

**Akadska godina 2017./2018.**

**Mentorica:**

**doc. dr. sc. Martina Šunj, dr. med.**

**Split, srpanj 2018.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Antea Trogrlić**

**USPJEŠNOST MEDICINSKI POTPOMOŽNUTE OPLODNJE U PACIJENTICA S  
ENDOMETRIOZOM**

**Diplomski rad**

**Akademska godina 2017./2018.**

**Mentorica:**

**doc. dr. sc. Martina Šunj, dr. med.**

**Split, srpanj 2018.**

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. ENDOMETRIOZA .....	2
1.1.1. Definicija.....	2
1.1.2. Epidemiologija.....	2
1.1.2. Etiologija .....	2
1.1.3. Patogeneza.....	3
1.1.4. Patohistologija .....	5
1.1.5. Klinička slika i znakovi.....	6
1.1.7. Dijagnoza .....	7
1.1.8. Klasifikacija.....	9
1.1.9. Terapija .....	9
1.2. NEPLODNOST.....	12
1.2.1. Definicija i epidemiologija.....	12
1.2.2. Uzroci ženske neplodnosti .....	12
1.2.3. Endometrioza i neplodnost.....	13
1.3. MEDICINSKI POTPOMOGNUTA OPLODNJA .....	15
1.3.1. Definicija i epidemiologija.....	15
1.3.2. Metode medicinski potpomognute oplodnje .....	15
1.3.3. Stimulacija ovulacije.....	17
1.3.4. MPO i endometrioza .....	19
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	21
3. MATERIJALI I METODE .....	23
3.1. Organizacija studije.....	24
3.2. Ispitanici .....	24
3.3. Metode prikupljanja i obrade podataka .....	26
4. REZULTATI.....	27

5. RASPRAVA .....	36
6. SAŽETAK .....	41
7. POPIS CITIRANE LITERATURE .....	43
8. SAŽETAK .....	50
9. SUMMARY .....	52
10. ŽIVOTOPIS .....	54

*Hvala mojoj dragoj mentorici doc. dr. sc. Martini Šunj na posvećenom vremenu i stručnoj pomoći pri izradi ovog diplomskog rada. Od srca se zahvaljujem obitelji i prijateljima koji su mi tijekom ovih godina školovanja bezuvjetno pružali ljubav i podršku.*

## **POPIS KRATICA**

PGE<sub>2</sub> - prostaglandin E<sub>2</sub>

COX-2 - enzim ciklooksigenaza 2

GnRH - hormon koji oslobađa gonadotropine

FSH - folikul stimulirajući hormon

LH - luteinizirajući hormon

HCG - humani korionski gonadotropin

MPO - medicinski potpomognuta oplodnja

SO - stimulacija ovarija

IUI - intrauterina inseminacija

ITI - intratubarna inseminacija

IVF - izvantjelesna oplodnja

ICSI - intracitoplazmatska injekcija spermija

AIH - arteficialna inseminacija sjemenom partnera

AID - arteficialna inseminacija sjemenom donora

COH - kontrolirana hiperstimulacija jajnika

OHSS - ovarijski hiperstimulacijski sindrom

AJS - aspiracija jajnih stanica

ET - embriotransfer

## **1. UVOD**



## **1.1. ENDOMETRIOZA**

### **1.1.1. Definicija**

Endometrioza označava prisustvo stanica endometrija (sluznice i strome), izvan šupljine maternice. To je kronična, benigna, estrogen ovisna, upalna bolest praćena stvaranjem adhezija i ometanjem normalnih fizioloških funkcija. Endometriotične stanice mogu se lokalizirati na jajnicima, jajovodima, peritoneumu, potrbušnici male zdjelice (*endometriosis genitalis externa*), okolnim ili udaljenim organima (*endometriosis extragenitalis*) (1).

### **1.1.2. Epidemiologija**

Prevalencija u ženskoj populaciji reproduktivne dobi iznosi 10-15%. Endometrioza je dijagnosticirana u 70% žena s kroničnom zdjeličnom boli, koja je ujedno i najčešći simptom bolesti. Otprilike 30-50% pacijentica s dijagnozom endometrioze su neplodne, dok se kod 25-50% infertilnih žena sumnja na endometriozu (2).

Nedavna istraživanja pokazuju da rana menarha i skraćeno trajanje mjesečnice pogoduju nastanku endometrioze, dok multiparitet, visoki indeks tjelesne mase (ITM) i pušenje smanjuju rizik od bolesti (3).

Rizični faktori za neplodnost kod pacijentica s endometriozom su: dismenoreja, periovulacijsko krvarenje i umor. Smanjen rizik imaju pacijentice koje su prethodno ostale trudne (4).

### **1.1.2. Etiologija**

Brojne teorije objašnjavaju etiologiju nastanka endometrioze. Danas je najbolje prihvaćena Sampsonova implantacijska teorija iz 1927. godine. Ona nastanak endometrioze tumači retrogradnim refluksom krvi i endometriotskih čestica kroz jajovod tijekom menstruacije. Endometrijske stanice se implantiraju na peritonealnu površinu abdominalnih i zdjeličnih organa te se proliferiraju i diseminiraju tijekom menstrualnog ciklusa. Kako se endometrioza javlja i u žena s kongenitalno opstruiranim jajovodima, Sampsonova teorija ne može biti jedino objašnjenje nastanka endometrioze (5).

Mayerova teorija pretpostavlja da endometrioza nastaje metaplazijom multipotentnog celomnog epitela zdjeličnog peritoneuma. To se objašnjava činjenicom da peritonealne i

endometrijske stanice nastaju iz istog embrijskog prekursora. Njegova hipoteza može objasniti prisutnost endometrioze u skoro svim udaljenim mjestima od maternice, ali se to također može objasniti i venskom ili limfatičkom mikroembolijom (5).

Uočavanjem promjena u imunološkim zbivanjima u žena koje boluju od endometrioze, postavljena je teorija o mogućoj autoimunoj naravi bolesti (6). Žene s pozitivnom obiteljskom anamnezom endometrioze imaju 7 puta veći rizik od oboljenja, stoga je postavljena hipoteza o poligenskom nasljeđivanju te bolesti (7).

Istražuju se i drugi mogući uzroci poput povećane oksidacije lipoproteina, gdje kisikovi radikali uzrokuju lipidnu peroksidaciju koja dovodi do oštećenja deoksiribonukleinske kiseline (DNA) endometrijskih stanica (1).

Dosadašnja saznanja govore u prilog multifaktorijalnom mehanizmu nastanka endometrioze, odnosno o brojnim genetskim, hormonskim, biokemijskim i imunološkim faktorima koji pridonose njezinu razvoju (8).

### **1.1.3. Patogeneza**

Među strukom je najviše prihvaćeno načelo stvaranja primarnog endometriotskog implantata iz čestica endometrija koje dospijevaju na zdjelični peritoneum menstruacijskim refluksom (9).

Mogući razlozi nastanka primarnog endometriotskog implantata su (9):

- količina, volumen i učestalost retrogradnog krvarenja
- disperistaltika maternice
- funkcionalna abnormalnost endometrijskih čestica
- oslabljen zdjelični imuno-upalni odgovor
- pojačana lokalna angiogeneza
- stanje zdjeličnog peritoneuma
- adherencija (integrini, kadherini)
- proteoliza izvanstaničnog matriksa
- rast i migracija.

U najčešćoj lokalizaciji endometrioze, zdjelici, dolazi do karakterističnih promjena. Povećava se volumen peritonealne tekućine, raste broj aktiviranih makrofaga, umanjuje se

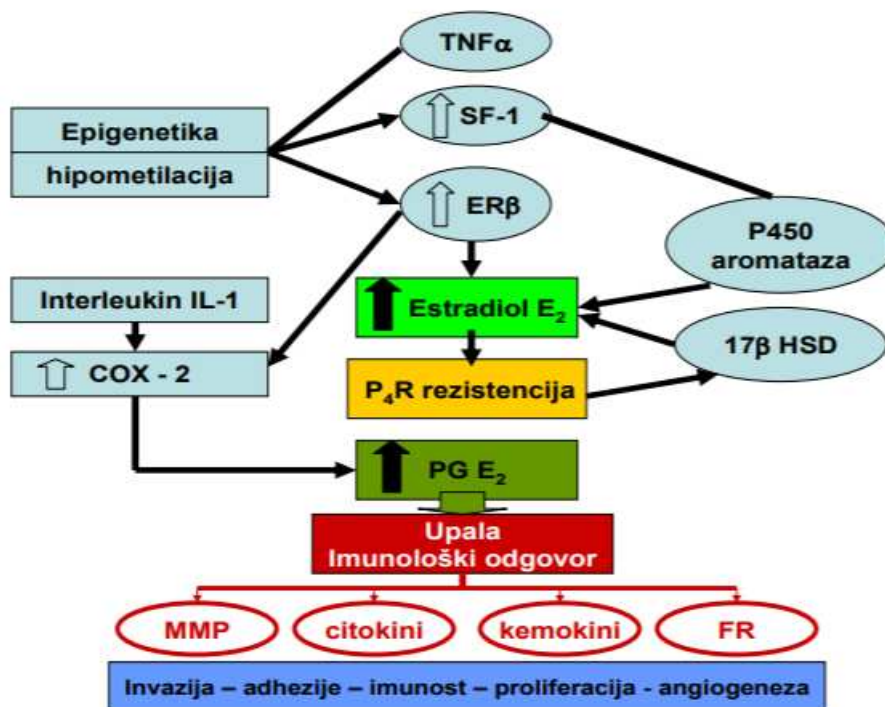
broj T-stanica, smanjuje se aktivnost prirodnih ubojica (NK stanica) te se mijenja sadržaj lokalnih čimbenika rasta, pojedinih citokina, specifičnih bjelančevina i čimbenika angiogeneze (9, 10).

Implantacija i razvoj tkiva imaju nekoliko koraka. Započinju s adhezijom stanica endometrija na peritoneum. Za taj proces vrlo je važna ekspresija brojnih adhezijskih molekula poput integrina i kadherina. Zatim slijedi invazija ektopičnih stanica pri čemu dolazi do remodeliranja, promjena morfologije stanica te gubitka čvrstih spojeva među stanicama. Razvija se upala koja je posredovana makrofagima i drugim upalnim stanicama. Naposljetku dolazi do sekrecije citokina koji potiču daljnu proliferaciju i neoangiogenezu. Važno je naglasiti da u svim koracima je izbjegnuta imunološki odgovor zbog poremećene funkcije NK stanica (11) (Slika 1.).

Estrogen je stimulans za razvoj endometrioze. Ektopično endometrijsko tkivo sadrži enzime aromatazu (za pretvorbu androgena u estrogene) i 17  $\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenazu tip 1 (za pretvorbu estrona u estradiol), ali mu nedostaje enzim 17  $\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenaza tip 2 koji je odgovoran za inaktivaciju estrogena. Time je omogućena stalna stimulacija estrogenima. Najvažniji induktor aktivnosti aromataze je prostaglandin  $E_2$ . Nastali estradiol djeluje na COX-2 enzim u maternici i povećava sintezu  $PGE_2$ . Stvara se krug pozitivne povratne sprege te se potencira estrogenski učinak na proliferaciju endometrijskog tkiva (12,13).

Također, u patogenezi endometrioze važna je progesteronska rezistencija koja sprečava atenuaciju stimulacije estrogenima. Stimulacija steroideogeneze uzrokovana je visokim vrijednostima steroidogenog faktora 1 (14).

Abnormalne epigenetske modifikacije u endometriju žena su nedavno uvrštene u patogenezu endometrioze. Tri su najvažnija epigenetska mehanizma: metilacija molekule DNA, uspostavljanje kovalentnih posttranslacijskih promjena histona (metilacija, acetilacija, fosforilacija, sumoilacija) i utišavanje gena ovisno o malim molekulama RNA. Sva tri epigenetska mehanizma su usko povezana u uspostavljanju vlastite epigenomske mreže signala unutar koje se međusobno nadopunjuju i upravljaju važnim procesima u stanici. Vrlo su važni i u odgovoru stanice na djelovanje mutagena iz okoline (15).



Slika 1. Patogeneza endometrioze (16)

SF-1 – steroidogeni faktor 1, ER/PR – estrogenski i progesteronski receptori, COX-2 – ciklooksigenaza-2, PGE<sub>2</sub> – prostaglandin E<sub>2</sub>, 17β hidrosisteroiddehidrogenaza, MMP – matriks metaloproteinaze, TNFα – tumor necrosis factor α , FR– faktori rasta.

#### 1.1.4. Patohistologija

Histološki, endometriozna je obilježena nakupinama endometrijskih žlijezda okruženih endometrijskom stromom. Izgled endometrijskog žarišta ovisi o njegovoj sposobnosti da odgovori na hormonske ciklične promjene i dužini trajanja samog procesa (1).

Površinske naslage na peritoneumu i jajniku se iskazuju kao plavo – crvene, petehijske, smeđo – žute, vezikularne i polipoidne lezije te male hemoragične ciste (16).

Endometriotska cista jajnika nastaje invaginacijom njegova korteksa na mjestu prirastanja implantata peritoneuma. To se očituje u obliku brojnih crvenkastih čvorića koji se mogu spojiti u cistu koja je puna ustajale, zgrušane ili polurazgrađene krvi te onda govorimo o endometriotičnoj cisti ili o endometriomu (čokoladna cista). Veličine ciste varira te katkad zauzima cijeli jajnik. U trećini slučajeva endometriotične ciste nastaju obostrano (17).

