



UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET

AKADEMSKE DOKTORSKE STUDIJE KLINIČKE MEDICINE

**ULOGA HISTEROSKOPIJE U TRETMANU INFERTILITETA  
POSTUPCIMA VANTELESNE OPLODNJE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Prof. dr Aleksandra Trninić Pjević

Kandidat:

Stevan Milatović

Novi Sad, 2017. godine

Doktorski rad Stevana Milatovića

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET  
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Stevan Milatović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Aleksandra Trninić Pjević
Naslov rada: NR	Uloga histeroskopije u tretmanu infertiliteta postupcima vantelesne oplodnje
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2017.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Hajduk Veljkova 3, 21 000 Novi Sad, Srbija

Fizički opis rada: FO	8 poglavlja / 201 stranica / 33 slike / 89 grafikona / 33 tabele / 285 referenci / 1 prilog
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Ginekologija i akušerstvo
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	infertilitet; vantelesna oplodnja; histeroskopija; randomizirane kontrolisane studije; asistirane reproduktivne tehnologije; gubitak embriona; implantacija embriona; polipi; miomi; adenomioza; ishod terapije; stopa trudnoće; prognoza; pacijenti; stav
UDK	618.14-072.1 618.177-089.888.11
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinski fakulteta Novi Sad, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, Srbija
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<b>Uvod:</b> Infertilitet pogađa 10-15% parova reproduktivnog doba. Vanetesna oplodnja (VTO) je najefikasniji vid tretmana infertiliteta, ali uprkos značajnom napretku stopa uspeha VTO u proseku iznosi oko 30% po ciklusu. Glavnim razlogom neuspeha smatra se neadekvatan kvalitet embriona, dok se pretpostavlja da u 10-20% slučajeva razlog neuspeha leži u neadekvatnoj receptivnosti uterusa. Na osnovu inicijalnih istraživanja histeroskopija, koja predstavlja zlatni standard u dijagnostici i tretmanu patologije kavuma uterusa, se često izvodi u svakodnevnoj kliničkoj praksi kako bi se povećala uspešnost VTO. Uprkos širokoj primeni i dalje ne postoji dovoljno kvalitetnih dokaza o realnoj ulozi histeroskopije na ishod VTO kako kod patoloških stanja kavuma tako i rutinski, pre prvog ili rekurentnog pokušaja VTO. <b>Cilj disertacije</b> bio je da se utvrdi uticaj sprovođenja histeroskopije na ishod VTO, ustanovi učestalost prethodno neprepoznate patologije kavuma uterusa, kao i da se ispituju stavovi pacijenata o primeni rutinske histeroskopije pred VTO. <b>Materijal i metode:</b> Istraživanje je sprovedeno u Kliničkom centru Vojvodine, u formi prospektivne studije u dve sukcesivne etape od 01.01.2015. do 01.04.2017. U prvoj etapi poređen je ishod VTO kod pacijentkinja kojima pred postupak VTO nije sprovedena histeroskopija (Grupa A), pacijentkinja kod kojih je dobijen uredan nalaz histeroskopije pred postupak VTO (Grupa B) i pacijentkinja gde je pred postupak VTO dobijen patološki nalaz kavuma na histeroskopiji koji je u istom aktu tertian (Grupa C). Druga

etapa istraživanja predstavljala je randomiziranu kontrolisanu studiju (RCT – randomised controlled trial). Nakon verifikacije urednog ultrazvučnog nalaza pred prvi postupak VTO, pacijentkinje su randomizirane u Grupu A2 kojima pred postupak VTO nije sprovedena histeroskopija i Grupu B2 kojima je pred postupak VTO sprovedena rutinska histeroskopija. Statistička analiza sprovedena je upotrebom odgovarajućeg softvera (JMP Ver. 9). Poređeni su podaci o osnovnim karakteristikama pacijenata, toka i ishoda ciklusa VTO. Primarni parametar ishoda bila je stopa kliničke trudnoće po embriotransferu. Pored analize ishoda primarno konstruisanih grupa, urađena je analiza i naknadno konstruisanih subgrupa, kao i predikcioni model uspeha VTO baziran na logističkoj regresiji. **Rezultati:** Studija je uključila 253 pacijentkinje (52 pacijentkinja iz Grupe A, 50 iz Grupe B, 50 iz Grupe C, 51 iz Grupe A2 i 50 iz Grupe B2). Nije postojala statistički značajna razlika u karakteristikama pacijentkinja, parametrima ovarijalne rezerve, broju dobijenih jajnih ćelija ni drugim parametrima toka postupka VTO među posmatranim grupama. U prvoj etapi istraživanja dobijena je statistički značajno ( $p=0,013$ ) veća stopa kliničkih trudnoća kod pacijentkinja kojima je pred postupak VTO sprovedena histeroskopija - 50 % za Grupu B i 42% za grupu C u odnosu na 30,77% kod pacijentkinja bez histeroskopije (Grupa A), bez statistički značajne razlike među histeroskopskim grupama. U drugoj etapi istraživanja stopa kliničkih trudnoća prilikom upotrebe rutinske histeroskopije pred prvu VTO (Grupa B2) iznosila je 46% naspram 31,37% kod pacijentkinja bez histeroskopije pred prvu VTO (Grupa A2), iako uočena razlika nije dostigla statističku značajnost ( $p=0,089$ ), uz relativan rizik (RR) za ostvarivanje kliničke trudnoće nakon primene histeroskopije uiznosio od 1,47 (95% CI 0,88-2,43) ( $p=0,13$ ). Analiza subgrupa kod 100 pacijentkinja sa rutinski sprovedenom histeroskopijom pred VTO i 103 pacijentkinje bez histeroskopije pred VTO, dobijena je statistički značajna veća stopa kliničkih trudnoća (48% naspram 31,07%, istim redom), uz RR od 1,54 (95% CI 1,08-2,20) ( $p=0,013$ ), kao i stopa tekućih trudnoća od RR 1,49 (CI 1,01-2,19) ( $p=0,039$ ). Analiza ukupnog uticaja izvođenja histeroskopije pred VTO dobila je statistički značajno veću stopu kliničkih trudnoća po ET za grupu histeroskopije uz RR 1,48 (CI 1,06-2,07) ( $p=0,017$ ). Histeroskopijom je nakon urednog ultrazvučnog nalaza ustanovljeno postojanje patološkog nalaza kod 34,65% pacijenata i to 22,7% major patologije i 11,88% minor patologije kavuma. Nije postojala statistički značajna razlika u uspehu VTO u odnosu na sam nalaz histeroskopije. 98,67% pacijenata podržalo je rutinsku upotrebu histeroskopije pred prvi postupak VTO, dok je 83% pacijenata podržavalo rutinsku upotrebu histeroskopije pred svaki postupak VTO. U finalnom predikcionom modelu se uz AUC od 0,748 jedino postojanje visoko-kvalitetnog embriona uz odnos šansi (OR) 7,91 (95% CI 1,80-56,06;  $p=0,0047$ ), transfer blastociste uz

	<p>OR 3,80 (95% CI 1,90-7,98; p=0,0001) i izvođenje histeroskopije pred VTO uz OR 2,13 (95% CI 1,14-4,08, p=0,0169) pokazalo statistički značajnim prediktorima trudnoće. <b>Diskusija:</b> Studija je dobila pozitivan uticaj histeroskopije na ishod postupka VTO, iskazan pre svega povećanjem stope kliničkih trudnoća nakon sprovođenja histeroskopije (bilo da je na histeroskopiji nađen uredan ili patološki nalaz). Dodatna prednost histeroskopije predstavljala je i detekcija prethodno nepropoznate patologije kavuma. Umeren efekat na ukupno poboljšanje stope kliničkih trudnoća prilikom rutinskog sprovođenja histeroskopije pred prvu VTO, koji je statističku značajnost dostigao tek analizom subgrupa u skladu je sa nalazima novijih dobro dizajniranih studija koji donekle limitiraju nekritičku upotrebu histeroskopije. Biološko objašnjenje potencijalnog pozitivnog uticaja histeroskopije najverovatnije leži u detekciji i tretmanu prethodno nepropoznate patologije kavuma, olakšavanju procedure embriotransfera, kao i humoralnim i molekularnim promenama koje nastaju u endometriju kao posledica odgovarajuće histeroskopske traume a koji su u dosadašnjim istraživanjima apostrofirani kao faktori koji mogu povećati receptivnost uterusa. <b>Zaključak:</b> Histeroskopija je efikasna, bezbedna i visoko prihvatljiva procedura koja dovodi do povećanja uspeha VTO u standardnim kliničkim indikacijama (prethodnog neuspelog postupka VTO i sumnje na patološki nalaz kavuma uterusa) bilo da se na samoj histeroskopiji nađe uredan ili patološki nalaz. Rutinska primena histeroskopije pred prvi postupak VTO se na osnovu rezultata studije ne može smatrati apsolutno opravdanom usled statistički nedovoljno značajnog povećanja stope kliničke trudnoće. Uzevši u obzir visoku prihvatljivost od strane pacijenata i najverovatniji pozitivan efekat na stopu trudnoće primena rutinske histeroskopije pred prvu VTO bila bi opravdana ukoliko se implementira koncept ambulantne histeroskopije.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	11.02.2016.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

UNIVERSITY OF NOVI SAD  
MEDICAL FACULTY  
KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph.D. Thesis
Author: AU	Stevan Milatović
Mentor: MN	Prof. Aleksandra Trninić Pjević, MD, PhD
Title: TI	The role of hysteroscopy in the treatment of infertility by in vitro fertilisation
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2017.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Medicine, Novi Sad Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Serbia

Physical description: PD	8 chapters / 201 pages / 33 figures / 89 graphs / 33 tables / 285 references / 1 appendix
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Obstetrics and Gynecology
Subject, Key words SKW	Infertility; Fertilization in Vitro; Hysteroscopy; Randomized Controlled Trial; Reproductive Techniques, Assisted; Embryo Loss; Embryo Implantation; Polyps; Myoma; Adenomyosis; Treatment Outcome; Pregnancy Rate; Prognosis; Patients; Attitude
UC	618.14-072.1 618.177-089.888.11
Holding data: HD	University of Novi Sad, Library of the Faculty of Medicine, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	<b>Introduction:</b> Infertility affects 10-15% of all couples. In vitro fertilisation (IVF) is the most effective method of infertility treatment, but despite a significant improvement, success rate of IVF is still around 30% per cycle. The main reason for the IVF failure is inadequate embryo quality, but in 10-20% of cases the cause of IVF failure lies in impaired uterine receptivity. Based on earlier studies hysteroscopy, gold standard in the diagnosis and treatment of uterine cavity pathology, is often performed to increase IVF success. Despite its wide use, there is lack of high quality evidence regarding real contribution of hysteroscopy on IVF outcome in situations of uterine cavity pathology or routinely prior to first IVF or after recurrent implantation failure. <b>The aim</b> of this dissertation was to determine the influence of performing hysteroscopy on IVF outcome, as well as the incidence of previously unrecognized uterine pathology, and to examine patient's attitudes about performing routine hysteroscopy prior to IVF. <b>Material and methods:</b> The research was conducted in a prospective manner in two successive stages at Clinical Center of Vojvodina from 01.01.2015. until 01.04.2017. During first stage of the study IVF outcome was compared between patients who did not have a hysteroscopy prior to IVF (group A), patients with normal hysteroscopic finding prior to the IVF (Group B) and patients with abnormal hysteroscopic findings prior to IVF which was treated at the same time (Group C). The second stage of the study was a randomized controlled trial (RCT). After verification of normal ultrasound findings

prior to the first IVF, patients were randomized to group A2 in whom hysteroscopy was not performed and group B2 who had routine hysteroscopy prior to first IVF. Statistical analysis was carried out using the appropriate statistical software (JMP Ver. 9). Patient characteristics, course and outcome of IVF cycle were compared between groups. The primary outcome was clinical pregnancy rate (CPR) per embryo transfer. In addition to analyzing the IVF outcomes in primarily defined groups, subgroup analysis was also performed, as well as IVF success prediction model based on logistic regression. **Results:** The study included 253 patients (52 patients in Group A, 50 in Group B, 50 in Group C, 51 in Group A2 and 50 in Group B2). There was no statistically significant difference in patient characteristics, ovarian reserve parameters, number of retrieved oocytes, or other relevant parameters of IVF course between the observed groups. In the first stage of the study there was statistically significant ( $p = 0.013$ ) higher clinical pregnancy rate in patients who had a hysteroscopy before IVF - 50% for Group B and 42% for group C versus 30,77% in patients without hysteroscopy before IVF (Group A), without statistically significant difference between hysteroscopic groups. In the second stage of the study, routine hysteroscopy prior to first IVF (Group B2) led to clinical pregnancy rate 46% versus 31.37% in patients without hysteroscopy prior to first IVF (Group A2), although without statistical significance ( $p = 0.089$ ). Relative risk (RR) for achieving clinical pregnancy after performing hysteroscopy was 1.47 (95% CI 0.88-2.43) ( $p = 0.13$ ). Subgroup analysis of 100 patients with routinely performed hysteroscopy before IVF and 103 patients without hysteroscopy prior to the IVF showed statistically significant higher rates of clinical pregnancies (48% versus 31.07%, in the same order), with RR of 1.54 (95% CI 1.08-2.20), ( $p = 0.013$ ), and for ongoing pregnancies RR was 1.49 (95% CI 1.01-2.19) ( $p = 0.039$ ). Overall effect of performing hysteroscopy prior to IVF resulted in a statistically significant increase in the clinical pregnancy with RR 1.48 (95% CI 1.06-2.07) ( $p = 0.017$ ). After normal ultrasound finding hysteroscopy revealed 34.65% of pathological finding, 22.7% of major and 11.88% of minor pathology of the cavity). There was no statistically significant difference in IVF outcome based on hysteroscopy findings. 98.67% of patients supported the routine use of hysteroscopy before the first IVF procedure, while 83% of patients supported the routine use of the hysteroscopy before every IVF procedure. In the final prediction model, with the AUC of 0.748, only the presence of high quality embryos with odds ratio (OR) 7,91 (95% CI 1,80-56,06;  $p=0,0047$ ), blastocyst transfer with OR 3,80 (95% CI 1,90-7,98;  $p=0,0001$ ) and performing hysteroscopy prior to IVF with OR 2,13 (95% CI 1,14-4,08,  $p=0,0169$ ) proved to be statistically significant predictors of pregnancy. **Discussion:** The study showed a positive influence of hysteroscopy on the IVF



	<p>outcome by increasing clinical pregnancy rate after performing hysteroscopy (whether hysteroscopy revealed normal or pathological finding). Additional benefit of hysteroscopy was detection of previously unrecognized uterine pathology. A moderate effect on the overall improvement in clinical pregnancy rate with use of routine hysteroscopy, which reached statistical significance only by subgroup analysis, is in line with findings of recent well designed studies that somewhat limit the noncritical use of hysteroscopy. A biological explanation of the potential positive effect of hysteroscopy is most likely due to detection and treatment of the previously unrecognized uterine pathology, facilitating embryo transfer procedure, as well as the humoral and molecular changes that occur in the endometrium as a consequence of the hysteroscopic trauma. Those changes were hypothesized as factors that can increase uterine receptivity by numerous research.</p> <p><b>Conclusion:</b> Hysteroscopy is an effective, safe and highly acceptable procedure that increases IVF success when performed for accepted clinical indications (previous IVF failures, pathological findings of uterine cavity), whether hysteroscopy reveals normal or pathological finding. The routine use of hysteroscopy prior to first IVF based on this study can not be considered justified since increase in clinical pregnancy rate did not reach statistical significance. Given the high acceptance of this concept by the patients and moderate but probable positive effect on IVF outcome, implementation of routine hysteroscopy prior to first VTO would be justified only in office hysteroscopy setting.</p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	<p>11.02.2016.</p>
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board: DB</p>	<p>president: member: member:</p>

## Zahvalnica

*Mom mentoru prof. dr Aleksandri Trninić Pjević na mudrim savetima, podršci, velikom zalaganju i primeru da je neprekidan rad na sopstvenom znanju, koliko god težak, jedini ispravan put u razvoju i životu lekara.*

*Kolektivu Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine, a pre svih sestrama, biolozima i lekarima Zavoda za humanu reprodukciju na kolegijalnosti, strpljenju i podršci u izradi doktorske disertacije i celokupnom radu.*

*Našim pacijentima koji nas motivišu da pomeramo granice i daju smisao našem poslu.*

*Mojim roditeljima, majci Zorici koja me je oduvek inspirisala da težim intelektualnom i poštujem obrazovanje i prave vrednosti i ocu Vojislavu koji me je upravo svojim životnim primerom inspirisao da zavolim ginekologiju i akušerstvo i odaberem ovaj plemeniti poziv kao svoj put.*

*Mom učitelju i prijatelju prof. dr Vesni Kopitović na nesebičnoj ljudskoj i profesionalnoj podršci, strpljenju i istrajnosti, kao i činjenici da me je naučila prelepom zanatu, otvorila vrata reproduktivne medicine i omogućila da radim ono što volim i volim ono što radim.*

*Supruzi Ani i ćerki Lari na odricanju, posvećenosti i ljubavi bez kojih ni jedno moje dostignuće ne bi bilo moguće i koje svemu u mom životu daju smisao.*

## SADRŽAJ

---

1	UVOD.....	1
1.1	Infertilitet i vantelesna oplodnja.....	6
1.1.1	Etiološki faktori infertiliteta .....	8
1.2	Vantelesna oplodnja - osnovni pojmovi, istorijat i obim pojave .....	9
1.3	Obim upotrebe i uspeh asistiranih reproduktivnih tehnologija.....	11
1.4	Histeroskopija - osnovni postulati.....	15
1.5	Senzitivnost histeroskopije i drugih procedura u evaluaciji kavuma uterusa .....	18
1.6	Patologija kavuma uterusa kod infertilnih pacijentkinja .....	19
1.7	Uspeh vantelesne oplodnje – ključni faktori .....	20
1.8	Uterina patologija i njen uticaj na infertilitet i ART .....	24
1.8.1	Endometralni polipi.....	25
1.8.2	Intrauterine sinehije – Syndroma Asherman .....	27
1.8.3	Miomi uterusa.....	28
1.8.4	Adenomioza .....	31
1.8.5	Kongenitalne uterine anomalje.....	33
1.8.6	Subtilne lezije kavuma uterusa .....	38
1.9	Implantacija ljudskog embriona .....	41
1.9.1	Implantacija u asistiranoj reprodukciji .....	42
1.10	Rekurentni neuspeh implantacije .....	44
1.10.1	Molekularni mehanizmi rekurentne neuspele implantacije .....	49
1.11	Uticaj histeroskopije na ishod vantelesne oplodnje.....	50
1.11.1	Uticaj histeroskopije na ishod VTO kod RIF –a .....	52
1.11.2	Sumarna efektivnost koncepta rutinske histeroskopije na ishod VTO .....	53
1.11.3	Uloga rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO .....	54
1.12	Objasnenje o potrebama istraživanja .....	56
2	CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA .....	58
3	MATERIJALI I METODE .....	59
3.1	Metode primenjene u studiji.....	64

3.2	Konstrukcija uzorka i statistička obrada .....	67
4	REZULTATI.....	70
4.1	Karakteristike pacijenata i ciklusa VTO u celom uzorku.....	73
4.2	Rezultati prve etape istraživanja .....	78
4.3	Rezultati druge etape istraživanja .....	86
4.4	Stavovi pacijenata o histeroskopiji.....	93
4.5	Nalaz histeroskopije kod pacijentkinja sa urednim ultrazvučnim nalazom.....	97
4.6	Analize subgrupa.....	98
4.6.1	Ukupan uticaj histeroskopije na ishod VTO.....	98
4.6.2	Uticaj histeroskopije kod patološkog nalaza kavuma na ishod VTO .....	99
4.6.3	Uticaj operativne histeroskopije na ishod VTO.....	100
4.6.4	Uticaj dijagnostičke histeroskopije i lezije endometrijuma na ishod VTO .....	101
4.6.5	Uticaj rutinske upotrebe histeroskopije na ishod VTO.....	102
4.6.6	Ishod postupka u zavisnosti od nalaza histeroskopije .....	103
4.7	Histeroskopija i ishod VTO kod prethodnih neuspelih postupaka VTO .....	105
4.8	Predikcija trudnoće u postupku VTO i uloga histeroskopije.....	106
5	DISKUSIJA .....	117
5.1	Karakteristike pacijenata i ciklusa VTO .....	118
5.2	Senzitivnost procedure i učestalost patološkog nalaza na histeroskopiji .....	121
5.2.1	Udeo patološkog nalaza kavuma kod infertilnih pacijentkinja u drugim studijama .....	123
5.3	Uticaj histeroskopije na ishod VTO .....	126
5.4	Rutinska histeroskopija pre prvog postupka VTO .....	132
5.5	Histeroskopija pre narednog pokušaja VTO kod RIF –a. ....	135
5.6	Uticaj histeroskopije na proceduru ET .....	138
5.7	Uticaj jatrogene lezije endometrijuma na ishod VTO.....	138
5.7.1	Lezija endometrijuma kao izolovana procedura ili u sklopu histeroskopije.....	141
5.8	Uloga histeroskopije pred postupak VTO u svetlu TROPHY i InSIGT studije.....	143
5.9	Molekularni i patofiziološki mehanizmi pozitivnog uticaja histeroskopije na ishod vantelesne oplodnje.....	148
5.9.1	Uticaj endometrijuma na razvoj embriona .....	152

5.10	Analiza trošak dobit histeroskopije na ishod VTO.....	154
5.11	Optimalan način izvođenja procerude u smislu tajminga, lokacije, i upotrebe navedenih modaliteta .....	157
5.11.1	Embriotransfer i histeroskopija .....	159
5.12	Izazovi primene histeroskopije u budućim paradigmama VTO .....	164
5.13	Dodatne uloge histeroskopije kod infertilnih pacijenkinja.....	166
5.14	Prediktivni modeli uspeha postupaka VTO i uloga histeroskopije .....	168
5.15	Stavovi pacijenata o postupcima histeroskopije.....	171
5.16	Preporuke za našu sredinu – implementacija ambulantnog (office) pristupa .....	175
6	ZAKLJUČAK.....	180
7	Literatura.....	183
8	PRILOZI .....	200
8.1	PRILOG 1 .....	200

# 1 UVOD

---

Vantelesna oplodnja, u daljem tekstu VTO, je najefikasniji vid koncepcije ljudske vrste koja prevazilazi uspeh spontanog začeća, posmatrano po jednom ciklusu i kumulativno u svim starosnim kategorijama. Cilj navedene konstatacije, iako to na prvi pogled deluje kontradiktorno, je da pozicionira samu proceduru i njenu ulogu u realan kontekst savremene reproduktivne medicine i da ukaže na neophodnost konstatnog rada na napretku i pomeranja prethodno definisanih standarda i granica.

Put do ove konstatacije, kao i razvoja asistiranih reproduktivnih tehnologija, u daljem tekstu ART, bio je trnovit, neizvestan, osporavan i dugotrajan, kako za brojne naučnike i zdravstvene radnike koji su oblikovali savremenu reproduktivnu medicinu, tako i za brojne parove kojima su navedene procedure bile i ostale jedina nada da ostvare jedno od osnovnih ljudskih prava – pravo na roditeljstvo.

Rođenje prve bebe iz postupka vantelesne oplodnje (Prva beba iz postupka VTO, Luouisa Braun (Slika 1), je rođena 25. jula 1978. godine.) predstavlja jedno od najvećih medicinskih dostignuća dvadesetog veka, prekretnicu u borbi sa infertilitetom i početak perioda asistiranih reproduktivnih tehnologija (1). Nepune četiri decenije od rođenja Luouisae Braun VTO je doživela ogroman napredak u uspešnosti postupka, obimu upotrebe i prihvatljivosti od strane svih društvenih aktera, pa je od procedure skromnog uspeha, osporavanja i čistog naučnog entuzijazma dostigla današnje razmere u smislu efikasnosti, obima upotrebe i nivoa prihvatljivosti (2).



Slika 1 Luouisa Braun

Oblast vantelesne oplodnje od svojih početaka zadirala je u neke od najvećih životnih tajni, te postala predmet brojnih osporavanja, skepse i opstrukcije (3). Decenije osporavanja donekle su usporile napredak i razvoj vantelesne oplodnje, ali je uprkos zakašnjenju od gotovo tri decenije priznanje naučne i stručne javnosti usledilo u formi Nobelove nagrade za jednog od otaca procedure Roberta Edwardsa 2010. godine (Slika 2) (4).



Slika 2  
Robert Edwards

**Vantelesna oplodnja podrazumeva ekstrakciju jajnih ćelija, oplodnju spermatozoidima u laboratorijskim uslovima i vraćanje dobijenih embriona u telo žene (5).** Ova jednostavna definicija objedinjuje niz procedura sa mnoštvom podetapa koje se proučavaju i usavršavaju više od četiri decenije i koje predstavljaju odgovore na zahteve holističkog pristupa celolokupnom procesu začeca primenom VTO. Ove procedure su pomerile neke granice tajni početka života, ali ne sve.

Vantelesna oplodnja, uprkos očekivanjima, i dalje nije čarobni štapić kojim je uspeh u ovom polju zagarantovan. Uspeh vantelesne oplodnje je, generalno govoreći, i dalje daleko od savršenog, uprkos velikom napretku (6).

Savremeno društvo nameće kulturološke obrasce težnje za savršenstvom, pragmatizom i uspehom koji oblikuju našu percepciju, ne samo prema ličnim nego i profesionalnim očekivanjima. Iako sama procedura daje bolje šanse za ostvarivanje trudnoće u jednom ciklusu nego spontana koncepcija, evropski **prosek uspešnosti ciklusa VTO, po poslednjim izveštajima, iznosi oko 30% u smislu stope trudnoća i svega 20% za stopu porođaja (2).** Naša sredina ne zaostaje za ovim prosekom i uspeh na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine (GAK KCV) poslednjih godina čak i premašuje nivo evropskog proseka (7). Ovi podaci predstavljaju veliki napredak u odnosu na početke primene procedure kada je stopa trudnoća iznosila svega 0,5-1% po ciklusu (8), i u pojedinim centrima danas i prelaze magičnu brojku od 50% stope trudnoća po ciklusu (9). Pored lične i profesionalne satisfakcije koja nas motiviše da tretiramo infertilitet na najuspešniji mogući način, priroda VTO i njenog tretmana je takva da borba za maksimalan uspeh mora biti prioritet, pošto, kao u retko kojoj grani medicine, neuspeh otvara vrata brojnim razočaranjima, odustajanjima i pribegavanju pojedinim nepoželjnim i opasnim strategijama.

Danas se ne smatra prihvatljivim praktikovati VTO bez sveobuhvatnog i holističkog pristupa svim aspektima žene i para koji se suočavaju sa problemom infertiliteta. Ovakav prilaz pristupu infertilitetu nameće postulat da ni jedan segment reproduktivnog zdravlja žene ne sme biti zanemaren, previđen ili zapostavljen. Ova savremena filozofija pristupa vantelesnoj oplodnji dodatno osnažuje napore za minuciozniji rad kliničara, u kome i leže osnove uloge histeroskopije u savremenom tretmanu infertiliteta.

Uprkos velikom napretku, većina parova danas neće ostvariti trudnoću nakon prvog ciklusa VTO (10). Neuspeh vantelesne oplodnje stresan je i traumatičan događaj za parove koji prolaze kroz ovaj postupak i koji ga neretko doživljavaju kao gubitak trudnoće što je praćeno brojnim traumama iz psihosocijalne sfere (11,12). Stoga traganje za suštinom uspeha ili neuspeha predstavlja toliko veliki prioritet i izazov.

U ovom traganju se **razlog uspeha, odnosno neuspeha vantelesne oplodnje** (neuspele implantacije) tumači iz ugla **dva osnovna faktora - embrionalnog i uterinog**, iako u većini slučajeva razlog ostaje nepoznat, a novije studije ukazuju na neophodnost delikatne komunikacije embriona i uterusa u stvaranju novog kvaliteta (13,14). Sam uspeh vantelesne oplodnje zavisi, pre svega, **od prisustva kvalitetnog, vijabilnog embriona** bez strukturnih i numeričkih hromozomskih anomalija, **uredne materične šupljine** bez patološkog sadržaja, kao i **od delikatne interakcije embriona i endometrijuma**, ogledane i kontrolisane od strane brojnih endokrinih, autokrinih i parakrinih mehanizama, **suptilne molekulske komunikacije, pravovremene i adekvatne ekspresije brojnih gena** uključenih u ovaj process, a u cilju da se adekvatan embrion u pravo vreme (nazvano prozor implantacije) usadi u adekvatan endometrijum i dovede do trudnoće (15)(12,14,16–18).

Funkcionisanje i poremećaji navedenih mehanizama i dalje su prekriveni velom tajni i predmet su velikog stručnog i naučnog interesovanja. Poremećaji na ovom nivou nisu odgovorni samo za neuspeh implantacije, nego se i za većinu patoloških stanja u savremenoj perinatologiji, poput preeklampsije, ključ patofiziološkog mehanizma se apostrofira baš u ovom periodu (5,19).

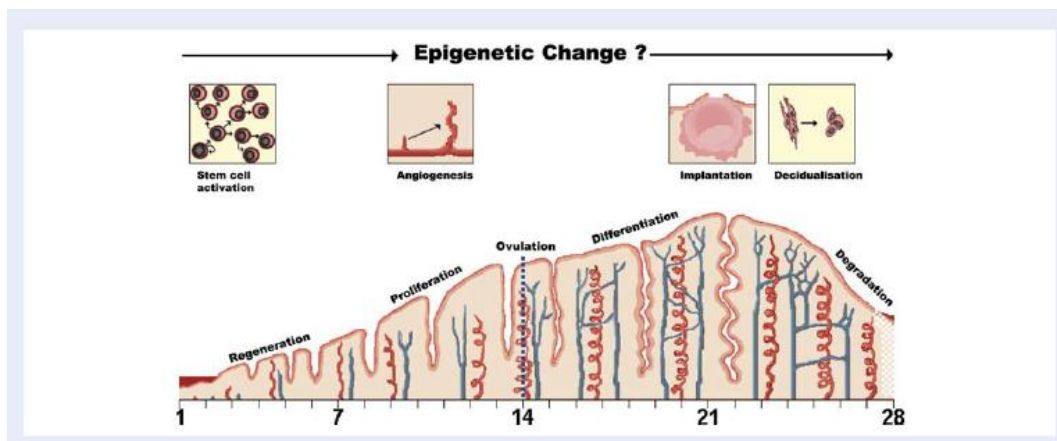
**Histeroskopija predstavlja endoskopsku metodu kojom se vrši direktna vizualizacija materične šupljine.** Ona omogućava istovremenu primenu dijagnostike i hiruške terapije eventualnih patoloških stanja. Histeroskopija predstavlja zlatni standard u tretmanu materične šupljine koja treba da prihvati embrion, i da mu omogući najbolje uslove za dalji razvoj (20–22).

Histeroskopija danas predstavlja rutinsku proceduru koja se sa velikim uspehom i pouzdanošću koristi u savremenoj ginekološkoj praksi i mi ovde ne zaostajemo za globalnim trendovima (23,24). Ipak, njena upotreba, pre svega u smislu kliničkih indikacija, daleko je od uniformne i standardizovane, pre svega usled nedostatka dovoljnog broja validnih naučnih dokaza koji definišu njenu upotrebnu vrednost u različitim kliničkim situacijama (20,25,26).



Od samog pojavljivanja procedura VTO stopa uspeha i njeno poboljšanje kroz unapređenje rada u svim segmentima multidisciplinarnе oblasti kao što je asistirana reprodukcija dali su značajnih rezultata, ogledanog kroz sve veću stopu trudnoća i porođaja (10). Kako su poremećaji na nivou embriona i materice glavni krivci neuspeha vantelesne oplodnje, pred ovim oblastima leži i najveći zadatak.

Tako se, u smislu selekcije najadekvatnijeg embriona i smanjenja embrionalne komponente neuspeha vantelesne oplodnje, uveliko rutinski koriste brojni modaliteti, poput svakodnevnog poboljšanja uslova fertilizacije, kultivacije embriona, standardizovanog, eventualno kompjuterski asistiranoг i matematičkim modelima verifikovanih sistema morfološke embriose-lekcije, nove oblasti poput time lapse morfokinetske analize, i sve prisutnije preimplantacionog genetskog testiranja embriona (9,27–31). Navedene težnje očigledno stavljaju akcenat na navedene “proembrionalne” napretke i njihovu ulogu u poboljšanju uspeha VTO (10,29,30). Sa druge strane stoje autori koji smatraju da su procedure pripreme materične šupljine najzaslužniji za sam uspeh VTO (32,33). Istina je, svakako, da su ovi napori komplementarni, a ne konkurentni i da smo dužni da težimo spajanju, a ne razdvajanju uterocentrične i embriocentrične teorije uspeha VTO uzimajući u obzir i najnovija saznanja epigenetike endometrijuma (Slika 3).



Slika 3 Molekularne promene endometrijuma, preuzeto iz Munro i sar 2010.

Želja za uspehom VTO, kako od strane zdravstvenih radnika, tako i od strane pacijenata, moćan je pokretač koji će, u odsustvu racionalnog i pragmatičnog pristupa unapređenju svih aspekata procedure, ponekad tražiti i drugi put. U želji da se šansa za uspeh maksimalizuje, na žalost se od samih početaka VTO pribegavalo i pojedinim opasnim strategijama poput transfera

većeg broja embriona, koji su sledstveno doveli i do veće stope trudnoća, ali po cenu neprihvatljivo velikog broja multiplih trudnoća sa svim svojim poznatim komplikacijama po majku, plod i zdravstveni sistem i čije smanjenje danas predstavlja ključne ciljeve vođenja postupaka VTO (34–36).

Noviji trendovi, sa druge strane, prepoznaju ovu neadekvatnu praksu kao najveću opasnost i komplikaciju postupaka asistiranu reprodukciju, te se danas intenzivno radi na implementiranju strategija vraćanja samo jednog embriona (35,36). Ovo je, svakako, moguće jedino ako se steknu sve legislativne i organizacione pretpostavke, ali i ukoliko se standard rada i stopa implantacije embriona podigne na mnogo viši nivo (36,37). Na tragu navedenih pretpostavki, put kojim se oblast reproduktivne medicine kretala proteklih decenija, uvođenjem brojnih novina u savremenu ginekološku i embriološku praksu, dovela je ART do posledičnog laganog, ali stabilnog povećanja uspeha iz godine u godinu, iako poslednjih godina uočavamo određeno dostizanje platoa u određenim opštim trendovima i, istovremeno, dalji i veći napredak izolovanih centara, ukazujući na svojevrsne podele u pristupu (2,10). Opisane strategije baziraju se na tome da se vraćanjem samo jednog ili maksimalno dva embriona stopa uspeha kumulativno mora zadržati na podjednako visokom nivou (37). Navedeni ciljevi dostižni su jedino ukoliko se obezbedi dostupnost embriona najvećeg mogućeg kvaliteta i odgovarajuće materične šupljine (26,37). Današnji standardi rada stoga nose i mnogo veći ulog. Danas se smatra neprihvatljivim započinjanje postupka VTO ukoliko nisu preduzete sve mere kako bi šansa za uspeh bila maksimalna.

Brojne intervencije su predlagane kako bi se poboljšao uspeh procedura VTO, ali većina njih nisu potkrepljene adekvatnim naučnim dokazima, tako da postoje brojne varijacije i nekonzistentnosti u svakodnevnoj kliničkoj praksi na ovu temu (25,27,38).

Dakle, neophodno je neprekidno i sistematski osvajati prostor nepoznatog, nedoumica, možda i stranputica VTO, tim pre što se ovde radi o, u praksi i nauci, novim postupcima i što se procenat uspešnost i intervencija ne povećava proporcionalno ulaganjima i očekivanjima. Poput naših pacijenata, svi zdravstveni radnici koji imaju privilegiju da učestvuju na ovom putu stvaranja novog života, moraju optimalno da balansiraju između nadanja, optimizma i neizbežnih razočaranja u određene procedure i određene cikluse, kako bi istrajali ka finalnom cilju – rađanju zdravog deteta.

**Predmet ovog istraživanja** je uloga histeroskopije u procesu VTO. **Istraživanje se oslanja na tri pristupa ključnim pitanjima VTO: na odgovarajuću naučnu teoriju, na neposredna praktična iskustva i na statistička istraživanja.** Ova pitanja nisu razgraničena, ona se u suštini duboko prožimaju.

U tom smislu će ovaj rad početi prikazom najznačajnijih aspekata oblasti VTO i histeroskopije u cilju upoznavanja i dubljeg povezivanja naučne materije i stavljanja iste u realan klinički kontekst. Sistematska prezentacija i sinteza karakteristika i zaključaka studija uključenih u istraživanja odnosa histeroskopije i uspeha VTO, predstavljenih u reprezentativnim naučnim bazama podataka i publikacijama, svakako je bila osnov i inspiracija za postavljanje i strukturisanje same disertacije. Možda bi u samom uvodu bilo pogodno pomenuti i osvrt autora na brojna i kompleksna razmatranja savremenih statističkih istraživanja koja svakako leže u osnovi medicine zasnovane na dokazima, jedine validne opcije praktikovanja medicine danas. Statistička istraživanja su sinteza prethodnih etapa koja doprinosi validnosti izloženih tvrdnji i koriste moćni jezik broja, slike i logike testiranja hipoteza. U ovom radu će se uz oslanjanje na statističke modele slediti i strategija otkrivanja neočekivanog koja je samo naizgled u suprotnosti sa precizno utvrđenim elementima statističke analize jer, u suštini, otkriva latentne promenljive i latentne veze i potrebu uvođenja dodatnih postupaka.

## **1.1 INFERTILITET I VANTELESNA OPLODNJA**

**Infertilitet se tradicionalno definiše kao odsustvo trudnoće nakon godinu dana regularnih seksualnih odnosa bez upotrebe metoda kontracepcije (5).** Uzevši u obzir relativno nizak fekundabilitet ljudske vrste, odnosno mogućnost ostvarivanja trudnoće u jednom menstrualnom ciklusu, od svega 20-25% u najoptimalnijim uslovima, koji dodatno pada sa godinama, sa ispitivanjem infertilnog para se počinje nakon godinu dana pokušaja da se ostvari trudnoća, odnosno nakon 6 meseci ukoliko je žena starija od 35 godina (5).

Infertilitet predstavlja jedan od ključnih aspekata reproduktivnog zdravlja sa ogromnim socijalnim implikacijama. **Procenjuje se da infertilitet zahvata 10-15% parova širom sveta te da je u ovom momentu 72,4 miliona parova infertilno i da od njih preko 40 miliona trenutno**

**traži tretman** (39). Pored ogromnog uticaja na kvalitet života samih parova, društvenih implikacija, broj infertilnih parova predstavlja poseban izazov i opterećenje za zdravstveni sistem sa kojim retko koja zemlja može da se izbori.

Iz tog ugla i samu definiciju infertiliteta treba gledati sa rezervom u smislu svesnosti činjenice da je ona proizvod konsenzusa i kompromisa u datom zdravstvenom, ekonomskom i kulturološkom okviru. Tako preporuke Nacionalnog instituta za zdravlje i kliničku izuzetnost (National Institute for Health and Clinical Excellence – NICE) u Velikoj Britaniji i dalje definišu infertilitet kao odsustvo trudnoće nakon perioda od 2 godine (40), dok sa druge strane određeni autori zagovaraju stav da bi se sa ispitivanjem subfertiliteta moglo početi i nakon 6 meseci bezuspešnog pokušavanja da se ostvari trudnoća, nevezano za godine žene (41).

Tako je trenutno najčešće primenjivana definicija koja se primenjuje i u našoj zemlji o **odsustvu trudnoće nakon 12 meseci nezaštićenih seksualnih odnosa** proizvod šireg međunarodnog konsenzusa i usvojena od strane Međunarodnog komiteta za monitoring asistiranih reproduktivnih tehnologija (ICMART) i revidiranog rečnika Svestke zdravstvene organizacije (SZO) o asistiranim reproduktivnim tehnologijama (42).

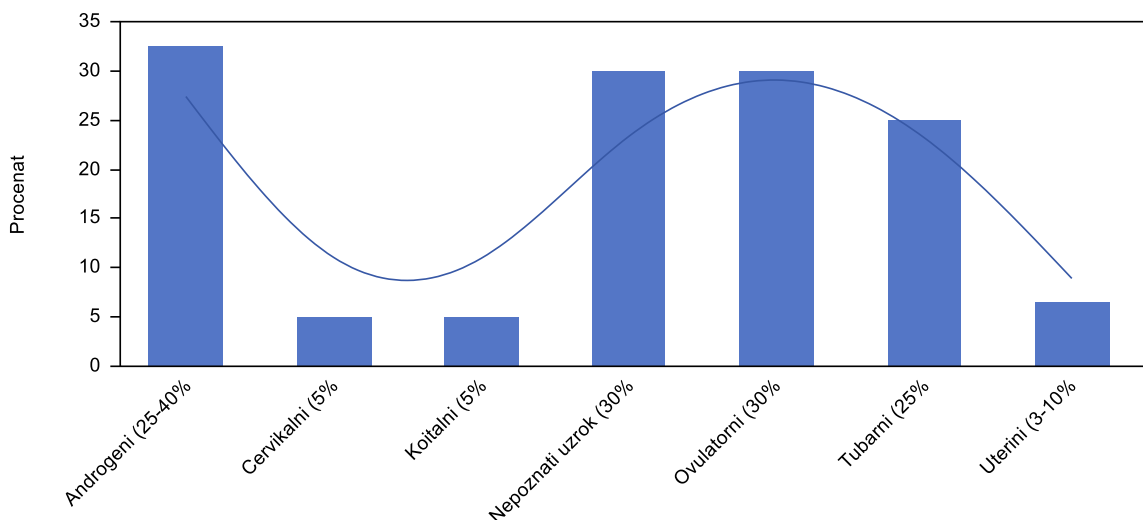
**U našoj sredini infertilitet zahtvata 16-18% parova** (7), iako je na nivou Srbije prosek po određenim studijama iznosio do 10% (43). Uzevši u obzir činjenicu da se naša zemlja godinama i decenijama suočava sa izuzetno negativnim demografskim trendovima, da godišnje “nestane” praktično ceo grad i da smo na sigurnom putu starenja i depopulizacije, pojam “bela kuga” ni izbliza ne dočarava ozbiljnost situacije i potrebu da se stanje u reproduktivnom zdravlju doživi alarmantno i dramatično.

Totalna stopa plodnosti (Total Fertility Rate – TFR) predstavlja broj živorođene dece na ženu reproduktivnog doba i smatra se da TFR od 2,33 omogućava prosto obnavljanje populacije. U našoj zemlji TFR po poslednjim podacima Svedske banke iznosi svega 1,5 i godinama je daleko ispod neophodnog minimuma uz tendenciju opadanja (44).

Borba sa infertilitetom i postupci ART nisu primarno predmet populacione i demografske politike. Ovo je, pre svega, borba za kvalitet života parova koji se suočavaju sa navedenim problemom, ali nam je u datoj situaciji i iz ugla demografske politike svaki novi život, svaki uspešan postupak VTO dragocen i predstavlja prioritet u našem radu. Stoga se ulažu veliki napor u optimizaciju svih aspekata brige o reproduktivnom zdravlju, kreiranje stimulišućeg socio-

ekonomskog ambijenta za rađanje, ali i usavršavanje i unapređivanje metoda lečenja infertiliteta upotrebom savremenih medicinskih dostignuća.

### 1.1.1 Etiološki faktori infertiliteta



Grafikon 1 Faktori infertiliteta

Etiologija infertiliteta (Grafikon 1) i indikacije za njegov tretman najčešće podrazumevaju ovulatorni faktor (30%), tubarni faktor (25%), muški ili androgeni faktor (25-40%), kao i uterini faktor (3-10%), cervikalni faktor (5%) i koitalni faktor infertiliteta (5%) (5,7,40).

U većini slučajeva reč je o konjugalnom faktoru gde postoje određeni problemi funkcionisanja i ženskog i muškog reproduktivnog trakta (do 40%), dok sve veći broj parova koji se danas podvrgava postupcima VTO nema identifikovan ni jedan grublji poremećaj, te se klasifikuje kao idiopatski, odnosno infertilitet nepoznatog uzroka (30%) (40,45).

Idiopatski infertilitet je posledica pre svega kulturoloških i socioloških aspekata, pomeranja perioda rađanja za starije reproduktivno doba, kada i inače nizak fekundabilitet naše vrste, usled genetskih i hromozomskih abnormalnosti, pre svega jajnih ćelija, dodatno pada i kada mogućnost ostvarivanja trudnoće, čak i postupcima VTO, nije najuspešniji (5,31,46). Sa druge strane, potencijalni uzroci entiteta koji u odsustvu grubljih reproduktivnih poremećaja klasifikujemo kao idiopatski infertilitet podrazumevaju brojne endokrine i reproduktivne disruptore, sa posledičnim disbalansom subtilne endokrine ravnoteže, imunološke, genetske i druge faktore iz domena reproduktivne fiziologije (47,48).

Iz ugla predmeta intresovanja doktorske disertacije poseban fokus je stavljen na uterini faktor infertiliteta, koji je konvencionalnim metodama ispitivanja često neprepoznat i možda i potcenjen, njegovu vezu sa spontanom koncepcijom, njegov uticaj na ishod postupaka VTO, kao i mogućnost njegovog savremenog tretmana i posledičnog poboljšanja reproduktivnih performansi para, te će o tome u narednom delu biti više reči.

## **1.2 VANTELESNA OPLODNJA - OSNOVNI POJMOVI, ISTORIJAT I OBIM POJAVE**

**Vantelesna oplodnja podrazumeva ekstrakciju ženskih gameta, njihovu oplodnju muškim gametima u in vitro uslovima, bilo putem klasične in vitro fertilizacije (IVF) ili intracitoplazmatske injekcije spermatozoida (Intracitoplasmatic sperm injection – ICSI), dalju kultivaciju embriona u laboratorijskim uslovima i finalno vraćanje embriona u telo žene – proceduru embriotransfera (5).**

Vantelesna oplodnja, kao glavni predstavnik procedura asistiranih reproduktivnih tehnologija, predstavlja stožer savremenog tretmana infertiliteta. **Definicija ART procedura je da one podrazumevaju manipulaciju i muških i ženskih gameta van ljudskog tela**, te procedure poput intrauterine inseminacije – IUI, u užem smislu ne spadaju u asistirane reproduktivne tehnologije (42).

**Medicinski asistirana reprodukcija (MAR) sa druge strane predstavlja širi pojam od ART i podrazumeva brojne, više ili manje kompleksne procedure koje se razvijaju drastičnom brzinom, pokrivajući brojna polja uz konstantnu percepciju da društvo svojim legislativnim merama ima poteškoća da isprati naučni i klinički razvoj desetine entiteta MAR (49).**

Drastični razvoj ovih procedura je, pored kliničkih i naučnih izazova, dostupnosti i istraživanja na ljudskim embrionima i matičnim ćelijama, iznedrio i brojne procedure koje nose zakonske, etičke i socijalne dileme i potrebu za njihovim adekvatnim tretiranjem. Kontraverzniji MAR tretmani, poput donacije gameta, embriona, surogat materinstva, postmortem upotrebe reproduktivnih ćelija ili embriona, preimplantacione genetske dijagnostike i eventualno preimplantacione genetske terapije, samo su vrh ledenog brega čija regulativa, kao i uslovi dostupnosti i finansirana procedura VTO variraju od zemlje do zemlje u skladu sa lokalnim kulturološkim i sociološkim obrascima. Tako većina evropskih zemalja i dalje ulaže napore da zakonski reguliše

oblast biomedicinski potpomognutog oplođenja, u nadi stvaranja uniformnijih regulativa i podjednakih prava pacijenata (49).

Istorijat vantelesne oplodnje datira decenijama pre prvog uspešnog rođenja Louise Brown i, kao u svim oblastima medicine, prethodile su mu godine istraživanja na animalnim modelima, godine neuspeha, brojnih uspona i padova.

Već je **1930. godine** Pincus objavio prve eksperimente vezane za IVF na zečevima.

Naučno-fantastični romanom “Hrabri novi svet” Aldous Huxley iz **1932. godine** realistično opisuje proceduru IVF –a koju danas poznajemo, te je, inspirisan navedenim romanom, **1937. godine** u časopisu New England Journal of Medicine publikovan editorial iza koga najverovatnije stoji John Rock pod naslovom “Začeće u staklenoj čaši” (50).

Chang je **1959. godine** objavio nesporni dokaz kompletnog postupka IVF na sisarima sa uspešnim rođenjem zeca nakon in vitro oplodene jajne ćelije (51).

Dalji istorijski koraci koji su oblikovali razvoj IVF podrazumevali su prvo laparoskopsko dobijanje ljudskih jajnih ćelija **1961. godine**. Nakon toga Robert Edwards, Georgeanna i Howard Jones **1965. godine** objavljuju prvi pokušaj in vitro oplodnje ljudske jajne ćelije (52). Prva trudnoća iz postupka VTO desila se zapravo pet godina pre rođenja Louisae Brown u Australiji kada su Wood i Leeton objavili transfer ljudskog zigota, ali se navedena trudnoća završila ranim pobačajem (53).

Finalno, **25.07.1978. godine** rođena je Louisa Brown (1).

Dalje je usledio ekspanzivan razvoj reproduktivne medicine, kako u smislu novih procedura, ovladavanja tajnama reproduktivne fiziologije, tako i u smislu regulative, prihvatljivosti i obima upotrebe ART procedura koje danas predstavljaju masivan, legitiman i takoreći konvencionalan metod koncepcije (2,50).

**1980. godine** rađa se prva beba iz postupka VTO u Australiji, godinu dana kasnije u SAD-u, a **1982. godine** u Francuskoj (50). Ni naša sredina nije dugo zaostajala tako da je na našoj klinici do **1991. godine** rođena prva beba iz postupka VTO (7).

**1983. godine** kreću sa upotrebom ciklusi sa doniranim jajnim ćelijama i iste godine se rađa i prvo dete iz postupka krioprezervacije i naknadnog odmrzavanja ljudskog embriona, a narednih godina brojna dostignuća poput upotrebe kontrolisane ovarijalne stimulacije

razvoja gonadotropnih hormona, analoga gonadotropnog relizing hormona, upotreba transvaginalnog ultrazvuka u cilju monitoringa ciklusa i aspiracije jajnih ćelija, dalje unapređenja laboratorijskih uslova, medijuma za kultivaciju, razvoja inkubatora i sistema kontrole, oblikovali su savremenu reproduktivnu medicinu na način koji nam je poznat i danas. Sve je ovo bilo praćeno i odgovarajućim regulativnim i legislativnim aktima same procedure (50).

### **1.3 OBIM UPOTREBE I USPEH ASISTIRANIH REPRODUKTIVNIH TEHNOLOGIJA**

Tek se uvidom u obim pojave danas može sagledati realan domet ART procedura i njihove implikacije po savremenu medicinu i čovečanstvo.

Procena je da je preko 5 miliona dece do sada rođeno nakon upotrebe ART procedura, i da broj i udeo “ART dece” iz godine u godinu raste u gotovo svim područjima sveta (54).

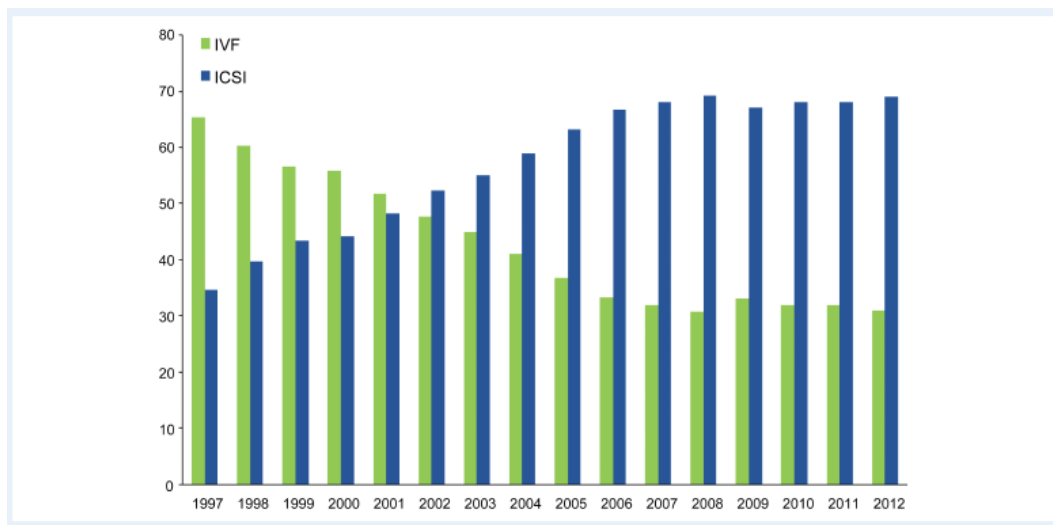
Na osnovu poslednjeg izveštaja Evropskog IVF Monitoring konzorcijuma (EIM) osnovanog od strane Evropskog udruženja za humanu reprodukciju i embriologiju (European Society for Human Reproduction and Embryology – ESHRE) za 2012. godinu, koji sistematski prate i publikuju obim, upotrebu i uspešnost različitih MAR procedura na teritoriji Evrope od 1997. godine, notira se trend porasta svih posmatranih pojava (2).

Trenutno rezultate ART programa za dati izveštaj prijavljuju 34 evropske zemlje, od čega 18 zemalja ima potpunu pokrivenost prijavljivanja za sve IVF centre, dok prosečan udeo prijavljivanja ciklusa na nivou Evrope iznosi 82,1%, uz trend porasta u odnosu na prethodni izveštaj gde je iznosio 81,0% .

Za 2012. godinu je prijavljeno 640 144 ciklusa VTO, 30 171 više nego 2011. godine, uz dinamiku porasta od gotovo 5%. Od 452 578 ciklusa koji su bili sa svežim embrionima udeo upotrebe klasičnog IVF–a iznosio je 31%, dok je ICSI kao metod fertilizacije bio upotrebljavan u 69% slučajeva (Grafikon 2, Tabela 1). Udeo ciklusa sa odmrznutim embrionima –Frozen Embryo Trans



fer (FET) takođe pokazuje dinamiku porasta te podrazumeva 34,5% svih ciklusa, 2,1% više nego 2011. godine.



Grafikon 2 Trendovi upotrebe raličitih postupaka fertilizacije, preuzeto iz Calhaz Horhe i sar. 2016.

year	countries	clinics	cycles	cycle-increase (%)	ART infants
1997	18	482	203,225		35,314 *
1998	18	521	232,225	+ 14.3	21,433 *
1999	21	537	249,624	+ 7.5	26,212 *
2000	22	569	275,187	+ 10.2	17,887 *
2001	23	579	289,690	+ 5.3	24,963 *
2002	25	631	324,238	+ 11.9	24,283*
2003	28	725	365,103	+ 12.6	68,931
2004	29	785	367,056	+ 0.5	67,973
2005	30	923	419,037	+ 14.2	72,184
2006	32	998	458,759	+ 9.5	87,705
2007	33	1029	493,420	+ 7.6	96,690
2008	36	1051	532,260	+ 7.9	107,383
2009	34	1005	537,463	+ 1.0	109,239
2010	31	991	550,296	+ 2.4	120,676
2011	33	1,314	609,973	+ 11.3	134,106
2012	34	1,354	640,144	+4.9	143,844
<b>total</b>			<b>6 547,700</b>		<b>1 158,823</b>

Tabela 1 Trendovi upotrebe posupaka VTO, preuzeto iz Calhaz Horhe i sar. 2016.

Jedan od ključnih pokazatelja upotrebe ART procedura, koji je ujedno i značajan pokazatelj dostupnosti zdravstvene nege, je opšta dostupnost ART procedura iskazana kroz broj ciklusa na milion žena reproduktivnog doba (15-45 godina), kao i broj ciklusa na milion stanovnika. Prosečno

se u Evropi obavi 6525 ciklusa VTO godišnje na milion žena reproduktivnog doba, odnosno 1253 ciklusa na milion stanovnika. Ove cifre značajno variraju među zemljama, ukazujući na različitost ostvarenih reproduktivnih potreba i prava. Tako se u Moldaviji sprovodi 325 ciklusa VTO na milion stanovnika, odnosno 1457 ciklusa na milion žena reproduktivnog doba, dok određene zemlje sa većom tradicijom upotrebe ART procedura imaju preko 2000 ciklusa godišnje na milion stanovnika, odnosno preko 10 000 ciklusa na milion žena reproduktivnog doba. Danska je zemlja sa najvećom upotrebom ART procedura uz 14 431 ciklus na milion žena reproduktivnog doba i 2732 ciklus na milion stanovnika. Navedeni podaci dostupni su samo za zemlje sa celovitom pokrivenošću izveštavanja IVF klinika, tako da navedeni podaci nisu dostupni za Srbiju uz napomenu da je 2012. godine u Srbiji prijavljeno svega 2064 ciklusa, ukazujući ne samo na nedovoljno prijavljivanje, već i na slabu upotrebu navedenih procedura spram zdravstvenih potreba stanovništva koje svakako ne nedostaju (2).

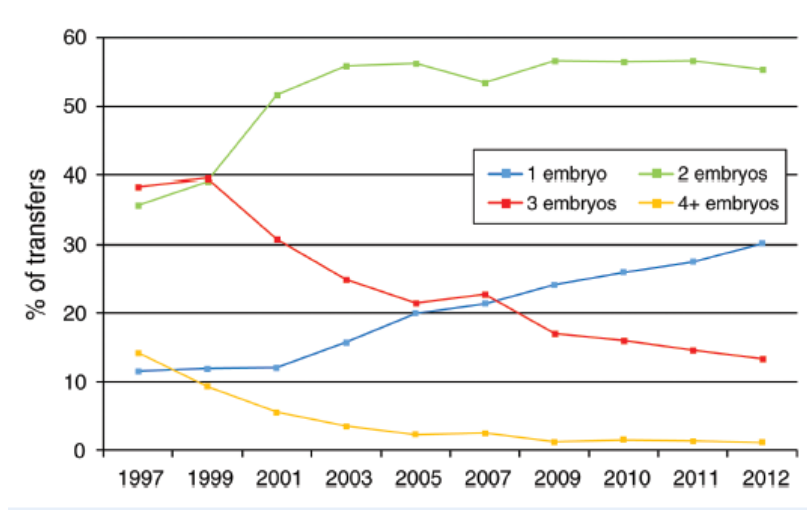
Uspeh vantelesne oplodnje, iskazan kroz stopu kliničkih trudnoća i, pre svega, stopu živorodenja kao najbitnijeg parametra ishoda, takođe pokazuje lagan, ali stabilan trend porasta tokom godina. Važno je napomenuti da se, na osnovu SZO konsenzusa o terminologiji u ART procedurama, **pojmom živorodenje definiše svako rođenje vitalnog ploda nakon navršene 20. gestacijske nedelje, odnosno telesne težine preko 350g**, što odudara od uvrežene i prihvaćene terminologije i statističke metodologije pojedinih zemalja (42).

U proseku, stopa kliničke trudnoće po aspiraciji u Evropi je za 2012. godinu iznosila 29,4% za IVF i 27,8% za ICSI, dok je za cikluse sa odmrznutim embrionima iznosila 23,1% uz trend porasta u odnosu na 2011. godinu za 1,8%. Svakako, zabeležene su i značajne razlike među pojedinim zemljama, a u Srbiji je prosečna stopa trudnoće po aspiraciji iznosila 35,3% za IVF i 34,6% za ICSI. Pored opštih uslova rada, dominantan razlog za razlike u stopi trudnoće leži i u praksi transfera većeg broja embriona, koja je u našoj zemlji i dalje neprihvatljivo velika i nije u skladu sa savremenim postulatima redukcije multiplih trudnoća kao komplikacije postupka VTO, implementacijom elektivnog transfera samo jednog embriona (SET).

Ukupno je u Evropi, nakon sprovođenja procedure IVF, ICSI, FET, kao i procedura donacije jajnih ćelija i preimplantacione genetske dijagnostike (PGD) i preimplantacionog genetskog skrininga (PGS), za 2012. godinu prijavljeno rođenje 143 844 dece, poznatija kao ART deca. 104 269 ART dece je rođeno iz “svežih” ciklusa, a 25 015 nakon procedure FET.

Prosečna stopa porođaja, odnosno živorođenja, iznosila je na nivou Evrope 21,9% za IVF i 20,1% za ICSI, kao i 16,0% za FET.

U 30,2% slučajeva primenjen je SET, dok su 2 embriona vraćana u matericu žene (Double embryo transfer – DET) prosečno u 55,4% slučajeva, a tranfer 3 (Tripple embryo transfer –TET) i više emrbiona u 14,45% slučajeva, uz ogromne varijacije među zemljama (Grafikon 3). Tako je Švedska prednjačila sa upotrebom SET-a sa 76,3% svih ciklusa bez vraćanja 3 i više embriona, dok je Srbija lider u praksi vraćanja tri embriona i ovo je bila situacija za 56,5 % ciklusa VTO. Ova praksa je svakako rezultat određenih organizacionih i legislativnih okolnosti, kao i načina finansiranja postupaka VTO u našoj zemlji, ali i želje da se održe relativno visoke stope trudnoća u datim okolnostima, po cenu manje bezbednosti samog postupka VTO.



Grafikon 3 Broj vraćenih embriona u Evropi, preuzeto iz Calhaz Horhe i sar. 2016

Kao posledica ovakve prakse ukupna stopa multiplih trudnoća na nivou Evrope iznosila je 17,9 % uz 17,3% blizanačkih i 0,6% troplodnih trudnoća, takođe uz ogromne varijacije među zemljama i idealnih 5,6% stope multiplih trudnoća u Švedskoj, 34,1% u Srbiji i 37,3% u Litvaniji (2).

Ukupan udeo ART dece u opštoj strukturi rađanja, kao posledica primene svih navedenih procedura, iznosio je od 0,2% za Litvaniju do 6,1% za Dansku, 4,9 % za Sloveniju i 4,6% za Belgiju. Ovi statistički podaci vrlo slikovito ukazuju na obim pojave ART procedura danas i implikacija reproduktivne medicine na opšte društvene tokove, uz činjenicu da postoje zemlje gde je praktično svako 16-to novorođeno dete iz postupka VTO i da praktično ne postoji razred “đaka prvaka” gde bar jedno dete nije rođeno nakon upotrebe ART procedura (2).

Novine u novom ESHRE izveštaju su i napori u praćenju perinatalnih rizika i komplikacija VTO, koji su pre svega posledica multiplih trudnoća. Tako je udeo prevremenog porođaja kao najopasnije faktora rizika za dugoročno zdravlje deteta iznosio 12,3% za jednoplodne, 53% za blizanačke i 92,9% za troplodne trudnoće. Od drugih komplikacija procesa VTO sindrom ovarijalne hiperstimulacije prijavljen je u 1953 slučaja, čineći prevalencu od 0,6%, krvarenje u toku procedure je prijavljeno u 848 slučaja, infekcija u 101 slučaj i procedure fetalne redukcije u 485 slučaja. Prijavljena su ukupno i 3 slučaja maternalne smrtnosti (2).

Smisao prijavljivanja navedenih komplikacija je da nas podseti da one i dalje postoje, da se danas smatra neprihvatljivim izložiti ženu koja se suočava sa infertilitetom većim zdravstvenim rizicima te da je cilj svakog razvoja naći optimalan balans između efikasnosti i bezbednosti, što se postiže samo kritičkim i objektivnim pristupom problemu i optimalizacijom svih faza tretmana infertiliteta postupcima VTO.

#### **1.4 HISTEROSKOPIJA - OSNOVNI POSTULATI**

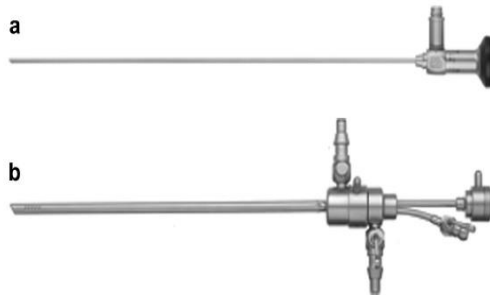
**Histeroskopija predstavlja endoskopsku proceduru direktne vizualizacije materične šupljine, uz mogućnost istovremene dijagnostike i hirurške terapije eventualnih patoloških stanja** (20,23,55). Histeroskopi novije generacije svojim spoljnim dijametrom od svega 3mm omogućavaju izvođenje ove procedure u ambulantnim uslovima, bez potrebe za anestezijom, kako opštom, tako i lokalnom, kao ni dilatacije ili dodatne traumatizacije cervikalnog kanala (20).

Ambulantna histeroskopija (Office Hysteroscopy – OH) danas postaje standard rada uz potvrđenu bezbednost, efikasnost i reproducibilnost navedene procedure, kao i prihvatljivost od strane pacijenata (56–58). Dodatni benefit ovakvog načina rada svakako proizilazi i iz manje cene za pacijente i zdravstveni sistem (59,60).

Endoskopske procedure u svim granama medicine apsolutno preuzimaju primat, pošto nose najveću senzitivnost u dijagnostičkom smislu uz mogućnost istovremenog operativnog – terapijskog efekta, uz sve postulate minimalno invazivne hirurgije i medicine (20).

Paradoks je da su laparoscopske operacije u ginekologiji implementirane brže i uspešnije u odnosu na histeroscopske, što se može pripisati brojnim anatomskim i tehnološkim izazovima. Iz istorijata histeroskopije znamo da su najveće anatomske prepreke bile činjenica da je kavum uterusa virtuelna šupljina, da je endometrijum veoma fragilan, kao i činjenica da u toku rada dolazi

do konstantne vaskularne i peritonealne resorpcije, kao i cervikalnog i tubarnog gubitka distenzionog medijuma, dok su ključni tehnički izazovi bili razvoj instrumenata sa neophodnim dijametrom i optičkim performansama, distenzionih medijuma, video dokumentacije, kao i relativno spore krive učenja (20,61). Ovi izazovi su masovnije prevaziđeni tek sredinom devedesetih godina prošlog veka i razvojem sofisticiranijih sistema video monitoringa, mini histeroskopa, distenzionih medijuma i sistema regulacije protoka i pritiska istih, kao i upotrebe odgovarajućih mehaničkih, elektrohiruških i laserskih histeroskopskih operativnih instrumenata (20,57). OH se i dalje retko koristi u našoj sredini, gde dominira konvencionalna histeroskopija u opštoj intravenskoj anesteziji, 4 mm optičkim i 5 mm spoljnom dijametru histeroskopskih instrumenata, kao i upotrebe spekuluma, tenakuluma i ponekad potrebe sa bolnom dilatacijom cervikalnog kanala (Slika 4).



Slika 4 Histeroskopi novije generacije i histeroskopski stub, preuzeto iz Kolhe i sar. 2015.

Klasična operativna histeroskopija je decenijama promovisana kao najbolja opcija za tretman intrauterine patologije poput polipa, submukoznih mioma, septuma i drugih razvojnih anomalija uterusa, kao i intrauterinih sinehija, i napredak u hiruškom rešavanju navedene patologije je konstantan, uz tendenciju ambulantnog rada, čak i za najzahtevniju patologiju (36,57,59).

Razvoj mini histeroskopije koja koristi optičke instrumente dijametra 2,7 mm uz dijametar spoljnog omotača od svega 3,5 mm se u randomizovanim studijama pokazao superiornijim u odnosu na konvencionalnu histeroskopiju u smislu izvodljivosti, reproducibilnosti, bolnosti, stope komplikacija i neophodnog iskustva operatera i pariteta pacijentkinje za uspešno sprovođenje procedure, posebno upotrebom savremenih histeroskopskih instrumenata (Slike 5, 6, 7) (57).



Slika 5  
Savremeni histeroskopski hiruški instrumenti, preuzeto iz Kolhe i sar. 2015.



Slika 6



Slika 7

Preporuke stručnih tela su, svakako, da se za svaku datu proceduru koriste najmanji mogući instrumenti i najmanje invazivan pristup, po mogućstvu ambulantno (62).

**Ključne indikacije za operativnu i dijagnostičku histeroskopiju u kliničkom smislu danas predstavljaju uterina disfunkcionalna krvarenja, postmenopauzalna uterina krvarenja, monitoring pacijenata u riziku od razvoja endometralnog karcinoma, subfertilitet, određeni jatrogeni problemi, rešavanje ultrazvučno detektovane patologije kavuma uterusa, uterinih anomalija i sterilizacija (63).** Dijagnostičke i operativne procedure koje se u datim situacijama izvode najčešće su postavljanje definitivne dijagnoze, kao i transcervikalna resekcija endometralnih polipa i mioma, zatim inspekcija endometrijuma uz mogućnost direktne biopsije, endometralne ablacije ili transcervikalne resekcije endometrijuma, ispitivanje uterine anatomije uz resekciju uterinih septuma, detekcija i adhezioliza intrauterinih sinehija, te lociranje i uklanjanje stranih tela, intrauterinih uložaka, kao i histeroskopske metode sterilizacije (62–64)

Iako je minimalno invazivna, histeroskopiji ne treba pristupati kao minimalnoj hirurgiji, uzevši u obzir retke, ali potencijalno opasne i životno ugrožavajuće komplikacije. Ključne komplikacije histeroskopije podrazumevaju cervikalnu stenozu, krvarenje, perforaciju uterusa, povrede pridruženih organa, embolizacije gasom, fluidno opterećenje vaskularnog korita, infekcije, nemogućnost vizualizacije i navedene komplikacije se mogu uspešno izbeći i tretirati poštovanjem same procedure, postulata rada i krive učenja (20,65,66)

## 1.5 SENZITIVNOST HISTEROSKOPIJE I DRUGIH PROCEDURA U EVALUACIJI KAVUMA UTERUSA

Histeroskopija je, svakako, najsenzitivnija procedura evaluacije materične šupljine. Upotrebom tradicionalnih metoda evaluacije materične šupljine, poput transvaginalne endosonografije i histerosalpingografije (HSG), se, po ranijim istraživanjima, previđalo i do 20-45% patološkog nalaza u kavumu uterusa (67,68).

Kod infertilnih pacijenata HSG u poređenju sa histeroskopijom pokazuje senzitivnost od svega 21,56%, specifičnost od 83,76 %, pozitivnu prediktivnu vrednost od 70,75%, te lažno negativnu stopu od 78,4% i lažno pozitivnu stopu od 16,23% uz ukupno podudaranja među procedurama od svega 68,9% (69).

Sa druge strane napredak neinvazivne dijagnostike i povećanja kliničkog iskustva i znanja ginekologa uz upotrebu kontrastne sonohisterografije, vaginalne 3D sonografije kao i povećana percepcija o prisutnosti patologije kavuma doveli su do značajnijeg smanjenja neprepoznate major uterine patologije koja se sreće na histeroskopiji i koja po poslednjim studijama iznosi blizu 10% u odnosu na ranije opisivanu stopu od blizu 50% (68,70,71).

Dodatan problem histeroskopije u smislu senzitivnosti ostaje u formi interobserverske varijabilnosti, posebno za subtilnu patologiju kavuma uterusa (72,73).

Uterini faktor infertiliteta se kao vodeći razlog navodi kod do 15% slučajeva, dok pojedina istraživanja ukazuju da se intrauterine patologija kao vodeći ili propratni razlog nalazi kod 25% infertilnih žena (74). Prevalenca prethodno nedijagnostikovane patologije kavuma uterusa kod asimptomatskih žena koje su iskusile neuspeh postupka VTO po određenim studijama iznosi i preko 50% (75–77), dok su druge studije potvrdile da se kod čak 19-45% žena sa normalnim nalazom na HSG-u i transvaginalnoj sonografiji, a koje ulaze u program VTO, histeroskopski detektuje prisustvo uterinih anomalija (78,79).

Pretpostavka je da abnormalnosti kavuma poput endometralnih polipa, submukoznih mioma, intrauterinih adhezija, uterinih septuma mogu imati negativan uticaj na implantaciju kao i da dijagnostika i tretman navedenih abnormalnosti poboljšava uspeh narednih ciklusa VTO, pre svega kroz uspostavljanje normalnog intrauterinog miljea (80–82). Uprokos visokim procenama u ranijim studijama, Fatemi i saradnici u studiji novijeg datuma na 678 neselektovanih žena koje ulaze u

prvi postupak VTO nalaze učestalost major patologije kavuma od svega 11% i to polipa 6%, mioma 1%, intrauterinih adhezija 2% i septuma uterusa 2% (83). Prisustvo subtilnih lezija ili minor patologije kavuma uterusa, koja se može detektovati jedino histeroskopskim pregledom, dodatno kompromituje uspeh VTO i njihov tretman svakako blagotvorno deluje na ishod postupaka VTO (24).

Prisustvo subtilnih lezija ili minor patologije kavuma uterusa, koja se može detektovati jedino histeroskopskim pregledom, dodatno može kompromitovati uspeh VTO i njihov tretman svakako predstavlja standardni predpostupak VTO (23,84). Prethodno publikovana iskustva na 2000 histeroskopija sprovedenih na Klinici za ginekologiju i akušerstvo govore o učestalosti minor ili subtilne patologije kavuma kod 12,2% pacijenata (24). Ove lezije predstavljaju, pre svega, mikropolipoza endometrija, lokalna zadebljanja, vertikalne trake, "Strawbery like", endometrijum i drugi nalazi koji se detektuju isključivo histeroskopski, najčešće su znak hroničnog endometritisa i, ukoliko se ne tretiraju, pretpostavlja se da mogu dovesti do manje šanse za uspeh VTO (24).

## **1.6 PATOLOGIJA KAVUMA UTERUSA KOD INFERTILNIH PACIJENTKINJA**

Najčešća major patologija kavuma uterusa koja se viđa u populaciji infertilnih pacijenkinja, a za koju se nije sumnjalo prethodnim dijagnostičkim procedurama, jesu polipi (oko 5%), intrauterine adhezije i septumi sa po 2%, miomi sa ispod 1% i ostale anomalije sa ispod 1% (68). Sa druge strane, minor lezije, odnosno subtilne lezije kavuma, iako retke u opštoj populaciji ginekoloških pacijenata, predstavljaju relativno čest nalaz histeroskopije infertilnih pacijenata sa učestalošću od 10-24% (20,23,38,73). Klinika za ginekologiju i akušerstvo KCV godinama predstavlja referentni centar za histeroskopiju sa značajnim volumenom procedura koje se izvode, i iskustva sa naše klinike na prvih 2000 histeroskopija podudarala su se sa opštim trendovima izvodljivosti, nađene patologije, senzitivnosti i samog operativnog rada drugih evropskih centara (23,24).