Endometriomi i duboki čvorovi koji prodiru više od 5 milimetara ispod peritoneja upućuju na duboku zdjeličnu endometriozu, koja redovito stvara priraslice te dovodi do retroverzije uterusa i fibroze (16).

Posebnu histološku sliku nodularne proliferacije fibromuskularnog tkiva iskazuje endometrioza u potpornim strukturama zdjelice, vezivnom i mišićnom tkivu uterosakralnih ligamenata i rektovaginalnog septuma. Prvo se javljaju nepigmentirane lezije, slabe vaskularizacije i niskog stupnja mitoze, potom crvene, jako vaskularizirane, agresivne i visokog indeksa mitoze, koje s vremenom prelaze u tamnoplave i crne tipične lezije, okružene fibrozom (9).

#### **1.1.5. Klinička slika i znakovi**

Simptomatologija endometrioze ovisi o smještaju lezije. Endometrioza se najčešće lokalizira na jajniku te se prezentira kao kontinuirana nespastička bol koja se pojačava neposredno prije i tijekom menstrualnog ciklusa (9).

Često žene nemaju nikakvih tegoba te se kod njih endometrioza obično dijagnosticira u okviru redovitog ginekološkog pregleda ili obrade zbog neplodnosti. Neke žene pak, pate od intenzivnih tegoba koje obuhvaćaju prije svega jake bolove (18).

Najčešći je simptom bol koja se iskazuje kao dismenoreja i dispareunija. Ona često ne prolazi primjenom lijekova. Postoje razne teorije koje objašnjavaju mehanizam boli kod endometrioze poput nocicepcije, upale te alteracija u centralnom i perifernom živčanom sustavu u procesuiranju boli. Također, bol u endometriozi se često povezuje s psihološkim distresom i umorom. U budućnosti metode fenotipiziranja pacijentica u kombinaciji s kliničkim simptomima, laboratorijskim i radiološkim testovima trebale bi definirati mehanizam boli kod endometrioze (19).

Bol tijekom ovulacije, ciklički ili perimenstrualni bolovi, kronični umor i iscrpljenost, bol prilikom defekacije te neplodnost samo su neki od čestih simptoma (Tablica 1.) (16). Ovisno o rjeđim lokalizacijama, mogu se pojaviti i drugi simptomi poput cikličke epistakse zbog nazalnih lezija ili glavobolje zbog endometrioze na mozgu (20).

**Tablica 1.** Učestalost simptoma endometrioze

<b>Simptom</b>	<b>Učestalost</b>	<b>Simptom</b>	<b>Učestalost</b>
Bol	95%	Napuhnutost	70-80%
Bolne menstruacije	95%	Bolni snošaji	64%
Umor, iscrpljenost	87%	Mučnine, glavobolja	50-60%
Diskezija	80%	Bolna ovulacija	50%
Obilne menstruacije	65%	Neplodnost	20-30%

Oko 40% pacijentica s endometriozom i zdjeličnom boli ima značajne kliničke znakove, nađene tijekom ginekološkog pregleda. Najčešći klinički znakovi povezani s endometriozom su (21):

- zadebljanje ili nodularnost uterosakralnog ligamenta
- lateralni pomak cerviksa
- stenoza cerviksa.

Žene s uznapredovalom endometriozom često imaju ovarijske ciste koje se mogu bimanualno palpirati. U 25% pacijentica s endometriozom se detektira pomak cerviksa lateralno od aksijalne linije. Cervikalna stenoza se prezentira kada je dijametar cervikalne osi manji od 4mm. Oko 5% žena s endometriozom ima cervikalnu stenozu (21).

### **1.1.7. Dijagnoza**

Kompletna anamneza i fizikalni pregled, uključujući pregled spekulomom i bimanualni pregled, mogu pomoći u postavljanju dijagnoze endometrioze. Zbog njene ovisnosti o estrogenu, postavlja se sumnja na dijagnozu endometrioze kod žena s hipermenorejom i cikličkom dismenorejom (22).

Tijekom fizikalnog pregleda pacijentica s endometriozom često se ne nađu abnormalnosti. Ipak, treba obratiti pozornost na moguće zadebljanje ili nodularnost uterosakralnog ligamenta. Također, povećana i napeta adneksalna masa može upućivati na endometriom. Fiksirana i retrovertna maternica može se uočiti prilikom fizikalnog pregleda ili pomoću magnetne rezonance (22).

Radiološke pretrage su limitirane u dijagnostici endometrioze zbog nedostatka rezolucije koja bi omogućila identifikaciju adhezija ili superficijalnih peritonealnih

implantata. Ultrazvuk (UZV) je jeftin i jednostavan za korištenje, ali rezultati ovise o interpretaciji i znanju liječnika koji izvodi pretragu. Također, UZV ne može dijagnosticirati priraslice, ali može utvrditi oštećenje jajovoda. Magnetna rezonanca ima veću specifičnost te je dobra nadopuna ultrazvuku, ali je jako skupa. Korisna je kod dijagnoze duboke zdjelčne endometrioze. Kompjuterizirana tomografija zdjelice loše vizualizira zdjelčne organe te stoga nije korisna u dijagnostici endometrioze (22).

Citokini, matriks metaloproteinaze, adhezijske molekule te markeri angiogeneze i upale istražuju se kao mogući serumski markeri za dijagnostiku endometrioze. Većina studija nije dokazala značajnu povezanost markera s aktivnošću ili simptomatologijom bolesti (Tablica 2.). Povišene vrijednosti CA-125 nisu stvarni dijagnostički pokazatelj prisustva endometrioze, no prava vrijednost ovog tumorskog biljega leži u praćenju progresije endometrioze tijekom ili nakon liječenja (22).

**Tablica 2.** Serumski markeri endometrioze

Markeri	Pacijenti	Osjetljivost (%)	Specifičnost (%)
CA-125	38	92,3	72
CA 19-9	38	80	59,3
CA-125	231	55,8	92,8
CA-125+NRL	231	69,3	83,9
CA-125+MPC-1+leptin	78	49	94
CA-125+MPC-1+leptin+MIF	78	100	40

Laparoskopija s biopsijom je zlatni standard u dijagnostici endometrioze. Laparoskopski endometrioza se može vizualizirati kao peritonealni implantat, endometriom, dukobi infiltrirajući noduli ili adhezija. Za dijagnozu endometrioze potrebno je uočiti dvije ili više histopatoloških struktura: endometrijski epitel, žlijezde, stromu ili hemosiderinom ispunjene makrofage. Pozitivna histologija potvrđuje dijagnozu, ali je negativna ne isključuje (22).

Nedavne studije pokazuju povećan broj živčanih vlakana u endometriju žena s endometriozom. Najveći broj vlakana čine tanka nemijelizirana senzorna vlakna tipa C. Studije su nažalost limitirane manjkom informacija o bolnim simptomima pacijentica (23, 24).

### 1.1.8. Klasifikacija

Za klasifikaciju i stupnjevanje izraženosti bolesti najčešće se koristi klasifikacija Američkog društva za reproduktivnu medicinu (engl. *American Society for Reproductive Medicine* - ASRM). Klasifikacija ASRM-a je sustav bodovanja koji se temelji na lokalizaciji, veličini implantata te stupnju prijanjanja. S obzirom na broj bodova definiraju se četiri razreda: minimalna, blaga, umjerena i teška endometrioza (Tablica 3.) (16). U pokušaju da se klasifikacija endometrioze boduje tako da pomogne ocjeni plodnosti, objavljen je *Endometriosis fertility index* (EFI), koji pri operaciji predviđa buduću plodnost. Nizak EFI skor ( $< 4$ ) ima slabu vjerojatnost za postizanje trudnoće nakon operacije. Preporučuje se pacijentice slabije prognoze ranije usmjeriti na izvantjelesnu oplodnju (IVF) (16, 25).

**Tablica 3.** Klasifikacija endometrioze prema ASRM

Stadij (bodovi)	Obilježja
I. stadij 0-5 (minimal)	Minimalna bolest - nekoliko površinskih lezija
II. stadij 6-15 (mild)	Blaga bolest - veći broj lezija, neke i dublje
III. stadij 16-40 (moderate)	Srednje izražena - brojne lezije, lezije na jajniku, tanke adhezije
IV. stadij $\geq 40$ (severe)	Izražena bolest - brojne lezije, endometriomi, guste priraslice, endometrioza u rektouterinom prostoru

### 1.1.9. Terapija

Cilj liječenja endometrioze je uklanjanje boli, smanjenje estrogenske stimulacije te poboljšanje reproduktivskih svojstava pacijentica. Terapija može biti medikamentna, koja inhibira rast endometriotičnih implantata, te kirurška koja uklanja ili uništava endometrijske lezije (18).

Liječenje ovisi o simptomima koje žena ima, njezinim planovima za trudnoću, životnoj dobi, kao i o proširenosti bolesti (26).

U medikamentnom liječenju najčešće se koriste: nesteroidni protuupalni lijekovi, gestageni (progestini), monofazni oralni kontraceptivi, danazol, analozi GnRH i inhibitori aromataze (27).



Dokazano je da endometrijsko tkivo ima povećanu ekspresiju za COX-2 enzime stoga su nesteroidni protuupalni lijekovi često prva linija liječenja kod žena s dismenorejom i pelvialgijom. COX-2 selektivni lijekovi povećavaju kardiovaskularni rizik te se trebaju koristiti kratko i u najmanjoj mogućoj dozi (28).

Gestageni (progestini) djeluju antiestrogeno dovodeći do decidualizacije strome, nekrobioze i atrofije endometrija. Dokazano je da smanjuju rast i gustoću živčanog tkiva u endometriotičnim lezijama. Također, inhibiraju ponovno punjenje estrogenskih receptora u endometriju. Ovisno o vrsti gestagena, dozi i trajanju liječenja dolazi do nuspojava poput neredovitih krvarenja, mučnine, retencije tekućine, osjetljivosti dojki, edema, povećanja tjelesne mase, nadutosti, depresije te negativnih promjena u lipidogramu (9).

Kombinirani oralnih hormonski kontraceptivi imaju slično djelovanje kao i progestini. Najčešće se rabe monofazični pripravci, a pogodni su za žene s blagom ili umjerenom endometriozaom. Djeluju tako da inhibiraju otpuštanje gonadotropina, smanjuju gustoću i rast živčanog tkiva i decidualiziraju implantate (29).

Danazol se koristi za supresiju funkcije jajnika. Inhibira nagli skok LH i FSH u sredini ciklusa, ali ne smanjuje značajno bazalnu vrijednost LH i FSH u zdravih žena. Veže se za androgene, progesteronske i glukokortikoidne receptore, te može potaknuti premještaj androgenih receptora u jezgru i početak prijepisa gena reaktivnih na androgene. Također se veže za plazmatske globuline koji prenose spolne hormone te tako povećava slobodnu frakciju testosterona. Povećava klirens progesterona vjerojatno istiskujući ga s veznih mjesta na plazmatskim proteinima. Danazol ima puno nuspojava koje uključuju porast tjelesne težine, edeme, smanjenje dojki, akne, hirsutizam, produbljen glas, glavobolju, napadaje vrućine, promjene libida i grčeve u mišićima. Ponekad može uzrokovati supresiju nadbubrežne žlijezde zbog svog glukokortikoidnog djelovanja. Kontraindiciran je tijekom trudnoće i dojenja jer može uzrokovati urogenitalne poremećaje ploda (30).

Bol u endometriozu obično se smanjuje prestankom izlaganja cikličkim promjenama u koncentracijama estrogena i progesterona koje su normalan dio menstrualnog ciklusa. Supresija ovarija kontinuiranom primjenom GnRH agonista u velikoj mjeri smanjuje koncentracije estrogena i progesterona te sprječava ciklusne promjene. Preporučeno trajanje liječenja agonistima GnRH ograničeno je na 6 mjeseci jer dulja supresija ovarija može rezultirati smanjenom gustoćom kostiju (29).

Inhibitori aromataze inhibiraju enzim koji je potreban za pretvorbu androgena u estrogene. Mogu se koristiti kao adjuvantna terapija zajedno sa GnRH analogima. Endometriotično tkivo ima povećanu ekspresiju enzima aromataze koja stvara estrogene, a oni pak povećavaju stvaranje PGE<sub>2</sub> koji je induktor aromataze. Primjena inhibitora aromataze potencijalno zaustavlja proliferaciju ektopičnog tkiva endometrija. Istražuje se primjena ove skupine lijekova u liječenju boli i neplodnosti uzrokovane endometriozom (12, 13).

Kirurško liječenje endometrioze može biti konzervativno, definitivno (radikalno) i denervacijsko te se bazira na (21):

- kirurškom uklanjanju endometriotičnih lezija smanjujući bol povezanu s bolesti
- kirurškom uklanjanju oba ovarija i maternice čime se zaustavlja 95% endogene proizvodnje estrogena što dovodi do izlječenja bolesti međutim uzrokuje menopauzu
- presijecanju osjetilnih živčanih vlakana koja napuštaju maternicu kroz uterosakralne ligamente.

Dok se blaga i umjerena endometrioza mogu lijekovima držati pod kontrolom, kod izraženijih oblika (ASRM III. i IV. stadij) ipak je potrebna kirurška terapija. Laparoskopskom metodom uklanjaju se čvorići i adhezije. Ova metoda je minimalno invazivna te omogućuje brz oporavak i minimalne ožiljke nakon postupka. Pacijentice koje su se podvrgnule laparoskopskom liječenju težih oblika endometrioze imaju 70%-nu šansu da ostanu trudne unutar 12 mjeseci od operacije (31).

Radikalni kirurški pristup, histerektomija i bilateralna salpingo-ooforektomija, koristi se kod pacijentica s dubokom zdjeličnom endometriozom. Budući da nepovratno onemogućuje trudnoću, primjenjuje se kod žena koje više ne žele rađati. Istraživanja pokazuju da radikalni kirurški pristup poboljšava kvalitetu života te bi se trebao uzeti u obzir kod pacijentica s neprikladnim odgovorom na konzervativno liječenje (32).

U liječenju kronične zdjelične boli koriste se i metode denervacije poput presakralne neurektomije ili laparoskopske ablacije živaca maternice (LUNA). Nažalost, istraživanja nisu pokazala preveliku učinkovitost u liječenju boli uzrokovane endometriozom (33).

## 1.2. NEPLODNOST

### 1.2.1. Definicija i epidemiologija

Neploidnost je nesposobnost seksualno aktivnog para, koji ne koristi kontracepcijske metode, da postigne spontanu trudnoću unutar jedne godine ciljanih spolnih odnosa (34).

Primarna neplodnost, kod para u reproduktivskom razdoblju, opisuje se kao stanje u kojem uz redovite, nezaštićene odnose tijekom godine dana ne dolazi do trudnoće. Sekundarna se neplodnost definira kao stanje nemogućnosti postizanja trudnoće nakon barem jedne prethodne trudnoće. Fekundabilnost, vjerovatnost zanošenja po ciklusu, iznosi oko 20% (35). Prema podacima iz populacijskih studija, 10-15% parova reproduktivne dobi u razvijenim zemljama je neplodno (36).

### 1.2.2. Uzroci ženske neplodnosti

Neploidnost žena uzrok je izostanku trudnoće u 35 do 50% parova. Katkad je to samostalni čimbenik neplodnosti, a u 20% slučajeva je povezano s muškom neplodnošću. Više od trećine neplodnih žena ima dva ili više udruženih čimbenika koji dovode do infertilnosti. Uzroci neplodnosti u žena se dijele u 4 velike skupine: ovarijska disfunkcija, tubarni/peritonealni uzroci, cervikalni faktori i uterini faktori (Tablica 4.) (37).

**Tablica 4.** Uzroci ženske neplodnosti

---

#### OVULACIJSKA DISFUNKCIJA

- Genetski
- Autoimuni
- Kemo/radioterapija
- Bolesti hipofize
- Bolesti štitnjače
- Bolesti nadbubrežne žlijezde
- Hiperandrogenemija
- Gubitak tjelesne težine
- Pretjerana tjelovježba
- Lijekovi, narkotici

#### TUBARNI/PERITONEALNI UZROCI

- Upalna bolest zdjelice (PID)
- Endometrioza
- Prethodna izvanmaternična trudnoća
- Peritubarne i periovarijske priraslice

#### CERVIKALNI FAKTOR

- Neodgovarajuća sluz
- Antispermalna antitijela
- Cervicitis

#### UTERINI FAKTOR

- Miomi
  - Intrauterine adhezije
  - Kongenitalne malformacije
-

Najčešći uzroci neplodnosti su: anovulacije (35%), upale spolnih organa i posljedice (30%), endometrioza i adenomioza (15%), abnormalnosti maternice (6%) te idiopatska neplodnost (14%) (37).

### **1.2.3. Endometrioza i neplodnost**

Učestalost neplodnosti u pacijentica s endometriozom vrlo je visoka te iznosi 30-50%, dok fekundabilnost varira između 2-10% (38).

Zbog povećanog broja upalnih stanica, endometrioza oštećuje oocite, spermije i zametke. Transport embrija je onemogućen zbog djelovanja upalnih stanica i citokina na jajovode. Također, endometrioza uzrokuje alteracije u samom endometriju koje onemogućavaju implantaciju. Mehanizam i signalni putovi koji dovode do alteracija su još u fazi istraživanja (38).

Različiti su mogući uzroci neplodnosti kod blage, srednje teške i teške endometriozе (Tablica 5. i 6.) (16).

**Tablica 5.** Mogući uzroci neplodnosti kod blage i srednje teške endometriozе

---

#### **POREMEĆAJI FOLIKULOGENEZE I CIKLUSA**

- Nenormalna folikulogeneza
- Anovulacija
- Hiperprolaktinemija
- Disfunkcija žutog tijela

#### **ŠTETNI UČINCI IZ PERITONEJSKE TEKUĆINE**

- Neravnoteža upalnih i imunoloških biljega
- Motilitet jajovoda
- Nenormalno zrenje i transport jajovoda

#### **NENORMALNOSTI MIOMETRIJA I ENDOMETRIJA**

- Poremećaji kontrakcije
  - Nekvalitetni i nereceptivni endometrij
  - Nesklad hormona - P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub>
  - Antiendometrijska protutijela
-

**Tablica 6.** Mogući uzroci neplodnosti kod teže endometrioze

- 
- priraslice i abnormalnosti u zdjelici koje onemogućuju ovulaciju i prihvata oocite u jajovod
  - oštećenja fimbrija ili okluzija jajovoda
  - hidrosalpingi
  - oštećenje endosalpinga i opstrukcija
  - okluzija proksimalnog dijela jajovoda
- 

Neplodne žene s endometriozom liječe se ovisno o stadiju endometrioze, uzrocima neplodnosti, dobi žene i prohodnosti jajovoda (16).

ESHRE (engl. *European Society of Human Reproduction and Embryology*) smjernice za liječenje neplodnosti povezane s endometriozom navode kako postupci koji se primjenjuju (Tablica 7.) dovode do povećanja broja biokemijskih ili kliničkih trudnoća, ali se ne uzima u obzir koliko tih trudnoća u konačnici rezultira rođenjem živog djeteta (39).

**Tablica 7.** ESHRE smjernice za liječenje neplodnosti povezane s endometriozom

- 
- kliničari ne bi trebali propisivati hormonsko liječenje za suzbijanje funkcije jajnika u svrhu poboljšanja plodnosti
  - u neplodnih žena s endometriozom ASRM stupanj I/II, kliničari bi trebali izvršiti operacijsku laparoskopiju uključujući adheziolizu, a ne samo obavljanje dijagnostičke laparoskopije
  - u neplodnih žena s endometriozom ASRM stupanj III/IV, kliničari mogu izvesti operativnu laparoskopiju umjesto ekspanzivnog pristupa
  - kod neplodnih žena s endometriomom jajnika, koje su se podvrgnule kirurškom zahvatu, kliničari bi trebali izvršiti eksciziju endometriomske kapsule, umjesto drenaže i elektrokoagulacije endometrioma
  - u neplodnih žena dodatna hormonska terapija nakon operacije nije potrebna
-

## 1.3. MEDICINSKI POTPOMOGNUTA OPLODNJA

### 1.3.1. Definicija i epidemiologija

Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO) je skup metoda liječenja dokazane neplodnosti jednog ili oba partnera. Obuhvaća širok obujam tretmana i procedura u kojima se pomaže da dođe do oplodnje, trudnoće i poroda (40).

Već je ranije istaknuta visoka i rastuća učestalost neplodnosti u razvijenim zemljama, što danas postaje ozbiljan društveni i individualni problem. Procijenjeno je da 48,5 milijuna ljudi diljem svijeta je neplodno (40).

U Hrvatskoj je 80 do 100 tisuća parova neplodno. Godišnje se u nas liječi oko 10 tisuća parova. Prosječna je fertilitet u Europi 1,5, dok je u Hrvatskoj između 1,38 i 1,40. Važnost metoda potpomognute oplodnje iskazuje činjenica da se pomoću izvantjelesne oplodnje – in vitro fertilizacije (IVF) rađa 1 do 5% novorođenčadi godišnje (41).

### 1.3.2. Metode medicinski potpomognute oplodnje

Podjela metoda prema Šimuniću (42):

- Intrauterina inseminacija (engl. *intrauterineinsemination* – IUI)
- Intratubarna inseminacija (engl. *intratubalinsemination* – ITI)
- Izvantjelesna oplodnja – in vitro fertilizacija (IVF) i prijenos zametaka (engl. *embryo transfer* – ET)
- Unošenje gameta u jajovode (engl. *gamete intrafallopian transfer* – GIFT)
- Prenošenje zigote ili embrija u jajovod (engl. *zygote intrafallopian transfer* – ZIFT, *tubal embryo transfer* – TET)
- Smrzavanje zametaka (krioprezervacija)
- Mikroinjekcija spermija u jajnu stanicu – intracitoplazmatska injekcija spremija (engl. *intracytoplasmic sperm injection* – ICSI)
- Preimplantacijska citogenetska biopsija zametaka

**Artificijalna inseminacija** s homolognim (AIH – *artificial insemination husband*) ili heterolognim (AID – *artificial insemination donor*) sjemenom je popularna metoda MPO. Temeljni princip ove metode jest u vrijeme ovulacije povećati gustoću i kvalitetu sjemena na

mjestu oplodnje. Prema tehnici i zahvatu artifičijalna inseminacija može biti intrauterina inseminacija (IUI) ili intratubarna inseminacija (ITI) (42, 43).

Indikacije za IUI i ITI su: idiopatska neplodnost, cervikalni čimbenik neplodnosti, blaga do srednja neplodnost muškarca, spolna disfunkcija muškarca, blaga endometrioza (I. i II. stupanj), imunološki uzrok neplodnosti i sekrecijska azoospermija (AID) (42, 44).

Inseminacija se može raditi u prirodnom ciklusu (sa ili bez injekcije HCG-a, takozvane "štoperice") ili u blago stimuliranom protokolu. U stimulaciji se obično koriste selektivni modulatori estrogenskih receptora ili inhibitori aromataze, na koje se zatim ponekad mogu nastaviti injekcije gonadotropina u niskoj dozi. Nakon 6 AIH postupaka koji su zadovoljavajuće obavljani, a nije došlo do trudnoće, liječenje se nastavlja IVF-om (42,45).

**Izvantjelesna oplodnja – IVF** (in vitro fertilizacija) najvažnija je metoda medicinski potpomognute oplodnje. Primjenjuje se u liječenju 70% svih uzroka neplodnosti. Postoje dva temeljna oblika: izvantjelesna oplodnja - IVF i intracitoplazmatsko injiciranje spermija – ICSI. Konvencionalni IVF je ključan za liječenje ženske neplodnosti, međutim neučinkovit je kod neplodnosti muškarca. ICSI je metoda MPO u kojoj se jedan spermij injicira u citoplazmu zrele jajne stanice. Prvi put objašnjena 1992. godine, danas se koristi za liječenje težih oblika muške neplodnosti (46,47).

Kada su sve ostale metode neuspješne primjenjuju se IVF i ICSI. Liječenje se treba ranije usmjeriti na IVF/ICSI kada je riječ o dugotrajnoj neplodnosti, u žene starije od 35 godina, u uznapredovaloj endometriozi (III. i IV. stupanj) i teškoj muškoj neplodnosti (46).

U IVF/ICSI postupcima aspiracija jajnih stanica (AJS) i prijenos zametaka u maternicu, embriotransfer (ET), utječu na uspješnost metode. Aspiriraju se svi folikuli veći od 10 mm u promjeru, 34-36h nakon maturacijskog HCG-a. Embriotransfer se obavlja 2, 3 ili 5 dan nakon aspiracije oocita, odnosno oplodnje. To znači da je embrij u stadiju od 4 do 8 stanica, odnosno blastocista (46).

**Krioembriotransfer** (FET – engl. *frozen embryo transfer*, transfer smrznutih embrija) je postupak kod kojeg odmrzavamo ranije kriopohranjene zametke te ih vraćamo u prirodnom i u stimuliranom ciklusu (48).

U prirodnom ciklusu preduvjet je da žena ovulira, što se može utvrditi serijskim ultrazvučnim pregledima ili injekcijom HCG-a. U stimuliranom ciklusu obično se daje

subkutano GnRH agonist u vrijeme implantacije. Pretpostavlja se da GnRH agonist podržava funkciju žutog tijela inducirajući sekreciju LH iz hipofize (48).

### 1.3.3. Stimulacija ovulacije

Liječenje MPO-om može biti u prirodnom ili stimuliranom ciklusu. Različiti su principi stimulacije ovulacije za AIH i IVF. Temeljni ciljevi su postići: monofolikularnost (uz eventualno 1 kodominantni folikul) za AIH/AID i višefolikularnost (6 do 12 oocita) za IVF/ICSI (44).

Stimulacija ovulacije povisuje uspjeh IVF-a, ali ne isključuje postupke MPO-a u prirodnom ciklusu. Danas se prirodni ciklus odabire za IUI i IVF kao početno liječenje. Stimulacija ovulacije može biti blaga ili standardna (44, 49).