Najčešća operativna procedura u KCV bila je polipektomija sa 36% svih histeroskopskih operacija, praćena resekcijom septuma – metroplastikom koja je činila 13% svih operacija, te miomektomijom i resekcijom intrauterinih sinehija sa redom 9,5 % i 5% (23).

Stopa komplikacija bila je proporcionalno mala, u zoni ispod 1%, ali je ključna razlika u odnosu na evropske centre praktično odsustvo ambulantne histeroskopije, što je pored stavova lekara i pacijenata svakako i rezultat organizacije zdravstvenog sistema. I u našoj seriji histeroskopija



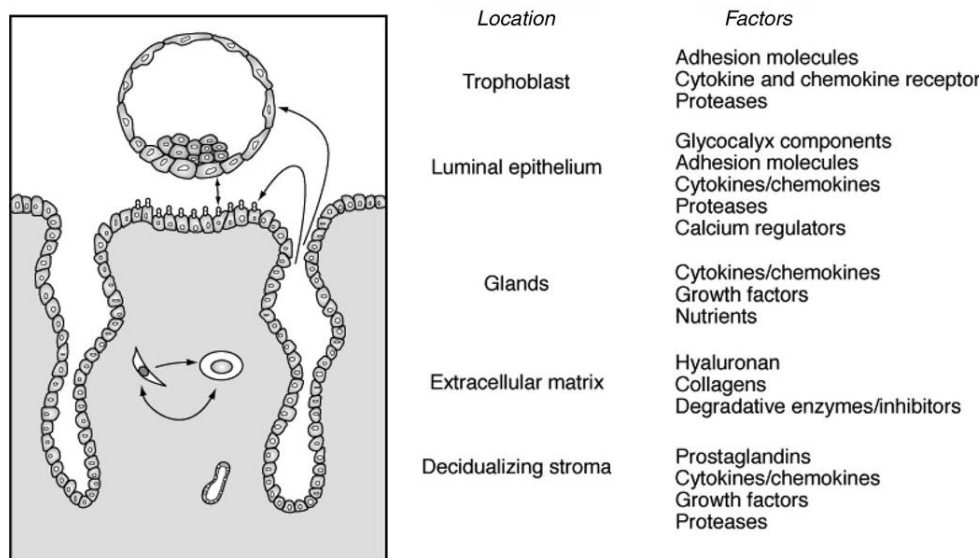
zabeležena je značajna pevalenca minor, odnosno subtilnih lezija kavuma uterusa koja je iznosila 12% svih pacijenata, ukazujući na primenu adekvatnih dijagnostičkih histeroskopskih kiriterijuma (23).

## 1.7 USPEH VANTELESNE OPLODNJE – KLJUČNI FAKTORI

Nakon skromnih početaka, VTO danas nosi značajnu stopu uspeha, ali i u najoptimalnijim uslovima stopa uspeha, odnosno implantacije retko prelazi 50% (9). Od samih početaka naučnu i stručnu javnost je intrigiralo pitanje gde se krije ključ uspeha, odnosno neuspeha VTO.

Tradicionalno se smatra da oko 80% uspeha leži u genetskom kvalitetu, odnosno potencijalu samog embriona, dok se 15-20% krije u sposobnosti ženinog tela, odnosno materice, da implantira vijabilan embrion (5).

Navedeni pristupi poznatiji su kao embriocentrična i uterocentrična teorija uspeha VTO i na ove pojave ne smemo gledati kao na suprotstavljene, već komplemetarne stavove u ispitivanju tajne rođenja, koji jedino udruženi, kao deo šireg holističkog pristupa, mogu da nam daju realan uvid i otkriju neke nove veze i kvalitete koji proizilaze iz finog dijaloga i suptilnih odnosa embriona i materice (Slika 8).



Slika 8 Faktori koji regulišu implantaciju, preuzeto iz Dimitriadis i sar. 2005

Razvoj PGS-a pružio je potpuno novi uvid u ispitivanje razloga uspeha VTO, i podaci koje smo dobili iz studija koje su detaljnije genetski ispitivali kvalitet jajnih ćelija i embriona su potvrdili određene, gore navede premise, ali su i otvorile potpuno nove dileme i poglede.

Poznato je da uspešan postupak VTO podrazumeva prisustvo vijabilnog, euploidnog embriona, kao i receptivnog uterusa. Genetska ispitivanja polarnih tela ustanovila su značajan porast aneuploidije jajnih ćelija koji je u direktnoj vezi sa godinama žene, te se, nakon relativno niskog udela aneuploidnih jajnih ćelija od oko 20%, u ranim dvadesetim ovaj postotak penje na približno 40% sa 35 godina žene, da bi nakon toga krenuo značajniji pad, kako pula jajnih ćelija, izražen kroz smanjene ovarijalne rezerve, tako i udela euploidnih jajnih ćelija kojih ima svega 20-30% sa 40 godina žene, da bi sa 45 godina udeo euploidnih jajnih ćelija bio gotovo zanemarljiv (85,86).

Posledična genetika oocita ogleda se i u genetici embriona. Tako je praktično najveća studija na datu temu do sada od strane Franasiak i saradnika, ne preko 15 000 uzastopnih biopsija trofoektoderma, odnosno biopsija embriona u stadijumu blastociste, što samo po sebi predstavlja jedno stanje selektovanih embriona visokog kvaliteta, dobila srazmerno visoku stopu aneuploidnih embriona direktno proporcionalno starosti majke (31).

U navedenoj studiji stopa aneuploidnih embriona za ženu starosti 30 godina iznosila je 23,2%, za ženu starosti 35 godina 34,5%, za ženu starosti 38 godina 47,9%, da bi sa 40 godina iznosila 58,2%, sa 42 godine 75,1%, sa 44 godine 88,2% te sa 47 godina celih 100% (31).

Kako je aneuploidadija embriona glavni razlog neuspele trudnoće, kako spontano tako i nakon postupaka VTO, kao i glavni razlog spontanih pobačaja u ljudskoj populaciji, brojni autori se slažu da je euploidija embriona, uslovljena starošću žene, odnosno starošću jajne ćelije kao determinišućeg faktora u suštini ključ uspeha VTO (87–89), i ona se ne može precizno proceniti standardnim tehnikama morfoselekcije (Slike 9, 10) (KCV).



Slika 9 Euploidan embrion (46, xx)



Slika 10 Aneuploidian embrion (47, xy+19)

Dokaz da ključ uspeha leži u godinama žene, pored nedvosmislenih podataka o stopi aneuploidije jajnih ćelija i embriona, finalno leži i u samoj stopi uspeha VTO. Tako je po poslednjem izveštaju za 2014. godinu u SAD, na preko 205 000 ciklusa sa svežim jajnim ćelijama stopa živorodenja po embriotransferu iznosila 47,5% za žene mlađe od 35 godina, 28 % za žene starosti od 38-40 godina, 6,9% za žene starosti 43-44 godine i 3% za žene starije od 44 godine, uz svega 0,8% stope uspeha po ciklusu ukoliko bismo uključili BEST kriterijume (37,90)

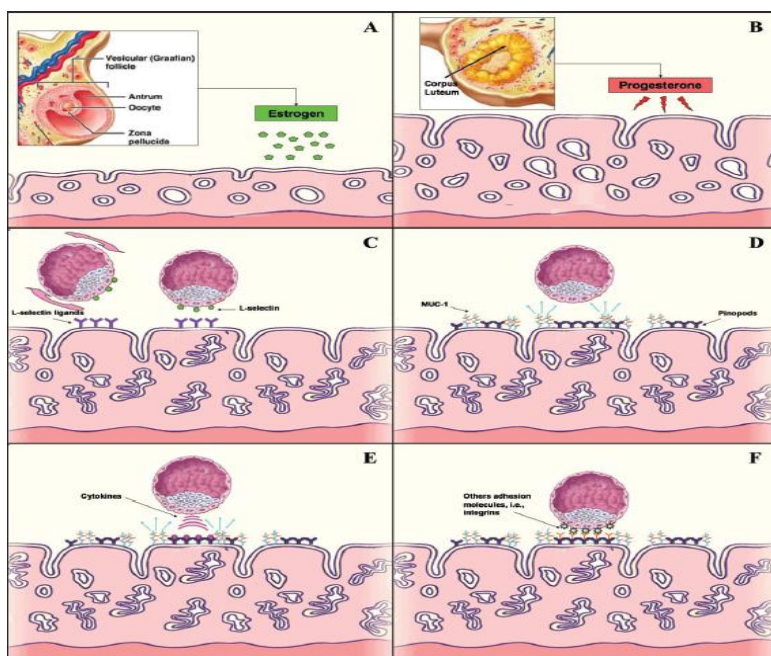
Dodatni dokaz da su godine majke ključ uspeha svakako leži u, sada već značajnim, iskustvima naše struke u ciklusima sa doniranim jajnim ćelijama. Pored kontraverznih izveštaja o uspešnom rođenju kod majki starijih od 70 godina, koji su sve sem primera adekvatne upotrebe navedenih ART tehnologija, ciklusi sa doniranim jajnim ćelijama predstavljaju sada već konvencionalni i opšteprihvaćeni metod lečenja infertiliteta. Po poslednjem ESHRE izveštaju, u Evropi je 2012. prijavljeno 33 605 ciklusa sa doniranim jajnim ćelijama uz stopu uspeha od preko 48% (2).

Iz iskustva najveće publikovane serije od preko 3000 ciklusa sa doniranim jajnim ćelijama od strane Cobo i saradnika znamo da je stopa živorodenja po jednom oocitu 6,5%, ali da se u ciklusima VTO sa doniranim jajnim ćelijama postiže stopa trudnoće po transferu blastociste od 48,4%, uz kumulativnu stopu porođaja po ciklusu donacije, kada se uključe i transferi odmrznutih embriona od 78,8 % (91). Dodatna iskustva serija navedenih autora dobili su kumulativnu stopu porođaja nakon 3-6 ciklusa VTO sa doniranim jajnim ćelijama od približno 90% (85,91) i iskustva ovih studija stožer su embriocentričnih teorija.

Dominantan uticaj embriocentrične teorije u analizi uspeha VTO, na osnovu iznetih podataka, svakako ima realnih osnova. Navedene studije potvrdile su ranije pretpostavke, ali su i dodatno kvantifikovale i osnažile saznanja da embrion nije sam u procesu implantacije i da nesumnjivo postoji zasluga i maternalne komponente (92).

Podaci iz novijih PGS ciklusa koji koriste komprehenzivni hromozomski skrining ukazuju na fantastične stope trudnoća koje se približavaju cifri od 70% po ciklusu (9,93,94).

Ipak, nove paradigme IVF-a koje podrazumevaju transfer euploidnih blastocista koliko god su pružili dokaze o euploidiji kao ključu uspeha, toliko su i ponovo osvetlili pitanje uterine strane, endometralne receptivnosti i aktualizovali pitanje implantologije uz ključno pitanje koje je proisteklo iz navedenih studija – Zašto se euplodini embrion ne usadi?



Slika 11 Molekularni markeri endometralne receptivnosti, preuzeto iz Achache i sar. 2014

Ova pitanja, kao i način na koji praktikujemo VTO danas, postavljaju nove paradigme. Naime, danas se od VTO očekuje da maksimalno brzo, efikasno i bezbedno dovede do rađanja zdravog deteta. Iz tog ugla ni jedan aspekt ne sme biti zanemaren i kao kliničari moramo posvetiti značajnu pažnju receptivnosti uterusa (Slika 11).

Brojne teorije pokušavaju da rasvetle ovu “crnu rupu”, kako stručni i naučni krugovi nazivaju implantologiju. Svakako da ključnu ulogu igraju adekvatan funkcionalni i anatomske integritet

uterusa, iz ugla eventualne patologije, ali i suptilna hormonska, molekularna, genetska i epigenetska dešavanja u endometriju, kao ciljnom organu receptivnosti (92,95,96). Dodatno, komunikacija, uzajamni razvoj i sinhronizacija embriona i endometrija najverovatnije imaju finalnu reč, a sve su to mehanizmi na koje pokušavamo da utičemo (14,89).

## **1.8 UTERINA PATOLOGIJA I NJEN UTICAJ NA INFERTILITET I ART**

Uterini faktor infertiliteta se, u većini istraživanja, navodi kao jedini uzrok infertiliteta kod svega 3-10 % parova (5). Ipak, brojni klinički entiteti patologije kavuma, kao što su endometralni polipi, septumi, adhezije, submukozni miomi, hronični endometritis, adenomioza i drugi, nalaze se daleko češće u populaciji infertilnih žena, čak i do 30-40 % (23,73,97), iako niti učestalost niti realan klinički značaj navedene patologije i njihovog tretmana nije ustanovljen, kako za spontanu koncepciju, tako i za postupke VTO (33,68).

Koncept vanmaterične trudnoće i činjenice da se embrion može usaditi i van kavuma uterusa neretko je služio kao osnov za osporavanje ključne uloge pojma prijemčivog uterusa u prisustvu vijabilnog embriona (15). Iako ciklusi sa doniranim jajnim ćelijama predstavljaju ključni dokaz o centralnoj ulozi oocita u ostvarivanju trudnoće, iskustva određenih studija u ovom kliničkom kontekstu potvrdili su i ulogu godina žene na receptivnost njihovog uterusa, iako je ovo svakako daleko manje izraženo u odnosu na kvalitet jajne ćelije (98).

Rutinsko ispitivanje uterine patologije kod infertilnog para, a naročito pre postupaka VTO, podrazumeva, pored standardnih kliničkih procedura, transvaginalnu endosonografiju sa ili bez upotrebe kontrastnog medijuma (40). Napretkom 3D i kontrastne endosonografije, kao i povećanom percepcijom i iskustvom operatera, stopa detekcije uterine patologije značajno je napredovala te je u odnosu na stopu previda od blizu 40% u ranijim studijama danas ona mnogo manja (99,100). Uzevši histeroskopiju kao zlatni standard, poslednje studije nalaze neprepoznatu patologiju kavuma kod svega 11% pacijenata (68).

Debljina, volumen i obrazac, odnosno slojevitost i šema endometrija, iako nedovoljno ispitani, imaju ulogu u stopi implantacije (92). Endometrijum tanji od 7 mm, pozicionira embrion bliže spiralnim arterijama, većoj koncentraciji kiseonika u bazalnom sloju i posledičnom oksidativnom stresu koji negativno utiče na implantaciju (101). I druge karakteristike konvencionalne evaluacije endometrija pomoću ultrazvuka, poput gubitka troslojne sonografske arhitekture,

debljine preko 14 mm i ostalih parametara, takođe mogu biti povezani sa manjom šansom za implantaciju u postupcima VTO (101,102).

Pored navedenih obrazaca od posebnog interesa je takozvana major uterina patologija koja se nalazi kod 10-15% infertilnih parova (33)

Brojne hipoteze u literaturi predlažu objašnjenja kako endometralni polipi, submukozni miomi, intrauterine adhezije i septumi ometaju implantaciju embriona, utičući na regulatorne mehanizme hormonskih i citokinskih medijatora (33,103,104).

Interesantan koncept uterine plastičnosti nazvan hipoteza fetomaternalnog konflikta sugeriše kako čak i genetski nekompetentan embrion uz adekvatan receptivan endometrijum može dovesti do uspešne trudnoće procesima ciklične spontane decidualizacije, rasejavanja i regeneracije (105).

Brojne obstrvacione studije su demonstrirale kako histeroskopski tretman major uterine patologije, poput endometralnih polipa, submukoznih mioma, adhezija i septum, dovodi do poboljšanja stope spontanih trudnoća (106). Ipak, kvalitet navedenih studije nije adekvatan za današnje standarde preporuka medicine zasnovane na dokazima.

### **1.8.1 Endometralni polipi**

Endometralni polipi su benigni tumori endometralne sluznice sastavljeni od endometrijalnih žlezda i strome, i smatra se da se razvijaju kao posledica određenog hormonskog disbalansa, te neadekvatnog odgovora endometrijuma na dejstvo estrogena i progesterona (107). Veruje se da dominantnu ulogu u patogenezi polipa ima estrogen, uz povećanje prevalencije sa godinama i pojavom gojaznosti (108).

Iako je učestalost endometralnih polipa u opštoj populaciji do 5%, oni svakako predstavljaju najčešće lezije kavuma uterusa u populaciji infertilnih žena, kao i u populaciji žena sa habitualnim pobačajima uz incidencu od 15-32% za infertilnu populaciju i čak i do 50% kod žena sa habitualnim pobačajima (109,110) (Slika 12).



Slika 12 Endometralni polip na histeroskopiji (KCV)

Brojni patofiziološki mehanizmi su predloženi u objašnjenju negativnog uticaja polipa na implantaciju i sledstveni subfertilitet. Veliki polipi direktno i mehanički mogu uticati na transport spermatozoida i embriona, dok sa druge strane i manji polipi mogu rezultovati izmenom imunoloških faktora usled povećanja koncentracije mastocita te posledične inflamatorne reakcije (92). Kod endometralnih polipa je uočena i povećana ekspresivnost estrogenih kao i smanjena ekspresivnost progesteronskih receptora u endometriju (109). Navedeni mehanizmi dodatno negativno utiču na sekreciju implantacionih markera, osteopontina, vezujućih proteina za insulinu slične faktore rasta i glikodelina koji moduliraju funkciju NK ćelija u endometriju, utiču na apoptozu endometralnih ćelija i ključni su medijatori implantacije (92). Molekularne studije su takođe ukazale da transkriptomika intrakavitarnog miljea kod polipa pokazuje niže koncentracije mRNK, HOXA 10 i HOXA 11 gena, koji su ranije povezivani sa potencijalom za implantaciju (111).

Iako su starije studije ukazivale na veću stopu spontanih trudnoća nakon polipektomije (92), malo je studija koje su u formi RCT ispitivale uticaj polipektomije na ishod tretmana infertiliteta. RCT Perez Medina je na 215 žena sa endometralnim polipima pred postupak IUI dobila kumulativnu stopu trudnoće nakon 4 ciklusa IUI od 63,4%, nakon polipektomije, naspram svega 28,2% kod pacijentkinja gde nije sprovedena polipektomija. Ovo je prva i po našem saznanju jedina RCT na ovu temu, te je u daljem radu verovatno usled praktičnog i etičkog pristupa bilo neprihvatljivo organizovati odgovarajuće studije kod pacijentkinja u populaciji infertilnih žena. Dostupnost podataka o uticaju polipa na ishod VTO je stoga skromniji.

Iako nema RCT na ovu temu, brojne studije drugačijeg dizajna su sprovedene i pokušale da daju odgovor na pitanja vezana za uticaj polipa i njihovog tretmana na ishod VTO, kao i na pitanja da li njihova veličina i lokalizacija dodatno utiču na ishod VTO i da li polipektomija može da se sprovede i u aktuelnom ciklusu VTO.

Određene studije nisu našle negativnu vezu polipa i ishoda VTO, pogotovo ukoliko je veličina polipa bila manja od 15 mm (92). Sa druge strane uzevši u obzir lakoću i izvodljivost procedure, kao i činjenicu da se bez negativnog uticaja na ishod postupka VTO polipektomija može izvesti i u aktuelnom ciklusu VTO, tokom rane folikularne faze većina autora praktikuje polipektomiju pred VTO (112–115).

Najnovija metaanaliza o ulozi polipa izvela je zaključke da kod IUI polipektomija dovodi do kumulativno veće stope trudnoća sa 25,2% na 55,3%, i to na osnovu RCT, dok za procedure VTO, iako nisu identifikovane RCT, na osnovu retrospektivnih studija metaanalizom se dobija da je povećanje stope trudnoća po ciklusu sa 25,2% za grupu pacijenata bez histeroskopske polipektomije na 35,6% kod pacijenata sa histeroskopskom polipektomijom, ukazujući na svrshodnost i isplativost procedure (107).

### **1.8.2 Intrauterine sinehije – Syndroma Asherman**

**Ashermanov sindrom se definiše kao stanje kompletne obliteracije tubarnih ostijuma, kavuma uterusa i/ili cervikalnog kanala, dok se pojam intrauterinih sinehija više koristi za blaže forme navedenog poremećaja u kome je endometrijum samo parcijalno zamenjen fibrotičnim tkivom (92).** Navedeni poremećaji su najčešće posledica jatrogene traume nakon dilatacije i kiretaže, postpartalnih komplikacija i carskog reza, infekcija, ablacije endometrijuma i histeroskopskog tretmana submukoznih mioma i uterinih anomalija i klinički se karakterišu menstrualnim iregularnostima, infertilitetom, habitualnim pobačajima i poremećajima placentacije (116,117).

U navedenim situacijama, bazalni sloj endometrijuma je oštećen, te je onemogućena adekvatna regeneracija funkcionalnog sloja endometrijuma i ovo je svakako jedno od najnezahvalnijih stanja sa najlošijom prognozom u reproduktivnoj medicini, kako iz ugla ostvarivanja spontane trudnoće, tako i iz ugla uspeha procedura ART i bezbednog iznošenja trudnoće (116).



Učestalost poremećaja varira i određene studije navode učestalost i do 16 % kod ART pacijenata (92). Histeroskopska resekcija priraslica nudi svakako najbolju prognozu uz stopu trudnoće od 18,3% pre operacije do čak 68,6% nakon adheziolize, iako su u poslednje vreme za najteže slučajeve aktuelni i noviji tretmani poput tretmana matičnim ćelijama i određenim faktorima rasta (32,117).

Za sada nije identifikovana nijedna studija koja je ispivala uticaj histeroskopskog tretmana na ishod ciklusa IUI, IVF ili ICSI, iako retrospektivne studije na ovu temu svakako ukazuju na određeni benefit (33,92).

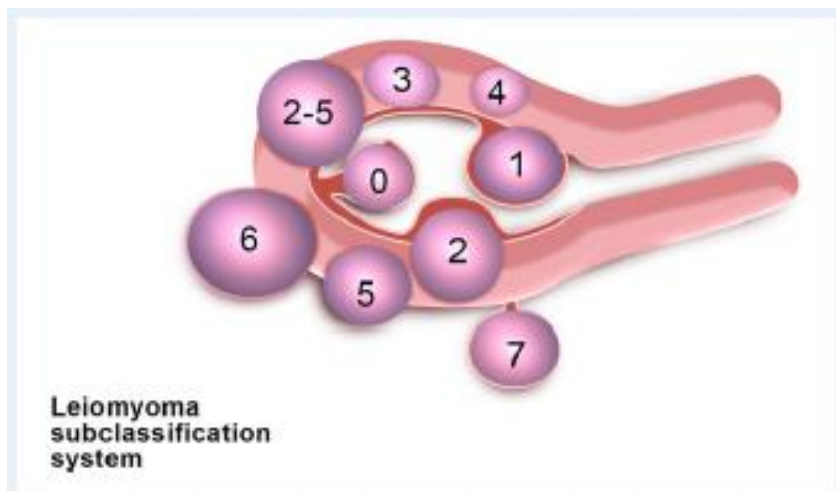
Ključ svakako ostaje u prevenciji navedenog stanja, a u slučaju pojavljivanja istog histeroskopski tretman se mora sprovesti u skladu sa principima savremene hiruške prakse, uz poštovanje postulata da je ovo jedna od najrizičnijih histeroskopskih procedura koja zahteva veći nivo ekspertize, ponekad i višestruke intervencije, uz aplikaciju intrauterinih uložaka, sa ili bez estrogenih i citokinskih preparata modifikovane hijaluronske kiseline, kao i određenih polietilenskih gelova kao antibarijernih metoda u cilju prevencije rekurencije adhezija te da se navedenim pristupom postiže najbolji reproduktivni ishod (92).

### **1.8.3 Miomi uterusa**

**Lejomiom uterusa predstavljaju benigne tumore porekla miometrijuma i oni predstavljaju najčešće benigne tumore uterusa** (81). Procenjuje se da oko 8% žena starosne dobi 33-40 godina ima miome, dok u grupi infertilnih žena koje zahtevaju postupke ART ovaj postotak po određenim studijama iznosi 26,7% (118). Novije procene ukazuju da se miomi javljaju kod 50-60% žena i da ovaj postotak do 50. godine žene raste i na 70%, ali samo u 30% slučajeva navedeni miomi pokazuju određeni klinički značaj u smislu iregularnih uterinih krvarenja, bola u maloj karlici ili infertiliteta (81).

Klasifikacija i distorzije kavuma uterusa. Klasifikacija Evropskog udruženja za ginekološku endoskopiju (ESGE – European Society for Gynecologic Endoscopy) ima prednost u simplifikaciji (G0 - pedunkularni intrauterini miom, G1 - najveći deo mioma (>50%) je lociran u kavumu uterusa, dok G2 miomi najveći deo volumena (>50%) imaju lociran u miometrijumu) (81). Novija FIGO klasifikacija opisuje 8 tipova mioma u zavisnosti od svoje lokalizacije, kao i hibridne klase, ali, kako miomatozni uterus u praksi najčešće sadrži različite tipove mioma, na

klasifikacione sisteme pre treba gledati kao na sistem mapiranja koji nam može pomoći u kliničkom radu (Slika 13) (81,119). mioma je bitna iz ugla prateće simptomatologije i reproduktivnih konsekvenci. Brojni su klasifikacioni sistemi i uglavnom se baziraju na stepenu intramuralne propagacije, kao



Slika 13 FIGO klasifikacija uterinih mioma, preuzeto iz Donnez i sar 2016.

0 = Pedunkularni submukozni; 1 = Submukozni, <50% intramuralni; 2 = Submukozni, ≥50% intramuralni; 3 = Kontakt sa endometrijumom, 100% intramural; 4 = Intramuralni; 5 = Subserozni, ≥50% intramuralni; 6 = subserozni, <50% intramuralni; 7 = Subserozni, pedunkularni; 8 = drugi (cervikalni, parazitski).

Brojni su faktori rizika koji predisponiraju ženu za pojavu mioma. Tu su, pre svega, genetski faktori, godine, rana menarha, paritet, gojaznost, hipertenzija, upotreba kafeina i alkohola i brojni drugi (120). Tradicionalno se miomi dele na subserozne, intramuralne i submukozne, u zavisnosti od dominante lokalizacije, što pored veličine mioma u najvećoj meri određuje i klinički značaj.

Smatra se na subserozni miomi načelno ne remete reproduktivnu funkciju, dok se submukozni miomi i intramuralni miomi koji vrše kompresiju kavuma povezuju sa gorim reproduktivnim ishodima koji se mogu prevazići miomektomijom, nakon koje je zabeležen jasan benefit kako u smislu ostvarivanje spontane trudnoće u subfertilnoj populaciji, tako i u smislu većeg uspeha postupaka ART i kasnijeg boljeg perinatalnog ishoda trudnoća (121,122). Histeroskopski tretman ovih abnormalnosti pred postupak IVF na osnovu određenih studija praktično udvostrukuje šansu za

uspeh sledstvenog postupka VTO (55). Iako histeroskopska resekcija submukoznih mioma predstavlja zlatni standard u tretmanu istih, poslednje studije ukazuju i na benefit određenih nehiruških metoda, poput primena selektivnih modulatora progesteronskih receptora, bilo kao samostalne ili češće kao adjuvantne terapije hiruškom tretmanu (123).

Što se tiče uloge histeroskopije, ona je svakako nezamenjiva u tretmanu submukoznih mioma, i ovo se smatra zlatnim standardom pred postupke VTO, iako je praktično jedina studija na ovu temu pravilno sprovedena 2006. godine i to ne na subpopulaciji pacijenata koji ulaze u program VTO, već na subpopulaciji infertilnih žena. Navedena studija je dobila 2,44 puta veću stopu trudnoće odnosno 18 % naspram 37% (33). Nalazi navedene studije, kao i opšta klinička percepcija, doveli su do toga da tretman submukoznih mioma praktično predstavlja klinički standard pred postupak VTO, te se u datim okolnostima veće, multicentrične i randomizovane studije na datu temu teško mogu organizovati.

Uloga intramuralnih mioma na reproduktivnu funkciju je daleko kontroverznija i daleko je od unifromne pošto na nju utiču veličina, broj, i svakako lokacija odnosno subtilni odnos sa junkcionalnom zonom (92). Najveća metaanaliza do sada na ovu temu Sunkare i sar na 6087 pacijenata iz 11 različitih studija dobila je 21% manju stopu rođenja kod pacijenata sa intramuralnim miomima bez distorzije kavuma u odnosu na pacijentkinje bez prisustva mioma, i ova razlika je bila izraženija – do 40% kada su uključene samo prospektivne studije (124). U pokušaju da odgovori na pitanje veličine i lokalizacije mioma Yan je poredio 249 žena sa raznim intramuralnim miomima, sa 249 stratifikovano uparenih žena bez saznanja o postojanju mioma, a koji ulaze u svoj prvi pokušaj VTO i nije dobijena statistički značajna razlika u stopi porođaja koje su iznosile 33,7% za grupu žena bez mioma i 30,5% za kontrolnu grupu pacijenkinja (125). Ipak, navedena studija je dobila značajan negativan ishod na stopu porođaja ukoliko je najveći dijametar mioma prevazilazio 2,85 cm (125). Ovo donekle menja dosadašnje premise da intramuralni miomi manji od 4-5 cm nemaju negativan uticaj na ishod VTO, a dodatan razlog za njihov operativni tretman je svakako i njihov potencijal za rast u trudnoći i moguće komplikacije (92).

Patofiziološki mehanizam kojim miomi mogu remetiti reproduktivnu funkciju i uspeh VTO pored direktnog mehaničkog efekta podrazumevaju i parakrine molekularne efekte na endometrijum i negativnog uticaja na implantaciju. Dodatno, i dublji intramuralni miomi mogu menjati obrasce vaskularne perfuzije i smanjivati receptivnost endometrijuma (92). Genetska istraživanja

su do sada utvrdila promene regulacije određenih gena u tkivu mioma i pored njega, ali nisu identifikovane varijacije u genima koji se smatraju odgovornim za receptivnost (126).

#### **1.8.4 Adenomioza**

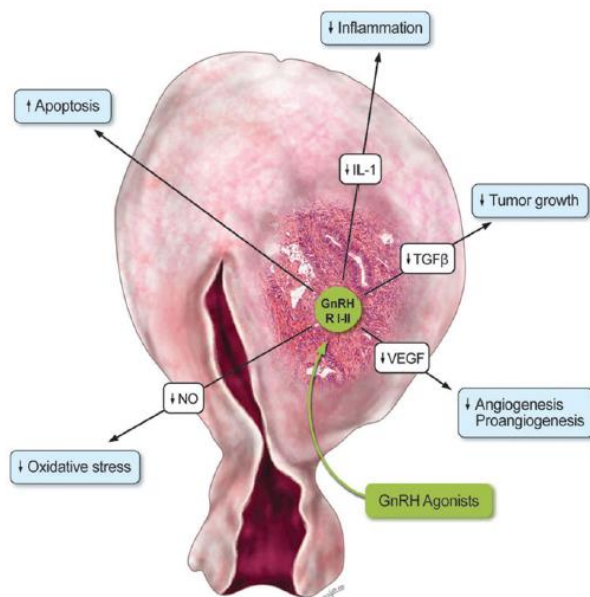
**Pod adenomiozom uterusa podrazumevamo prisustvo ektopičnih endometralnih žlezda u tkivu miometrijuma, bilo po tipu difuzne adenomioze koja nejasno i široko prožima tkivo miometrijuma ili po tipu lokalizovanih adenomioma koji nalikuju lejomiomima uterusa (92,127).**

Ova enigmatska bolest se češće javlja u starijem reproduktivnom dobu I, iako nije poznata stvarna incidenca u infertilnoj populaciji, primenom novijih dijagnostičkih kriterijuma kod pacijentkinja koje ulaze u postupak VTO i imaju endometrioze u svojoj medicinskoj istoriji, adenomioza se uz druge lezije funkcionalne zone sreće u 27-29% slučajeva (128). Novija istraživanja i metaanalize ulažu značajne napore u rasvetljavanju stvarnog uticaja adenomioze na reproduktivnu funkciju, na implantaciju u postupcima VTO, kao i na mogućnost terapijskog delovanja (92,129).

Najnovija metaanaliza na temu uticaja adenomioze na ishod postupaka VTO, uprkos metodološkim nedostacima uključenih studija, dobila je nižu stopu kliničkih trudnoća kod pacijentkinja sa adenomiozom 40,5% naspram 49,8%, uz relativan rizik od 0,71, ali samo kod pacijenata sa konvencionalnim tretmanom IVF/ICSI. Ova razlika u stopi trudnoća nije zabeležena kod pacijentkinja sa doniranim jajnim ćelijama gde je relativni rizik iznosio 0,9, ukazujući na negativan uticaj ne samo na implantaciju, već i na razvoj i kvalitet jajnih ćelija (130). Stopa pobačaja je u navedenoj metaanalizi takođe pokazala značajne razlike i iznosila je 31,9% za žene sa adenomiozom i 14,1% za kontrolnu grupu žena (130).

Mehanizam kojim adenomioza potencijalno negativno deluje na reprodukciju i ishod postupaka VTO nije sasvim poznat, iako najverovatnije remeti mehanizam implantacije (92). Brojni humoralni markeri, faktori rasta, inflamatorni citokini, IL 1, IL 6, IL 8, IL 10 kao i vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF) izmenjeni su u smislu koncentracije ili ekspresije, a navedeni faktori definitivno igraju ulogu u endometralnoj receptivnosti i implantaciji (18,95,129,131). Kako patogenetski mehanizam nije do kraja poznat, tako je naučna i stručna javnosti i dalje daleko od jasnih kliničkih preporuka u smislu dijagnostike ili tretmana. Jasan hirurški tretman adenomioze, iz ugla poboljšanja reproduktivne funkcije, može se pretpostaviti jedino kod jasno ograničenih

adenomioma, sa zahvatanjem junkcionalne zone ili distorzije kavuma uterusa, analogno tretmanu uterinih lejomioma (92,132,133). Najrasprostranjeniji pristup u kliničkoj praksi je upotreba depo GnRH analoga u periodu od 3-6 meseci samostalno, ili u kombinaciji sa hirurrijom, koji može dovesti do regresije lezije na estrogen zavisian način (Slika 14) (92).

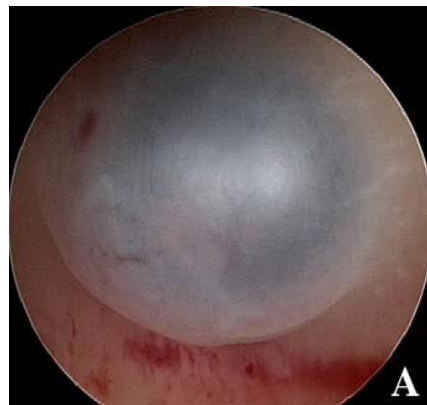


Slika 14 Adenomioza uterusa i dejstvo GnRH analoga, preuzeto iz Galliano i sar 2014.

Iako u direktnom tretmanu određene interventne radiološke procedure mogu imati svoje mesto u budućnosti, histeroskopija nesumljivo ima ogroman uticaj u dijagnostici i daljem naučnoistraživačkom radu rasvetljavanja nastanka i uloge adenomioze na reproduktivnu funkciju i uspeh procedura ART (Slike 15, 16).



Slika 15  
Adenomioza uterusa, preuzeto iz Campo i sar. 2009.



Slika 16

Adenomioza uterusa, preuzeto iz Campo i sar. 2009.

Iako ne postoji jedinstven histeroskopski patognomonični znak adenomioze, postoje histeroskopske karakteristike i lezije visoko sugestivne za adenomiozu. Ovo su, pre svega, brojne subtilne lezije kavuma uterusa, koji su se tradicionalo smatrali markerima hroničnog endometritisa. poput endometralnih defekata i drugih iregularnosti, hipervaskularizacije, “Strawbery like” obrazac, ili cistične hemoragične lezije, a koje mogu biti i u vezi sa adenomiozom (134). Ključni histeroskopski markeri adenomioze su iregularan endometrijum sa superficijalnim otvorima, iregularan subendometralni miometrijum uz odsustvo tipične arhitekture miometrijuma prilikom resekcije kao i intramuralni endometriomi (134).

### **1.8.5 Kongenitalne uterine anomalije**

**Anomalije ženskog genitalnog trakta poznatije kao kongenitalne uterine anomalije ili razvojne anomalije milerovih kanala predstavljaju devijacije normalne anatomije ženskog reproduktivnog trakta koje mogu dovesti do ugrožavanja reproduktivne funkcije žene, ali i određenim kompleksnim situacijama poput obstruktivnih anomalija ugroziti zdravstveno stanje žene** (135). Iako etiopatogeneza ovih poremećaja nije do kraja razjašnjena, one u suštini predstavljaju poremećaj embrionalnog razvoja žene i defekta formiranja, kanalizacije, fuzije ili absorpcije milerovih kanala, bilo kao izolovan defekt ili u kombinaciji različite ekspresije i na različitim embrionalnim nivoima ženskog reproduktivnog trakta, rezultujući takozvanim kompleksnim anomalijama (136).

Pojam uterinih anomalija predstavlja jedno od najkontraverznijih pitanja savremene reproduktivne medicine, uz odsustvo konsenzusa kako u smislu definicije, klasifikacije, tako i u smislu dijagnostičkih kriterijuma i ,svakako, interpretacije kliničkog značaja, uticaja na reproduktivnu funkciju, uticaja samih anomalija i njihovog tretmana na postupke asistirane reprodukcije i brojna druga pitanja (137–139).