Blaži protokoli rabe peroralne lijekove klomifen citrat ili letrozol (Tablica 8. i 9.). Klomifen citrat je selektivni modulator estrogenskih receptora (SERM) koji djeluje na razini hipotalamičkih estrogenskih receptora te tako umanjuje negativni povratni učinak endogenih estrogena na lučenje GnRH, a posljedično i gonadotropina pa se njihovo izlučivanje povećava. Ima malu vjerojatnost za hiperstimulaciju i razvitak cisti te nisku stopu višeplođnih trudnoća (10%). Letrozol je inhibitor aromataze (smanjuje produkciju estrogena). Tablete se upotrebljavaju same (5-7 dana) ili uz dodatak niže doze gonadotropina (49, 50).

Standardni protokoli stimulacije koriste se višom ili maksimalnom dozom gonadotropina. Stimulirani protokoli mogu biti agonistički ili antagonistički, ovisno o tome primjenjuje li se agonist ili antagonist GnRH (Tablica 8. i 9.). Oba protokola se daju u kombinaciji s gonadotropinima (50). Upotreba gonadotropina se još naziva i kontrolirana ovarijska hiperstimulacija (COH). Cilj takve terapije je postići ovulaciju u žena s anovulacijskim ciklusima. Dostupni preparati sadrže purificirane humane gonadotropine (FSH i LH) te rekombinantni humani FSH. Doza ovih lijekova se prilagođava tjelesnoj masi žene, dobi, uzroku neplodnosti i odgovoru na prethodne tretmane. Ovi lijekovi su potentniji od klomifena i zahtijevaju česte preglede na kojima se prati rast folikula transvaginalnim ultrazvukom i koncentracija serumskog estradiola. Kad se prikaže barem jedan zreli folikul (promjer folikula 18 mm) i serumska koncentracija estradiola bude >200 pg/mL, daje se HCG da bi se potaknula ovulacija. Ovakva terapija nosi sa sobom rizik ovarijskog hiperstimulacijskog sindroma (OHSS) koji može zahtijevati intenzivno liječenje. Također, povećan je rizik multiplih gestacija (25%) te rizik od ektopične trudnoće (51).



**Tablica 8.** Lijekovi koji se koriste u stimulaciji ovulacije

<b>SERM / inhibitor aromataze</b>	klomifen citrat
	letrozol
<b>Agonisti GnRH</b>	triptorelin
	buserelin
	leuprolid
<b>Antagonisti GnRH</b>	cetorelix
	ganirelix
<b>Gonadotropni hormoni</b>	folitropin alfa - FSH
	folitropin beta - FSH
	folitropin pročišćeni - HP FSH
	folitropin alfa i lutropin alfa-FSH/LH

**Tablica 9.** Protokoli stimulacije ovulacije

<b>Naziv</b>	<b>Lijekovi</b>	<b>Ciljani broj folikula/oocita</b>	<b>MPO postupak</b>
Prirodni ciklus	/	1	AIH/AID IVF
Prirodni modificirani ciklus	HCG FSH (niska doza) antagonisti	1-2	AIH/AID IVF
Blagi protokol	klomid letrozol FSH (niska doza) antagonisti HCG	2-7	AIH/AID IVF
Standardni protokol	FSH (viša doza) agonisti/antagonisti	7-12	IVF

Agonistički ili dugi protokoli su zlatni standard za stimulaciju jajnika u mladim normogonadotropnih žena. Kontinuiranim davanjem agonista povećava se proizvodnja gonadotropina (engl. *flare effect*). Međutim, nastavljanjem kontinuiranog davanja agonista dolazi do takozvane prilagodbe naniže (engl. *downregulation*) receptora za GnRH. Zbog prilagodbe receptora dolazi do pada koncentracije endogenih LH i FSH, supresije folikulogeneze i pada koncentracije estradiola na vrijednosti koje su normalne za menopauzu. Ti događaji omogućuju kasniji koordinirani rast folikula kao odgovor na davanje egzogenih gonadotropine. Početak davanja agonista može biti 2. dan ciklusa ili češće 21. dan. Razlog korištenja dugih protokola je nastup takozvane privremene menopauze u kojoj se onda jajnici mogu stimulirati dnevnom injekcijom gonadotropina (50, 52).

Antagonisti GnRH imaju gotovo trenutačan učinak na hipofizu te, za razliku od agonista, ne zahtijevaju nekoliko dana da bi dosegli menopauzalne razine gonadotropina. Postoje dva antagonistička protokola: fiksni i fleksibilni. Fiksni protokol započinje na 5. dan ciklusa, dok fleksibilni protokol započinje na dan kada je vodeći folikul veličine 14 milimetara. Cilj korištenja GnRH antagonista u IVF-u je inhibicija preranog skoka LH koji bi mogao dovesti do prerane luteinizacije, zaustavljanja sazrijevanja folikula te asinkronosti maturacije oocita (50, 52, 53).

Kod antagonističkih protokola uočena je znatno niža incidencija OHSS-a u usporedbi sa ženama na agonističkim protokolima jer ne postoji skok koncentracije gonadotropina u početku terapije. Kod antagonističkih protokola je moguće ovulaciju potaknuti GnRH agonistima umjesto HCG-om što osigurava adekvatnu maturaciju oocita i dodatno smanjuje rizik od OHSS-a. Zbog svega navedenog antagonistički protokoli se sve više prihvaćaju kao najprikladniji za ovarijsku stimulaciju (52).

#### **1.3.4. MPO i endometrioza**

Za optimalno liječenje endometrioze metodama medicinski potpomognute oplodnje najpogodnije su (16) :

- stimulacija ovulacije gonadotropinima uz IUI/ITI
- izvantjelesna oplodnja - IVF/ICSI.

U blažih oblika (ASRM I. i II. stupanj) endometrioze stimulacija ovulacije uz intrauterinu inseminaciju (IUI) najuspješniji je način liječenja. Uporaba gonadotropina i IUI

najbolji je odabir u operiranih i neoperiranih pacijentica s blagom do srednje teškom endometriozaom i prohodnim jajovodima (16).

Uznapredovala endometrioza, endometriomi manji od 3 centimetra te recidiv endometrioma, usmjeruju liječenje neplodnosti na IVF. Odabir primarno kirurškog liječenja ili IVF-a neprestano je predmet rasprava. Teško je pronaći ravnotežu između rizika od umanjene rezerve jajnika operacijom i sumnje na smanjenu kvalitetu rezultata IVF-a. Kirurgija prije IVF-a indicirana je kod endometrioma većih od 3 centimetra i težih simptoma bolesti. Danas postoje već spomenute ESHRE smjernice za liječenje neplodnosti kod endometrioze (16, 39).

U pacijentica s endometriozaom provodi se i metoda krioembriotransfera (FET) u prirodnom ili stimuliranom ciklusu. Ova metoda se može koristiti i u težim stupnjevima endometrioze (48).

Mnogo čimbenika utječe na uspješnost medicinski potpomognute oplodnje kod pacijentica s endometriozaom, a jedan od njih je i razina anti-Müllerovog hormona (AMH) i folikul stimulirajućeg hormona (FSH) (54).

AMH je hormon kojeg stvaraju spolne žlijezde, jajnici i testisi. U žena tijekom reproduktivne dobi, koncentracija AMH u krvi odgovara ovarijskoj rezervi tj. potencijalnom broju nezrelih jajnih stanica koje mogu biti pobuđene u menstrualnom ciklusu i dati zrele jajne stanice spremne za oplodnju. Kako taj broj starenjem opada, koncentracija AMH u krvi s godinama se proporcionalno smanjuje. Iz toga proizlazi da je AMH izravno povezan s brojem oocita dobivenih metodom IVF-a te tako utječe na uspješnost medicinski potpomognute oplodnje (54).

FSH potiče rast i dozrijevanje folikula jajnika, što rezultira stvaranjem zrele jajne stanice spremne za ovulaciju, a potom i za oplodnju. Ukoliko jajnik više nema folikula kojima bi mogao stvoriti jajnu stanicu, vrijednosti FSH će se povisiti, pokušavajući sa više stimuliranja dovesti do reakcije jajnika. Dakle, s godinama smanjuje se broj jajnih stanica, pada vrijednost AMH dok vrijednost FSH raste (54).

Istraživanja pokazuju slabije rezultate medicinski pomognute oplodnje u pacijentica s endometriozaom. To se objašnjava slabijom kvalitetom i brojem kompetentnih oocita, slabijim odgovorom jajnika na stimulaciju, periimplantacijskim greškama, povišenom apoptozom granulose kumulusa i disfunkcijom folikulogeneze (16).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

**Glavni cilj:**

Glavni cilj ovog istraživanja je utvrditi stopu implantacije (pozitivan HCG) u pacijentica s endometriozom koje su se podvrgnule medicinski potpomognutoj oplodnji u razdoblju od 1. siječnja 2016. do 1. srpnja 2018. godine.

**Sporedni ciljevi:**

- Utvrditi medijan prikupljenih oocita, dobivenih zametaka te ukupnu dozu stimulirajućih hormona u postupcima medicinski potpomognute oplodnje.
- Utvrditi utjecaj dobi pacijentica te serumske razine anti-Müllerovog hormona (AMH) i folikul stimulirajućeg hormona (FSH) na uspješnost medicinski potpomognute oplodnje u pacijentica s endometriozom.
- Usporediti dobivene rezultate s rezultatima već provedenih studija.

### **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. Organizacija studije**

Provedeno istraživanje je po organizaciji retrospektivno.

### **3.2. Ispitanici**

Promatrano je 28 pacijentica s dijagnozom endometrioze koje su se podvrgnule medicinski potpomognutoj oplodnji na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode, KBC Split u razdoblju od 1. siječnja 2016. do 1. srpnja 2018. godine.

Kriteriji uključanja:

- pacijentice s dijagnozom endometrioze koju se se podvrgnule medicinski potpomognutoj oplodnji

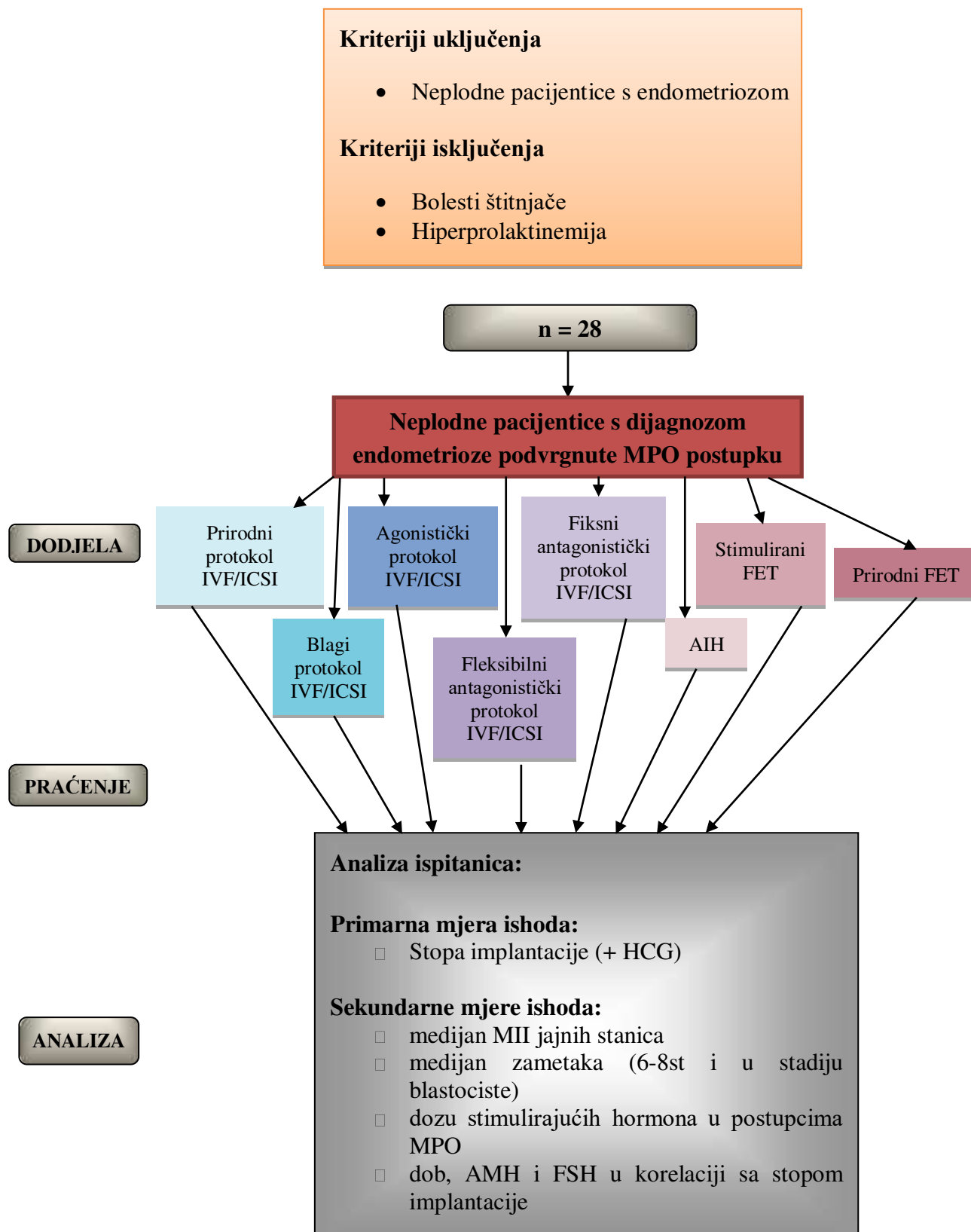
Kriteriji isključenja:

- pacijentice s bolesti štitnjače
- pacijentice s hiperprolaktinemijom

Pacijentice su podijeljene u 8 skupina ovisno o postupku MPO kojem su bile podvrgnute:

- prirodni ciklus IVF/ICSI
- blagi protokol IVF/ICSI
- agonistički protokol IVF/ICSI
- fiksni antagonistički protokol IVF/ICSI
- fleksibilno antagonistički protokol IVF/ICSI
- prirodni ciklus FET
- stimulirani protokol FET
- AIH

Nakon određenog vremenskog perioda analizirala se dob, vrijednosti FSH i AMH, broj jajnih stanica, broj zametaka, doza danih stimulirajućih hormona te stopa implantacije (Slika 2.).



**Slika 2.** Dizajn studije (engl. *flow diagram*)

\*MPO- medicinski potpomognuta oplodnja; IVF- izvantjelesna oplodnja; ICSI- intracitoplazmatsko injiciranje spermija; FET- krioprezervacija; AIH- artifičijalna inseminacija; HCG- humani korionski gonadotropin; AMH- anti-Müllerov hormon; FSH- folikul stimulirajući hormon



### **3.3. Metode prikupljanja i obrade podataka**

Podatci su prikupljeni iz baze podataka MPO te iz povijesti bolesti pacijentica liječenih na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode, KBC Split.

Prikupljeni podatci su uneseni u program za izradu tabličnih proračuna Microsoft Excel. Analizirani su u SPSS statističkom paketu za Windows 23,0 (Armonk, NY, SAD). Kvalitativni podatci su prikazani apsolutnim brojem i postotkom. Kvantitativne podatke smo prikazali uz pomoć aritmetičke sredine i standardne devijacije ako su razdiobe bile normalne, a ako nisu uz pomoć medijana, interkvartilnog raspona i raspona. Normalnost razdiobe testirali smo Kolmogornog-Smirnovim testom. U statističkoj obradi korištene su metode deskriptivne statistike, Mann-Whitney U test, Spearmanov koeficijent koralacije i  $\chi^2$  testom. Rezultati su interpretirani na razini značajnosti od  $P < 0,05$ .

#### **4. REZULTATI**

Na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode, KBC Split u razdoblju od 1. siječnja 2016. do 1. srpnja 2018. godine napravljeno je 88 protokola medicinski potpomognute oplodnje (MPO) u pacijentica s endometriozom. Životna dob pacijentica iznosila je  $35,5 \pm 4,9$  godina (min-maks:25-47 god.).

**Tablica 10.** Broj (%) protokola prema metodi MPO u odnosu na beta-HCG te broj provedenih embriotransfera

Protokol MPO	Ukupno	ET	Beta-HCG	
			Negativan	Pozitivan
Prirodni IVF/ICSI	3 (3,4)	0	3 (4,0)	0
Blagi stimulirani IVF/ICSI	7 (8,0)	3 (4,9)	6 (8)	1
Agonistički protokol IVF/ICSI	9 (10,2)	9 (14,7)	5 (6,67)	4
Fiksni antagonistički protokol IVF/ICSI	4 (4,5)	3 (4,9)	3 (4)	1
Fleksibilni antagonistički protokol IVF/ICSI	47 (53,4)	36 (59)	43 (57,33)	4
Prirodni FET	8 (9,1)	8 (13,1)	7 (9,33)	1
Stimulirani FET	2 (2,3)	2 (3,3)	1 (1,33)	1
AIH	8 (9,1)	/	7 (9,33)	1
<b>Ukupno</b>	<b>88</b>	<b>61</b>	<b>75</b>	<b>13</b>

Podatci su prikazani kao apsolutni broj i postotak.

Iz Tablice 10. vidimo da je ukupni broj implantacija svih metoda MPO 13. Najčešće korišten protokol MPO je fleksibilno antagonistički protokol, koji je proveden u 47 slučajeva. Embriotransfer je napravljen u 36 protokola. Stopa implantacija ( $n=4$ ) u uzorku od 36 protokola je 11,1% (95% CI: 4,4-25,3%). U prirodnom FET-u i AIH-u postignuta je u svakoj skupini po 1 implantacija. Sličan je rezultat i u blagom stimuliranom IVF/ICSI-ju, 1 implantacija u 3 embriotransfera. U agonističkom protokolu IVF/ICSI metode postignute su 4

implantacije u 9 protokola. U fiksnom antagonističkom protokolu postignuta je 1 implantacija u 3 embriotransfera.

Metode medicinski potpomognute oplodnje smo podijelili u tri skupine. Od ukupnog broja protokola MPO u 70 (80%) protokola je korištena IVF/ICSI metoda, 10 (11%) FET te 8 (9%) AIH metoda. Embriotransfer je napravljen u 51-om protokolu IVF/ICSI metode, te je napravljen kod svih protokola FET metode.

**Tablica 11.** Broj (%) protokola prema beta-HCG u odnosu na metode MPO (IVF/ICSI po ET-u, FET po ET-u, AIH)

		MPO		
		IVF/ICSI (ET)	FET (ET)	AIH
Beta- HCG	Pozitivan	10 (19,6)	2	1
	Negativan	41 (80,4)	8	7

Podatci su prikazani kao apsolutan broj i postotak.

Iz Tablice 11. smo izračunali stopu implantacija IVF/ICSI i FET metoda po embriotransferu (61) te AIH metode (8) u pacijentica s endometriozom. Ona iznosi 18,8% (95% CI: 11,4-29,6). Stopa implantacije IVF/ICSI i FET metode po embriotransferu iznosi 19,7% (95% CI: 11-32,5%). Stopa implantacija IVF/ICSI metode po embriotransferu iznosi 19,6% (95% CI: 11-32,5%).

Usporedili smo stope implantacija pacijentica s dijagnozom endometrioze koje su se podvrgnule metodama MPO i svih ostalih pacijentica koje su došle na Zavod za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode, KBC Split u razdoblju od 1. siječnja 2016. do 1. srpnja 2018. godine.

U Tablici 12. prikazan je broj protokola IVF/ICSI i FET metode s provedenim embriotransferom te broj provedenih protokola AIH metode u pacijentica s endometriozom i svih ostalih neplodnih pacijentica s drugim dijagnozama koje su došle u splitski centar.

**Tablica 12.** Broj protokola IVF/ICSI i FET s ET-om i AIH napravljenih u centru (od 1. siječnja 2016. do 1. srpnja 2018. godine) te broj uspješnih implantacija

	IVF/ICSI-ET (+beta-HCG)	FET-ET (+beta-HCG)	AIH (+beta-HCG)
Pacijentice s dijagnozom endometrioze	51 (10)	10 (2)	8 (1)
Ostale pacijentice	685 (257)	72 (10)	216 (26)

Podatci su prikazani kao apsolutni broj.

Iz Tablice 12. se vidi da između pacijentica s dijagnozom endometrioze i svih ostalih pacijentica koje su pristupile metodi IVF/ICSI, postoji statistički značajna razlika u smislu manje učinkovitosti IVF/ICSI metode po embriotransferu u pacijentica s endometriozom ( $\chi^2=6,59$ ;  $P=0,01$ ). U pacijentica bez endometrioze IVF/ICSI s embriotransferom je primijenjen u 685 protokola. U 257 protokola beta-HCG je bio pozitivan. Dakle, stopa implantacije po embriotransferu u pacijentica bez endometrioze koje su pristupile metodi IVF/ICSI iznosi 37,5% (95% CI: 34-41,2%). Stopa implantacije u pacijentica s endometriozom dvostruko je manja te iznosi 18,8% (95% CI: 11,4-29,6).

U pacijentica bez endometrioze FET je primijenjen u 72 protokola od kojih je beta-HCG bio pozitivan u 10 protokola. Stoga, stopa implantacije krioprezervacije iznosi 16,6% (95% CI: 9,8-27%). U pacijentica s endometriozom FET je primijenjen u 10 protokola od kojih je u 2 protokola implantacija bila uspješna (Tablica 12.).

U pacijentica bez endometrioze AIH je primijenjen u 216 protokola. Beta-HCG je bio pozitivan u 26 protokola. Iz toga proizlazi da je stopa implantacije AIH metode 12% (95% CI: 8,3-17%). U pacijentica s endometriozom AIH je primijenjen u 10 protokola od kojih je beta-HCG jednom bio pozitivan (Tablica 12.).

U svim metodama MPO ukupno je napravljeno 973 protokola (IVF/ICSI i FET s ET-om i AIH) u pacijentica bez endometrioze. Beta-HCG je bio pozitivan u 293 protokola. Stopa implantacije iznosi 30,1% (95% CI: 27,3-33,1%). U pacijentica s endometriozom stopa implantacije svih metoda MPO (IVF/ICSI i FET s ET-om i AIH) iznosi 19,6% (95% CI: 11-32,5%). Dakle, između pacijentica s endometriozom i onih bez endometrioze postoji statistički značajna razlika u smislu manje učinkovitosti metoda medicinski potpomognute oplodnje u pacijentica s endometriozom ( $\chi^2=3,9$ ;  $P=0,047$ ) (Tablica 12.).

Metoda IVF/ICSI najčešće se primjenjuje u liječenju neplodnosti pacijentica s endometriozom. U Tablici 13. prikazane su istraživane varijable pacijentica koje su se podvrgnule IVF/ICSI metodi (prirodni, blagi, agonistički, fiksni i fleksibilni antagonistički protokol).

**Tablica 13.** Opisna statistika IVF/ICSI metode

Dob (godine) <sup>a</sup>	36±5,3
FSH (pmol/L) <sup>b</sup>	7,4 (6-11; 2,5-19)
AMH (pmol/L) <sup>b</sup>	6,8 (4-13; 0-60)
Ampule agonist/antagonist GnRH <sup>b</sup>	6 (3-7; 0-19)
Ampule gonadotropina <sup>b</sup>	17,5(10-28; 0-60)
Broj oocita <sup>b</sup>	3 (1-8; 0-20)
Broj zametaka <sup>b</sup>	2 (0-2; 0-5)
ETb	2 (0-2; 0-3)

Podatci su prikazani kao <sup>a</sup> aritmetička sredina i standardna devijacija, <sup>b</sup> medijan, interkvartilni raspon i raspon.

**Tablica 14.** Povezanost dobi pacijentica, AMH i FSH s beta-HCG-om

	Ukupno	Beta-HCG		P
		Negativan	Pozitivan	
Dob (godine) <sup>a</sup>	35,5±4,9	35,6±5,2	34,7±3,4	0,521*
AMH (pmol/L) <sup>b</sup>	6,9 (4,4-15; 1,1-36,8)	6,9 (4,4-15,1; 1,3-36,8)	5,7 (4,2-15; 1,1-36,8)	0,888†
FSH (pmol/L) <sup>b</sup>	7,3 (5,8-9,2; 2,5-18,8)	7,3 (5,7-9,3; 2,5-18,8)	7,3 (6,9-7,7; 4,9-14,6)	0,972†

Podatci su prikazani kao <sup>a</sup> aritmetička sredina i standardna devijacija, <sup>b</sup> medijan, interkvartilni raspon i raspon.

\**T test za nezavisne uzorke*; †*Mann-Whitney U test*

Iz Tablice 14. vidimo da se pacijentice nisu statistički značajno razlikovale prema dobi u odnosu na beta-HCG ( $t=0,645$ ;  $P=0,521$ ). Također, pacijentice se nisu statistički značajno razlikovale prema vrijednosti AMH u odnosu na beta-HCG ( $z=0,141$ ;  $P=0,888$ ) te prema vrijednosti FSH u odnosu na beta-HCG ( $z=0,035$ ;  $P=0,972$ ).

Analizom Spearmanovog koeficijenta korelacije ( $\rho$ ) vidimo da dob statistički značajno pozitivno, ali slabo korelira s vrijednostima FSH ( $\rho=0,270$ ;  $P=0,011$ ), a negativno s vrijednostima AMH ( $\rho=-0,330$ ;  $P=0,002$ ). Vrijednosti FSH statistički značajno negativno, ali slabo korelira s vrijednosti AMH ( $\rho=-0,342$ ;  $P=0,001$ ).

**Tablica 15.** Povezanost broja ampula agonista/antagonista GnRH, ampula gonadotropina, i broja oocita s beta-HCG-om

	Ukupno	Beta-HCG		P
		Negativan	Pozitivan	
Ampule agonist/antagonist GnRH	5 (0-7; 0-28)	5 (0-7; 0-28)	6 (3-11; 0-21)	0,312
Ampule gonadotropina	13,5(7-23; 0-60)	14 (0-23; 0-60)	10 (9-22; 0-33)	0,312
Broj oocita	2(1-6; 0-20)	2(1-6; 0-20)	4(1-8; 0-13)	0,215
Zametci	2(0-2; 0-5)	1(0-2; 0-5)	2(1-2; 1-3)	0,033

Podatci su prikazani kao medijan, interkvartilni raspon i raspon.