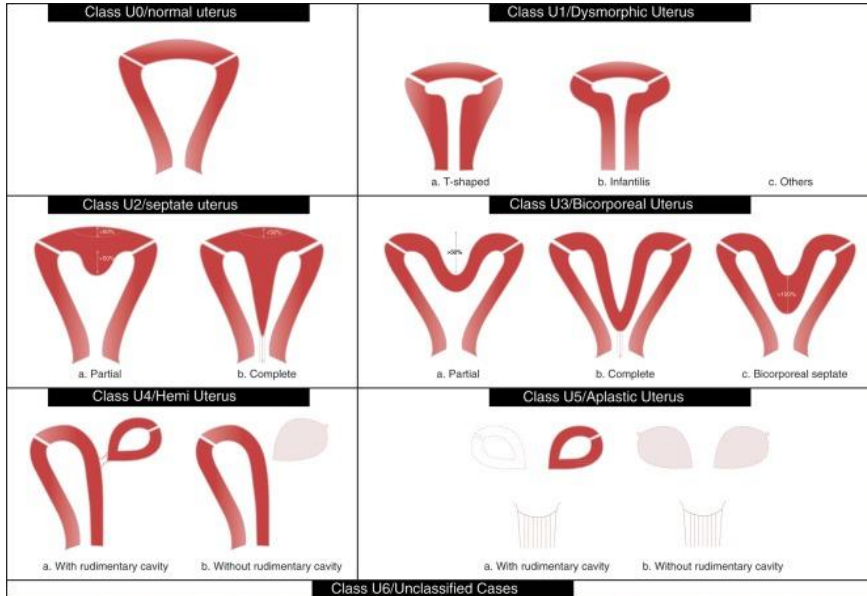
Klasifikacija Američkog udruženja za fertilitet (American Fertility Society - AFS) iz 1988. godine dugo je predstavljala osnovu u svakodnevnom kliničkom radu, ali su brojne varijacije u klasifikaciji određenih stanja koji su primenjivani u kliničkoj praksi, uz postojanje različitih klasifikacionih sistema, doveli do poteškoća u interpretaciji podataka iz literature o svim relevantnim aspektima njihovog uticaja na reprodukciju, kako u smislu incidence, tako i u smislu kliničkih

posledica (135). ESHRE i ESGE 2013. godine donose novi klasifikacioni sistem, uz jasnije definicije svih tipova kongenitalnih anomalija, sa detaljnim opisom klasa i subklasa i željom da ovaj klasifikacioni sistem postane osnova za dalji pristup izučavanja uterinih anomalija (136).

Novi sistem klasifikacije odvojeno opisuje razvojne anomalije uterusa od razvojnih anomalija cerviksa uterusa i vagine. Što se tiče uterinih anomalija, nove glavne klase podrazumevaju (136) (Tabela 2, Slika 17):

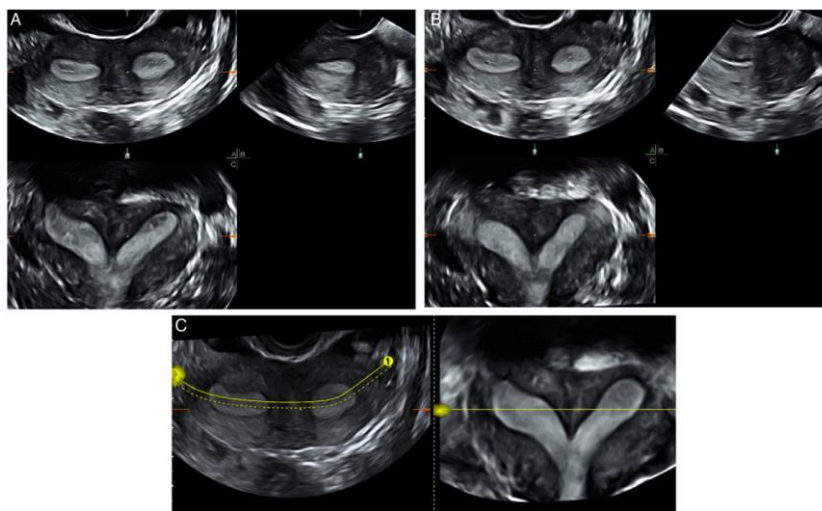
Uterine anomalije			Cervikalne/vaginalne anomalije	
Glavne klase		Subklase	Koezistirajuće klase	
U 0	Normalan uterus		C 0	Normalan cerviks
U 1	Dismorfični uterus	a. T oblika b. Infantilni c. Drugi	C 1	Septiani cerviks
U 2	Septirani uterus	a. Parcijalni b. Komletni	C 2	Dvostruki normalan cerviks
U 3	Bikorporalni uterus	a. Parcijalni b. Kompletni c. Bikorporali-septirani	C 3	Unilateralna cervikalna aplazija
U 4	Hemi-uterus	a. Sa rudimentarnim kavumom b. Bez rudimentarnog kavuma	C 4	Cervikalna aplazija
U 5	Aplastični uterus	a. Sa rudimentarnim kavumom b. Bez rudimentarnog kavuma	V 0	Normalna vagina
U 6	Neklasifikovane malformacije		V 1	Longitudinalni neopstruktivni vaginalni septum
			V 2	Longitudinalni obstruktivni vaginalni septum
			V 3	Transverzalni vaginalni septum
			V 4	Vaginalna aplazija

Tabela 2 Novi ESGE/ESHRE sistem klasifikacije uterinih anomalija



Slika 17 ESGE/ESHRE klasifikacija uterinih anomalija, preuzeto iz Grimbizis i sar. 2013.

Zlatni standard dijagnostike uterinih anomalija tradicionalno predstavlja laparoskopija i histeroskopija, iako je 3D transvaginalna sonografija kao neinvazivna metoda u klasifikaciji uterinih anomalija pokazala na brojnim studijama senzitivnost od 98,3% specifičnost od 99,4% i ukupnu dijagnostičku tačnost od 97,6%, čineći novi zlatni standard u dijagnostici navedenih anomalija (Slika 18) (70,135,140)



Slika 18 3D sonografija uterinih anomalija, preuzeto iz Ludwin i sar 2014.

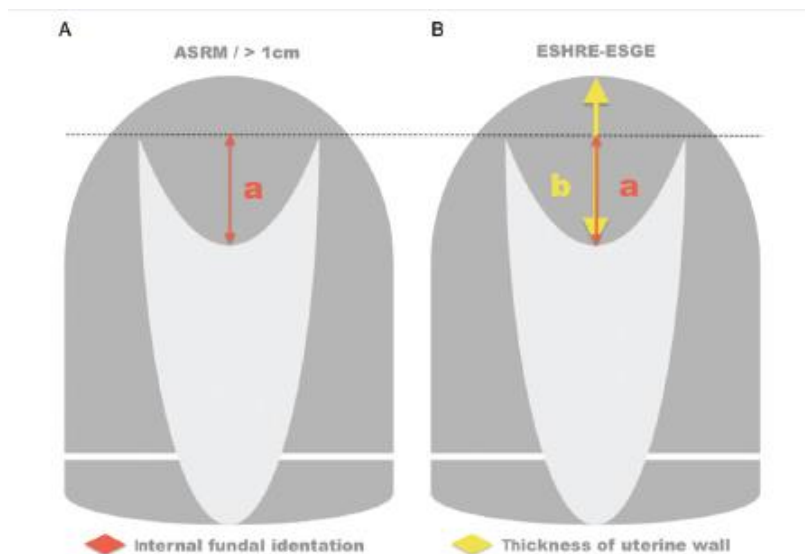


### 1.8.5.1 Klinički značaj kongenitalnih uterinih anomalija

Brojne kompleksne uterine anomalije imaju nesumljiv uticaj, kako na mogućnost spontane trudnoće, tako, pre svega, na dalji tok trudnoće, stopu spontanih pobačaja i prevremenih porođaja te ukupne perinatalne ishode (139,141). Ipak, tretman kompleksnijih uterinih anomalija nudi malo mogućnosti iz ugla reproduktivne medicine. Uterini septum, izolovani ili u kombinaciji sa bikorporalnim uterusom, predstavljaju najbitniji entitet, kako zbog svoje učestalosti, tako i zbog mogućnosti operativnog tretmana, pa čak i prekomernog tretmana (92,139).

Ključna pitanja na koje očekujemo odgovor su, pored jasno definisanih dijagnostičkih kriterijuma, i pitanja da li navedeni poremećaji utiču na reproduktivnu funkciju i perinatalne ishode trudnoća, da li utiču na stopu trudnoća u postupcija ART i, finalno, da li histeroskopski tretman navedenih anomalija donosi određeni benefit?

Što se tiče dijagnostičkih kriterijuma, pored primene 3D sonografije, nova predložena definicija uterinog septuma je da je to identacija – ulegnuće središnje linije fundusa koje prelazi bar 50% debljine uterinog zida (142). Ipak, navedena definicija ne daje jasne smernice o tačnom mestu merenja debljine zida, te se konsenzsom predlaže da to bude prosečna vrednost debljine prednjeg i zadnjeg uterinog zida (Slika 19) (140). Što se tiče učestalosti navedenih poremećaja i odgovora na pitanje da li utiču na reproduktivnu funkciju, Chan je u najvećoj studiji na datu temu



Slika 19 Nova definicija uterinog septuma, preuzeto iz Ludwin i sar 2014.

kompleksnijih uterinih anomalija u subgrupi žena sa najtežim reproduktivnim poteškoćama (137).

pokazao da je učestalost uterinih anomalija u opštoj populaciji 5,5%, uz dominantno prisustvo uterinih septuma manje ili veće dubine, dok je učestalost uterinih anomalija u populaciji infertilnih žena iznosila 8%, u populaciji žena se rekurentnim pobačajima 13,3%, a u populaciji žena koje su imale i infertilitet i rekurentne pobačaje čak 24,5%, uz zapaženu tendenciju većeg udela

Iskustva sa KCV na 2000 histeroskopija u dominantno populaciji infertilnih žena zabeležila su učestalost navedenih poremećaja od 13% (23).

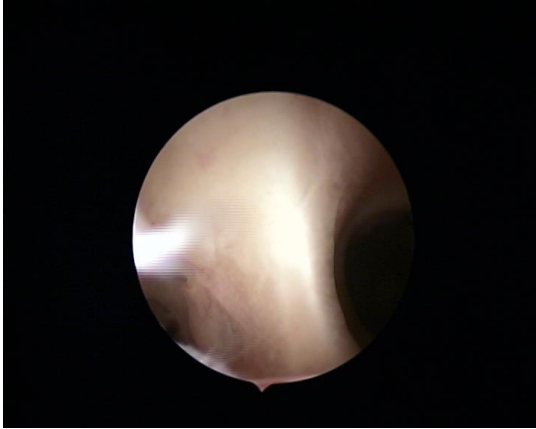
Kontraverzna pitanja o kliničkim implikacijama i dalje ostaju, kako na spontanu trudnoću, tako i na postupak ART i to kako samih uterinih anomalija, tako i njihovog tretmana.

Metaanaliza komparativnih studija o uticaju kongenitalnih anomalija i njihovog tretmana Venetisa i saradnika ukazala je na manju stopu trudnoće kod pacijentkinja sa anomalijama, uz relativan rizik (RR) od 0,85, i relativno mali klinički značaj, ali i na značajno povećan rizik od spontanog pobačaja uz RR 1,68, prevremenog porođaja uz RR od 2,21, malprezentacije na porođaju uz RR od 4,75, kao i nisku telesnu masu uz RR od 1,93 te ukupan perinatalni mortalitet uz RR od 2,43 (139). Ista studija potvrdila je i pozitivan učinak histeroskopske metroplastike u značajnom smanjenju šanse za spontani pobačaj RR od 0,37. Dodatnim stratifikovanjem najveća razlika u smanjenoj mogućnosti ostvarivanja trudnoće kod pacijentkinja sa uterinim anomalijama dobijena je baš u grupi žena koje se podvrgavaju procedurama ART (RR 0,66) (139)

Bitno je napomenuti da je kvalitet navedenih studija iz ugla medicine zasnovane na dokazima insuficijentan, te da poslednje metaanalize Cochran grupe nisu uspele da identifikuju ni jednu studiju koja bi zadovoljila kriterijuma u davanju odgovora na ovo pitanje (33).

Sa druge strane određene, mahom retrospektivne studije, dobile su negativan uticaj postojanja uterinih anomalija kako na spontanu trudnoću, tako i na procedure ART uz poboljšanje reproduktivnog ishoda nakon histeroskopskog tretmana (82,139,143). Tomažević je 2010. godine objavio retrospektivnu studiju uticaja histeroskopskog tretmana manjih i većih uterinih septuma na stopu živorođenja u postupcima VTO i dobio povećanje stope živorođenja sa 12,4% pre tretmana na 22,9% nakon tretmana za velike septume i sa 13,6% na 25,9% nakon tretmana za manje septum, tada klasifikovane kao uterus arcuatus (82). I drugi autori koji su uočili navedenu vezu potvrdili su potrebu tretmana i manjih i većih septuma uterusa (144).

Uprkos impresivnim rezultatima Tomaževića u korist histeroskopskog tretmana, stope trudnoća i porođaja bile su niže od opšte populacije, dok su i stope pobačaja u neoperisanoj grupi pacijenata bile mnogo više od podataka koji se navode u drugim studijama (92). Ipak, tretman septum, usled relativno lake izvodljivosti, uprkos odsustvu kalitetnih dokaza, predstavlja standard kliničke prakse (Slike 20 i 21).



Slika 20



Slika 21

Uterini septum pre resekcije (levo) i kavum nakon resekcije (desno) (KCV)

Od drugih praktičnih dilema iz ugla uloge histeroskopije na ishod postupaka VTO kod kongenitalnih uterinih anomalija ostaje svakako pitanje rezidualnog septuma, kao i optimalnog vremena za izvođenje same procedure. Optimalno vreme izvođenja histeroskopske metroplastike pre samog pokušaja VTO bilo bi po određenim studijama 4-6 nedelja (145).

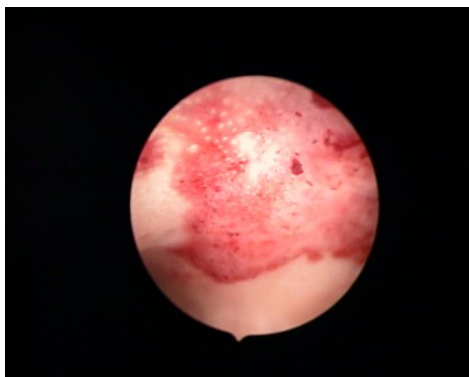
Rezidualni septumi po poslednjim studijama ne predstavljaju samo posledicu incompletnog hirušskog rada, odnosno suboptimalnu operaciju, već noviji dokazi ukazuju da baš morfološke karakteristike samog septuma, pre svega širina baze, određuju rizik od pojave entiteta koji se naziva abnormalno uterino zarastanje i gde se kod potvrde celovite resekcije mehanizmima ožiljavanja uterusa ponovo formira septum kod preko 20% pacijentkinja, a smanjenje navedenog procesa može se postići upotrebom određenih antiadhezivnih supatnci (140). Čak i u slučaju postojanja istih, rezidualni septumi ukupne dubine ispod 1 cm ne utiču negativno na reproduktivni ishod, kako u smislu spontane koncepcije, tako i nakon postupaka ART (144,146,147).

### 1.8.6 Subtilne lezije kavuma uterusa

Minor odnosno subtilna patologija kavuma uterusa predstavlja poseban klinički entitet lezija koje se mogu detektovati isključivo histeroskopski.

**Minor lezije se definišu kao promena izgleda endometrijuma i unutrašnjosti kavuma uterusa bez deformisanja normalne anatomije kavuma i gde patofiziološki značaj nije uvek**

**dokazan ili potvrđen, ali se histeroskopska slika razlikuje od standardne normalne situacije (134).**



Slika 22 "Strawbery like" endometrijum



Slika 23 Mikropolipoza (KCV)

Ove lezije se opisuju na osnovu njihovog histeroskopskog izgleda, a ne na osnovu pretpostavljenog kliničkog značaja i uključuju difuznu polipozu, odnosno mikropolipozu endometrijuma, hipervaskularizaciju endometrijuma, polja endometrijuma izgleda i strukture površine jagode – "Strawbery like pattern (SLP)", umerene odnosno izražene, generalizovane ili lokalizovane elevacije mukoze, endometralne defekte i druge lezije (Slike 22 i 23) (23,134).

Minor lezije se klinički tumače kao histeroskopski markeri hroničnog endometritisa ili adenomioze, iako ne predstavljaju definitivnu dijagnostičku proceduru niti za jedan niti za drugi klinički entitet (84,148).

Naša prethodna iskustva ukazuju na učestalost ovih lezija kod 12 % pacijentkinja, uz dominantnu histeroskopsku sliku mikropolipoze (34%), "Strawbery like" endometrijuma (26,2%), što je u skladu sa podacima u literaturi o učestalosti navedenih pojave (23). Campo i saradnici su u prvim publikovanim sudijama navodili udeo abnormalnih nalaza u skoro 30% pacijentkinja sa infertilitetom, od kojih je gotovo 30% pacijentkinja pokazivali histeroskopske subtilne lezije (134).

I studije novijeg datuma potvrđuju ovu učestalost navedenih lezija, te tako u poslednjoj publikovanoj TROPHY studiji prevalenca subtilnih lezija u populacije infertilnih žena iznosi oko 14% (38). Dodatno, kada se porede pacijentkinje sa abnormalnim uterinim krvarenjem i infertilitetom uočava se češća pojava ovih lezija u populaciji infertilnih žena (134).

Najčešći klinički značaj određenih lezija predstavlja hronični endometritis i adenomioza.

Jedna studija je ispitivala pojavu mikropolipoze, odnosno postojanje polipa manjih od 1mm, na 820 žena kod kojih je histeroskopski nalaz potvrđen biopsijom i adekvatnom patohistološkom analizom i dobijeno je učestalost mikropolipoze kod 11,7% pacijentkinja, kod kojih je u 93,7% slučajeva histološki potvrđena dijagnoza endometritisa, uz neverovatan OR od 124,2 i dijagnostičku tačnost od 90% (149).

Histološki kriterijumi, kao najvalidniji u postavljanju dijagnoze hroničnog endometritisa, podrazumevaju superficijalni stromalni edem, povećanu gustinu strome, kao i pleomorfni inflamatorni infiltrat u kome dominiraju limfociti i CD 56 plazma ćelije (148). Iako ne postoji konsenzus o kliničkim implikacijama, određene studije povezuju hronični endometritis sa smanjenom šansom za uspeh postupaka VTO, kao i sa rekurentnim spontanim pobačajima i rekurentnim neuspelim pokušajima VTO (150). Vrednost histeroskopije u njegovoj dijagnostici je potvrđena i drugim studijama, kao i njegova uloga u populaciji pacijenata sa lošim reproduktivnim ishodom. Tako su Zolghardi i sar. kod pacijentkinja sa habitualnim pobačajima dobili histeroskopsku sliku hroničnog endometritisa kod 67,6 % pacijenata koja je histološki potvrđena kod 42,9% pacijenata, dok je u grupi fertilnih žena nalaz histeroskopije ukazivao na endometritis prisustvom mikropolipoze kod 27,3% pacijenata, 18,2% histološki potvrđenih, dajući visoku senzitivnost procedure od 98,4%, ali relativno nisku specifičnost od 56,23% (148).

Dugo se kao jedan od ključnih faktora za osporavanje dijagnoze hroničnog endometritisa navodila velika varijabilnost laboratorijskih nalaza, ali je poslednjih godina pouzdanost histološke dijagnoze značajna, uz velik stepen poklapanja patologa i malu interobserversku varijabilnost, manju nego u slučaju histeroskopske interobserverske varijabilnosti (72,73).

Poslednje studije ukazuju da se hronični endometritis nalazi kod 30,3% pacijentkinja sa rekurentnim neuspelim postupcima VTO, kao i da u prisustvu istog stopa implantacije iznosi svega 11,5% (151). U ispitivanju uticaja tretmana endometritisa Cicinelli i sar. su dijagnostikovali endometritis kod 66% pacijentkinja sa neuspelim postupcima VTO, što je potvrđeno kod 57,5% pacijentkinja histološki i 45% mikrobiološkim kulturama. Najčešći uzročnik, pored redovne vaginalne flore, bila je mikoplazma. Nakon adekvatnog antibiotskog tretmana 75,4% pacijentkinja bilo je izlečeno dok je kod 24,6% slučajeva infekcija i dalje perzistirala i u navedenoj grupi pacijentkinja je stopa trudnoće nakon postupaka VTO bila statistički značajno manja (65,2% naspram 33,0%), uz još izraženiji pad u stopi porođaja (60,8% naspram 13,3%) (84).

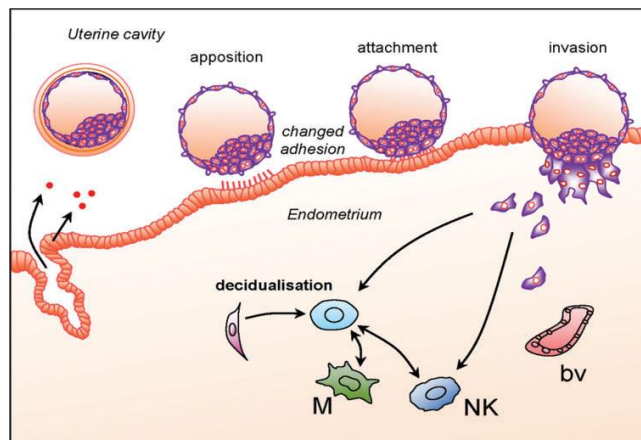
Navedene studije i iskustva sa subtilnim lezijama dodatno apostrofiraju ulogu histeroskopije u evaluaciji infertilnog para, naročito pre postupaka VTO. Tretman i klinička interpretacija navedenih lezija daleko je od unifromne, ali brojne studije ih povezuju sa negativnim ishodom postupka VTO, i čak i u odsustvu jasne kliničke korelacije histeroskopski nalaz korelira sa opisom Prof. dr Gordts-a: - Uterus u koji ne želite da vratite vaš embrion.

**Sumarno o ulozi određene patologije uterusa na tretman infertiliteta postupcima VTO** možemo reći da postoje brojna patološka stanja kavuma uterusa koja se mogu dovesti u direktnu vezu sa infertilitetom, kao i sa negativnim ishodom postupaka VTO, kao i da njihov tretman nesumnjivo na osnovu logičnih patofizioloških pretpostavki i potvrde brojnih studija dovodi do poboljšanja kako spontane reprodukcije tako i ishoda postupaka VTO (92). Ipak, zahtevi i postulati medicine zasnovane na dokazima, na osnovu kojih se i publikuju relevantne kliničke preporuke u vodećim međunarodnim stručnim telima, su takvi da za retko koju od prethodno navedenih indikacija i intervencija može da se donese preporuka najsnažnijeg mogućeg ranga uz napomenu da nedostaju dobro dizajnirane randomizovane studije. Pomalo je komično da najkomprehenzivnije analize na datu temu u literaturi navode kako je jedina neosporna preporuka koja se može doneti na osnovu dosadašnjih studija činjenica da bi žena sa urođenim odsustvom materice imala benefit od surogatstva (92).

U svakom slučaju, histeroskopija nesporno predstavlja zlatni standard, kako u dijagnostici, tako i u tretmanu svih navedenih stanja patologije kavuma uterusa, i time dragoceno doprinosi postupcima VTO.

## **1.9 IMPLANTACIJA LJUDSKOG EMBRIONA**

**Implantacija ljudskog embriona je trofazni proces koji podrazumeva apoziciju, adheziju i invaziju i funkcionalni dijalog između receptivnog endometrijuma i kompetentne funkcionalne blastociste, i ovaj hormonski uslovljen mehanizam može da se desi samo u toku ograničenog perioda endometralne receptivnosti, najčešće između 20. i 24. dana menstrualnog ciklusa, perioda koji je poznatiji kao prozor implantacije (Slika 24) (14,17).**



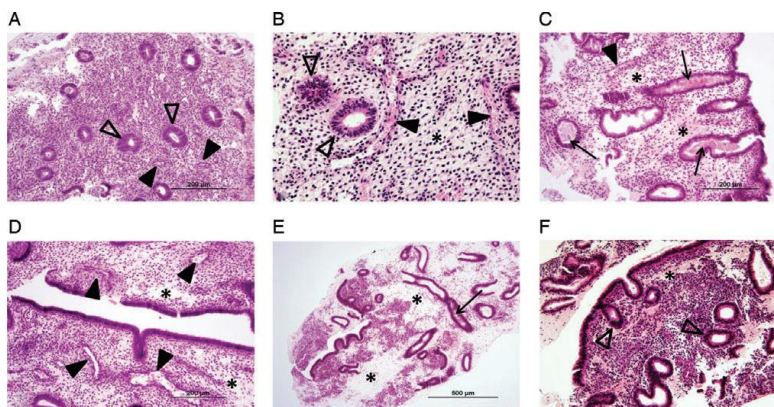
Slika 24 Mehanizmi implantacije embriona, preuzeto iz Evans i sar. 2014.

Implantacija podrazumeva kompleksnu kaskadu signalnih događaja koji podrazumevaju akviziciju adhezivnih i gubitak inhibitornih komponenti. U ispitivanju navedenih mehanizama histološka evaluacije praktično da više nema upotrebnu vrednost i trebalo bi da se zameni određenim funkcionalnim testovima, pre svega identifikovanjem brojnih humoralnih markera receptivnosti koji uključuje brojne citokine, faktore rasta, lipide, adhezivne molekule, kao i sve aktuelnije testove analize ekspresije gena povezanih sa receptivnošću endometrijuma odnosno uspešnom ili neuspešnom implantacijom (17,152). Dodatno, upotreba kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije u postupcima ART čini koncept implantacije u asistiranoj reprodukciji daleko od istovetnog onom u spontanim uslovima.

### 1.9.1 Implantacija u asistiranoj reprodukciji

Prve studije su zabeležile znatno niže stope implantacije embriona u odnosu na one koje vidamo u spontanoj koncepciji. Tokom apozicije blastociste ćelije trofoblasta adheriraju za receptivni endometrijum, nakon čega se blastocista čvrsto vezuje za bazalni sloj endometrijuma i stromalni ekstracelularni matriks, te se ova ostvarena veza ne može dislocirati uterinom peristaltikom i ispiranjem (153). Iako se ljudski embrion može implantirati i u druga tkiva, fenomen poznat kao ekstrauterina trudnoća, paradoksalno, u endometrijumu se ovaj fenomen odvija samo tokom prozora implantacije koji nastupa 7-11 dana od LH skoka i koji ukazuje na svu kompleksnost adekvatne sinhronizacije endometrijuma i blastociste (89,153). Iako embriocentrične teorije u fokus ostvarivanja trudnoće stavljaju potencijal blastociste da se implantira, u slučaju

neuspeha implantacije uterini faktori, odnosno nereceptivnost endometrijuma, se navode kao uzrok u preko 50% slučajeva (Slika 25) (153).



Slika 25 Histološki prikaz receptivnog endometrijuma, preuzto iz Evans i sar 2014.

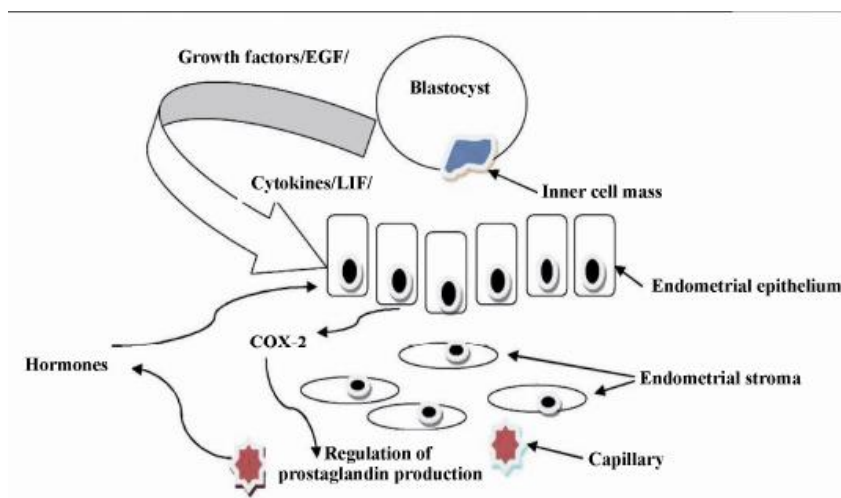
Abnormalne koncentracije steroidnih hormona u postupcima konvencionalne stimulacije kao ključnog događaja postupaka ART dovode do određenih morfoloških i histoloških promena u strukturi i receptivnosti endometrijuma (153). Ključni molekularni mehanizam je svakako “endometralni napredak” u peri i post ovulatornom periodu (154). Visoke koncentracije estrogena, uprkos uspostavljenoj supresiji produkcije endogenog LH u postupcima sa GnRH analogima, dovode do prevremenog porasta nivoa progesterona, te su najnovija istraživanja potvrdila da prevremena elevacija progesterona, na dan administriranja HCG-a u vrednosti od preko 1,5 ng/ml smanjuje šansu za kliničku trudnoću u postupcima ART (155).

Dodatna potvrda negativnog uticaja ovarijalne stimulacije u postupcima ART na implantaciju uviđa se i iz iskustava ciklusa sa doniranim jajnim ćelijama (98), kao i iz ciklusa u kojima se koristi minimalna stimulacija i ciklusa sa odmrznutim embrionima (93,153).

Kako je dokazano da odgovor na stimualciju iskazan kroz broj folikula i suprafiziološke vrednosti estradiola najviše utiču na pojavu prevremenog porasta progesterona (156), ključne preporuke kako da se prevaziđe negativan uticaj stimulacije na imlantaciju su svakako pored optimalizovanja stanja uterino miljea i razvoj blažih prtokola stimulacije, pre svega se odnosi na impletaciju koncepta segmentacije ciklusa uz elektivnu krioprezervaciju svih embriona u svežem ciklusu i sledstveni transfer u narednim ciklusima takozvani FREEZE All koncept za koji se veruje i da je dominantna strategija budućnosti IVF-a (157).



## 1.10 REKURENTNI NEUSPEH IMPLANTACIJE



Slika 26 Molekularni mehanizmi neuspaha implantacije, preuzeto iz Timeva i sar 2014.

Kaskada događaja koja bi trebalo da dovede do uspešne implantacije ljudskog embriona i sledstvene trudnoće, a koja započinje fertilizacijom jajne ćelije i daljom deobom novoformiranog zigota, ponekad bude ometena na nivou migracije, apozicije, adhezije i invazije embriona dovodeći do neuspaha implantacije (Slika 26) (158).

Po navedenom modelu, implantacija se završava periodom invazije embriona u endometrijum, što se ogleda porastom serumske koncentracije humanog horionskog gonadotropina (HCG-a), čija se beta subjedinica sekretuje od strane embriona već 7 dana nakon fertilizacije (159). Na osnovu navedenog i dalje je nejasno kada se proces implantacije završava, naročito iz ugla kliničke definicije koja podrazumeva sonografski vidljiv gestacijski mešak, te ne postoji univerzalni konsenzus o kraju procesa implantacije, odnosno, iz kliničkog ugla, šta podrazumeva neuspeh implantacije a šta rani spontani pobačaj (160,161).

Kako implantacija podrazumeva suptilnu komunikaciju blastociste koja je probila zonu pelucidu i endometrijuma u toku adhezije i invazije i kasniju migraciju u dublje slojeve endometrijuma, neuspeh implantacije može nastupiti na raznim stadijumima, te rezultovati negativnim testom na trudnoću, ili kasnije nakon uspešne migracije, sekrecije HCG-a koji se detektuje u krvi ili urinu, ali uz krah procesa pre jasno vidljivog gestacijskog meška (Entitet nazvan biohemijska trudnoća) (160).

Stopa implantacije u postupcima VTO se definiše kao broj ultrazvučno viđenih gestacijskih meškova u kavumu uterusa po totalnom broju transferiranih embriona i literaturni podaci ukazuju na prosečnu stopu implantacije u postupcima VTO za embrione starosti 2 ili 3 dana do 25%, odnosno 40% za embrione u stadijumu blastociste starosti 5-6 dana od fertilizacije (42). U kliničkom smislu neuspelom implantacijom se definiše odsustvo ultrazvučno vidljivog gestacijskog meška, iako može podrazumevati i subpopulaciju gde ne dolazi ni do detektabilne produkcije HCG-a (160). Pojmovi rani spontani pobačaj i neuspeh implantacije, iako klinički različiti entiteti, predstavljaju različite manifestacije istog kliničkog problema nazvanog **rekurentni reproduktivni neuspeh** (162).

U postupcima VTO kumulativne stope trudnoće iznose do 55% nakon 3 uzastopna ciklusa rastući na 75% nakon 6 uzastopnih ciklusa dostižući plato, nakon čega stopa trudnoće po započetom ciklusu IVF-a drastično pada u odnosu na pacijente koji se podvrgavaju postupku VTO prvi ili drugi put (161).

**Rekurentni neuspeh implantacije – Recurrent implantation failure (RIF)** je jatrogeni klinički entitet koji se odnosi na situaciju u kojoj implantacija repetitivno ne uspeva da dostigne stadijum vidljiv vaginalnom endosonografijom (160). Iako deluje jednostavno, ni dalje ne postoji jasna i univerzalno prihvaćena definicija RIF-a, kako u smislu broja i kvaliteta embriona po jednom pokušaju, tako i u smislu ukupnog broja pokušaja u postupcima IVF-a, iako je nebrojeno definicija bilo u opticaju i ove nejasnoće u terminologiji rezultat su i brojnih promena u postupcima VTO, povećanja stope uspeha implantacije, bolji sistemi kultivacije, SET, transfer odmrznutih embriona i svih drugih novina koje inicijalne definicije koje su podrazumevale odsustvo implantacije nakon transfera i do 10 i više kvalitetnih embriona u 3 i više svežih pokušaja VTO čine opso-lentnim (160,161). Iz navedenog se odmah uočava da i o svakom od navedenih pojmova ne postoji jasan konsenzus u naučnoj i stručnoj javnosti.

RIF se razlikuje od pojma rekurentnog neuspeha IVF-a, koji je širi pojam i odnosi se samo na odsustvo ostvarivanja trudnoće nakon više pokušaja IVF-a, a što može biti i posledica slabog ovarijalnog odgovora na stimulaciju usled iscrpljene ovarijalne rezerve (163). TROPHY studija je, poređenja radi ispitivala uticaj histeroskopije kod rekurentnog neuspeha IVF-a, uz definiciju da je žena imala 2, 3 ili 4 neuspela sveža ili odmrznuta transfera embriona, čineći prilično široku definiciju (6).

Definicija RIF-a mora da uzme u razmatranje kvalitet embriona, uz neophodno postojanje embriona visokog kvaliteta na osnovu embrioloških kriterijuma kako za embrione starosti 3 dana, tako i za blastociste, potom ukupan broj transferiranih embriona koji se u ranijim definicijama kretao i do 10, ali je uz današnje stope implantacije ovo revidirano na 4 ili više embriona. Dodatan faktor je i stadijum razvoja, činjenicu da li je reč o svežem ili u transfer odmrznutih embriona, kao i protokol krioprezervacije, godine majke, gde se granica od 40 godina uzima za limit u većini definicija, i uz poseban osvrt na kvalitet uterusa (160,164).

Uprkos verovatno najheterogenijim definicijama u literaturi i odsustvu konsenzusa, **savremena definicija entiteta RIF bi podrazumevala odsustvo ostvarivanja kliničke trudnoće nakon transfera bar 4 embriona dobrog kvaliteta u najmanje 3 ciklusa transfera svežih ili odmrznutih embriona kod žene mlađe od 40 godina života** (160).

Na osnovu predložene definicije, RIF se, pre svega, smatra posledicom uterinog faktora infertiliteta, iako u određenom broju slučajeva kvalitet oocita i aneuploidije embriona igraju ključnu ulogu u njemu.

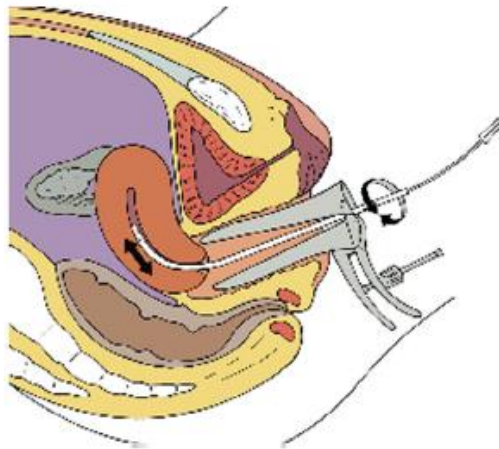
Embrionalni faktori najčešće su posledica kvaliteta oocita, ali i spermatozoida, kao i paternalnih hromozomskih abnormalnosti (86). Sa druge strane, brojni prethodno opisani **entiteti uterine patologije** apostrofirani su kao potencijalni uzroci RIF-a. Ovde, pre svega, spadaju kongenitalne uterine anomalije, kao i stečene intrakavitarnе abnormalnosti poput submukoznih mioma, polipa, intramuralnih mioma, adenomioze, intrauterinih adhezija i drugi, pošto se patologija kavuma kod pacijenata sa RIF-om nalazi u 25-50% slučajeva ukazujući na veliku ulogu histeroskopije kod navedene subpopulacije pacijenata (55,122,127,129,165,166).