*\*Mann-Whitney U test*

Nije dokazana statistički značajnu povezanost broja danih ampula agonista/antagonista GnRH ( $z=0,101$ ;  $P=0,312$ ), ampula gonadotropina ( $z=1,03$ ;  $P=0,828$ ) i broja jajnih stanica ( $z=1,24$ ;  $P=0,215$ ) u odnosu na stopu implantacije. Medijan broja zametaka za 1 je veći u pacijentica s pozitivnim beta-HCG-om nego u pacijentica s negativnim beta-HCG-om ( $z=2,13$ ;  $r=0,23$ ;  $P=0,033$ ) (Tablica 15.).

**Tablica 16.** Spearmanov koeficijent korelacije (rho) broja ampula agonista/antagonista GnRH, ampula gonadotropina, vrijednosti FSH i AMH te dobi s brojem jajnih stanica i zametcima

---

Spearmanov koeficijent korelacije rho (P):

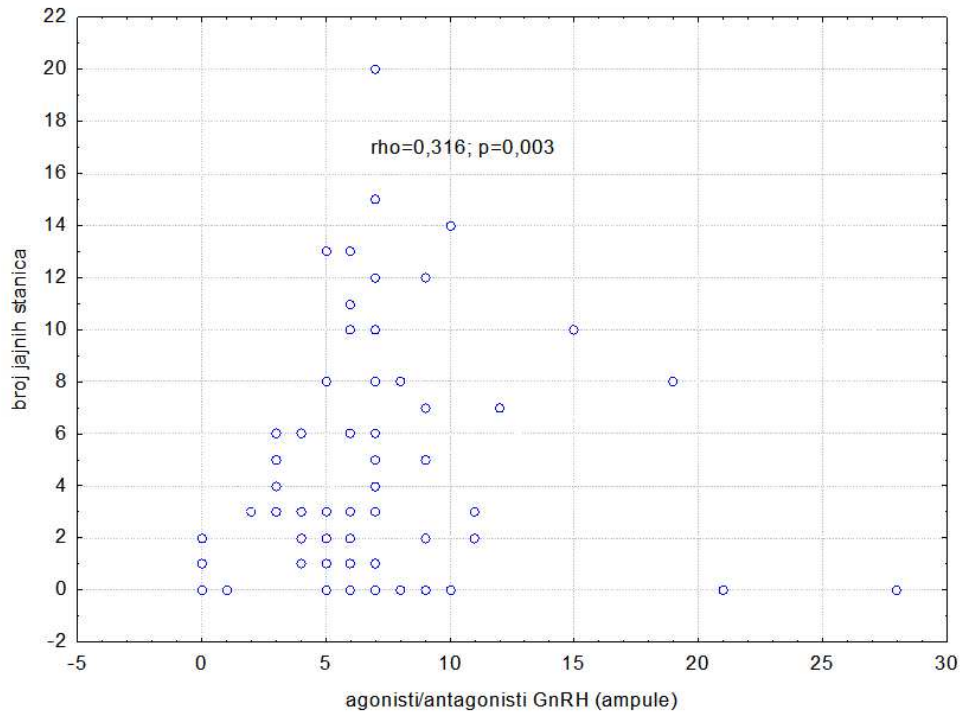
	Brojem jajnih stanica	Brojem zametaka
Ampule agonista/antagonista GnRH	0,316 (P=0,003)	0,313 (P=0,003)
Ampule gonadotropina	0,247 (P=0,021)	0,246 (P=0,021)
FSH (pmol/L)	-0,226 (P=0,034)	-0,269 (P=0,011)
AMH (pmol/L)	0,328 (P=0,002)	0,119 (P=0,268)
Dob	-0,06 (P=0,579)	0,0376 (P=0,728)

---

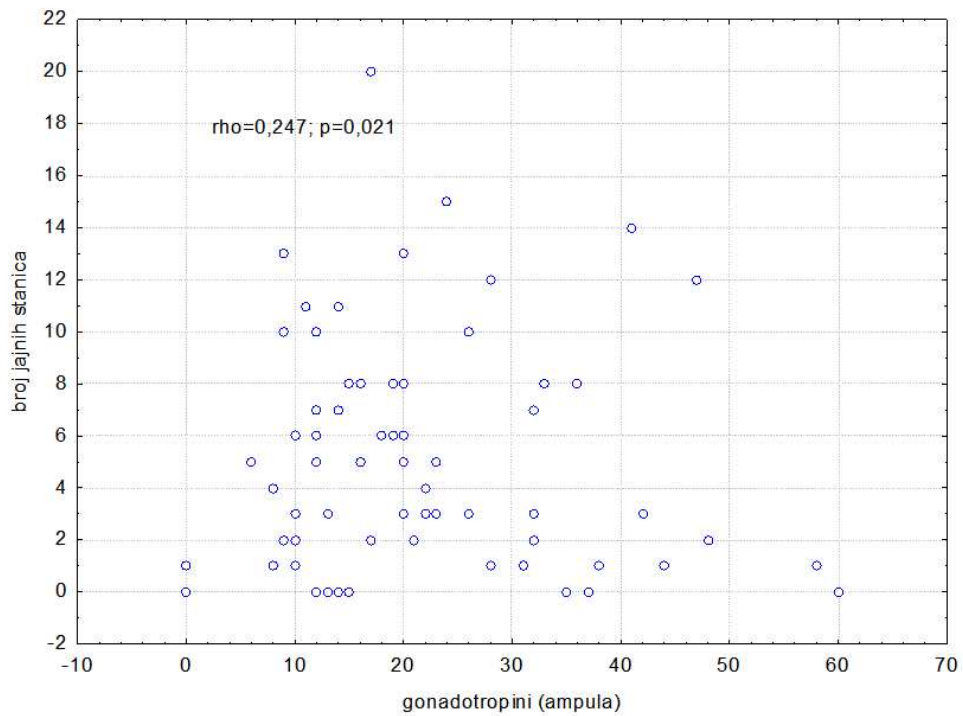
Podatci su prikazani kao apsolutni broj.

Iz Tablice 16. vidimo da broj jajnih stanica i broj zametaka statistički značajno, ali slabo i pozitivno koreliraju s brojem ampula agonista/antagonista GnRH i ampula gonadotropina ( $P < 0,05$ ) (Slika 3. i 4.). Broj jajnih stanica i broj zametaka statistički značajno, ali slabo i negativno korelira s vrijednostima FSH ( $P < 0,05$ ) (Slika 5.). Broj jajnih stanica statistički značajno i pozitivno korelira s vrijednostima AMH. Nismo dokazali statistički značajnu povezanost vrijednosti AMH s brojem zametaka ( $P > 0,05$ ) (Slika 6.). Dob statistički značajno ne korelira ni s brojem jajnih stanica ni s brojem zametaka ( $P > 0,05$ ).

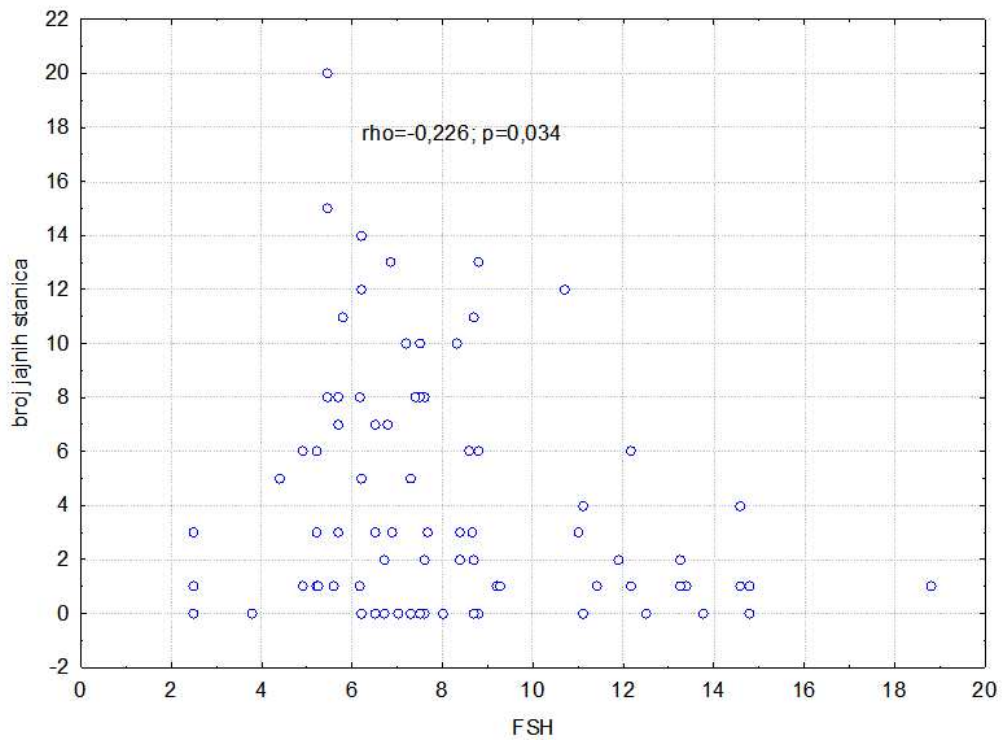




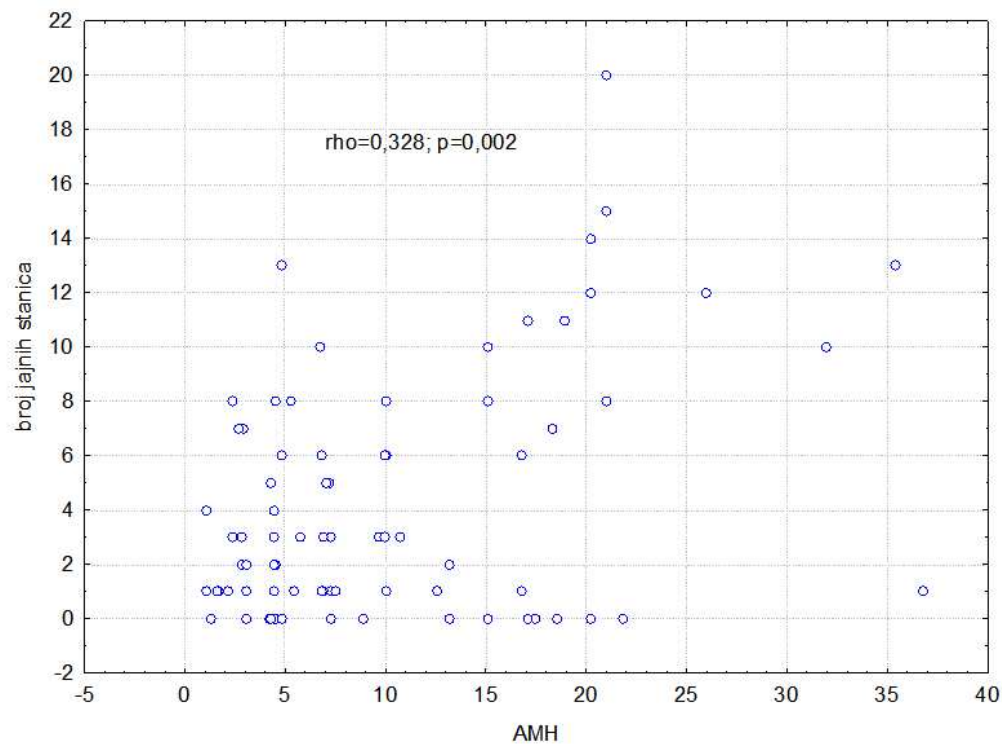
**Slika 3.** Korelacija broja jajnih stanica s brojem ampula agonista/antagonista GnRH



**Slika 4.** Korelacija broja jajnih stanica s brojem ampula gonadotropina



**Slika 5.** Korelacija broja jajnih stanica s vrijednostima FSH (pmol/L)



**Slika 6.** Korelacija broja jajnih stanica s vrijednostima AMH (pmol/L)

## **5. RASPRAVA**

Rezultati ovog istraživanja prikazuju uspješnost medicinski potpomognute oplodnje u pacijentica s endometriozom. Kao primarna mjera ishoda uzeta je stopa implantacije (pozitivan HCG). Ukupna stopa implantacije u 3 različite metode (IVF/ICSI po ET-u, FET po ET-u i AIH) MPO u pacijentica s endometriozom iznosila je 19,6% (95% CI: 11-29,6%). Stopa implantacije IVF/ICSI metode po embriotransferu iznosi 18,8% (95% CI: 11,4-29,6%). Uspoređujući stopu implantacija pacijentica s dijagnozom endometrioze i neplodnih pacijentica s drugim dijagnozama (npr. tubarna neplodnost, idiopatska neplodnost) koje su došle u splitski centar, dokazali smo da postoji statistički značajna razlika u smislu manje učinkovitosti metoda medicinski potpomognute oplodnje u pacijentica s endometriozom ( $\chi^2=3,9$ ;  $P=0,047$ ). Glavno ograničenje ove studije je mali broj pacijentica u usporedbi s drugim studijama. Buduća istraživanja bi trebala obuhvatiti veći vremenski period i puno veći broj pacijentica jer postoji mnogo faktora koji osim same endometrioze mogu utjecati na uspješnost postupaka.

U retrospektivnom istraživanju kojeg su proveli Senapati, Sammel, Morse i Barnhart u SAD-u, prosječna dob žena je slična kao i kod našeg istraživanja te iznosi  $34.4 \pm 4,1$  godine (55). Studija nije obuhvaćala metodu artifičijalne inseminacije (AIH), nego je promatrana uspješnost implantacije IVF/ICSI i FET metode po embriotransferu. Ukupna stopa implantacije po embriotransferu tih dviju metoda u pacijentica s dijagnozom endometrioze iznosi 31,1%. Kao i u našoj studiji, uspoređivane su stope implantacija između pacijentica s endometriozom i pacijentica koje su neplodne iz nekih drugih razloga (idiopatska neplodnost). Rezultati ovog istraživanja također pokazuju smanjenu stopu implantacije u pacijentica s endometriozom u usporedbi s ostalim pacijenticama. Retrospektivna studija Donga i sur. pokazuje veće stope implantacije IVF/ICSI metode po embriotransferu od našeg istraživanja. Dok u našoj studiji pacijentice nisu klasificirane po ASRM, ovdje stopa implantacije za I. i II. stadij endometrioze iznosi 35%, dok za III. i IV. stadij iznosi 29,1%. Treba napomeniti da je prosječna dob ovih pacijentica  $31 \pm 3,2$  godine, dok su u ovom istraživanju bile u prosjeku 5 godina starije. Studija nije pokazala statistički značajne razlike u stopama implantacija pacijentica s tubarnom neplodnosti i onih s endometriozom (2). Suzuki i sur. proveli su retrospektivno istraživanje u Tokiju, gdje su između ostalog promatrali stopu implantacije u pacijentica s endometriozom. Prosječna dob pacijentica u ovom istraživanju je  $34 \pm 3,3$  godine. Stopa implantacije IVF metode po embriotransferu iznosi 25,3%. Važno je naglasiti da u ovoj studiji nije kod svih pacijentica primjenjena ICSI metoda, te se smatra da će primjena te metode povećati stopu implantacije (56). Artifičijalna inseminacija (AIH)

danas se rjeđe koristi u liječenju neplodnosti pacijentica s endometriozom, stoga je i malo istraživanja provedeno na tu temu. Guao i sur. su istraživali uspješnost FET-a u prirodnom ciklusu kod pacijentica s endometriozom ASMR III. i IV stadij. Pacijentice su u prosjeku imale 32 godine, dok je stopa implantacije iznosila 36% (57). U našem istraživanju stopa implantacije FET metode u prirodnom ciklusu nije izračunata zbog premalog broja provedenih protokola. Kod samo 8 provedenih protokola, implantacija je postignuta u jednom.

Zrela jajna stanica je ona u metafazi druge mejotičke diobe. Istraživanja su pokazala da jajna stanica u MII fazi ima veću stopu fertilizacije tijekom IVF/ICSI metode (58). Medijan dobivenih jajnih stanica u MII fazi iznosi 3 (1-8; 0-20). Nije dokazana statistički značajna povezanost broja jajnih stanica i stope implantacije. U istraživanju kojeg su proveli Lima i sur. medijan prikupljenih jajnih stanica u pacijentica s endometriozom iznosio je 2 (0.5-5; 0-12). U toj studiji nije dokazana statistički značajna razlika između broja prikupljenih oocita pacijentica s i bez endometrioze (59). Smanjeni broj kvalitetnih jajnih stanica u pacijentica s endometriozom pokazuje studija slučajeva koju su proveli Shebl i suradnici. Studija je uočila smanjenu stopu fertilizacije u tih pacijentica, međutim nije dokazana značajna povezanost između broja prikupljenih jajnih stanica i stope implantacije (60).

Za procjenu kvalitete embrija važni su broj, pravilnost i fragmentiranost stanica. U ovom istraživanju promatran je broj stanica pojedinog embrija te je dobrim embrijem smatran svaki koji ima 4 stanice ako se radilo o drugom danu ET, odnosno na treći i peti dan 6 i 8 stanica. Medijan broja dobivenih zametaka iznosi 2 (0-2; 0-5) te je za 1 veći od medijana zametaka pacijentica s neuspješnom implantacijom. Dong i sur. su dokazali smanjeni broj blastocista u pacijentica s endometriozom ( $P < 0,05$ ). To se objašnjava smanjenom kvalitetom dobivenih oocita prikupljenih iz jajnika s endometriotičnim implantatima (2).

Nismo dokazali statistički značajnu povezanost stope implantacije i broja danih ampula agonista/antagonista GnRH ( $P = 0,312$ ) i ampula gonadotropina ( $P = 0,828$ ). Međutim, broj prikupljenih jajnih stanica i broj zametaka statistički značajno i pozitivno koreliraju s brojem ampula agonista/antagonista GnRH i ampula gonadotropina ( $P < 0,05$ ). Bitno je naglasiti da u našem istraživanju nisu u obzir uzeti gonadotropini i agonisti/antagonisti kojima su pacijentice stimulirane te njihova doza. Dong i sur. su dokazali da relativno agresivna kontrolirana stimulacija jajnika može smanjiti negativne efekte endometrioze na jajnike. Time dolazi do veće proizvodnje oocita u MII fazi i većeg broja kvalitetnih zametaka (2). Berker i

sur. su zaključili da ne postoji statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) u stopi implantacija u pacijentica koje su primile visoke doze gonadotropina u agonističkim i antagonističkim protokolima IVF/ICSI metode, u usporedbi s pacijenticama koje su primale manje doze. Također, nisu dokazali statistički značajnu razliku ( $P < 0,05$ ) između tih pacijentica u broju prikupljenih oocita (61).

U našoj studiji životna dob pacijentica koje su pristupile IVF/ICSI metodi iznosila je  $36 \pm 5,3$  godina. Pacijentice se nisu statistički značajno razlikovale prema dobi u odnosu na stopu implantacije ( $P = 0,521$ ). Istraživanje Bile i sur. pokazuje da je stopa implantacije veća u pacijentica koje su se podvrgnule IVF/ICSI metodi prije 35-te godine života. Također je dokazano da je uspješnost implantacije veća, ako neplodnost traje do 3 godine ( $P < 0,039$ ) (62). Novija istraživanja ukazuju, da ne postoji statistički značajna razlika u stopi implantacije kod pacijentica mlađih od 25 godina u usporedbi s pacijenticama u 30-im godinama života (63). Ova studija bi mogla objasniti dobivene rezultate našeg istraživanja, iako nije obuhvaćala pacijentice s dijagnozom endometrioze.

Bila i sur. su dokazali da s godinama vrijednost FSH raste, dok vrijednost AMH pada. Također, dokazano je da su serumske vrijednosti AMH u pacijentica s endometriozom u pozitivnoj korelaciji s brojem prikupljenih oocita. S druge strane nije dokazana korelacija vrijednosti FSH i broja prikupljenih jajnih stanica, što sugerira da je vrijednost AMH bolji marker rezerve jajnika od vrijednosti FSH i dobi pacijentica (62). U našem istraživanju smo dokazali da dob statistički značajno i pozitivno korelira s vrijednostima FSH ( $P = 0,011$ ), a negativno s vrijednostima AMH ( $P = 0,002$ ). Također smo dokazali da broj jajnih stanica statistički značajno i negativno korelira s vrijednosti FSH ( $P < 0,05$ ). S druge strane broj jajnih stanica statistički značajno i pozitivno korelira s vrijednostima AMH ( $P < 0,05$ ). Rezultati dakle potvrđuju istraživanje Bile i suradnika, međutim vrijednosti FSH i AMH ne možemo uspoređivati zbog korištenja drugih mjernih jedinica u našem istraživanju (pmol/L).

Iz ovih rezultata možemo zaključiti da IVF/ICSI metoda daje najbolje rezultate, te je ujedno i najčešće korištena metoda MPO u liječenju neplodnosti pacijentica s dijagnozom endometrioze. Istraživanje na većem broju pacijentica bi moglo donijeti više spoznaja o tome koji je protokol najbolji za korištenje. U Splitu se najčešće koristio fleksibilno antagonistički protokol, dok su ostali protokoli primjenjeni kod malog broja pacijentica te se zbog toga ne mogu napraviti usporedbe koje bi bile statistički značajne. Rezultati također upućuju da, između pacijentica s dijagnozom endometrioze i svih ostalih pacijentica u splitskom centru

koje su pristupile metodi IVF/ICSI, postoji statistički značajna razlika u smislu manje učinkovitosti IVF/ICSI metode po embriotransferu u pacijentica s endometriozaom ( $P=0,01$ ). Osim toga, dokazana je i smanjena učinkovitost svih metoda MPO kod tih pacijentica ( $P=0,047$ ). Važno je naglasiti da u obzir nismo uzimali partnerovu neplodnost, koja je učestala te također utječe na rezultate ovog istraživanja.

## **6. SAŽETAK**



1. IVF/ICSI metoda MPO se najčešće koristi u liječenju neplodnosti pacijentica s dijagnozom endometrioze. U ovom istraživanju stopa implantacije IVF/ICSI metode je 18,8%.
2. Dokazano je da pacijentice s endometriozom koje su pristupile IVF/ICSI metodi imaju smanjenu stopu implantacije po embriotransferu u usporedbi s ostalim neplodnim pacijenticama koje su se podvrgnule ovoj istoj metodi MPO.
3. Istraživanje pokazuje da postoji značajna razlika u smislu manje učinkovitosti svih metoda MPO u pacijentica s endometriozom u usporedbi s ostalim neplodnim pacijenticama.
4. Nije dokazana značajna povezanost broja prikupljenih jajnih stanica i stope implantacije, kao ni povezanost broja danih ampula agonista/antagonista GnRH i ampula gonadotropina sa stopom implantacije.
5. S brojem danih ampula stimulirajućih hormona, broj prikupljenih jajnih stanica i broj zametaka se povećava.
6. U ovom istraživanju smo dokazali da s dobi serumska razina FSH raste dok razina AMH pada.
7. Broj jajnih stanica statistički značajno i negativno korelira s vrijednosti FSH, a pozitivno s vrijednosti AMH.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Sourial S, Tempest N, Hapangama DK. Theories on the pathogenesis of endometriosis. *Int Reprod Med.* 2014;2014:179515.
2. Dong X, Liao X, Zhang H. The impact of endometriosis on IVF/ICSI outcomes. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(9):1911-8.
3. Parasar P, Ozcan P, Terry KL. Endometriosis: epidemiology, diagnosis and clinical management. *Curr Obstet Gynecol Rep.* 2017;6(1):34-41.
4. Ashrafi M, Sadatmahalleh SJ, Akhooonh MR, Talebi M. Evaluation of risk factors associated with endometriosis in infertile women. *Inj J Fertil Steril.* 2016;10(1):11-21.
5. Dessole M, Melis GB, Angioni S. Endometriosis in adolescence. *Obstet Gynecol Int.* 2012;2012:869191.
6. Herington J, Bruner-Tran KL, Lucas JA, Osteen KG. Immune interactions in endometriosis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2011;7(5):611-26.
7. Taylor HS, Bagot C, Kardana A, Olive D, Arici A. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 1999;14:1328-31.
8. Markanović Mišan M, Smiljan Severinski N. Endometriosis and infertility. *Med Flum.* 2013;49(2):157-66.
9. Šimunić V. Endometrioza. U: Šimunić V, i sur. *Ginekologija.* Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. str. 241-6.
10. Koninckx PR, Kennedy SH, Barlow DH. Endometriotic disease: the role of peritoneal fluid. *Hum Reprod Up.* 1988;4:741-51.
11. Young VJ, Brown JK, Saunders PT, Home AW. The role of the peritoneum in the pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2013;19(5):558-69.
12. Bulun SE, Fang Z, Imir G, Gurates B, Tamura M, Yilmaz B, i sur. Aromatase and endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2004;22(1):45-50.
13. Hashim HA. Potential role of aromatase inhibitors in the treatment of endometriosis. *Inter J Womens Health.* 2014;6:671-80.

14. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, i sur. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol.* 2006;248(1-2):94-103.
15. Tro KG, Kujund RN, Grbe I. Epigenetics and gene physiology. *Med Flum.* 2009;45(2):127-35.
16. Šimunić V. Endometrioza. U: Šimunić V, i sur. *Reprodukcijaska endokrinologija i neplodnost.* Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 205-24.
17. Babić D, Kos M, Tomić S, Krašević M. Bolesti Ženskog spolnog sustava. U: Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M. *Patologija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2014. str. 597-639.
18. Mehedintu C, Plotogea MN, Ionescu S, Antonovici M. Endometriosis still a challenge. *J Med Life.* 2014;7(3):349-57.
19. Morroti M, Vincent K, Becker CM. Mechanisms of pain in endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;209:8-13.
20. Gupta J. Endometriosis. U: Magowan BA, Owen P, Thomson A. *Clinical Obstetrics and Gynaecology.* Amsterdam: Saunders Elsevier; 2014. str. 105-9.
21. Reece EA, Barbieri RL. Endometriosis and Adenomyosis. U: Reece EA, Barbieri RL. *Obstetrics and Gynecology: The Essentials of Clinical Care.* Berlin: Thieme Publishing Group; 2010. str. 315-21.
22. Albert LH, Khackikyan I, Stratton P. Invasive and non-invasive methods for the diagnosis of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.* 2010;53(2):413-9.
23. Al-Jefout M, Dezarnaulds G, Cooper M, Tokushige N, Luscombe GM, Markham R, i sur. Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Hum Reprod.* 2009;24(12):3019-24.
24. Bokor A, Kyama CM, Vercruyse L. Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semi-invasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis. *Hum Reprod.* 2009;24(12):3025-32.
25. Adamson GD. Endometriosis classification: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2011;23(4):213-20.