Pored navedenih, i druga ginekološka stanja pored uterine patologije poput **endometrioze i postojanja hidrosalpinga** povezana su sa RIF-om (160). Od ranije je poznato da pojava hidrosalpinga negativno utiče na stopu implantacije, da je po nekim studijama smanjuje i za 50%, kao i da tretman istog stanja dovodi do veće stope trudnoće u narednim pokušajima (167). Pored direktnog embriotoksičnog i mehaničkog efekta nakupljene tečnosti, hormonalni i proinflamatorni milje koji postoji u navedenoj situaciji dodatno negativno doprinosi implantaciji (160). Histeroskopska insercija Essure intratubarnog uloška je efikasan metod za tretman navedenog stanja, naglašavajući ulogu histeroskopije i u navedenim situacijama (168).

Imunološki faktori i stanja urođene ili stečen trombofilije dugo su uzimani kao potencijalni uzrok RIF-a, i njihov tretman praktično predstavlja standard u radu, iako brojna novija istraživanja nisu uspjela da identifikuju niti jasnu vezu između navedenih stanja i RIF-a, niti da dokažu realan benefit primjenjenh mera, pre svega tretmana niskomolekularnim heparinima i kortikosteroidnom terapijom, na poboljšanje ishoda sledstvenih postupaka VTO (160,169,170).

Od konkretnih mera u tretmanu RIF –a brojne opcije su pokušavane sa velikim očekivanjima, ali je retko koja dala značajnije efekte. Bitno je ovu delikatnu populaciju pacijenata tretirati na postulatima medicine zasnovane na dokazima, uz napomenu da je, pored histeroskopskog tretmana grublje intrauterine patologije, efekat svih drugih predloženih mera diskutabilan i skroman (160). Od mera koje svakako nisu na odmet, pored pristupa punog podrške, možemo primeniti modifikaciju stila života, promene ishrane, ostavljanje pušenja, redukcija konzumacije alkohola, praktikovanje fizičke aktivnosti, kao i konkretnije medicinske mere poput alteracije protokola ovarijalne stimulacije, poboljšanja laboratorijskih uslova, kultivacije i selekcije embriona, asistiranog “hatching-a” embriona, PGS-a, tehnike i strategije same procedure embriotransfera, primenom sekvencijalnog embriotransfera kako bi se premostila potencijalna asinhronija endometrijuma i embriona, upotrebe faktora rasta, empirijske upotrebe aspirina i heparina, i brojnih drugih opcija, ali, kao što je navedeno, efekat navedenih strategija je diskutabilan (11). Uzevši u obzir kompleksnost kliničkog entiteta RIF i brojne intervencije u ispitivanju i tretmanu istog, pre svega u oblasti trombofilija, imunologije i histeroskopije, ovo je svakako jedan od najzahtevnijih entiteta reproduktivne medicine. Posebna mera u tretmanu RIF-a poslednjih godina je i jatrogena lezija endometrijuma.

**Jatrogena lezija endometrijuma (Endometrial scratch – ES)** predstavlja namernu minimalnu traumu endometrijuma koja se izvodi histeroskopski ili putem biopsione pipele, a u cilju povećanja implantacionih potencijala uterusa i posledično veće stope uspeha ciklusa VTO, pre svega kod pacijenata sa RIF -om (Slika 27) (171).



Slika 27 Endometrial scratch – ES, preuzeto iz Coughlan i sar. 2015.

Da bi se shvatila priča o ES mora se razumeti frustrirajuća priroda kliničkog entiteta RIF, kako po pacijente, tako i po kliničare, kao i goruća potreba da se nešto učini. Iako i dalje nema jasnih dokaza o brojnim aspektima procedure, činjenice da li i za koju subpopulaciju pacijenata ona donosi benefit, kada bi trebalo, kako bi trebalo da se izvodi, ovo je trenutno jedna od najrasprostranjenijih intervencija u reproduktivnoj medicini, što se objašnjava činjenicom da procedura nije štetna, a postoje brojni dokazi o njenoj koristi pa je rutinski preporučuje i izvodi i preko 90% kliničara u ART-u (171).

Prva iskustva potiču od Barash i sar. koji je 2003. godine sproveo studiju na 134 pacijentkinje sa RIF-om od kojih je 45 randomizovano i kojima je sprovedena procedura ES dana 8, 12, 21 i 26 ciklusa pred postupak VTO, kada je dobijena praktično dvostruko veća stopa trudnoće i porođaja u odnosu na grupu pacijentkinja kojima procedura nije sprovedena (stopa živorođenja iznosila je 48,9% naspram 22,5%), uz postavljane koncepta da proces zaceljenja dovodi do oslobađanja citokina i faktora rasta koji pomažu procesu implantacije (172).

Nakon toga usledile su brojne studije i metaanalize istih sa ponekad oprečnim stavovima o realnoj koristi procedure, ali su prve studije definitivno dobijale i dvostruko veću stopu porođaja kod ES ukoliko se procedura sprovodi u lutealnoj fazi prethodnog ciklusa, dok je izvođenje procedure u folikularnoj fazi bilo bez efekta, uz zaključak da bi se procedura trebalo sprovesti oko 7

dana pred očekivani menzes u kome se planira stimulacija za postupak VTO, uz dodatan oprez usled mogućnosti oštećenja rane trudnoće (160).

Mehanička manipulacija endometrijuma može povećati receptivnost i moduliranjem ekspresije gena koji kodiraju transkripciju potencijalnih faktora implantacije poput glikodellina A, laminina alfa 4, integrina alfa 6 i matriks metaloproteinaza 1 (162). Iako brojne studije ukazuju na benefit ES, bilo kao izolovane procedure, bilo u sklopu histeroskopije (173–175), novije metaanalize potvrđuju benefit, ali i ukazuju na neadekvatnost dokaza i apeluju na dobro dizajnirane multicentrične studije (176,177). Navedene metaanalize navode da promene u lokalnom imunom sistemu i ekspresijigena koje inicira lokalna trauma mogu predstavljati biološku osnovu za poboljšane receptivnosti i povoljnijeg miljea za implantaciju.

U svim studijama koje su metaanalize obradile, u prethodnim dijagnostičkim postupcima je isključeno postojanje grublje patologije kavuma uterusa i procedura ES je sprovedna histeroskopski ili “slepo”, ali uz značajne varijacije u broju i tajmingu same procedure u odnosu na embriotransfer uz definitivno dokazan negativan efekat procedure ukoliko se obavi na sam dan aspiracije jajnih ćelija (178). **Pored navedenih, ostaje da se, kao i kod izolovane uloge histeroskopije, odgovori na brojna druga pitanja i jasno definiše subpopulacija pacijenata, klinički postulati i klinički okvir u kojima se može očekivati prihvatljiv benefit.**

U budućem ispitivanju RIF-a se dosta nade polaže i u analizu abnormalnog maternalnog imunog odgovora na paternalne antigene, pre svega iz domena HLA sistema, i uloge odnosa TH1:TH2 odgovora majke kako sistemski, tako i lokalno, i navedena zapažanja dodatno su potkrepljena iskustvima iz ciklusa sa doniranim jajnim ćelijama (153). Dodatno pitanje koje ostaje je da li se uloga lokalnog i sistemskog imunog odgovora mogu modulirati histeroskopski.

### **1.10.1 Molekularni mehanizmi rekurentne neuspele implantacije**

Istraživanjima su ustanovljeni brojni molekularni mehanizmi koji utiču na neuspeh implantacije u određenim ginekološkim oboljenjima koja su povezana sa ovim kliničkim entitetom.

Za endometriozu i adenomiozu je nađen smanjen nivo avb3 integrina i ekspresije LIF u “prozoru implantacije”, kao i nedostatak IL-11 u sekretornoj fazi, uz odsustvo HOXA10 i HOXA11 skoka u sekretornoj fazi, uz povećanu ekspresiju EMX2, progesteronsku rezistenciju

alteracije u odnosu progesteronskih receptora, te smanjenu ekspresiju HOXA10 usled hiperemetilacije regije promotora gena (179). Kod hidrosalpingsa dominira mehaničko ometanje apozicije embriona tečnošću hidrosalpinxa koja pokriva i endometrijum uz smanjenje nivoa avb3 integrina i ekspresije LIF, kao i smanjene ekspresije HOXA10.

Miomi pored direktne distorzije endometralne šupljina vrše i obstrukciju tubalnih ostijuma i cervikalnog kanala, smanjuju ekspresiju HOXA10 i BTEB1 gena, dok endometralni polipi takođe mehanički interferiraju sa transportom spermatozoida i implantacije enmbriona, ali i snižavaju nivo IGFBP-1, osteoponina i progesteronskih receptora u sekretornoj fazi (179).

Histeroskopija svakako ima dragocenu ulogu u ispitivanju i tretmanu navedenih stanja.

### **1.11 UTICAJ HISTEROSKOPIJE NA ISHOD VANTELESNE OPLODNJE**

Na osnovu svega iznetog do sada, nesumnjivo je da histeroskopija ima značajnu ulogu u tretmanu infertiliteta postupcima VTO i da se ona ogleda pre svega u proceni kavuma uterusa, ljudskog inkubatora u kome treba da započene novi život, kako bi se ustanovile i tretirale sve moguće promene koje mogu negativno da interferiraju sa implantacijom. Dodatna i neprocenjiva uloga, pored kliničke upotrebe, leži i u pristupku koji omogućava dalje naučno-istraživačke napore u sagledavanju tajne implantacije, strukture i funkcije endometrijuma i junkcionalne zone miometrijuma.

Sumarno, patologija kavuma materice ima negativan uticaj na fertilitet, ne samo u smislu začeća, već pre svega uticajem na delikatan mehanizam implantacije i sledstvenog razvoja ploda. U prethodnom delu navedeni su brojni dokazi o uticaju prisustva endometrijalnih polipa, mioma, adhezija i raznih uterinih malformacija (septumi, itd.) na sterilitet (32). Dokazano je da su ove pojave češće u populaciji subfertilnih žena, kao i da njihov tretman dovodi do povećanja šanse za trudnoću. Histeroskopija nedvosmisleno predstavlja zlatni standard kako dijagnostike, tako i terapije patoloških stanja kavuma čija je superiornost i prihvatljivost od strane pacijenata potvrđena brojnim studijama do sada. Međutim, koncenzus stručne javnosti o upotrebi histeroskopije u savremenom pristupu infertilitetu nedostaje u smislu njene rutinske primene kod svakog para sa ovim problemom, a pogotovo pre upotrebe asistiranih reproduktivnih tehnologija.

U skladu sa savremenim trendovima i postulatima individualizovane medicine, cilj je jedan klinički problem podeliti na subpopulaciju kliničkih entiteta, kliničkih situacija, odnosno grupa

pacijenata, te za date situacije sakupiti validne podatke po pravilima medicine zasnovane na dokazima radi izvođenja odgovarajućih zaključaka i preporuka.

**Dosadašnja iskustva u literaturi identifikovala su sledeće situacije u kojima histeroskopija ima ulogu na tok i ishod postupka VTO:**

1. Tretman poznate, odnosno prethodno dijagnostikovane uterine patologije koja može negativno uticati na ishod VTO;
2. Detekciju i tretman prethodno nedijagnostikovane uterine patologije koja može negativno uticati na ishod VTO;
3. Rutinska upotreba histeroskopije kod pacijenata sa RIF-om;
4. Rutinska upotreba histeroskopije kod neselektovane grupe pacijenata i pre prvog pokušaja VTO;
5. Naučnoistraživački rad.

Moguća patofiziološka objašnjenja pozitivnog uticaja histeroskopije na ishod postupaka VTO ne leže samo u terapijskoj korekciji nađene intrauterine patologije. Kao glavni mehanizmi pored navedenog, apostrofiraju se i olakšavanje procedure embriotranfera inspekcijom i lakom dilatacijom cervikalnog kanala prilikom histeroskopije, obezbeđivanje uslova za adekvatniju identifikaciju i preciznije određivanje mesta optimalne implantacije embriona, kao i povećanje receptivnosti endometrijuma nastale kao posledica endometralne stimulacije i traume i sledstvenog humoralnog odgovora, te pojačane sekrecije brojnih medijatora uspešne implantacije (177,180).

Kako je o uticaju tretmana određene patologije kavuma uterusa na ishod VTO bilo više reči u prethodnom odeljku, u daljem toku akcenat je stavljen na studije i stavove koji su ispitivali celokupan uticaj sprovođenja rutinske histeroskopije i lezije endometrijuma na neselektovanu grupu pacijenata koji ulaze u postupak VTO, bilo rutinski pre prvog ili bilo kog postupka VTO, ili u sklopu tretmana RIF –a.

Nakon inicijalnih istraživanja koja su ukazala na benefit sprovođenja histeroskopije i lezije endometrijuma pred postupak VTO, prva metaanaliza El-Toukhy i saradnika ispitivala je uticaj lokalne lezije endometrijuma koja se u brojnim studijama izvodila pre postupaka VTO, histeroskopski ili drugim terapijskim modalitetima (biopsija kateterima, i dr.) i na 901 ispitivanoj ženi dobila gotovo dvostruko povećanje stope trudnoća i porođaja u ispitivanoj grupi (181). Dokazano je da ES menja ekspresiju gena u ćelijama endometrijuma u smislu pojačane regulacije određenih



gena za koje se smatra da olakšavaju pripremu endometrijuma za implantaciju embriona (182). Pored navedenog, dodatni mehanizam koji povećava šansu za trudnoću nakon ovih procedura predstavlja i povećana lokalna produkcija proinflammatoryh citokina i faktora rasta poput TNF alfa, IL 6, 10, 11 i 15, epidermalnih faktora rasta, inhibitornog faktora leukemije i drugih medijatora za koje se smatra da učestvuju u regulaciji endometrijuma, homeostaze decidue i trofoblastne invazije (183). Ovo su svakako bitni momenti u objašnjenju potencijalno delotvornog uticaja histeroskopije na ishod postupka VTO. Huang i saradnici su takođe dobili drastično veće stope trudnoća kada su kod pacijentkinja sa neuspehim pokušajima VTO kombinovali histeroskopiju sa lokalnom traumom endometrijuma (184).

Jedno od nerešenih pitanja u ovoj oblasti je svakako i vreme izvođenja procedura histeroskopije. Procedure se najčešće izvode 2-3 nedelje pre samog postupka embriotransfera, odnosno u lutelanoj fazi prethodnog ciklusa, uz moguću neželjeni efekat ukoliko se procedura izvodi svega par dana pre postupka ET. Pozitivni efekti zabeleženi su i u narednim ciklusima, ali najverovatnije ne duže od 2 meseca (185–187), što je dokazano na osnovu studije koja je na 1258 pacijentkinja kod kojih je histeroskopija izvođena u vremenskom periodu do 50 dana od procedure, od 51 dan do 6 meseci pre postupka VTO ili više od 6 meseci pre postupka VTO dobila da stopa porođaja u navedenim grupama iznosi redom 36,9%, 27,9% i 22,6 %, uz statistički značajno veću stopu trudnoća ukoliko se sama histeroskopija izvodi do 50 dana od procedure VTO (188).

Pored opšte upotrebe histeroskopije, njene uloge u različitim kliničkim situacijama, optimalnog načina i vremena izvođenja, postoje i druga nerešena i kontraverzna pitanja poput uticaja ponavljanih histeroskopija, uloge drugih vidova manipulacije endometrijuma i brojne druge dileme iz ugla svakodnevne kliničke prakse.

### **1.11.1 Uticaj histeroskopije na ishod VTO kod RIF –a**

Upotreba histeroskopije kod RIF-a više od deceniju predstavlja klinički standard pošto je baš za ovu subpopulaciju pacijenata prvi put i apostrofirana njena delotvornost. Demirel i saradnici su prospektivno randomizirano ispitali uticaj histeroskopije na ishod sledećeg ciklusa VTO nakon 2 ili više neuspehli pokušaja VTO. Njihova studija je dobila statistički značajno manju stopu trudnoća kod pacijentkinja koje nisu podvrgnute histeroskopiji (21,6%) spram pacijentkinja gde je izvedena histeroskopija prilikom koje je dobijen uredan nalaz (32,5%), kao i spram pacijentkinja

gde je histeroskopski utvrđeno prisustvo patologije kavuma koje je u istom aktu i tretirano (30,4%). Među pacijentkinjama kod kojih je izvedena histeroskopije nije postojala statistički značajna razlika u stopi trudnoće, bez obzira na prisustvo intrauterine patologije (173).

Ovi nalazi se donekle podudaraju sa nalazima studije sprovedene na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV na 480 žena. Trninić i saradnici su kod pacijentkinja koje su podvrgnute postupku VTO bez prethodne histeroskopiije zabeležili stopu trudnoća od 36,9% uz stopu porođaja od 27,5%. Kod pacijentkinja kod kojih je sprovedena histeroskopija, nađen patološki nalaz i u istom aktu tretiran nije dobijena statistički značajno manja stopa trudnoća (32,7%) ni porođaja (25,7%), dok su kod pacijentkinja kod kojih je sprovedena histeroskopija pre postupka VTO prilikom koje nije nađen patološki nalaz zabeležene statistički značajno veća stopa trudnoće od 58,75% i stopa porođaja od 48,7%. Ipak, navedena studija nije dodatno selektovala pacijente na osnovu broja prethodnih postupaka VTO (189).

Pored psihološkog i fizičkog opterećenja koje nosi svaki ciklus VTO, a naročito neuspeli, nije zanemarljiva ni cena po zdravstveni sistem i pacijente (190). Ukupno povećanje šanse za ostvarivanje kliničke trudnoće primenom histeroskopije pre narednog postupka VTO kod RIF-a procenjeno je određenim studijama na 9-13%, što svakako nije zanemarljiv postotak (174,187). Zapažanja prvih studija potvrđena su i brojnim sledstvenim istraživanjima, kao i metaanalizama, iako su u zaključcima većine metaanaliza dominirali stavovi o suboptimalnom kvalitetu dosadašnjih studija i potrebi sprovođenja dobro dizajniranih multicentričnih studija.

### **1.11.2 Sumarna efektivnost koncepta rutinske histeroskopije na ishod VTO**

Metaanaliza ukupnog uticaja histeroskopije u ciklusu pre postupka VTO, bez selekcije na prvi ili ponovni postupak VTO koja je sumarno obuhvatila 1691 ispitanicu dobila je značajno povećanje stope trudnoća kod pacijentkinja koje su izložene histeroskopiji, na osnovu podataka iz 2 randomizirane (Demirolo; Rama Raju; koje su ispitivale ulogu histeroskopije u RIF-u) i 3 nerandomizirane studije (Doldi za rutinsku histeroskopiju pred prvu VTO, Mooney nevezano za pokušaj VTO i Chung za RIF). Ukupan uticaj histeroskopije na ishod VTO dao je povećanje stope trudnoće uz RR od 1,75 uz broj pacijenata koji treba da bude podvrgnut intervenciji kako bi se ostvarila dodatna trudnoća od svega 6 (NNT - number needed to treat). U subanalizi navedene studije koja je ispitivala uticaj histeroskopije na uspeh narednog ciklusa vantelesne oplodnje nakon 2 ili više

prethodnih neuspelih pokušaja VTO pokazano je da izvođenje histeroskopije i u ovoj situaciji dovodi do statistički značajno veće stope kliničkih trudnoća uz RR 1,57 i NNT 7, ali nije identifikovana razlika u stopi pobačaja. U subanalizi slučajeva gde je rutinska histeroskopija ustanovila uredan nalaz, takođe je zabeleženo povećanje uspeha VTO uz RR 1,63 te NNT 7 (187). Ipak, navedena metaanaliza zasnivala se samo na 2 prospektivne randomizirane studije uz konstataciju da je za donošenje konačnih preporuka neophodno sprovesti još kvalitetnih dobro dizajniranih prospektivnih istraživanja. Isti autori su još 2009. godine pokrenuli veliku multircentričnu randomiziranu dobro dizajniranu prospektivnu studiju na datu temu - najveću do sada - TROPHY studiju čiji rezultati finalno objavljeni 2016. godine nisu uspeali da dokažu pozitivnu ulogu histeroskopije na stopu živorođenja kod RIF pacijenata (38).

Ispitivanjem efektivnosti rutinske histeroskopije pre postupaka VTO ustanovljeno je da povećanje stope trudnoća od svega 2.8% čini histeroskopiju finansijski isplativom (97). Isti autori ispitivali su i prisustvo varijabilnosti u tumačenju histeroskopskih nalaza i dobili da postoji značajna neslaganja (interobserverska varijabilnost), uz perfektno slaganje u svega 77,6% slučajeva što može dodatno da kompromituje dijagnostičku preciznost ove procedure i njenu ulogu u VTO programima (72).

### **1.11.3 Uloga rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO**

Upotreba histeroskopije kod dokazane patologije kavuma, kao i u slučajevima rekurentnih neuspeha vantelesne oplodnje (RIF) već predstavlja standard u praksi jer je benefit potvrđen brojnim studijama, iako i za ovu kliničku indikaciju nedostaju adekvatni naučni dokazi. Veću kliničku dilemu predstavlja upotreba rutinske histeroskopije kao standarda kod svakog pacijenta pre započinjanja prvog procesa VTO, i na ovu temu se sprovode brojna istraživanja (55,173,174). Pored dokazane koristi histeroskopije kod prethodnih neuspelih pokušaja VTO, od posebnog značaja za svakodnevnu kliničku praksu je i sve veći broj dokaza o njenoj nedvosmislenoj koristi i za pacijente koji se prvi put podvrgavaju procedurama asistiraane reprodukcije i za težnje da ovo postane standar kliničke prakse.

Uloga histeroskopije u savremenom tretmanu steriliteta i dalje je predmet brojnih kontraverzi i kontinuirane debate stručnih krugova, pre svega u smislu opravdanosti postavljanja ove

procedure kao rutinskog standarda. **Koncenzus stručne javnosti o upotrebi histeroskopije u savremenom pristupu tretmanu infertiliteta postupcima VTO, nedostaje kako u smislu njene rutinske primene kod svakog para sa ovim problemom, a pogotovo pre upotrebe asistiranih reproduktivnih tehnologija, tako i u smislu njene upotrebe kod definisane patologije kavuma uterusa, kao i nakon rekurentnih neuspelih pokušaja VTO.**

Metaanaliza Pundir i saradnika iz 2014. godine o uticaju histeroskopije na ishod prvog ciklusa VTO izazvala je znatne polemike u naučnim i stručnim krugovima. Navedena studija je obradila 1 randomiziranu i 5 nerandomiziranih studija, uključujući i studiju Trninić i saradnika, te na uzorku od 3179 pacijentkinja dobila da rutinska histeroskopija pre prvog postupka VTO dovodi do statistički značajno veće stope kliničkih trudnoća od čak 1,44 puta, kao i stope porođaja od 1,3 puta, i da se na svaku desetu histeroskopiju pre prvog postupka VTO može očekivati jedna klinička trudnoća više. Jedina RCT u navedenoj metaanalizi na 62 žene sa rutinskom histeroskopijom i 62 žene bez rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO dobila je stopu kliničkih trudnoća od 40,3% u grupi histeroskopije spram 24,2% u grupi bez histeroskopije (191). Druga randomizirana studija o rutinskoj upotrebi histeroskopije pre prvog postupka VTO ustanovila je učestalost patologije kavuma od 33% kod pacijentkinja sa normalnim nalazima na HSG-u ili transvaginalnoj sonografiji, ukazujući i na druge benefite same histeroskopije. Navedena studija nije selektovala samo pacijente po broju prethodnih ciklusa VTO i dobijeno je da je stopa kliničkih trudnoća kod pacijentkinja bez histeroskopije 27,2% dok su kod pacijentkinja koje su imale histeroskopije zabeležene statistički značajno veće stope trudnoće koje su iznosile 35,7% u slučaju urednog nalaza i 42,8% u slučaju tretirane patologije kavuma histeroskopski (192)

Smit je u odgovoru na metaanalizu Pundir i sar. ukazala na neadekvatnost studija uključenih u istu, i druge metodološke nedostatke, te pozvala na veliki oprez u tumačenju navedenih rezultata, uz napomenu da se rutinska upotreba histeroskopije pre prvog postupka VTO treba da se izvodi samo u istraživačke svrhe, kao i da se konačni zaključci na ovu temu, uz konkretne preporuke koje bi se mogle odnositi na svakodnevnu kliničku praksu, mogu doneti tek po objavljivanju rezultata 2 velike multiricentrične studije na temu uticaja histeroskopije na ishod VTO nakon ponovljenih neuspelih pokušaja kao i pre prvog postupka VTO (6,193). Reč je svakako o TROPHY i InSIGHT studijama čiji rezultati će detaljnije biti prodiskutovani u daljem toku.

Uticaj histeroskopije na prvi postupak VTO, čak i u studijama u kojima je apostrofirana kao koristan, manji je od benefita koji se zapaža nakon neuspelih pokušaja VTO (187). Objašnjenje ovog zapažanja najverovatnije leži u činjenici da se potencijal za implantaciju i prateća patologija kavuma kod ove 2 grupe pacijentkinja razlikuje (83). Određeni autori koji izučavaju pojam RIF-a ukazuju da bi patofiziološki i klinički prvi postupak VTO i rekurentni postupci VTO mogli biti različiti entiteti, te je i očekivani benefit različit. Stoga se ukazuje da bi i metodološka postavka studija koje se bave ovom temom trebalo da uzme ovu varijablu u obzir (193).

**Decenijama se ključ u poboljšanju uspeha VTO tražio dominantno u embriološkom radu, uz usavršavanje postupaka kulture embriona, embrioselekcije, često na principima ne samo morfologije, već i na postulatima proteonimike, metabolomike, genetske dijagnostike i brojnih drugih modaliteta, ali uz diskretno zanemarivanje osnovnih ginekoloških i hiruških alatki koje su nam dostupne (16,194).**

Novija istraživanja koja su nedvosmisleno ukazala na benefit ovih procedura dovela su do masovne ekspanzije istih u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Kako živimo u eri individualizovanog pristupa svakom pacijentu i personalizovane medicine, ali i u eri marketinga i svesnosti koliko percepcija i stavovi pacijenata oblikuju našu oblast, čak ni terminologija koju koristimo ne bi trebalo da se zanemaruje. Tako navedeni autori Cohen, Grudzinskas, i Johnson pozivajući se na radove ElToukhy i saradnika konstatuju da termini poput grebanja, sastrugavanja, povrede endometrijuma koji se danas koriste da opišu intervencije na endometrijumu pre postupka VTO treba da budu zameljeni izrazom personalizovane endometrijalne procedure (PEP), pošto histeroskopija to i jeste (195).

Standardni tretman pacijenata koji ulaze u program VTO prvi put danas podrazumeva transvaginalnu sonografiju, sa ili bez instilacije fiziološkog rastvora, histerosalpingografiju i eventualnu histeroskopiju, koja i dalje nije obavezna i rutinski preporučena po poslednjim preporukama referentnih tela kao što je Evropsko udruženje za humanu reprodukciju (196)(40,197).

## **1.12 OBRAZLOŽENJE O POTREBAMA ISTRAŽIVANJA**

Iako je blagotvorni efekat histeroskopije pre postupaka VTO dokazan u brojnim situacijama, neophodne su dodatne dobro dizajnirane studije kako bi domaća i međunarodna naučna i stručna javnost mogla sa sigurnošću da je inkorporira u standarde pristupa infertilnom paru, kako

u inicijalnoj dijagnostici infertiliteta, tako i u standardnoj pripremi pacijenta za postupak vantelesne oplodnje, a naročito u slučaju neuspelog pokušaja vantelesne oplodnje.

Pored potencijalne koristi naučnih krugova koji se bave reproduktivnom medicinom, potreba za istraživanjem se u prvom redu nameće od strane samih pacijenata kojima smo, u eri personalizovane medicine i individualizovanog pristupa svakom paru, dužni da ponudimo najbolji mogući savet i tretman, a koji podrazumeva kliničke odluke jedino i isključivo na osnovama medicine zasnovane na dokazima.

Uspeh postupaka VTO je u našoj sredini na nivou je evropskog proseka, ali, na žalost, nije u nivou vodećih centara iz oblasti reproduktivne medicine i neophodni su maksimalni naponi kako bi se ovaj jaz premostio. Pored negativnih demografskih trendova, ni ekonomska situacija u našoj sredini nije zadovoljavajuća tako da trenutno država finansira svega 3 postupka vantelesne oplodnje za infertilne parove. Imajući u vidu prosečna primanja, nije teško pretpostaviti da je za većinu parova sopstveno finansiranje vantelesne oplodnje veoma teško.

Podizanje šanse za uspeh ciklusa VTO neprestana je borba koja se mora sprovoditi sistematski, i čiji cilj ne sme biti samo efikasnost već i bezbednost ciklusa VTO.

## 2 CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

---

Ciljevi istraživanja proizilaze iz analize najnovijih stavova u publikacijama na temu uticaja histeroskopije na ishod tretmana infertiliteta postupcima vantelesne oplodnje, te identifikovanih naučnih i kliničkih dilema koje zahtevaju precizna i jasno formulisana pitanja i koncizne odgovore. Na osnovu očekivanih rezultata naše studije definisani su sledeći **ciljevi**:

1. Utvrditi prihvatljivost histeroskopije za pacijente kao standardne procedure pre prvog pokušaja vantelesne oplodnje, gde se očekuje visoka prihvatljivost od strane pacijenata.
2. Utvrditi uticaj histeroskopije izvedene neposredno pred ciklus VTO na uspeh bilo kog po redu ciklusa VTO, kako kod pacijentkinja sa postojanjem patološkog nalaza kavuma materice, tako i kod pacijentkinja kod kojih nije detektovano postojanje patologije kavuma materice, gde očekujemo da primena histeroskopije u obe kliničke situacije dovede do većeg uspeha ciklusa VTO (iskazano kroz stopu kliničkih trudnoća) u odnosu na pacijentkinje kod kojih se histeroskopija ne sprovodi pred postupak VTO.
3. Utvrditi uticaj rutinske histeroskopije pre prvog pokušaja VTO na ishod ciklusa VTO kod pacijentkinja sa urednim ultrazvučnim nalazom kavuma uterusa (koje po trenutnim stavovima nemaju kliničku indikaciju za izvođenje histeroskopije), gde očekujemo da će kod selektovane grupe pacijentkinja primena histeroskopije dovesti do veće stope trudnoće nakon postupaka VTO u odnosu na istovetnu grupu pacijentkinja kojoj histeroskopija neće biti izvedena.

**Iz zadatih ciljeva istraživanja proizilaze sledeće istraživačke hipoteze:**

1. Upotreba rutinske histeroskopije pre postupaka vantelesne oplodnje je visoko prihvatljiva od strane pacijenata.
2. Histeroskopija izvedena neposredno pre postupka vantelesne oplodnje dovodi do značajno veće stope trudnoća kod svih pacijenata, bez obzira na prisustvo ili odsustvo patološkog nalaza u kavumu uterusa u odnosu na pacijentkinje koje u postupak VTO ulaze bez izvedene histeroskopije i sa urednim ultrazvučnim nalazom kavuma uterusa.
3. Rutinska primena histeroskopije pre prvog postupka vantelesne oplodnje dovodi do značajno veće stope trudnoća ciklusa vantelesne oplodnje.

### 3 MATERIJALI I METODE

---

Doktorska disertacija se u svom teorijskom delu, analizom referentne literature i publikacija na datu temu, bavila problemom infertiliteta, uspeha vantelesne oplodnje, razlozima za neuspeh i metodama koje se mogu primeniti kako bi se ovaj problem prevazišao. Pored navedenog, poseban istraživački akcenat podrazumevao je ispitivanje primenjivosti histeroskopije u svakodnevnoj kliničkoj praksi, a naročito u sklopu tretmana infertiliteta i njenog uticaja na ishod postupaka VTO. Finalno, rad će na osnovu dobijenih rezultata i analize stavova u stručnoj literaturi predložiti izmene vladajućih stavova o indikacionim područjima savremene histeroskopije i definisati klinički protokol dijagnostike i lečenja patologije materične šupljine pre postupaka VTO.

Istraživalje je sprovedeno u formi prospektivne studije u 2 sukcesivne etape na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog Centra Vojvodine u periodu od 01.01.2015. do 01.04.2017. godine.

#### **Prva etapa**

Prva etapa istraživanja podrazumevala je ispitivanje uticaja histeroskopije na ishod postupaka VTO kod svih pacijentkinja bez obzira na pokušaj VTO po redu, bez randomizacije pacijentkinja, i sprovedena je u 3 faze. Po dizajnu, ovaj segment studije bio je prospektivnog interventnog karaktera i sproveden je tokom 18 meseci u periodu od 01.01.2015. do 30.06.2016. godine.

**Prva faza** podrazumevala je selekciju pacijentkinja koje u narednom ciklusu ulaze u program VTO na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV. Pacijentkinje su prethodno ispunile uslove za uključivanje u nacionalni program VTO, te su selektovane (Kriterijumi za uključivanje) po sledećim kriterijumima za uključivanje: Odsustvo žive dece aktuelnog para, prisustvo infertiliteta za čiji tretman je medicinski indikovani postupak VTO, starost pacijentkinje do 40 godina, hormonski pokazatelji očuvane ovarijalne rezerve uz vrednosti bazalnog nivoa folikulostimulirajućeg hormona (FSH) trećeg dana ciklusa ne više od 15 IU/l i vrednosti antimileroovog hormona (AMH) od preko 0,5ng/ml, kao i prisustvo živih i morfološki ispravnih spermatozoida u ejakulatu muškog partnera, te odsustvo potrebe za procedurama testikularne ekstrakcije spermatozoida, odsustvo aktivne infekcije virusom HCV, HIV.



**Sledeća faza** podrazumevala je endosonografsku i histeroskopsku evaluaciju patologije kavuma uterusa na osnovu čega su žene biti podenjene u grupu pacijentkinja kojima nije detektovana patologija kavuma i kojima pred postupak VTO nije sprovedena histeroskopija (Grupa A-kontrolna grupa), pacijentkinje kod kojih je histeroskopija sprovedena na osnovu ultrazvučnog nalaza ili po drugim kliničkim indikacijama (prethodni neuspeli pokušaj VTO, prethodni spontani pobačaj, i druge indikacije), a gde je histeroskopija pokazala uredan nalaz i gde je u toku dijagnostičke histeroskopije sprovedena jatrogena lezija endometrijuma - ES (Grupa B) i pacijentkinje gde je sprovedena histeroskopija (na osnovu patološkog ultrazvučnog nalaza ili druge kliničke indikacije) uz abnormalan histeroskopski nalaz i sledstveno operativno histeroskopsko lečenje nađenog patološkog nalaza u kavumu uterusa (Grupa C).

**Treća faza** podrazumevala je sprovođenje procedure vantelesne oplodnje po utvrđenom i važećem kliničkom protokolu određenom od strane ordinirajućeg lekara i bez razlike u odnosu na pripadnost ispitivanoj grupu.

Kriterijum za isključivanje iz ovog dela studije bili su histeroskopski tretman sproveden unutar 2 meseca pre prijema, postojanje razvojnih anomalija uterusa osim septuma uterusa, postojanje intramuralnog mioma promera preko 3 cm, ili velikih submukoznih mioma, ultrazvučno vidljivo postojanje hidroslapingsa, vrednosti BMI od preko 35, nedobijanje embriona za proceduru embriotransfera u procesu VTO, tako da su se u kasnijem radu stope trudnoća izražavale i jedino kao stopa trudnoće po embriotransferu kako bi se iz analize isključio embrionalni razlog neuspeha.

Pacijentkinje su u ovoj etapi istraživanja bile podvrgnute standardnom kliničkom tretmanu na Klinici za ginekologiju i akušerstvo, te im nije ponuđeno potpisivanje dodatnog informisanog pristanka o učešću u studiji, već su se njihovi klinički podaci koristili na osnovu pisane saglasnosti koji pacijenti daju o upotrebi podataka u svrhu istraživanja prilikom prijema u bolnicu, a po postulatima zaštite prava pacijenta i medicinske etike.

U navedenom periodu je na klinici za ginekologiju i akušerstvo sprovedeno 654 ciklusa VTO, od kojih je za potrebe istraživanja regrutovano ukupno 169 pacijentkinja i to 58 pacijentkinje koje su ulazile u program VTO bez prethode histeroskopije – grupa A i 111 pacijentkinja kojima je u okviru tretmana indikovana histeroskopija pred postupak VT – grupa B i grupa C. Finalna analiza obuhvatila je 52 ispitanice iz grupe A, i po 50 ispitanica iz grupa B i C, a razlozi za isključivanje inicijalno regrutovanih pacijentkinja navedeni su u rezultatima.

## Druga etapa

Druga etapa istraživanja podrazumevala je ispitivanja uticaja rutinske histeroskopije na ishod prvog ciklusa VTO. Po dizajnu, ovaj deo istraživanja predstavljao je prospektivnu randomizovanu interventnu studiju (RCT – randomised controlled trial) i sproveden je tokom 9 meseci u periodu od 01.07.2016. do 01.04.2017. godine.

U prvoj i drugoj fazi ovog dela studije su se prilikom selekcije pacijentkinja koje su po prethodno opisanim inkluzionim kriterijumima ulazile u nacionalni program VTO izdvojile pacijentkinje kojima je ovo prvi pokušaj VTO, i kod kojih sonografska evaluacija kavuma uterusa pri prijemu nije detektovala prisustvo patološkog nalaza (U slučaju da jeste bile su uključeni u grupu C prvog dela istraživanja.). Inkluzioni kriterijumi za uključivanje u ovaj RCT su, pored navedenih kriterijuma za prvu etapu studije, dakle predstavljale prvi pokušaj VTO i odsustvo sonografski detektovane patologije kavuma uterusa.

Kako rutinska (Bez ultrazvučne ili druge kliničke indikacije) upotreba histeroskopije pre prvog postupka VTO trenutno na našoj klinici ne predstavlja standardni klinički tretman, pacijentkinje su bile upoznate sa prirodom istraživanja (Informacija za ispitanika – prilog 1) I, nakon potpisanog pristanka za učešće u studiji (Informisani pristanak – prilog 2), sprovedena je randomizacija ispitanica na grupu pacijentkinja kojima je sprovedna histeroskopija pre prvog postupka VTO (Grupa A2 – ispitivana grupa) i na grupu pacijentkinja koje su podvrgnute postupku VTO bez prethodne histeroskopije (Grupa B2 – kontrolna grupa).

U navedenom periodu je na klinici za ginekologiju i akušerstvo sprovedeno 308 ciklusa VTO, od kojih je za potrebe istraživanja regrutovano ukupno 121 pacijentkinje i to 61 pacijentkinja koje su randomizovane na sprovođenje postupka VTO bez prethodne histeroskopije (Grupa A2) i 60 pacijentkinja koje su randomizovane na sprovođenje rutinske histeroskopije pred postupak VTO (Grupa B2) i kod kojih je nakon povlačenja ili isključivanja pacijentkinja iz navedenih randomizovanih kategorija finalna analiza obuhvatila 51 pacijentkinju u grupi A2 i 50 pacijentkinju u grupi B2.

Dalje faze drugog dela studije - sam histeroskopski tretman i program VTO - sproveden je po standardnoj kliničkoj proceduri kao i u prvom delu studije. Kriterijum za isključivanje iz drugog dela studije bili su postojanje prethodnog histeroskopskog tretmana, postojanje razvojnih anom-

alnija uterusa osim septuma uterusa, postojanje intramuralnog mioma promera preko 3 cm, ili velikih submukoznih mioma ( $>0,5-1$  cm), ultrazvučno vidljivo postojanje hidroslapingsa, vrednosti BMI od preko 35, nepotpisivanje informisanog pristanka. Određena grupa isključenih pacijenata zadovoljavala je uslove za uključivanje u prvi deo studije.

Svim pacijentkinjama, u obe etape istraživanja, koje su podvrgnute histeroskopiji sprovedeno je, putem posebno dizajniranog anketnog upitnika, ispitivanje o stavovima vezanim za rutinsku primenu histeroskopije, kao i iskustvima histeroskopije i drugih rutinskih procedura u i tretmanu infertiliteta (transvaginalna sonografija i histerosalpingografija) kojima su u toku postupka ili u prethodnom toku lečenja pacijentkinje bile podvrgnute (Anketni upitnik – prilog 3).

Studija je odobrena od strane Etičkog odbora Kliničkog Centra Vojvodine, kao i od strane Etičkog odbora Medicinskog fakulteta univerziteta u Novom Sadu.

Kod svih pacijenata, bez obzira na pripadnost određenoj ispitivanoj ili kontrolnoj grupi, analizirani su i uzajamno poređeni sledeći parametri:

- Demografske i antropometrijske karakteristike pacijentkinja (Godine žene, BMI, ...)
- Dužina trajanja infertiliteta, tip infertiliteta (primarni, sekundarni), uzrok infertiliteta i prethodne metode lečenja.
- Spermogram na osnovu WHO kriterijuma iz 2010 godine (198).
- Hormonski pokazatelji ovarijalne rezerve (bazalni FSH, E2, AMH)
- Parametri toka postupka VTO iskazani kroz primenjeni protokol stimulacije, količine utrošenih gonadotropnih hormona, broja folikula preko 16 mm i broja dobijenih jajnih ćelija.
- Embriološki aspekti ogledani u primenjenoj metodi fertilizacije i broju i kvalitetu dobijenih embriona uz stopu fertilizacije.

Analiza navedenih varijabli nije bila od primarnog interesa za uticaj histeroskopije na ishod postupaka VTO (pošto nema osnova za tezu da navedeni parametri zavise od upotrebe histeroskopije) ali je njihova upotrebna vrednost bila u svrhu isključivanja razlika među posmatranim grupama, te je u slučaju potrebe, odnosno signifikantnog odstupanja u navedenim varijablama koji su

nezavisni prediktori uspeha VTO, planirana dalja stratifikacija, kao i da bi se stekli uslovi za detaljnu analizu uticaja različitih varijabli, a pre svega primene histeroskopije na ishod postupka vantelesne oplodnje, uz eventualno determinisanje prediktivnog modela.

Analiza histeroskopskog nalaza, odnosno histeroskopskih parametara, podrazumevala je određivanje volumena i oblika kavuma, prisustvo i tretman patologije kavuma uterusa i to submukoznih mioma, endometralnih polipa, prisustvo intrauterinih priraslica, uterinog septum, kao i analize endometrijuma i subtilnih lezija poput hiperplazije, mikropolipoze, naglašene vaskularne šare, kriпти, «Strawbery like» endometrijuma i drugih histeroskopskih markera kao indikatora endometritisa.

**Primarni pokazatelji** uspeha VTO koji su analizirani bili su:

- Stopa kliničkih trudnoća po embriotransferu (definisanih ultrazvučnom potvrdom srčane radnje ploda u kavumu uterusa 4 nedelje nakon embriotransfera) kako su usled primarnog cilja ispitivanja histeroskopije i uterine komponente na ishod postupka VTO iz studije isključeni pacijenti koji nisu imali vijabilnih embriona za proceduru embriotransfera zbog očiglednog embrionalnog razloge neuspele procedure VTO.

**Sekundarni pokazatelji** uspeha VTO koji su analizirani bili su:

- Stopa implantacije i stopa višeplođnih trudnoća po embriotransferu.
- Stopa kliničkih pobačaja do 12 gestacijske nedelje definisanih kao gubitak svih plodova nakon prethodne verifikacije srčane radnje ploda.
- Stopa tekućih trudnoća (kliničkih trudnoća i živorođenja po embriotransferu).

Stope su izražavane po embriotransferu, iako se ishodi VTO mahom iskazuju kao stope po aspiraciji, u skladu sa metodologijom svih studija koje se bave histeroskopijom kao faktorom poboljšanja uterine receptivnosti, a kako bi se izbegao bias embrionalnog faktora.

Parametri ishoda unošeni su u postojeću kliničku bazu podataka procedura ART, a dodatne informacije uzimane su putem telefonskog intervjua. Ukoliko se u daljem toku praćenja ni nakon više pokušaja nije mogao uspostaviti kontakt sa pacijentkinjom, ona se smatrala izgubljenom iz daljeg praćenja te je isključena iz studije.

### 3.1 METODE PRIMENJENE U STUDIJI

Studija je prospektivno sprovedena od 01.01.2015. do 01.04.2017. godine na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i akušerstvo KCV na pacijentkinjama koje su u navedenom periodu uključene u nacionalni program VTO i kojima je u zavisnosti od prethodno definisanih uslova postupak VTO sproveden, uz upotrebu histeroskopije unutar 2 meseca pred embriotransfer ili bez upotrebe histeroskopije unutar 2 meseca od procedure embriotransfera. Prvi deo studije sproveden je prospektivno tokom 18 meseci. Drugi deo studije, koji je podrazumevao randomizaciju pacijenata u smislu primene rutinske histeroskopije pre prvog postupka VTO sprovodio se prospektivno tokom 9 meseci.

Primenjene kliničke i istraživačke metode podrazumevale su primenu histeroskopije, postupak vantelesne oplodnje, postupke randomizacije pacijenata i popunjavanja anketnog upitnika o prihvatljivosti histeroskopije.

Anketni upitnik je popunjavao u direktnoj verbalnoj komunikaciji sa ordinirajućim lekarom i podrazumevao je multiple ponuđene odgovore na izdvojena pitanja o stavovima i prihvatljivosti procedure različitog dizajna.

Histeroskopija je izvođena u ranoj proliferativnoj fazi ciklusa, odnosno u toku kontraceptivnog predtretmana VTO, u operacionoj sali i dominantno u kratkotrajnoj OIV anesteziji ili eventualno analgosedaciji, u zavisnosti od izbora pacijentkinje (2 pacijentkinje su izabrale upotrebu analgosedacije).

Pacijentkinje su postavljane u dorzalni litotomni položaj, odnosno položaj za ginekološke operacije. Kao distenzioni medijum korišćen je fiziološki rastvor 0,9% NaCl ili 5% rastvor Glukoze. Za proceduru histeroskopije upotrebljavan je rigidni histeroskop sa ugaonom 30° optikom. Korišćeni instrumenti bili su 5 mm Bettocchi office histeroskop (Karl Storz Gmb Hand Co, Tuttingen, Germany), kao i 5 mm Wolf Compact histeroskop (Richard Wolf GmbH, Knittlingen, Germany). U upotrebi je bio radni kanal dimenzija 5 Fr kroz koji su za potrebe biopsije endometrijuma, resekcije adhezija i resekcije manjih uterinih septuma dubine ispod 1 cm korišćeni mehanički instrumenti (forceps, makaze). Od elektrohiruških instrumenata, u slučaju potrebe za polipektomijom, resekcijom dubljih uterinih septuma preko 1 cm i manjih submukoznih mioma promera ispod 1 cm upotrebljavani su Gynecare Versapoint™ bipolarni elektrohiruški sistem

(Johnson and Johnson, Ethicon Endosurgery Inc., Somerville, NJ, USA), dok je kod većih submukoznih mioma upotrebljavan monopolarni resektoskop sa prečnikom spoljnog omotača 7 mm, a uterina šupljina distendirana je rastvorom glukoze - Wolf Princess resectoscope (Richard Wolf GmbH, Knittligen, Germany).

Polipi, miomi i sumnjive lezije bili su biopsirani radi patohistološke evaluacije. Hiperplazija endometrijuma lečena je gestagenima u trajanju od mesec dana. Dokazani ili suspektni endometritis lečen je antibiotskom terapijom, peroralno, u trajanju od 10 dana, uz mesec dana kontraceptivne terapije. Izveštaj svih relevantnih anatomskih i kliničkih nalaza na histeroskopije arhiviran je tekstualno i u određenim situacijama vizuelno, u elektronskoj formi.

Sam postupak vantelesne oplodnje sproveden je po utvrđenim protokolima i standardima rada na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV. Usled organizacije rada odeljenje i većeg manevarskog prostora, u zakazivanju procedura histeroskopije, te izbegavanje mogućnosti oštećenja rane trudnoće, pacijentkinja je ordinirana kontraceptivna terapijom u ciklusu koji prethodi VTO, osim u slučaju medicinskih kontraindikacija. Svi postupci vantelesne oplodnje sprovedeni su uz konvencionalnu kontrolisanu ovarijalnu stimulaciju. Nisu primenjivani ciklusi VTO u spontanom ciklusu i korišćen je jedan od 2 standardna protokola ovarijalne stimulacije koja su u rutinskoj upotrebi na klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV, a na osnovu odluke i kliničke indikacije ordinirajućeg lekara. Standardno korišćeni protkoli podrazumevali su dugi protokol sa GnRH agonistom i kratki protokol sa Gn RH antagonistom, po prethodno opisanoj i publikovanoj metodologiji (7).

1. **Dugi protokol sa GnRH** agonostima podrazumevao je kontinuiranu upotrebu GnRH agoniste (Diphereline, Triptoreline 0,1 mg) od 18-21 dana ciklusa koji prethodni postupku VTO. Stimulacija gonadotropinima (rekombinantni - FSH i humani menopauzalni gonadotropin -hMG) započinjala je kada su kontrolne vrednosti LH i Estradiola bile za LH manja od 2 IU/ml, a za E2 manja od 20 pg/ml. Ultrazvučni monitoring primenjivan je do momenta postizanja veličine dominantnih folikula od 18 mm, kada je pacijentkinja primala injekciju hCG u dozi od 10.000 ij (Pregnyl, MSD, Oss, Netherlands).

2. **Kratki protokol** sa GnRH antagonistima podrazumevao je fleksibilni režim uključivanja antagonistima, uz primenu egzogenih gonadotropina (rekombinantni FSH i humani menopauzalni gonadotropin - hMG) od drugog dana menstrualnog ciklusa uz serijski ultrazvučni monitoring. GnRH antagonista (Cetrorelix acetate a 0,25 mg, Cetrotide, Merck Serono, Frankfurt,

Germany) ordiniran je kontinuirano od momenta kada je vrednost serumskog estradiola dostigla nivo od 300 ng/ml ili ultrazvučni monitoring pokazao prosečnu veličinu folikula veću od 13 mm. Indukcija finalne maturacije jajnih ćelija primenom injekcije hCG u dozi od 10.000 ij (Pregnyl, MSD, Oss, Netherlands) primenjivana je kada je ultrazvučni monitoring identifikovao postojanje bar 3 folikula prosečnog dijametra od 17 mm i više.

Po završenoj fazi stimualcije, koji god protokol da je upotrebljavan aspiracija jajnih ćelija sprovedena je na istovetan način i podrazumevala je da je 35-36 h nakon finalne injekcije hCG-a, u kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji ili analgosedaciji sprovedena punkcija folikula, aspiracija kompleksa kumulus oocita u folikularnoj tečnosti pod kontrolom transvaginalne endosonografije. Dobijene jajne ćelije momentalno su upućivane u embriološku laboratoriju zajedno sa svežim uzorkom sperme gde je tim embriologa laboratorije dalje sprovodio metode fertilizaciju jajnih ćelija u smislu klasične IVF ili ICSI metode, na osnovu kliničkih indikacija i standardne embriološke procedure. Po daljoj kultivaciji embriona u odgovarajućim laboratorijskim uslovima, procedura embriotransfera sprovedena je trećeg ili petog dana od fertilizacije vraćanjem 1-3 embriona, na osnovu odluke i pisane saglasnosti pacijentkinje, a nakon konsultacije sa lekarom i embriologom. Sama procedura embriotransfera sprovedena je transcervikalnim plasiranjem katetera i naknadnom ultrazvučnom potvrdom pozicije embriona u medijumu u kavumu uterusa. Lutealna podrška podrazumevala je obaveznu primenu Utrogestana (Besins, Laboratory Besins, Iscovesco, Paris, France), 600 mg na dan transvaginalno ili peroralno. U zavisnosti od kliničkih indikacija, pacijentkinje su u navedenom periodu imale i drugu terapiju.

Izbor uzorka je u većem delu prikupljanja podataka zadovoljavao postulate slučajnog izbora, a kada je postojala mogućnost pristranosti koristila se blok randomizacija (AABB, ABBA, BAAB, BABA).

Randomizacija pacijenata u drugom delu studije sprovedena je kompjuterski, upotrebom odgovarajućih softverskih paketa za randomizaciju po principima slučajnosti i po potrebi, uz dodatnu stratifikaciju po životnoj dobi i uzrocima infertiliteta. Studije u svom drugom delu nije podrazumevala slepu studiju ni za jednog učesnika.

## 3.2 KONSTRUKCIJA UZORKA I STATISTIČKA OBRADA

Za utvrđivanje moći i veličine uzorka koristio se statistički program JMP 9.0 (SAS), odnosno njegov deo *DOE Prospective Power and Sample Size Calculations* (Selected Situation). Ovi parametri su prikazani u okviru statističkih izveštaja za odgovarajuće selektovane situacije sa odgovarajućim komentarima i korigovanjem zahteva u skladu sa iskustvima iz prakse.

Na osnovu očekivane razlike, u stopi trudnoća u opisivanim grupama od 10% koje bi se smatralo klinički značajnim, uz definisan nivo greške alfa i beta, u skladu s realnim potrebama istraživanja, te pretpostavljenoj mogućoj stopi odustajanja pacijenata iz studije od 5% i procenjenoj veličini uzoraka, kako bi uočene razlike dostigle statističku značajnost minimum ispitanika po ispitivanoj grupi iznosio je 50 žena, tako da je ukupan uzorak obuhvaćen studijom preliminarnim statističkim metodama definisan na 250 žena.

Prvi deo studije je, dakle, definisan da uključi ne manje od 150 pacijentkinja koje ulaze u postupak VTO na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV po prethodno opisanim i definisanim kriterijumima za uključivanje i isključivanje iz studije i očekivano je bilo da svaka grupa unutar prvog dela sadrži bar 50 ispitanica. Drugi deo studije je definisan da uključi 100 žena koje ulaze u prvi postupak VTO po prethodno definisanim kriterijumima za uključivanje i isključivanje iz studije i kod kojih je metodom randomizacije određene da svaki krak randomizacije sadrži bar po 50 ispitanica.

Preliminarnim retrospektivnim istraživanjima ustanovljeno je da je navedena veličina uzorka realna za planirani period istraživanja, kao i da bi trebalo da bude dovoljno velika da pruži klinički i statistički značajne podatke.

Prikupljeni podaci su unošeni u prethodno dizajniranu kompjutersku bazu podataka, a za finalnu statističku obradu podataka korišćen je odgovarajući statistički program (JMP Ver. 9 computer software SAS Institute, Cary, NC; USA). U statističkoj obradi podataka su korišćene tradicionalne teorije merenja (classical test theory, CTT) i Item Response Theory (IRT1).

### **Statističke metode**

Deskriptivna statistika je univarijantnom analizom obuhvatala inicijalnu analizu varijabli i njihove distribucije. Kontinuirane varijable (obeležja) su prezentovane preko srednjih vrednosti i



standardne devijacije, odnosno medijane i kvantila, uz 95% intervale poverenja kao bliže pokazatelje distribucije, dok su kategorijske varijable predstavljene preko frekvencija i procenata.

Statističke metode za poređenje grupa:

- ANOVA (One-way analysis of variance)

Poređenje prosečnih vrednosti kontinuiranih varijabli između dve i više grupa promenljivih vršeno je jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA) analizirajući razlike u distribuciji kontinuiranih varijabli kroz grupe kategorijskih varijabli. Značajnost razlika za kontinuirane vrednosti je testirana odgovarajućim parametarskim i neparametarskim testovima (t-test, F test, Wilcoxonov test), a vizuelno predstavljena JMP grafikom, CDF grafikom, graficima funkcije gustine.

- Analiza kontingencijskih tabela (Contingency table analysis)

Kontingencijskom analizom poređene su kategorijske promenjive. Komparacija kategorijskih varijabli vršena je Perasonovim  $\chi^2$  testom i Fisher Exact testom. Razlike među posmatarnim grupama predstavljani su i preko relativnog rizika (RR), i odnosa šansi (Odds ratio - OR) uz 95% intervale poverenja (CI).

- Logistička regresija (Logistic regression)

Model logističke regresije korišćen je za predviđanje ishoda za dihotomne kategorijske promenjive, odnosno za ispitivanje koliko dobro odgovarajuće nezavisne promenjive predviđaju ishod. Upotrebljavan je metod prisilnog unosa (Forced Entry Method). Istraživačko pitanje podrazumevalo je koji faktori (iz skupa prediktorskih promenljivih) predviđaju ili objašnjavaju verovatnoću ishoda koji nas interesuje (kategorijsku zavisnu promenljivu). Koraci u ispitivanju rezultata podrazumevali su ispitivanje značajnosti modela, izračunavanje pojedinačnih parametara i njihove značajnosti, ispitivanja odnosa šansi ili mogućnosti prediktora i finalno predstavljanje ROC krive. Iz navedenih podataka je dobijena ocena kvaliteta predviđanja rezultata, relativne važnosti svake prediktorske promenljive ili interakcije između njih, kao i vrednosti osetljivosti i određenosti modela i njegovih pozitivnih i negativnih prediktivnih vrednosti.

Insistirano je na izračunavanju i interpretiranju p vrednosti kao mere statističke značajnosti na osnovu najadekvatnijih testova, uz opšte prihvaćeno vrednosti  $p < 0,05$  (dvostrana 95% značajnost) koja je smatrana statistički značajnom. Rezultati su predstavljeni tekstualno, tabelarno i grafički.

## 4 REZULTATI

---

Studija je u svoje 2 sukcesivne etape u periodu od 01.01.2015. do 01.04.2017. godine finalno obuhvatila 253 ispitanice. U navedenom periodu na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV sprovedeno je 962 ciklusa VTO u okviru nacionalnog programa i sve pacijentkinje su bile razmotrene za uključivanje u studiju.

**U toku prve etape istraživanja**, koja je po dizajnu bila prospektivna interventna studija, u periodu od 01.01.2015. do 30.06.2016. godine na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV je u okviru nacionalnog programa sprovedeno 654 ciklusa VTO koji su razmotreni radi uključivanja u ispitivanje. Ispitivane grupe u ovoj fazi istraživanja podrazumevale su:

1. **Grupu A** (Kontrolnu grupu) koja je inicijalno obuhvatila 58 pacijentkinja kojima sonografski nije detektovana patologija kavuma uterusa i kojima je sproveden postupak VTO (bez obzira na pokušaj po redu) bez sprovođenja histeroskopije pred sam postupak VTO. U navedenoj grupi kod 3 pacijentkinje nije došlo do razvoja embriona, 2 pacijentkinje su izgubljene iz daljeg praćenja, a kod jedne pacijentkinje je u toku aspiracije detektovan hidrosalpings te su one isključene iz studije tako da je iz navedene grupe u finalnu analizu uključeno 52 pacijentkinje.
2. **Grupu B** koja je inicijalno obuhvatila 54 pacijentkinje kojima je sprovedena histeroskopija pred postupak VTO (bez obzira na pokušaj po redu) na osnovu važećih kliničkih indikacija i kod kojih je nalaz histeroskopije bio uredan (izuzimajući minor lezije), te je u okviru dijagnostičke histeroskopije sproveden endometralni “scratching” - ES. U navedenoj grupi kod 3 pacijentkinje nije došlo do razvoja embriona, a 1 pacijentkinja je spontano zatrudnela pre postupka VTO, tako da je finalna analiza uključila 50 pacijentkinja iz grupe B.
3. **Grupa C** koja je inicijalno obuhvatila 57 pacijentkinja kojima je pred postupak VTO sprovedena histeroskopija koja je detektovala postojanje patološkog nalaza u kavumu uterusa koji je u istom aktu i operativno tretiran, nakon čega je u periodu od 1-2 meseca sproveden postupak VTO. U navedenoj grupi kod 1 pacijentkinje nije dobijena jajna ćelija, kod još 2 pacijentkinje nije došlo do razvoja embriona, kod 1 pacijentkinje notirano je postojanje uterus bicornisa, dok je kod 2 pacijentkine u toku intervencije notirano prisustvo submukoznih mioma tip 2 veličine preko 4 cm, te su navedenih 6 pacijenktinja, na osnovu prethodno zadatih kriterijuma, isključene iz istraživanja, a jedna pacijentkinja je izgubljena

iz daljeg praćenja pošto se nije javljala radi saznanja o ishodu VTO, te je finalna analiza uključila 50 pacijentkinja iz grupe C.

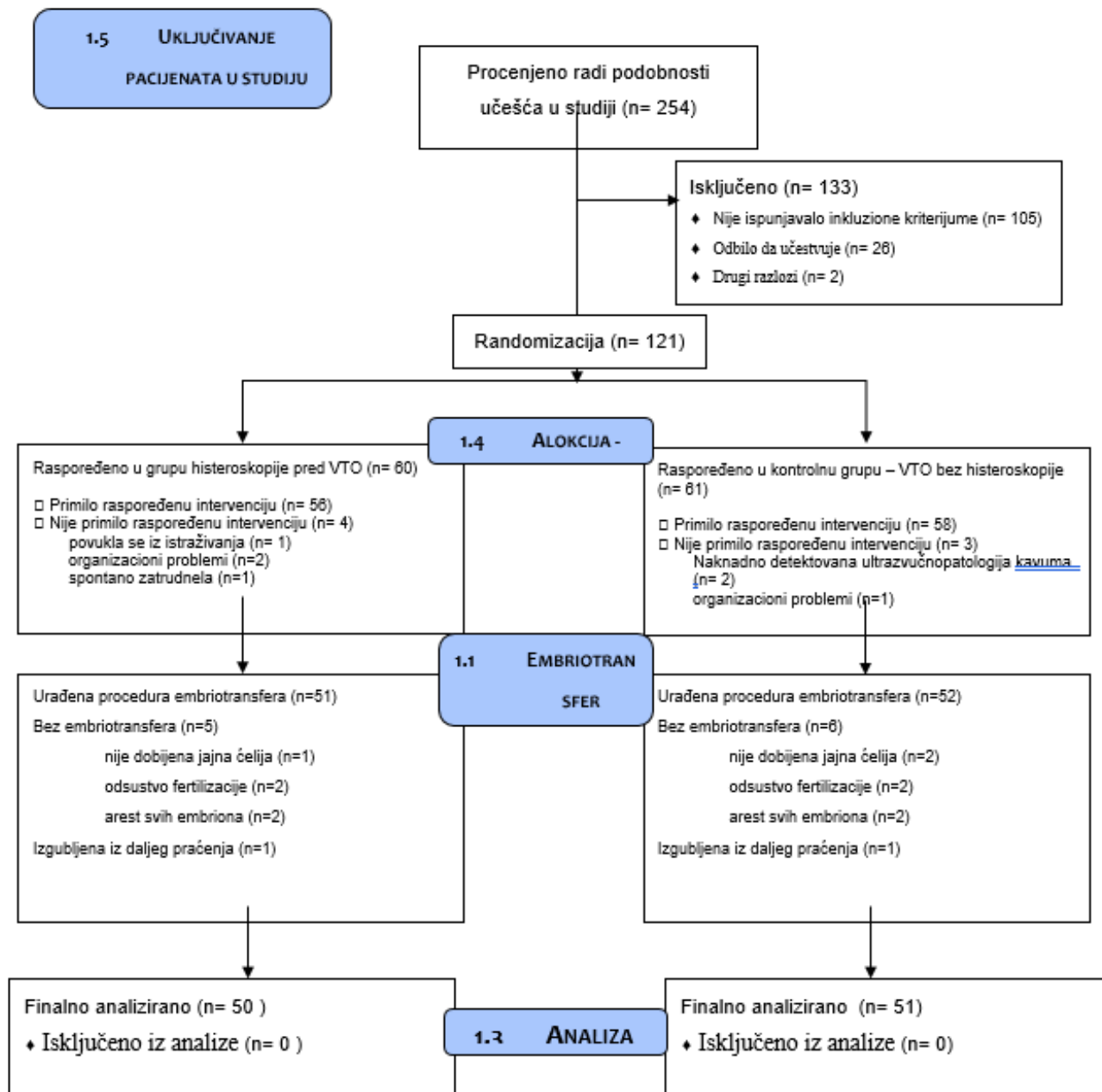
Većina pacijentkinja je u posmatranom periodu ispunjavala kriterijume za Grupu A, te je pre finalne selekcije pacijentkinja vršeno stratifikovanje i uparivanje po određenim karakteristikama koje mogu da utiču na ishod VTO kao što su godine žene i parametri ovarijalne rezerve.

**U toku druge etape istraživanja**, koja je po dizajnu predstavljala RCT i koja je ispitivala uticaj rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO, u periodu od 01.07.2017. do 01.04.2017. godine na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV je, u okviru nacionalnog programa, sprovedeno je 308 ciklusa VTO koji su razmotreni radi uključivanja u studiju.

Ispitivane grupe u ovoj fazi istraživanja podrazumevale su:

1. **Grupu A2** (Kontrolnu grupu) koja je inicijalno randomizacijom obuhvatila 61 pacijentkinju kojima je nakon urednog sonografskog nalaza planirano sprovođenje prvog postupka VTO bez prethodne histeroskopije, i navedena grupa je finalnom analizom obuhvatila 51 pacijentkinju.
2. **Grupu B2** koja je inicijalno randomizacijom obuhvatila 60 pacijentkinja kojima je, nakon urednog sonografskog nalaza, urađena dijagnostička histeroskopija pred prvi postupak VTO, te je u slučaju urednog histeroskopskog nalaza sprovedena procedura ES, a u slučaju patološkog histeroskopskog nalaza u kavumu uterusa on istovremeno i tretiran. Grupa B2 je finalnom analizom obuhvatila 50 pacijentkinja.

U skladu sa važećim preporukama izveštavanja o toku RCT studija, tok druge etape istraživanja, koji je po dizajnu bio RCT, predstavljen je **CONSORT 2010 dijagramom**:

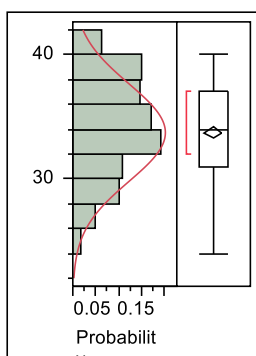


Šematski su dodatno prikazani razlozi za isključivanje iz studije pojedinih pacijenata.

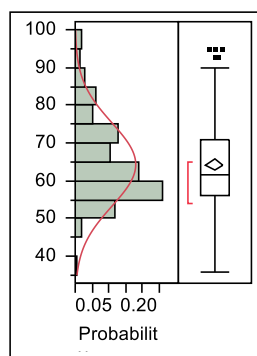
## 4.1 KARAKTERISTIKE PACIJENATA I CIKLUSA VTO U CELOM UZORKU

Univarijantnom analizom na svih 253 pacijentkinje obuhvaćenih studijom su dobijeni sledeći statistički podaci koji se odnose na **godine, telesnu masu, telesnu težinu i BMI** ispitivanih pacijentkinja. Može se uočiti da, kada je reč o ovom ispitivanju, portret pacijentkinje VTO u proseku karakterišu sledeći rezultati (Grafikoni 4-7):

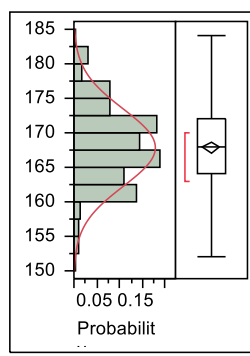
- Godine: 95% CI 33.24-34.22
- Telesna masa: 95% CI 62.89-65.75
- Telesna visina: 95% CI 167.13-168.58
- BMI: 95% CI 22.33-23.26



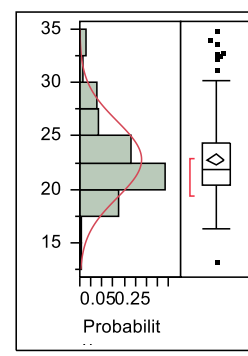
Grafikon 4 Godine



Grafikon 5 Telesna masa (kg)



Grafikon 6 Telesna visina (cm)



Grafikon 7 BMI

Sredina: 33.73  
95% CI 33.24-34.22

Kvantili

100.0%	maksimum	40
99.5%		40
97.5%		40
90.0%		39
<b>75.0%</b>		<b>37</b>
<b>50.0%</b>	medijana	<b>34</b>
<b>25.0%</b>		<b>31</b>
10.0%		28
2.5%		26
0.5%		24
0.0%	minimum	24

Sredina: 64.32  
95% CI 62.89-65.75

Kvantili

100.0%	maksimum	95
99.5%		95
97.5%		93
90.0%		80.7
<b>75.0%</b>		<b>70.75</b>
<b>50.0%</b>	medijana	<b>61.5</b>
<b>25.0%</b>		<b>56</b>
10.0%		52
2.5%		49.65
0.5%		37.815
0.0%	minimum	36

Sredina: 167.85  
95% CI 167.13-168.58

Kvantili

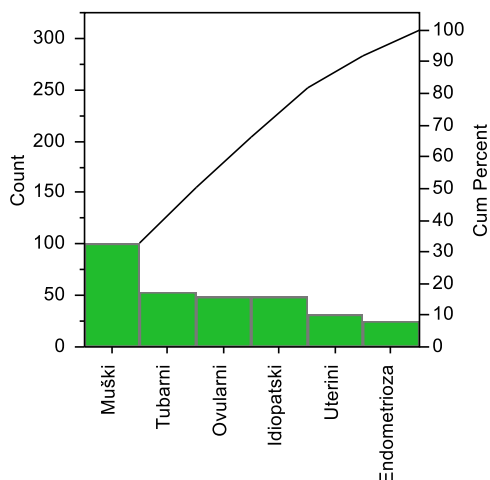
100.0%	maksimum	184
99.5%		183.7
97.5%		180
90.0%		175
<b>75.0%</b>		<b>172</b>
<b>50.0%</b>	medijana	<b>168</b>
<b>25.0%</b>		<b>164</b>
10.0%		161
2.5%		157.82
0.5%		152.16
0.0%	minimum	152

Sredina: 22.79  
95% CI 22.33-23.26

Kvantili

100.0%	maksimum	34.89
99.5%		34.73
97.5%		32.58
90.0%		28.39
<b>75.0%</b>		<b>24.39</b>
<b>50.0%</b>	medijana	<b>21.83</b>
<b>25.0%</b>		<b>20.32</b>
10.0%		19.01
2.5%		17.91
0.5%		13.72
0.0%	minimum	13.22

**Dominantan uzrok steriliteta** predstavljao je muški faktor sa 39,92% dok je kod 21,74% parova postojalo više od jednog uzroka steriliteta, uključujući 17,52% parova sa konjugalnim infertilitetom. Zastupljenost ostalih uzroka steriliteta predstavljeni su tabelarno i grafički (Tabela 3; Grafikon 8).



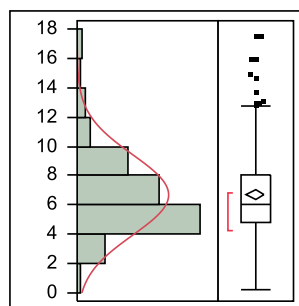
Uzrok steriliteta	n	Udeo
Tubarni	54	21.34%
Ovulatorni	49	19.37%
Muški	101	39.92%
Endometrijoza	25	9.88%
Uterini	31	12.25%
Idiopatski	48	18.97%

Tabela 3 Udeo različitih uzroka infertiliteta

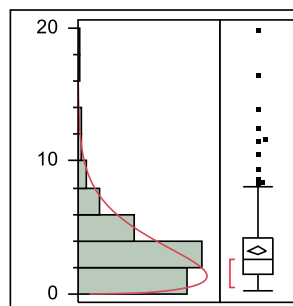
Grafikon 8 Udeo različitih uzroka infertiliteta -Pareto dijagram

Prosečno trajanje infertiliteta do aktuelnog postupka VTO iznosilo je  $5,74 \pm 3,86$  godina, uz medijanu 5, i interkvartilni interval od 3-7 godina, a što se tiče tipa infertiliteta 77,47% pacijenata suočavalo se sa primarnim a 22,53% sa sekundarnim infertilitetom.

59,28% pacijentkinja ulazilo je u svoj prvi postupak VTO, dok je kod preostalih 40,72% pacijenata većina ulazila u drugi postupak VTO (34,78 %), a ispod 5% pacijenata imalo je više od jednog neuspelog postupka VTO. Sa druge strane 30,43% pacijentkinja prethodno je bilo podvrgnuto postupcima IUI.



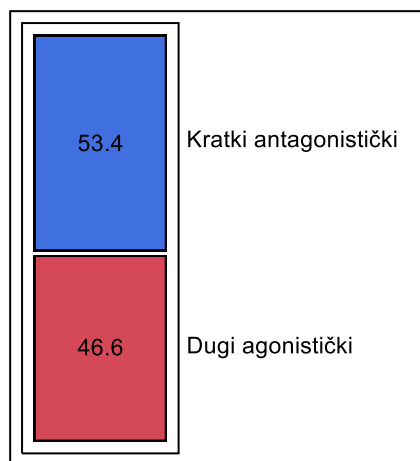
Grafikon 9 Histogram bazalnog FSH u IU/l



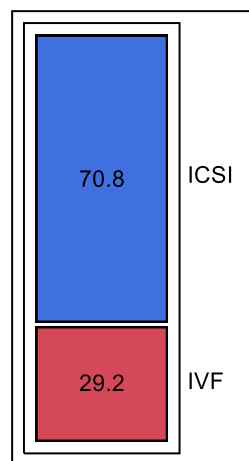
Grafikon 10 Histogram nivoa serumskog AMH u ng/l

Od parametara ovarijalne rezerve **prosečne vrednosti bazalnog FSH** iznosile su  $6,68 \pm 2,75$  mIU/ml uz medijanu 6 mIU/ml te interkvartilne intervale od 4,8-8,02 mIU/ml, dok su **prosečne vrednosti AMH** iznosile  $3,27 \pm 2,66$  ng/l uz medijanu od 2,6 ng/l i interkvartilne intervale od 1,5-4,2 ng/l (Grafikoni 9 i 10).

U samom postupku VTO najčešće primenjivan **protokol stimulacije** bio je kratki protkol sa GnRH antagonistom (53,41%), dok je dugi protokol sa GnRH agonistom primenjivan u 46,4% slučajeva. Što se tiče **modusa fertilizacije** dominirale su mikromanipulativne tehnike te je ICSI kao metod fertilizacije primenjen u 70,80% slučajeva a klasičan IVF u 29,20% slučajeva (Grafikoni 11 i 12).