26. Mettler L, Ruprai R, Alkatout I. Impact of medical and surgical treatment of endometriosis on the cure of endometriosis and pain. *Biomed Res Int.* 2014;2014:264653.
27. Zito G, Luppi S, Giolo E, Martinelli M, Venturin I, Di Lorenzo G, i sur. Medical treatments for endometriosis-associated pelvic pain. *Biomed Res Int.* 2014;2014:191967.
28. Connolly TP. Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Gynecologic Practice. *Clin Med Res.* 2003;1(2):105-10.
29. Shun W, Wong F, Eung C, Lim D. Hormonal treatment for endometriosis associated pelvic pain. *Iran J Reprod Med.* 2011;9(3):163-70.
30. Katzung B, Masters S, Trevor A. Spolni hormoni i njihovi inhibitori. U: Katzung B, Masters S, Trevor A. *Temeljna i klinička farmakologija.* Zagreb: Medicinska naklada; 2011. str. 699-727.
31. Nesbitt-Hawes EM, Campbell N, Maley PE, Won H, Hooshmand D, Henry A, i sur. The surgical treatment of severe endometriosis positively affects the chance of natural or assisted pregnancy postoperatively. *Biomed Res Int.* 2015;2015:438790.
32. Hera-Lazaro CM, Muñoz-González J, Perez RO, Vellido-Cotelo R, Díez-Álvarez A, Muñoz-Hernando L, i sur. Radical surgery for endometriosis: analysis of quality of life and surgical procedure. *Clin Med Insights Womens Health.* 2016;9:7-11.
33. Shawki HED. The efficacy of laparoscopic uterosacral nerve ablation (LUNA) in the treatment of unexplained chronic pelvic pain: a randomized controlled trial. *Gynecol Surg.* 2011;8(1):31-9.
34. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellowa HJ. *WHO Manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple.* Cambridge: Cambridge University Press; 2000. str. 1-92.
35. Ciglar S. Bračna neplodnost. U: Šimunić V, Ciglar S, Suchanek E. *Ginekologija.* Zagreb: Naklada ljevak; 2001. str. 349-57.
36. Bhattacharya S. Infertility. U: Edmonds K. *Dewhurst's Textbook of Obstetrics and Gynaecology.* London: Blackwell Publishing; 2007. str. 440-60.

37. Šimunić V. Neplodnost žena. U: Šimunić V, i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 145-7.
38. Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2012;39(4):535-49.
39. Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, i sur. ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2014;29(3):400-12.
40. Okhovati M, Zare M, Zare F, Bazrafshan MS, Bazrafshan A. Trends in global assisted reproductive technologies research: a scientometrics study. *Electron Physician.* 2015;7(8):1597-601.
41. Šimunić V. Medicinski potpomognuta oplodnja. U: Šimunić V, i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga, 2012. str. 471-6.
42. Šimunić V. Izvantjelesna oplodnja i druge metode pomognute oplodnje u čovjeka. U: Šimunić V, i sur. Ginekologija. Zagreb: Ljevak; 2012. str. 357-67.
43. Ombelet W, Robays JV. Artificial insemination history: hurdles and milestones. *Facts Views Vis Obgyn.* 2015;7(2):137-43.
44. Šimunić V. Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju. *Zdravlje i kvaliteta života žene.* 2013;104:132-46.
45. Badaway A, Elnashar A, Totongy M. Clomiphene citrate or aromatase inhibitors for superovulation in women with unexplained infertility undergoing intrauterine insemination: a prospective randomized trial. *Fertil Steril.* 2009;92(4):1355-9.
46. Šimunić V. Izvantjelesna oplodnja – in vitro fertilizacija. U: Šimunić V, i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 485-503.
47. Eftekhari M, Mohammadian F, Yousefnejad F, Molaei B, Aflatoonian A. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. *Iran J Reprod Med.* 2012;10(2):131-6.

48. Davar R, Mojtahedi FM, Miraj S. Effects of single dose GnRH agonist as luteal support on pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfer cycles: an RCT. *Iran J Reprod Med.* 2015;13(8):483-8.
49. Šimunić V. Kako poboljšati rezultate izvantjelesne oplodnje? U: Šimunić V, i sur. *Reprodukcijaska endokrinologija i neplodnost.* Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 567-604.
50. Trew G. Assisted reproduction. U: Edmonds K. *Dewhurst's Textbook of Obstetrics and Gynaecology.* London: Blackwell Publishing; 2007. str. 461-78.
51. Beckmann CRB, Ling FW, Barzansky BM, Herbert W, Laube DW, Smith RP. Infertility. U: Heise J, Verbiar J. *Obstetrics and Gynecology.* Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. str. 337-46.
52. Depalo R, Jayakrishan K, Garruti G, Totaro I, Panzarino M, Giorgino F, i sur. GnRH agonist versus GnRH antagonist in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Reprod Biol Endocrinol.* 2012;10:26.
53. Tarlatzis B, Fauser B, Kolibianakis E, Diedrich K, Devroey P. GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF. *Human Reproduction Update.* 2006;12(4):333-40.
54. Yoo HJ, Cha SH, Park CW, Kim JY, Yang KM, Song IO, i sur. Serum anti-Müllerian hormone is a better predictor of ovarian response than FSH and age in IVF patients with endometriosis. *Clin Exp Reprod Med.* 2011;38(4):222-7.
55. Senapati S, Sammel MD, Morse C, Barnhart KT. Impact of endometriosis on IVF outcomes: san evaluation of the society for assisted reproductive technologies database. *Fertil Steril.* 2016;106(1):164-71.
56. Suzuki T, Izumi S, Matsubayashi H, Awaji H, Yoshikata K, Makino T. Impact of ovarian endometrioma on oocytes and pregnancy outcome in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2005;83(4):908-13.
57. Guo H, Wang Y, Chen Q, Chai W, Lv Q, Kuang Y. Effect of natural cycle endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer in patients with advanced endometriosis. *Med Sci Monit.* 2016;22:4596-603.

58. Alvarez C, Garcia-Garrido C, Taronger R, Gonzalez G. In vitro maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection. *Indian J Med Res.* 2013;137(2):331-8.
59. Lima ML, Martins WP, Coelho Neto MA, Nastri CO, Ferriani RA, Navarro PA. Assessment of ovarian reserve by antral follicle count in ovaries with endometrioma. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(2):239-42.
60. Shelb O, Sifferlinger I, Habelsberger A, Oppelt P, Mayer RB, Petek E, i sur. Oocyte competence in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection patients suffering from endometriosis and its possible association with subsequent treatment outcome: a matched case control study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2017;96(6):736-44.
61. Berker B, Duvan CI, Kaya C, Aytac R, Satioglu H. Comparison of the ultrashort gonadotropin-releasing hormone agonist-antagonist protocol with microdose flare -up protocol in poor responders: a preliminary study. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2010;11(4):187-93.
62. Bila JS, Vidakovic S, Radjenovic Spremovic S, Dokic M, Surlan L, Sparic R. Predictors of IVF/ICSI success following treatment of endometriosis as the cause of primary infertility. *Ginekol Pol.* 2018;89(5):240-8.
63. Nazemian Z, Esfandiari N, Javed M, Casper RF. The effect of age on in vitro fertilization: is too young possible?. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28(2).101-6.



## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Cilj je ovog istraživanje utvrditi uspješnost medicinski potpomognute oplodnje u pacijentica s endometriozaom. Drugi cilj je utvrditi medijan prikupljenih oocita i dobivenih zametaka, medijan ukupne doze stimulirajućih hormon te otkriti utjecaj dobi pacijentica i serumske razine FSH i AMH na stopu implantacije.

**Materijali i metode:** Ovo retrospektivno istraživanje provedeno je u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split u razdoblju od 1. siječnja 2016. do 1. srpnja 2018. godine. Podatci su prikupljeni iz povijesti bolesti pacijentica te iz baze podataka MPO Zavoda za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju. U istraživanje je uključeno 28 pacijentica u dobi od 25 do 47 godina. Prikupljeni su podatci o vrsti protokola i gonadotropinima koji su korišteni u liječenju, jajnim stanicama dobivenim aspiracijom, zamecima, provedenim embriotransferima, HCG-u te serumskim razinama FSH i AMH. Pacijentice s dijagnozom endometrioze koje su se podvrgnule MPO uključene su u istraživanje. Kriteriji isključenja bili su hiperprolaktinemija i bolesti štitnjače.

**Rezultati:** Ukupna stopa implantacije IVF/ICSI po ET-u, FET po ET-u i AIH-a u pacijentica s endometriozaom iznosila je 19,6%, dok je u ostalih neplodnih pacijentica iznosila 30,1%. Stopa implantacije IVF/ICSI metode po ET-u u pacijentica s endometriozaom iznosi 18,8%, a u neplodnih pacijentica bez endometrioze iznosi 37,5% (95% CI: 34-41,2%). Analizom 88 protokola MPO provedenih u 28 pacijentica s endometriozaom dobiveni medijan jajnih stanica iznosi 2 (1-6; 0-20), medijan zametaka 2 (0-2; 0-5), medijan ampula gonadotropina 13,5 (7-23; 0-60) te medijan ampula agonista/antagonista GnRH 5 (0-7; 0-28). Broj prikupljenih jajnih stanica ( $P=0,215$ ), danih ampula gonadotropina ( $P=0,828$ ) i danih ampula agonista/antagonista GnRH ( $P=0,312$ ) ne korelira sa stopom implantacije. Medijan broja zametaka za 1 je veći kod pacijentica s uspješnom implantacijom ( $P=0,033$ ). Dob ( $P=0,521$ ), serumska razini FSH ( $P=0,888$ ) i AMH ( $P=0,972$ ) ne utječe na stopu implantacije.

**Zaključci:** IVF/ICSI metoda MPO se najčešće koristi u liječenju neplodnosti pacijentica s endometriozaom. Pacijentice s dijagnozom endometrioze koje su pristupile IVF/ICSI metodi imaju smanjenu stopu implantacije po embriotransferu u usporedbi s ostalim neplodnim pacijenticama koje su se podvrgnule ovoj istoj metodi MPO. Dokazana je smanjena učinkovitost svih metoda MPO u pacijentica s endometriozaom.

## **9. SUMMARY**

**Diploma Thesis Title:** The efficacy of assisted reproductive technology in patients with endometriosis

**Objectives:** This thesis aims to evaluate the implantation rate in patients with endometriosis. Furthermore, its goal is to establish the median of retrieved oocytes and embryos, median of total dosage of stimulating hormones as well as to discover the impact of age and serum levels of FSH and AMH on implantation rate.

**Patients and methods:** This retrospective study was carried out at the Department of Gynecology and Obstetrics in University Hospital of Split from January 1st 2016 till July 1st 2018. The data on the protocol type and gonadotropins used in the treatment, number of retrieved oocytes, embryos and embriotransfers, serum levels of HCG, FSH and AMH were collected from patients' medical histories and from an ART database at the Institute for Gynecological Endocrinology and Human Reproduction. A total of 28 women, aged 25-47, participated in the study. Patients with endometriosis undergoing assisted reproductive technologies were included, while patients with thyroid disease and hyperprolactinemia were excluded from the study.

**Results:** Total implantation rate of IVF/ICSI per ET, FET per ET and AIH in patients with endometriosis was 19.6%, while the implantation rate in infertile patients without endometriosis was 30.1%. The implantation rate of IVF/ICSI method per embriotransfer in patients with endometriosis was 18.8%, while the implantation rate in infertile women without endometriosis was 37.5%. 88 protocols in 28 patients were analysed. Median of retrieved oocytes was 2 (1-6; 0-20), median of embryos was 2 (0-2; 0-5), median of gonadotropin ampules was 13.5 (7-23; 0-60) and the median of agonist/antagonist GnRH ampules was 5 (0-7; 0-28). The number of retrieved oocytes ( $P=0.215$ ), ampules of gonadotropin ( $P=0.828$ ) and ampules of agonist/antagonist GnRH did not have an impact on implantation rate. The number of embryos did have an impact on implantation rate ( $P=0.033$ ). Age ( $P=0.521$ ), serum level of FSH ( $P=0.888$ ) and AMH ( $P=0.972$ ) did not have an impact on implantation rate.

**Conclusions:** IVF/ICSI is the first choice method of ART in threatening infertility in women with endometriosis. Patients with endometriosis undergoing IVF/ICSI have a lower implantation rate per embriotransfer than other infertile women. The efficacy of ART is lower in women with endometriosis.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**OPĆI PODACI:**

Ime i prezime: Antea Trogrlić

Datum i mjesto rođenja: 27. rujna 1993. godine, Split, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa: Svetog Nikole Tavelića 48, Split 21000

E-mail: trogrlicantea27@gmail.com

**OBRAZOVANJE:**

2000. – 2008. Osnovna škola Marjan, Split

2008. – 2012. Prirodoslovno-tehnička škola; Prirodoslovna gimnazija, Split

2012. – 2018. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studijski program medicina

**ZNANJA I VJEŠTINE:**

Aktivno korištenje engleskog jezika.

Poznavanje talijanskog i španjolskog jezika.