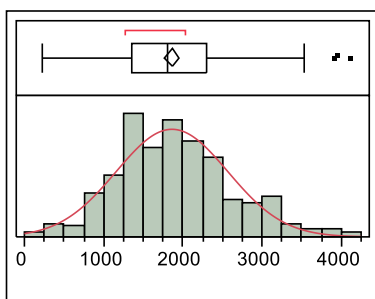


Grafikon 11 Primenjeni protokoli stimulacije

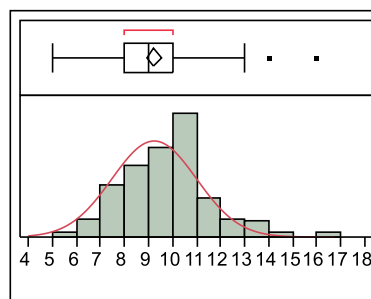


Grafikon 12 Metod fertilizacije na celom uzorku

**Prosečna potrošnja gonadotropina** iznosila je  $1862,95 \pm 704,86$  IU (medijana 1800 IU, interkvartilni interval 1350-2300), uz visoku zastupljenost (>90%) kombinovane upotrebe rekombinantnih i menopauzalnih gonadotropina. Prosečno trajanje stimulacije iznosilo je  $9,24 \pm 1,76$  dana, uz medijanu 9 dana, interkvartilni interval 8-10 dana (Grafikoni 13 i 14).



Grafikon 13 Prosečna potrošnja gonadotropirna u IU

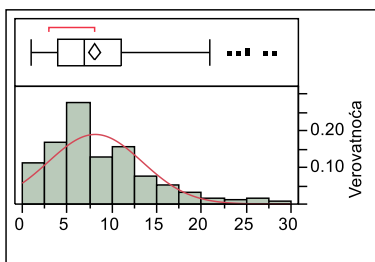


Grafikon 14 Prosečno trajanje stimulacije u danima

**Prosečan broj jajnih ćelija** dobijenih na aspiraciji iznosio je  $8,15 \pm 5,24$  uz medijanu 7 i interkvartilni interval 4-11 jajnih ćelija, dok je prosečan broj dobijenih embriona iznosio je  $4,56 \pm$

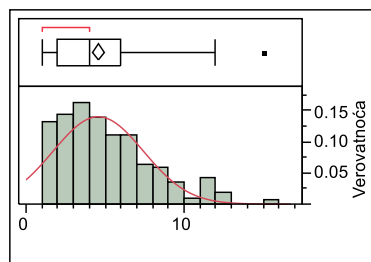


2,85 uz medijanu 4 te interkvartilni interval 2-6 (Grafikoni 15 i 16). Njihova razlika je testirana Wilcoxonovim rang testom i značajna je (Grafikon 17).



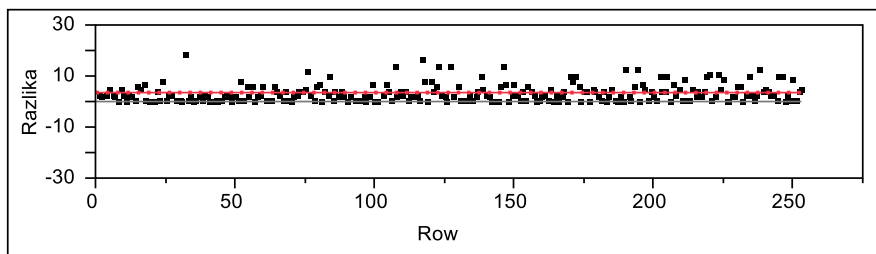
Sredina: 8.15	
95% CI 7.50-8.80	
Kvantili	
100.0%	maksimum 28
99.5%	27.735
97.5%	22.35
90.0%	15
75.0%	11
50.0%	medijana 7
25.0%	4
10.0%	2
2.5%	1
0.5%	1
0.0%	minimum 1

Grafikon 15 Prosečan broj dobijenih jajnih ćelija



Sredina: 4.57	
95% CI 4.21-4.92	
Kvantili	
100.0%	maksimum 15
99.5%	14.25
97.5%	11
90.0%	9
75.0%	6
50.0%	medijana 4
25.0%	2
10.0%	1
2.5%	1
0.5%	1
0.0%	minimum 1

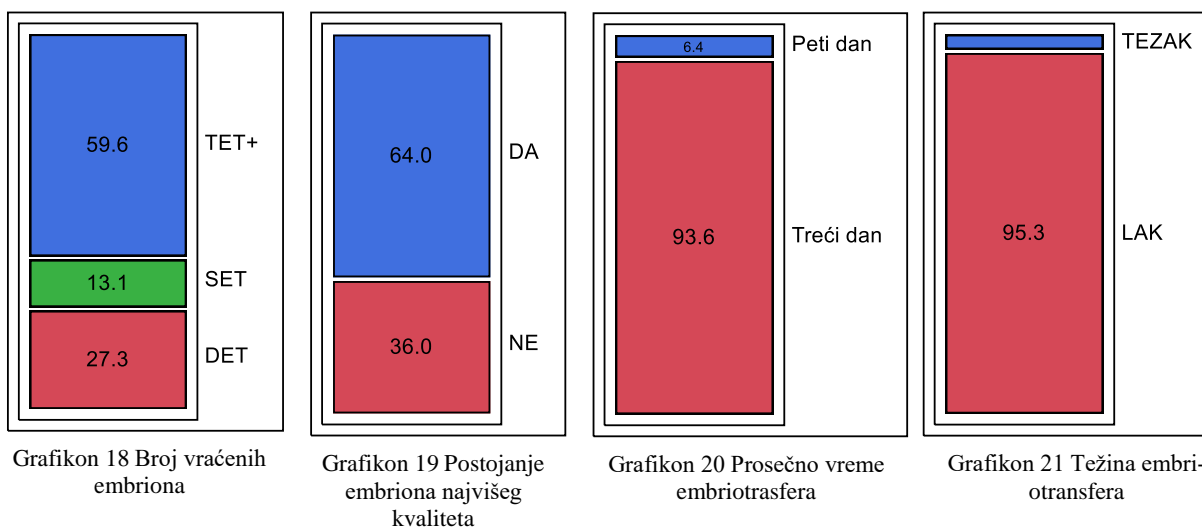
Grafikon 16 Prosečan broj dobijenih embriona



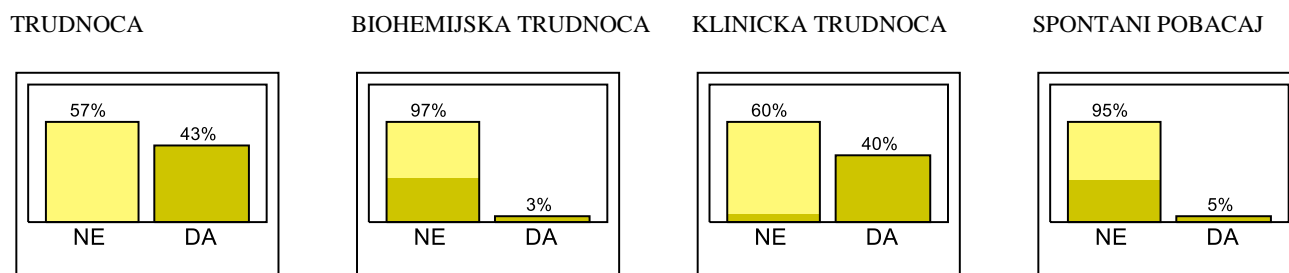
Razlika sredina	3.50
U 95%	3.94
L 95%	3.07

Grafikon 4 Uparena razlika broja jajnih ćelija i broja embriona

**Prosečan broj vraćenih embriona** iznosio je  $2,59 \pm 0,87$  uz medijanu od 3 embriona. Vraćanje samo jednog embriona sprovedeno je u 13,01 % slučajeva, 2 embriona u 27,24 % slučajeva a 3 i više embriona u 59,76% slučajeva (Grafikon 18). **Postojanje bar jednog embriona visokog kvaliteta, vreme i poteškoće prilikom embriotransfera** predstavljeni su grafički (Grafikon 19, 20 i 21).

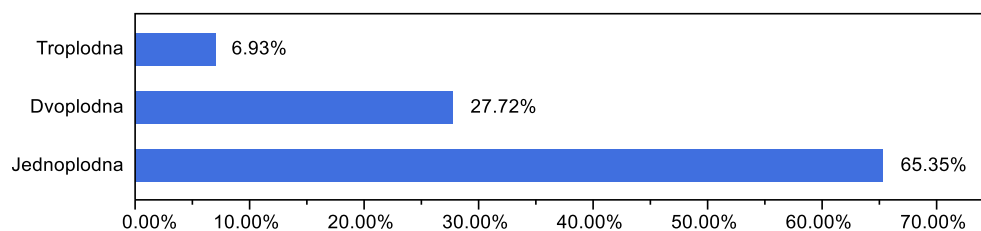


**Ukupna stopa trudnoća po embriotransferu** na celom uzorku od 253 ispitanice iznosila je 43,08%, uz stopu kliničkih trudnoća po embriotransferu od 39,92% stopu biohemijskih trudnoća 3,16% i stopu kliničkih pobačaja od 4,69%. Stopa porođaja i tekućih trudnoća koje su vitalne i nakon 12 nedelje gestacije iznosila je 35,18% (Grafikon 22).



Grafikon 22 Ishod VTO na celom ispitivanom uzorku

**Udeo višeplođnih trudnoća** iznosio je 34,65%, uz udeo blizanačkih trudnoća od 27,72% i udeo troplođnih trudnoća od 6,93% (Grafikon 23).



Grafikon 23 Udeo višeplođnih trudnoća na celom uzorku

Kako su vremenski period, dizajn grupa i priroda istraživanja donekle različiti za prvu i drugu etapu istraživanja radi adekvatnijeg poređenja odvojeno su predstavljani rezultati u

navedenim etapama i navedenim istraživačkim grupama, uz karakteristike celog uzorka, i dalje, analize subgrupa na osnovu relevantnih karakteristika.

## 4.2 REZULTATI PRVE ETAPE ISTRAŽIVANJA

U ovoj fazi poređeni su tok i ishod ciklusa VTO za grupe A, B i C (Tabela 4).

Ispitivana grupa	Karakteristike	Broj ispitanica
A	VTO bez histeroskopije	52
B	Uredan histeroskopski nalaz pred VTO	50
C	Patološki nalaz na histeroskopiji i operativni tretman pred VTO	50

Tabela 4 Karakteristike ispitivanih grupa u I etapi istraživanja

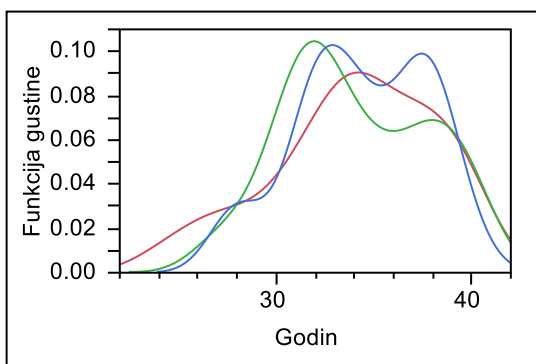
ANOVA analizom je pokazano da **nije postojala statistički značajna razlika** među grupama u sledećim pokazateljima: Godine pacijentkinja, BMI, dužina infertiliteta, primarni infertilitetu, prvi postupak VTO, drugi postupak VTO, treći i viši postupak VTO, prethodne inseminacije, bazalni FSH, AMH (Tabela 5, Grafikoni 24-27). U grupi C je najčešće sproveden prvi postupak VTO, dok je u grupi B najviše pacijentkinja imalo prethodne neuspele postupke VTO, iako razlike o prethodnoj upotrebi MAR procedura nisu dostigle statističku značajnost.

	Grupa A VTO bez HSC	Grupa B Uredan nalaz Dg HSC pred VTO	Grupa C Patološki nalaz i OP HSC pred VTO	p vrednost
GODINE ŽENE	34±4.16	34.04±3.67	34.38±3.32	0.855
BMI	22.4±3.01	22.34±3.07	22.87±3.3.1	0.670
Dužina infertiliteta	5.63±3.56	6.38±4.39	5.81±4.23	0.631
Primarni infertilitet	76.92%	76%	73.68%	0.534
Prvi postupak VTO	32.69%	22%	52.00%	0.108
Drugi postupak VTO	59.62%	64%	40.00%	0.108
Treći i viši postupak VTO	7.65%	14%	8.00%	0.108
Prethodne inseminacije	23.08%	28%	38.00%	0.440
Parametri ovarijalne rezerve				

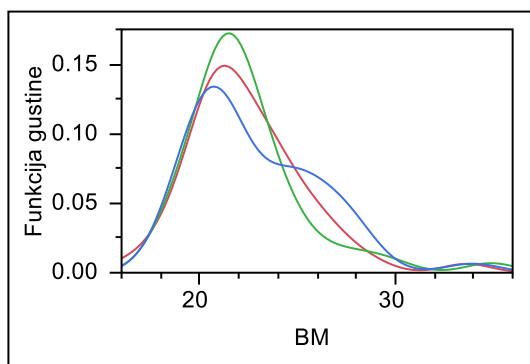
Bazalni FSH	7.64±3.43	6.63±2.22	7.09±3.06	0.231
AMH	3.28±3.39	3.11±2.54	3.02±2.07	0.881

Tabela 5 Karakteristike pacijentkinja po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja

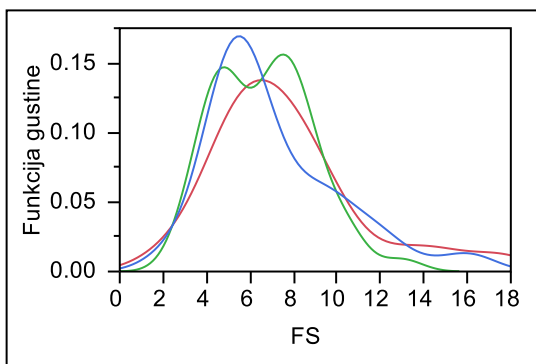
Razlike u godinama, indeksu telesne mase (BMI), bazalnog FSH u IU/l i AMH u ng/l po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja izražene kroz funkciju gustine<sup>1</sup> (Grafikoni 24-27).



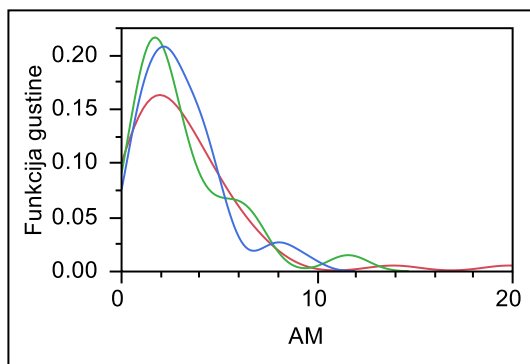
Grafikon 24



Grafikon 25



Grafikon 26



Grafikon 27

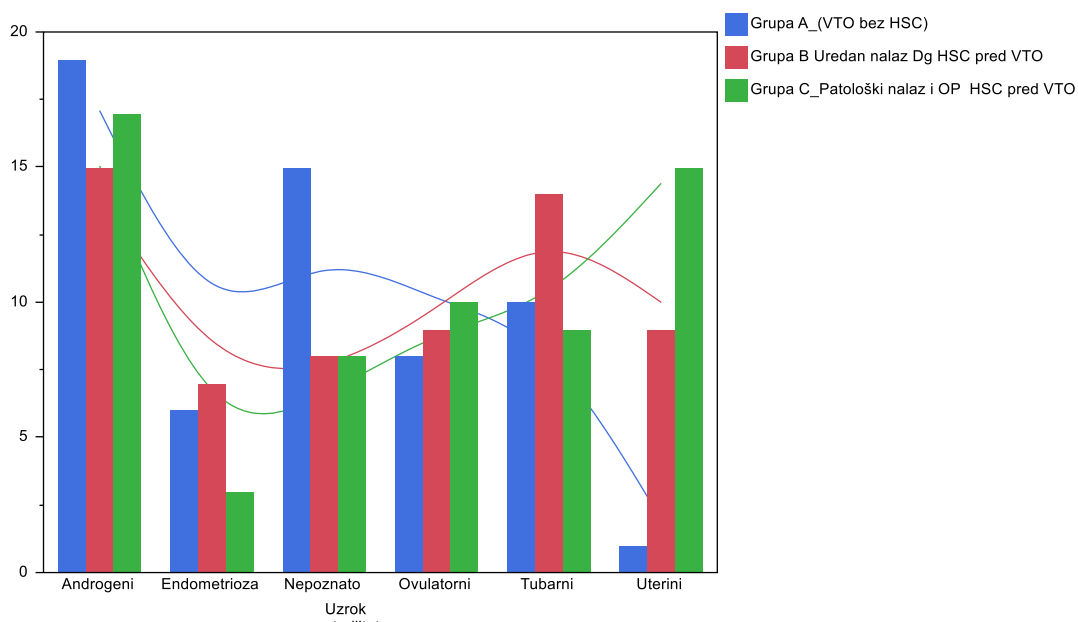
— VTO bez HSC — Dg HSC pred VTO — OP HSC pred VTO

Među **uzrocima steriliteta** najzastupljeniji je bio nepoznati uzrok u grupi A, dok su uterini faktori bili nešto zastupljeniji u grupi B i C, ali je statistički značajna bila samo razlika u učestalosti uterinog faktora (Tabela 6, Grafikon 28) na osnovu analize ANOVA. Nije dobijena značajna korelacije među uzrocima steriliteta (Grafikon 29) na osnovu multivarijantne analiza.

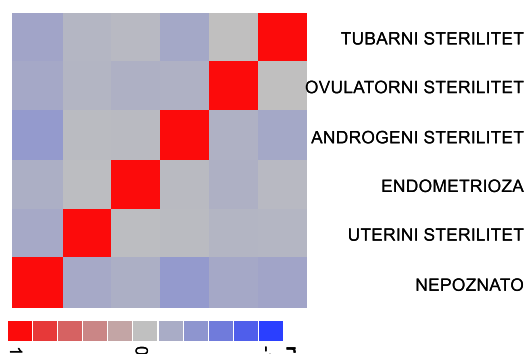
<sup>1</sup> Funkcija gustine je jedan od načina da se uporede raspodele odgovora kroz nivoe faktora X.

Uzrok steriliteta	Grupa A (VTO bez HSC)		Grupa B Uredan nalaz Dg HSC pred VTO		Grupa C Patološki nalaz i OP HSC pred VTO		p vrednost
	n	%	n	%	n	%	
Tubarni	10	19.23%	14	28.00%	9	18.00%	0.415
Ovulatorni	8	15.38%	9	18.00%	10	20.00%	0.829
Androgeni	19	36.54%	15	30.00%	17	34.00%	0.780
Endometrijoza	6	11.54%	7	14.00%	3	6.00%	0.409
Uterini	1	1.92%	9	18.00%	15	30.00%	0.001
Nepoznato	15	28.85%	8	16.00%	8	16.00%	0.175

Tabela 6 Uzroci infertiliteta po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja



Grafikon 28 Uzroci infertiliteta po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja

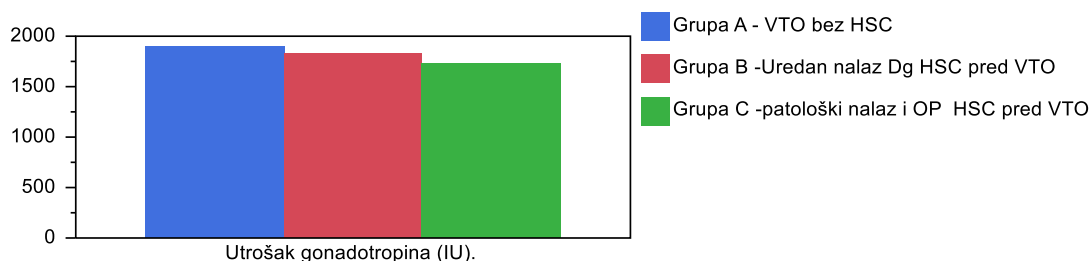


Grafikon 29 Mapa korelacije uzroka steriliteta I

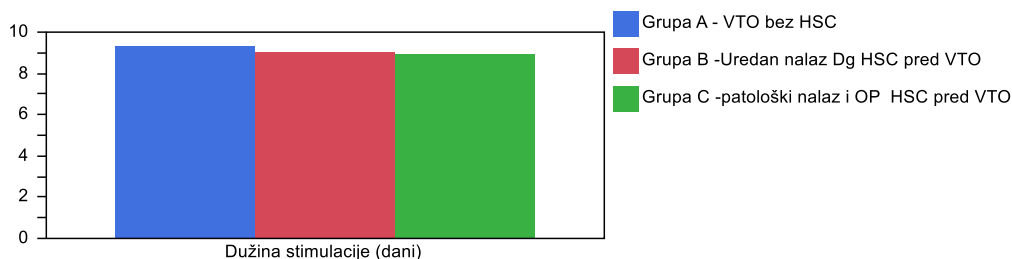
Kada su u pitanju upotrebe **različitih protokola stimulacije, modusi fertilizacije i utrošak gonadotropnih hormona**, prema ANOVA i kontingencijskoj analizi nije bilo značajnih statističkih razlika među grupama (Tabela 7, Garfikoni 30 i 31).

	Grupa A - VTO bez HSC		Grupa B -Uredan nalaz Dg HSC pred VTO		Grupa C -patološki nalaz i OP HSC pred VTO		p vrednost
	n	%	n	%	n	%	
Protokol stimulacije							
Dugi agonistički	24	46.15%	17	34.00%	24	40.00%	0.41
Antagonistički	28	53.85%	33	66.00%	28	60.00%	0.41
Tip fertilizacije							
IVF	11	21.15%	16	32.00%	15	30.00%	0.41
ICSI	41	78.85%	34	68.00%	35	70.00%	0.41
Utrošak gonadotropina (IU)	1903.37±575		1828±646.1		1739.0±720.3		0.443
Dužina stimulacije (dani)	9.34±1.63		9.08±1.74		8.94±1.72		0.642

Tabela 7 Tok postupka VTO po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja



Grafikon 30 Potrošnja gonadotropina (IU)



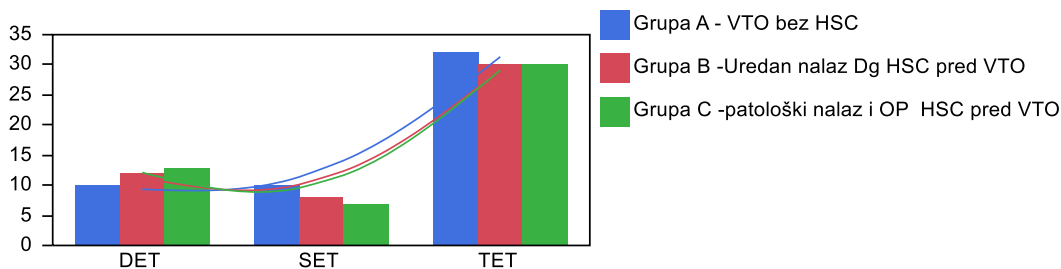
Grafikon 31 Trajanje stimulacije (dani) po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja

Nije postojala statistički značajna razlika u **prosečnom broju dobijenih jajnih ćelija, prosečnom broju dobijenih embriona, kao ni u prosečnom broju vraćenih embriona, uz**

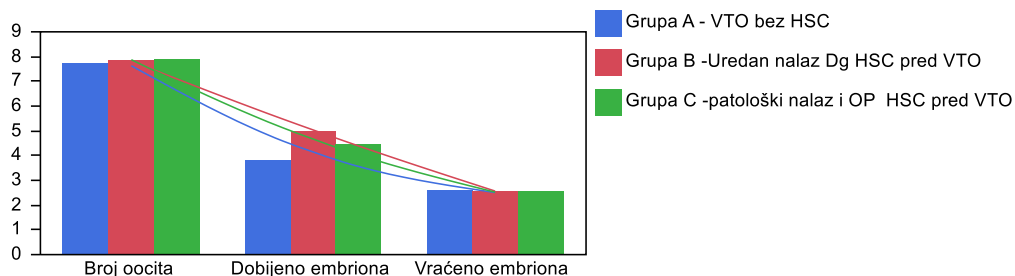
**podjednaku zastupljenost vraćanja jednog, dva ili tri embriona.** Udeo ciklusa u kojima je embriotransfer obavljen u stadijumu blastociste, kao i postojanje bar jednog embriona visokog kvaliteta su zabeleženi kod približno 60% ciklusa u svim istraživačkim grupama. I ovi rezultati su dobijeni ANOVA i kontigencijskom analizom.(Tabela 8, Grafikoni 32 i 33).

	Grupa A - VTO bez HSC		Grupa B -Uredan nalaz Dg HSC pred VTO		Grupa C -patološki nalaz i OP HSC pred VTO		p vrednost
	n	%	n	%	n	%	
Broj oocita	7.71±4.37		7.83±4.92		7.92±5.92		0.978
Dobijeno embriona	3.82±2.47		4.98±3.2		4.48±3.01		0.135
Vraćeno embriona	2.59±0.99		2.58±0.89		2.57±0.89		0.99
SET	10	19.23%	8	16.00%	7	14.00%	0.937
DET	10	19.23%	12	24.00%	13	26.00%	0.937
TET	32	61.54%	30	60.00%	30	60.00%	0.937
Postojanje embriona visokog kvaliteta	32	61.54%	31	62.00%	32	64.00%	0.901
Transfer blastociste	4	7.69%	4	8.00%	1	2.00%	0.362

Tabela 8 Prosečan broj dobijenih ćelija i embriona i vraćenih embriona po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja i dr.

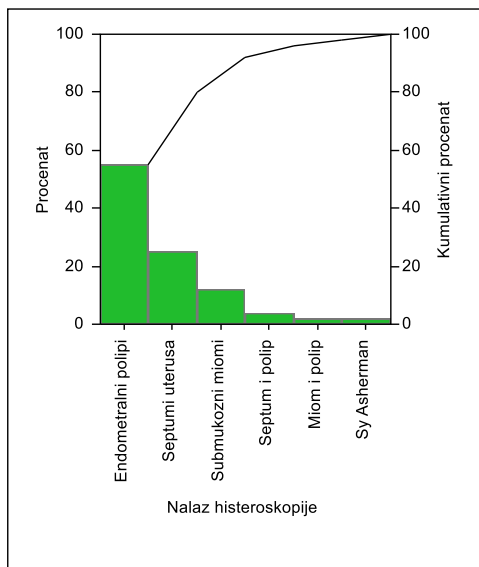


Grafikon 32 Prosečan broj dobijenih ćelija



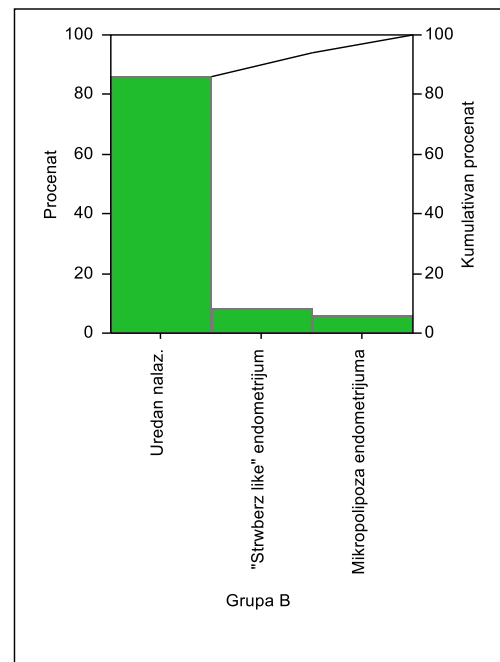
Grafikon 33 Prosečan broj vraćenih embriona po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja

U grupi C zabeležena je sledeća učestalost različitih patoloških stanja kavuma uterusa koji su tretirani u istom aktu. Kod 30 pacijentkinja postojao je endometralni polip i to izolovano kod 27 pacijentkinja, dok je kod 3 pacijentkinje bio udružen sa još jednim patološkim nalazom (2 pacijentkinje sa uterinim septumom i jedna pacijentkinja sa miomom i polipom). Kod 13 pacijentkinja operativno je tretiran septum uterusa, kod 7 pacijentkinja submukozni miom i kod 1 pacijentkinje postojanje intrauterinih sinehija (Grafikon 34). Uz dominantan nalaz major patologije kod 8 pacijentkinja (16%) identifikovana je i minor patologija kavuma uterusa i to subtile lezije tipa mikropolipoze kod 5 i “strawbery like” endometrijuma kod 4 pacijentkinje. Histeroskopija je u grupi B i C svih pacijentkinja sprovedena u kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji na zahtev pacijentkinje.



Nalaz	Procenat
Endometralni polipi	55%
Septumi uterusa	25%
Submukozni miomi	12%
Septum i polip	4%
Miom i polip	2%
Sy Asherman	2%

Grafikon 34 Udeo major patologije kavuma na operativnoj histeroskopiji u I etapi istraživanja



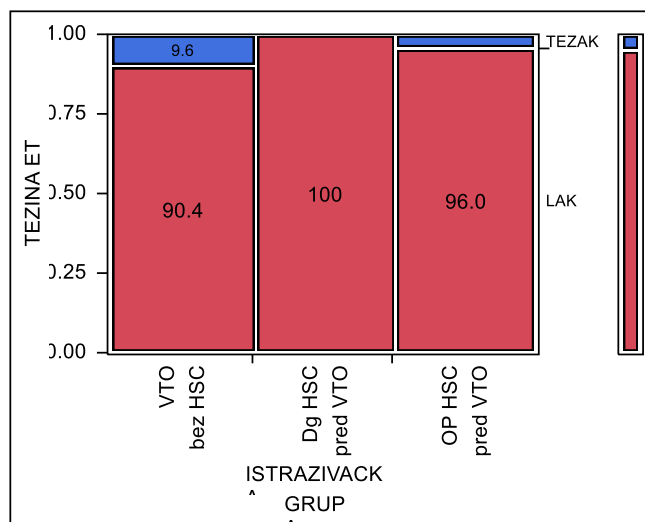
Uredan nalaz	86%
"Strawbery like" endometrijum	8%
Mikropolipoza endometrijuma	6%

Grafikon 55 Udeo minor patologije kavuma na dijagnostičkoj histeroskopiji u I etapi istraživanja

U grupi B kod 7 pacijentkinja sa urednim ultrazvučnim nalazom zabeleženo je postojanje subtilnih lezija, odnosno minor patologije kavuma uterusa, koje je konzervativno lečeno po kliničkom protokolu te pacijentkinje nisu isključene iz studije (Grafikon 35).



Kod 5 pacijentkinja iz grupe A transfer je okarakterisan kao težak (9,62%), što nije zabeleženo ni jednom u grupi B i svega 2 puta u grupi C (4%) iako razlika usled malog broja slučajeva nije dostigla statističku značajnost. Raspodela **težine embriotransfera po grupama** je analizirana kontingencijskom analizom (Grafikon 36). Histeroskopija nije uspešno sprovedena samo jednom tokom celog trajanja studije, i to kod pacijentkinje koja je trebalo da pripada grupi B, usled stenoze cervikalnog kanala i otežane vizualizacije prilikom ulaska.



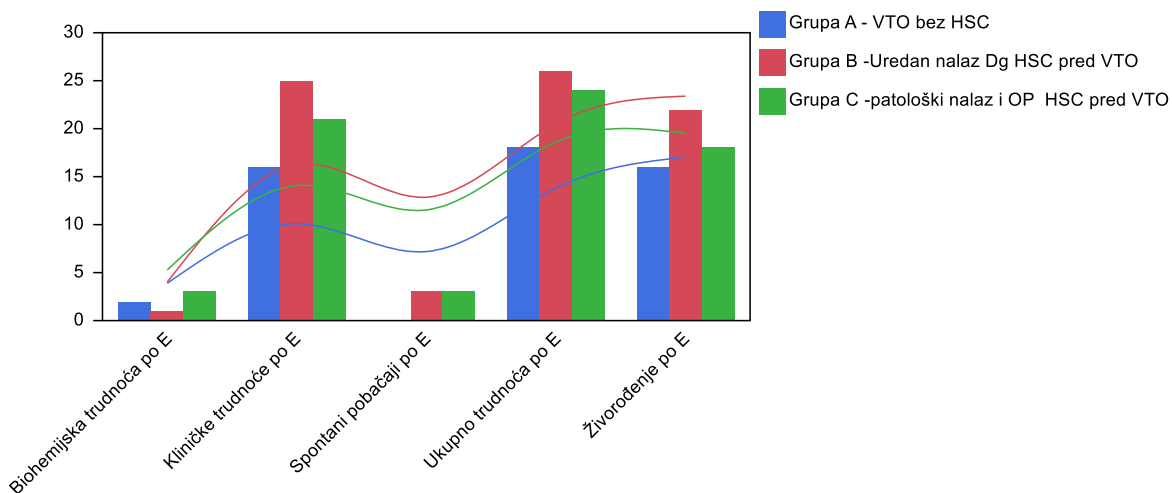
Grafikon 66 Težina embriotransferra po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja

**Ishod postupka VTO razlikovao se po analiziranim grupama. U grupi B i C zabeležena je statistički značajno veća stopa kliničke trudnoće nego u grupi A, koja je iznosila 50%, 42% i 30,77% istim redom ( $p=0,013$ ), uz zabeleženu najveću stopu implantacije u grupi B i najveću stopu porođaja po ET u grupi B (44%) dok je stopa porođaja u grupi C iznosila 36% i grupi A 30,77%. Razlike među grupama po stopi živorođenja nisu pokazale statistički značajnu razliku, koja se detaljno uočava u kasnijoj analizi subgrupa. Stopa pobačaja, kao ni stopa višeplođnih trudnoća nisu pokazali statistički značajnu razliku među grupama (Tabela 9, Grafikoni 37 i 38).**

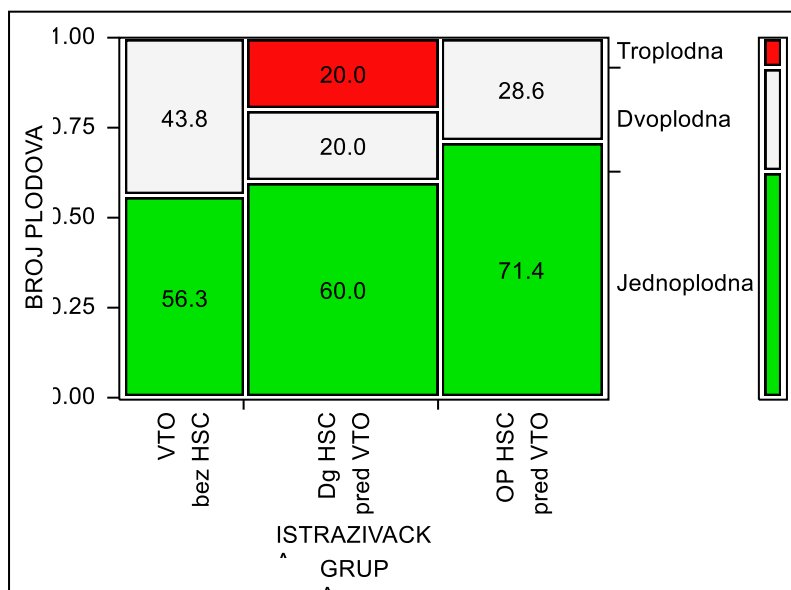
	Grupa A – VTO bez HSC		Grupa B -Uredan nalaz Dg HSC pred VTO		Grupa C -patološki nalaz i OP HSC pred VTO		p
	n	%					
Stopa implantacije	23/135	17.04%	40/124	32.26%	27/126	21.43%	0.271
Ukupno trudnoća po ET	18	34.62%	26	52%	24	48%	0.014
Biohemijska trudnoća po ET	2	3.85%	1	2%	3	6%	0.589

Kliničke trudnoće po ET	16	30.77%	25	50%	21	42%	0.013
Spontani pobačaji po ET	0	0%	3	6%	3	6%	0.197
Živorođenje po ET	16	30.77%	22	44%	18	36%	0.374

Tabela 9 Ishod postupka VTO po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja



Grafikon 37 Ishod postupka VTO po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja



Grafikon 38 Udeo višeplođnih trudnoća po ispitivanim grupama u I etapi istraživanja

### 4.3 REZULTATI DRUGE ETAPE ISTRAŽIVANJA

U ovoj fazi istraživanja koja je po dizajnu bila RCT poređeni su tok i ishod ciklusa VTO za grupu A2 i grupu B2 odnosno ispitan je uticaj rutinske histereoskopije kod pacijentkinja koje prvi put ulaze u postupak VTO, a koje po trenutno važećim kriterijumima nemaju indikaciju za histereoskopiju (Tabela 10).

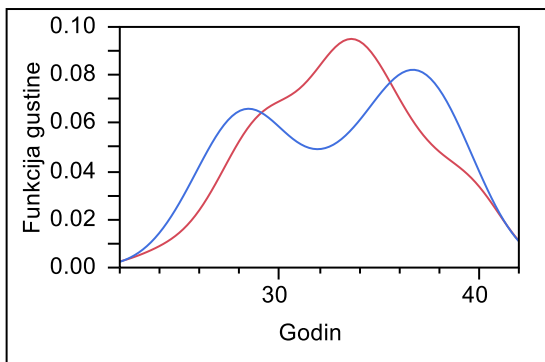
Ispitivana grupa	karakteristike	broj ispitanica
A2	Prvi postupak VTO bez histereoskopije	51
B2	Rutinska histereoskopija uz uredan ultrazvučni nalaz pred prvi postupak VTO	50

Tabela 10 Karakteristike ispitanih grupa u II etapi istraživanja

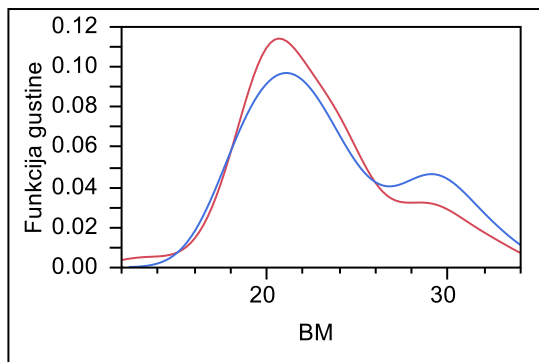
ANOVA i kontingencijskom analizom je utvrđeno da za navedene grupe **nije postojala statistički značajna razlika među pacijentkinjama u antropometrijskim pokazateljima, dužini trajanja infertiliteta, udelu primarnog infertiliteta, kao ni bazičnim parametrima ovarijalne rezerve** (Tabela 11, Grafikoni 39-43).

	Grupa A2 - I VTO bez histereoskopije	Grupa B2 - rutinska histereoskopija pre I VTO	p vrednost
Godine žene	Sredina: 33.12 95% CI 31.96-34.28	Sredina: 33.12 95% CI 31.94-34.30	0.998
BMI	Sredina: 22.80 95% CI 21.61-23.98	Sredina: 23.64 95% CI 22.38-24.91	0.336
Dužina sterilneta	Sredina: 5.21 95% CI 4.21-6.21	Sredina: 5.68 95% CI 4.68-6.68	0.512
Primarni sterilneta	76.47%	90%	0.069
Prethodne insmeinacije	29.41%	34%	0.561
Parametri ovarijalne rezerve			
Bazalni FSH	Sredina: 6.15 95% CI 5.53-6.77	Sredina: 5.87 95% CI 5.23-6.51	0.534
AMH	Sredina: 3.27 95% CI 2.55-3.98	Sredina: 3.69 95% CI 2.96-4.42	0.413

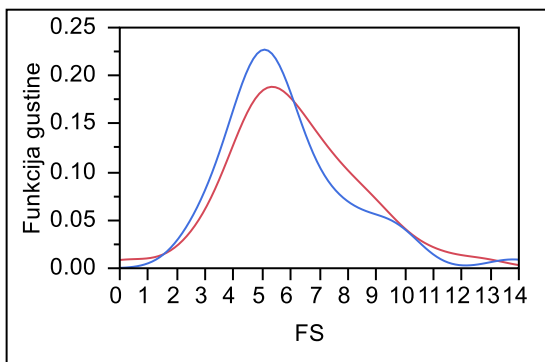
Tabela 11 Karakteristike pacijentkinja po ispitanim grupama u II etapi istraživanja



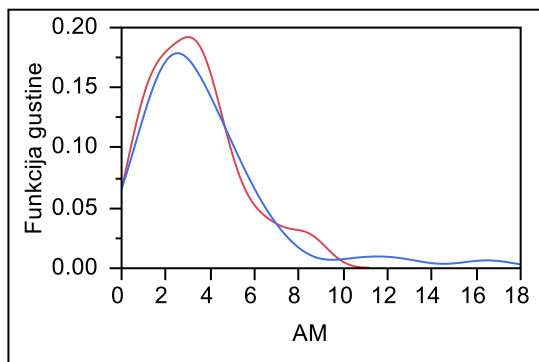
Grafikon 39



Grafikon 40

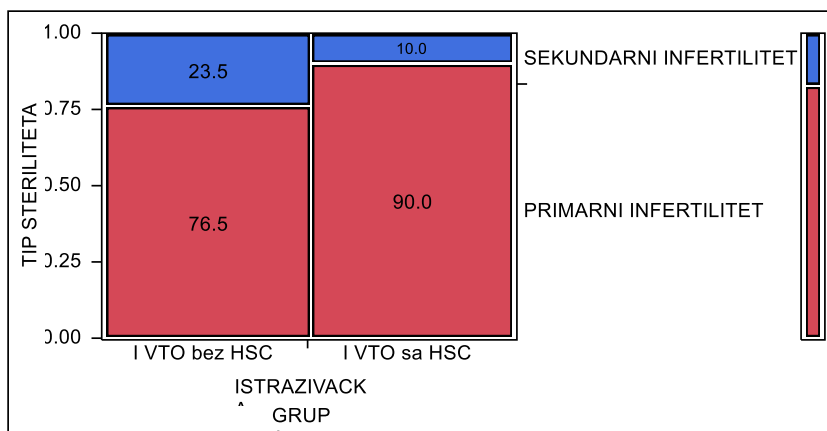


Grafikon 41



Grafikon 42

Grafikoni 39-42 Razlike u godinama, indeksa telesne mase (BMI) bazalnog FSH u IU/l i AMH u ng/l po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja

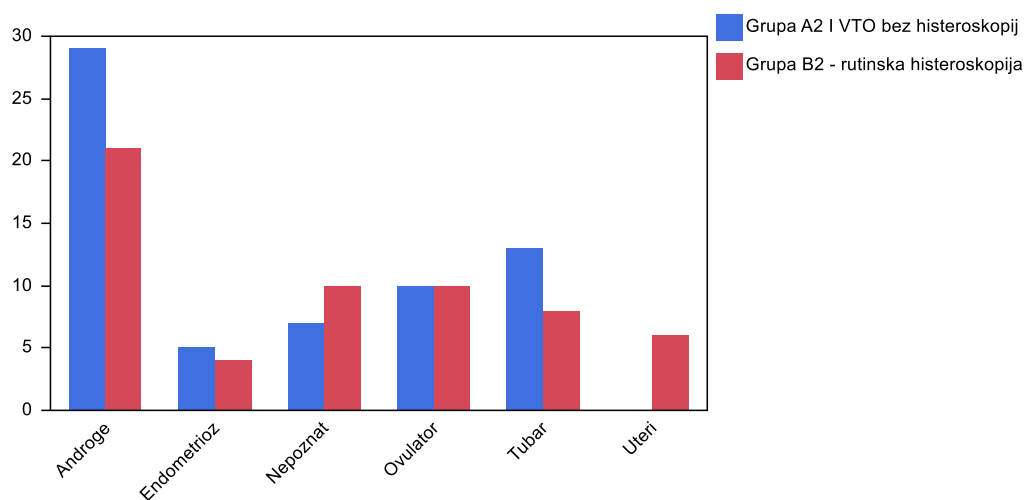


Grafikon 43 Razlike tipova infertiliteta po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja

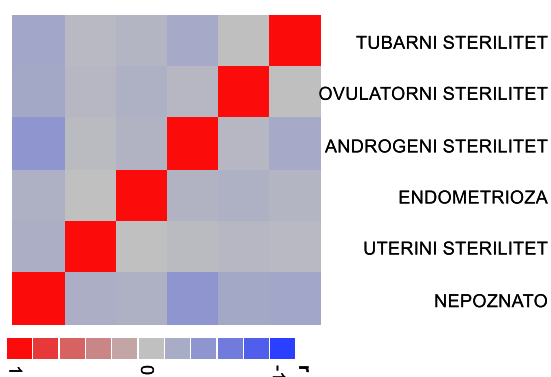
U skladu sa dizajnom studije uterini faktor infertiliteta nije identifikovan u grupi A2 za razliku od grupe B2 gde je zabeležen kod 6 pacijentkinja, ali nije postojala statistički značajna razlika u etiološkim uzrocima steriliteta (Tabela 12, Grafikon 44 i 45). Rezultati p vrednosti su dobijeni kontingencijskom analizom (Pearsonov test).

Uzrok steril.	Grupa A2 I VTO bez histeroskopije		Grupa B2 - rutinska histeroskopija pre I VTO		p vrednost
	n	%	n	%	
Tubarni	13	25.49%	8	16.00%	0.240
Ovulatorni	10	19.61%	10	24.00%	0.593
Androgeni	29	56.86%	21	42.00%	0.135
Endometrijoza	5	9.80%	4	8.00%	0.750
Uterini	0	0.00%	6	12.00%	0.011
Nepoznato	7	13.73%	10	20.00%	0.399

Tabela 12 Uzroci infertiliteta po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja



Grafikon 44 Uzroci infertiliteta po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja



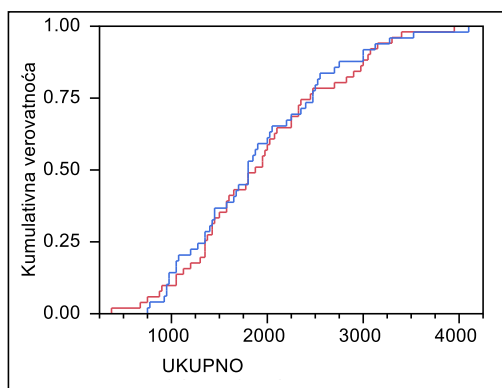
Grafikon 45 Mapa korelacije uzroka steriliteta II

Nije bilo statistički značajne razlike u toku postupka VTO među posmatranim grupama, po upotrebi različitih protokola stimulacije i modusa fertilizacije. ANOVA analiza je pokazala i

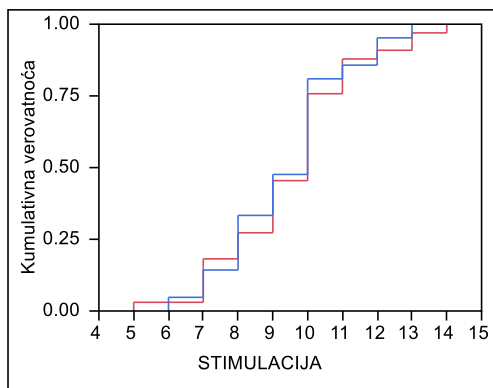
da nije bilo statistiki značajne razlike po ukupnom trajanju stimulacije i utrošku gonadotropnih hormona (CDF grafikon) (Tabela 13, Grafikon 46 i 47).

	Grupa A2 I VTO bez histeroskopije		Grupa B2 Rutinska histeroskopija pre I VTO		p vrednost
	n	%	n	%	
Protokol stimulacije					
Dugi agonistički	22	45.83%	34	68.00%	0.051
Antagonistički	26	54.17%	16	32.00%	
Tip fertilizacije					
IVF	17	35.42%	14	28.00%	0.516
ICSI	31	64.60%	36	72.00%	
Utrošak gonadotropina (IU)	1941.18 95% CI 1722.8-2159.6		1899.49 95% CI 1676.7-2122.3		0.792
Dužina stimulacije (dani)	9.52 95% CI 8.8559-10.174		9.38 95% CI 8.5546-10.207		0.800

Tabela 13 Tok postupka VTO po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja



Grafikon 46



Grafikon 47

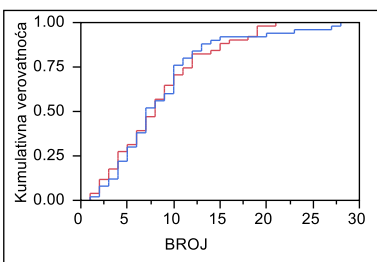
Potrošnja gonadotropina (IU) i trajanje stimulacije (dani)  
po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja

Prema ANOVA analizi, među grupama A2 i B2 nije bilo statistički značajne razlike kada je u pitanju **prosečan broj dobijenih jajnih ćelija**, **prosečan broj dobijenih embriona**, kao i **prosečan broj vraćenih embriona**. Zastupljenost vraćanja jednog, dva ili tri embriona bila je podjednaka. Prema kontingencijskoj analizi, udeo ciklusa u kojima je **embriotransfer obavljen u**

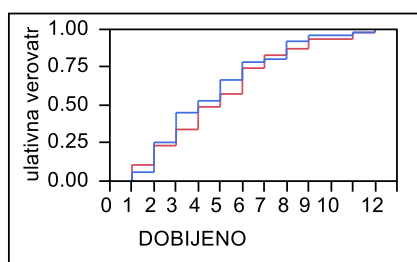
stadijumu blastociste, kao i **postojanje bar jednog embriona visokog kvaliteta** (Fisherov egzaktni test) kao ni u prvoj etapi istraživanja nisu pokazali značajne razlike među grupama (Tabela 14, Grafikon 48 - 50).

	Grupa A2 - I VTO bez histeroskopije		Grupa B2 - rutinska histeroskopija pre I VTO		p vrednost
	n	%	n	%	
Broj oocita	8.49 95% CI 6.96-10.02		8.78 95% CI 7.23-10.33		0.792
Dobijeno embriona	4.63 95% CI 3.86-5.39		4.96 95% CI 4.16-5.75		0.555
Vraćeno embriona	2.53 95% CI 2.30-2.76		2.68 95% CI 2.46-2.92		0.336
SET	4	7.84%	5	10.00%	0.123
DET	18	19.23%	15	30.00%	0.123
TET	29	61.54%	30	60.00%	0.123
Postojanje embriona visokog kvaliteta	32	62.75%	33	66.00%	0.836
Transfer blastociste	3	5.88%	2	4.00%	1

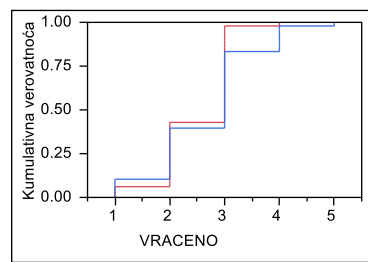
Tabela 14. Prosečan broj dobijenih ćelija i embriona, kao i vraćenih embriona po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja



Grafikon 48



Grafikon 49

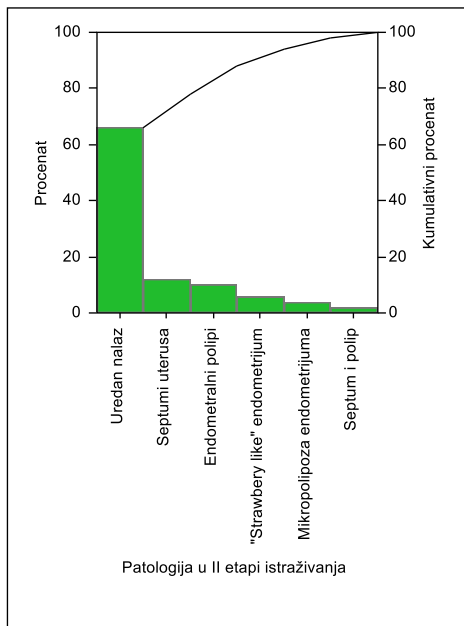


Grafikon 50

— I VTO bez HSC  
— I VTO sa HSC

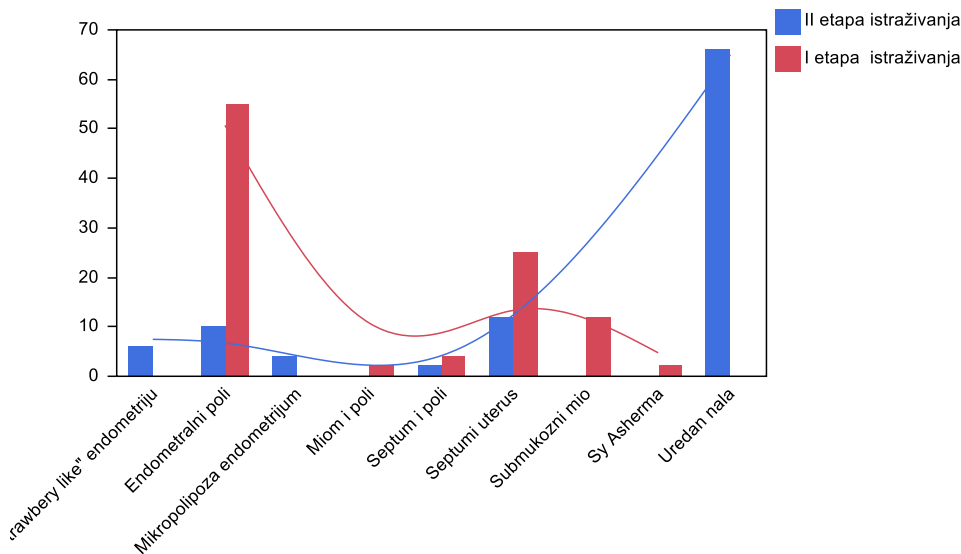
Kod 3 pacijentkinje bez histeroskopije procedura embriotransfera je okarakterisana kao teška, spram 2 pacijentkinje sa rutinskom histeroskopijom. Prema Fisherovom egzaktnom testu **nema značajne razlike u težini embriotransfera** među grupama A2 i B2.

Pareto dijagram (Grafikon 51) prikazuje **raspodelu patologije kavuma u grupi B2 na rutinskoj histeroskopiji u II etapi istraživanja**, a dat je i paralelan prikaz patologije u I i II etapi istraživanja (Grafikon 52).



Nalaz	Procenat
Uredan nalaz	66%
Septumi uterusa	12%
Endometralni polipi	10%
"Strawbery like" endometrijum	6%
Mikropolipoza endometrijuma	4%
Septum i polip	2%

Grafikon 51 Udeo patologije kavuma na rutinskoj histeroskopiji u II etapi istraživanja



Grafikon 52 Paralelan prikaz patologije u I i II etapi istraživanja



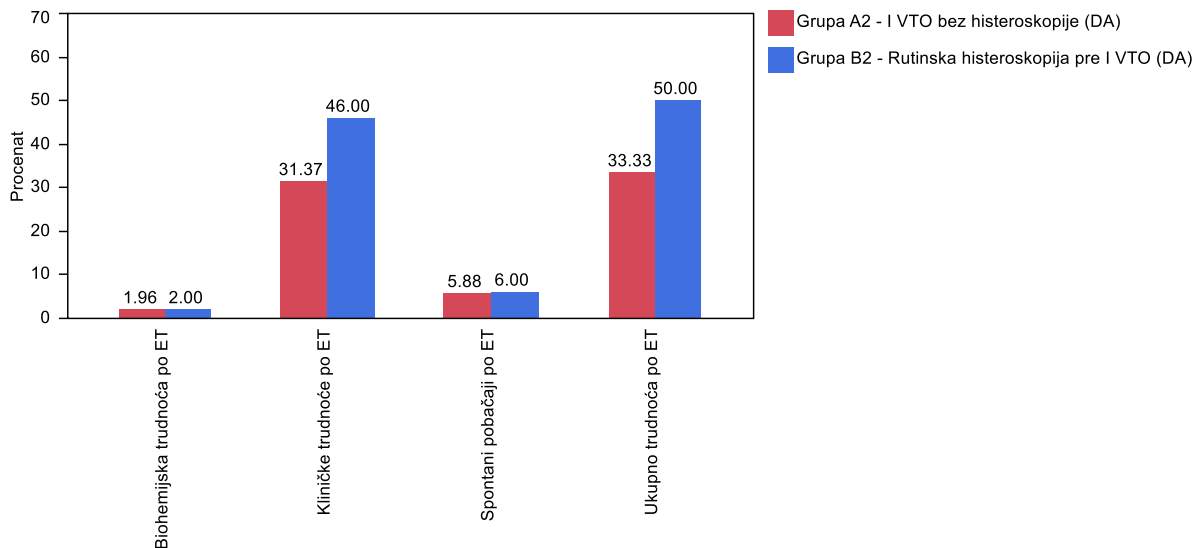
Ukupan udeo **ultrazvučno neprepoznate major patologije kavuma** iznosio je 24%, dok su **subtilne lezije** notirane u 10% slučajeva. Procedura histeroskopije sprovedena je **bez upotrebe anestezije** samo kod 2 pacijentkinje, dok je kod 48 pacijentkinja na sopstveni zahtev sprovedena u **kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji**.

Kontigencijskom analizom (Fishrov egzaktni test) dobijeni su rezultati ishoda VTO ya drugu etapu istraživanja prikazani u Tabeli 15. Vrednost p, zbog narušenih pretpostavki za značajnost Pearsonvog testa računata je Fisherovim Exact testom. U grupi rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO zabeležena je veća stopa trudnoća u odnosu na grupu bez histeroskopije - 50% naspram 33,33%, istim redom i to kako kliničkih trudnoća - 46% naspram 31,37%, tako i tekućih trudnoća (porođaji i vitalne trudnoće nakon 12 gestacijske nedelje) – 40% naspram 25,49%, istim redom. Navedene razlike nisu dostigle signifikantan nivo statističke značajnosti. Stopa pobačaja, kao ni stopa višeplođnih trudnoća nisu pokazali statistički značajnu razliku (Tabela 15, Grafikon 53). Grupa B2 u odnosu na grupu A2 imala je 1,5 puta veću šansu da ostvari trudnoću (Relativan rizik – RR 1,5 uz 95% interval poverenja CI 0,93-2,41) dok je za kliničku trudnoću RR iznosio 1,47 (CI 0,88-2,43) a za tekuću trudnoću 1,57 (CI 0,88-2,8), ali ni navedene razlike nisu dostigle statističku značajnost (Tabela 15, Grafikon 53)

	Grupa A2 - I VTO bez histeroskopije (DA)		Grupa B2 - Rutinska histeroskopija pre I VTO (DA)		Relativni rizik - RR (95% CI)	p
	DA (%)	NE (%)	DA (%)	NE (%)		
Stopa implantacije	21/124	16.93%	32/135	23.70%		0.108
Ukupno trudnoća po ET	33.33	66.67	50	50	1,5 <sup>2</sup> (0,93-2,42)	0.089
Biohemijska trudnoća po ET	1.96	98.04	2.00	98.00		1
Kliničke trudnoće po ET	31.37	68.63	46.00	54.00	1,47 (0,88-2,43)	0.155
Spontani pobačaji po ET	5.88	94.12	6.00	94.00		1
Tekuće trudnoće po ET	74.51	25.49	60.00	40.00	1,57 (0,87-2,80)	0.12

Tabela 15 Ishod postupka VTO po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja

<sup>2</sup> P(DA|I VTO sa HSC)/P(DA|I VTO bez HSC)



Grafikon 53 Ishod postupka VTO po ispitivanim grupama u II etapi istraživanja

U obe posmatrane grupe zabeležena je po 1 troplodna trudnoća uz 12 jednoplodnih i 3 blizanačke trudnoće u grupi A2 i 15 jednoplodnih i 7 blizanačkih trudnoća u grupi B2, bez statistički značajne razlike.

#### 4.4 STAVOVI PACIJENATA O HISTEROSKOPIJI

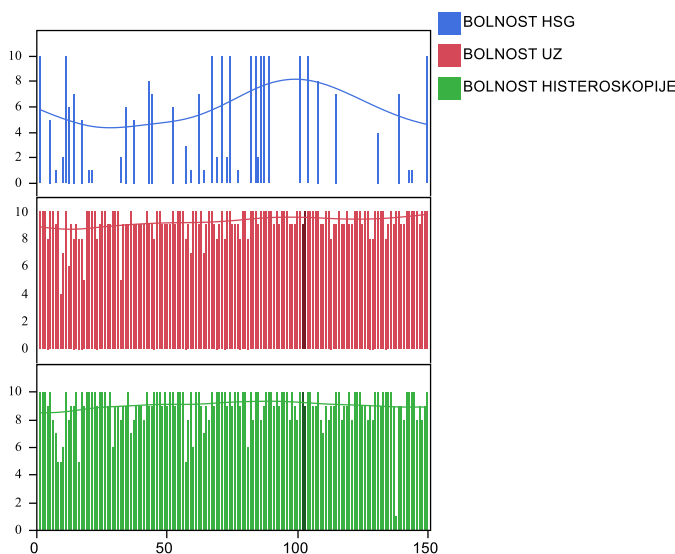
Anketinim upitnikom obuhvaćeno je ukupno 150 pacijentkinja iz različitih ispitivanih grupa kako bi se ispitali različiti parametri iskustva histeroskopije i drugih dijagnostičko terapijskih procedura, kao i stavovi pacijenata o prihvatljivosti same procedure u različitim kliničkim situacijama.

Na skali bolnosti gde je 1 predstavljao najveći mogući bol, a 10 odsustvo bola prosečna ocena nakon histeroskopije iznosila je  $9,05 \pm 1,35$  uz medijanu od 9 dok je na skali komfora gde je 1 predstavljalo najveći moguće nekomfor i neprijatnost a 10 apsolutno prijatno iskustvo i komfor prosečna ocena histeroskopije iznosila je  $9,18 \pm 1,48$  uz medijanu 9. Ocena histeroskopije u smislu bolnosti i komfora nakon histeroskopije bila je istovetna sa ocenom bolnosti i iskustva nakon ultrazvučnog pregleda vaginalnom sondom i obe procedure su ocenjene manje bolnim i komfornijim od procedure HSG (komparacija bila moguća samo za manji broj ispitanica koje su u prethodnoj anamnezi imale proceduru HSG, a koja nije predstavljala ispitivanu proceduru u aktuelnom

istraživanju), gde je prosečna ocena bolnosti iznosila 5,83 a prosečna ocena komfora 4,82 (Tabela 16, Grafikon 54). Od navedenih 150 ispitanica 41 je prethodno bila podvrgnuta proceduri HSG od kojih je 17 imalo proceduru HSG u kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji.

	Prosečna ocena	SD	IQI
Bolnost histeroskopije	9.05	1.35	9-10
Komfor histeroskopije	9.18	1.48	9-10
Bolnost ultrazvučnog pregleda	9.27	1.03	9-10
Komfor ultrazvučnog pregleda	8.97	1.38	9-10
Bolnost procedure HSG	5.83	3.56	2-10
Komfor procedure HSG	4.82	3.19	2-7

Tabela 16 Ocene bolnosti i komfora histeroskopije, ultrazvuka i HSG-a



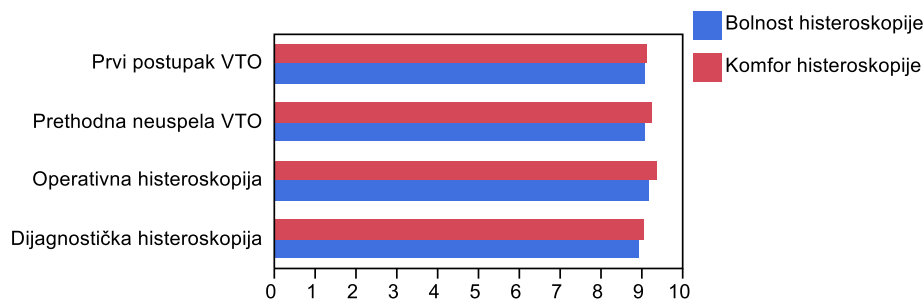
Grafikon 54 Ocene bolnosti i komfora histeroskopije, ultrazvuka i HSG-a

Prosečna ocena iskustva bolnosti i histeroskopije nije se razlikovala u zavisnosti od nalaza histeroskopije odnosno činjenice da li je bilo reč o dijagnostičkoj histeroskopiji sa urednim nalazom, odnosno operativnoj histeroskopiji, kao ni od postojanja prethodnih neuspelih VTO (Tabela 17, Grafikon 55).

	Bolnost histeroskopije	Komfor histeroskopije
Dijagnostička histeroskopija	8.93±1.46	9.03±1.61
Operativna histeroskopija	9.16±1.24	9.37±1.25
p vrednost	0.489	0.412

Prvi postupak VTO	9.08±1.18	9.11±1.70
Prethodna neuspela VTO	9.1±1.53	9.26±1.17
p vrednost	0.75	0.524

Tabela 17 Bolnost i komfor histeroskopije u zavisnosti od nalaza i pokušaja VTO



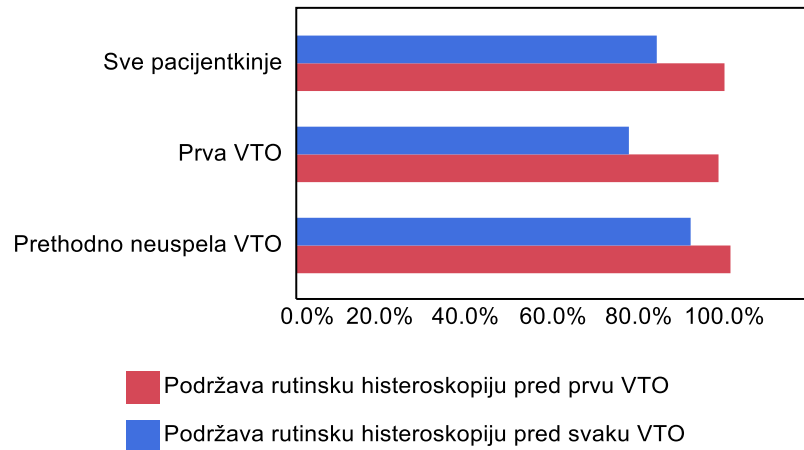
Grafikon 55 Bolnost i komfor histeroskopije u zavisnosti od nalaza i pokušaja VTO.

**98,67% pacijenata podržava rutinsku upotrebu histeroskopije pred prvi postupak VTO, dok 83% pacijenata podržava rutinsku upotrebu histeroskopije pred svaki postupak VTO.**

U analizi subgrupa kod žena sa operativnom histeroskopijom i dijagnostičkom histeroskopijom odnosno kod žena koja su prethodno imale neuspeli pokušaj VTO u odnosu na one koje nisu imale prethodnu neuspelu VTO uočena je statistički značajno veća podrška rutinskoj histeroskopiji pred svaku VTO (91,18%) kod žena koje su prethodno imale neuspeli pokušaj VTO, dok se ostali stavovi među navedenim subgrupama pacijentkinja nisu statistički značajno razlikovali (Tabela 18, Grafikon 56).

	Podržava rutinsku histeroskopiju pred prvu VTO	Podržava rutinsku histeroskopiju pred svaku VTO
Sve pacijentkinje	98.67%	83.33%
Prethodno neuspela VTO	100%	91.18%
Prva VTO	97.56%	76.83%
p vrednost	0.195	0.019

Tabela 18 Prihvatljivost rutinske histeroskopije



Grafikon 56 Prihvatljivost rutinske histeroskopije

97,33% pacijenata smatra da bi proceduru trebalo izvoditi u operacionoj sali u bolnici a samo 4 od 150 ispitanica (2,67%) smatra da bi procedura trebalo da se sprovedi u ambulantnim uslovima kod izabranog ginekologa.

145 žena (96,67%) izjavilo kako bi ukoliko im se ponudi izbor sprovelo proceduru u opštoj intravenskoj anesteziji, samo jedna žena (0,67%) u lokalnoj anesteziji, dok su po 2 ispitanice (1,33%) izjavile kako bi volele da im se procedura sprovede u analgosedaciji odnosno bez primene bilo kakvih lekova.

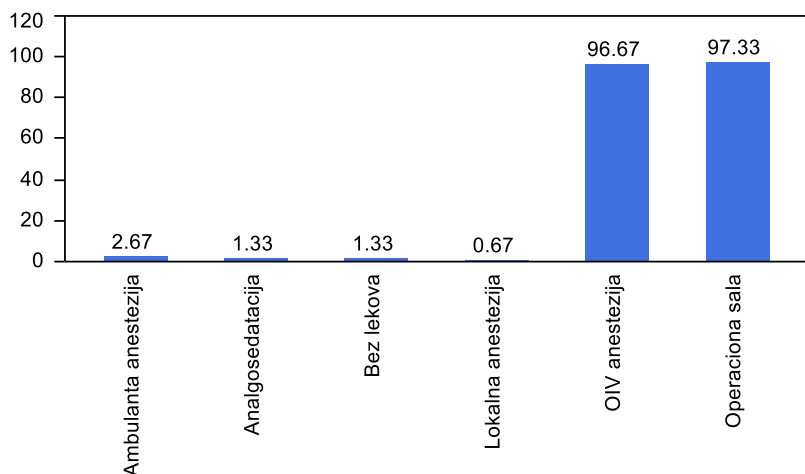
Iako su sve žene iz sa prethodnom neuspehom procedurom VTO izjavile kako bi sprovelo proceduru samo u bolnici i to u opštoj intravenskoj anesteziji, nije postojala statistički značajna razlika među posmatranim subgroupama vezano za stavove o lokaciji i tipu anestezije za proceduru histeroskopije (Tabela 19, Grafikon 57).

Izvođenje histeroskopije	Sve pacijentkinje	Prva VTO	Prethodno neuspela VTO	Operativna histeroskopija	Dijagnostička histeroskopija	p vrednost
Lokacija						0.859
Operaciona sala	97.33%	97.56%	97.06%	96.77%	97.50%	
Ambulanta	2.67%	2.44%	2.94%	3.23%	2.50%	
Tip anesteziji						0.419
Lokalna anestezija	0.67%	1.22%	0.00%	161.00%	0.00%	
OIV anestezija	96.67%	93.90%	100.00%	95.16%	97.50%	
Analgosedacija	1.33%	2.44%	0.00%	3.23%	0.00%	
Bez lekova	1.33%	2.44%	0.00%	0.00%	2.50%	

Tabela 19 Stavovi o sprovođenju histeroskopije u različitim grupama žena

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom.

Kao glavni odgovor o razlozima za dominantan stav o izvođenju procedure u bolničkim uslovima, u operacionoj sali i u OIV anesteziji, pacijentkinje su navodile strah od intervencije, strah od bola, prethodno “pozitivno” iskustvo sa anestezijom, stav da je borba sa infertilitetom dovoljno stresna i da ne žele dodatna opterećivanja te priliku da se relaksiraju i “odspavaju”.



Grafikon 57 Stavovi o sprovođenju histeroskopije

#### 4.5 NALAZ HISTEROSKOPIJE KOD PACIJENTKINJA SA UREDNIM ULTRAZVUČNIM NALAZOM

U ukupnom uzorku ispitanica sa urednim ultrazvučnim nalazom koje su podvrgute histeroskopiji pred postupak VTO nezvezano za pokušaj po redu kod 35 od 101 ispitanice histeroskopija je detektovala prethodno neprepoznatu patologiju kavuma uterusa (34,65%), uz pojavu major patologije kavuma uterusa kod 23 pacijentkinja (22,77%) i pojavu minor patologije kavuma uterusa kod 12 pacijentkinja (11,88%) (Tabela 20).

	Uredan ultrazvučni nalaz (n=101)	
	n	%
Normalan nalaz histeroskopije	66	65.35%
Patološki nalaz histeroskopije	35	34.65%
Minor patologija	12	11.88%
Mikropolipoza endometrijuma	5	4.95%
"Strawbery like" endometrijum	7	6.93%
Major patologija	23	22.77%
Endometralni polip	10	9.90%

Uterini septum	11	10.89%
Submukozni miom	1	0.99%
Endometralni polip i septum	1	0.99%

Tabela 20 Nalaz histeroskopije uz normalan ultrazvučni nalaz

Sa druge strane kod 49 pacijentkinja kod kojih je nalaz ultrazvuka ukazivao na mogući patološki sadržaj u kavumu na histeroskopiji je dobijen uredan nalaz kod 10 pacijentkinja (20,41%).

## 4.6 ANALIZE SUBGRUPA

Celokupan volumen uzorka nevezano za inicijalno postavljene ispitivane i kontrolne grupe poslužio je za dodatno stratifikovanje i analizu uticaja histeroskopije na ishod VTO u različitim subgrupama, a kako bi se dobio odgovor na određena pitanja za datu selektovanu populaciju te bliže odredili konkretni rizici za izvođenje procedure uzevši u obzir činjenicu da se ni jedna posmatrana grupa nije razlikovala po godinama, parametrima ovarijalne rezerve, protokolu stimulacije, metodi fertilizacije, te potrošnji gonadotropina, broju dobijenih jajnih ćelija i vraćenih embriona, udelu postojanja embriona visokog kvaliteta i drugim relevantnim parametrima.

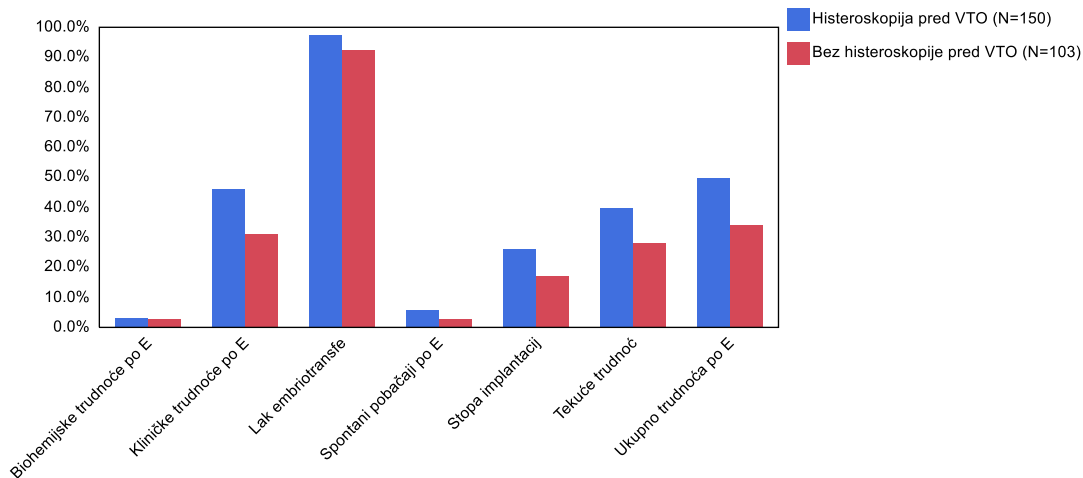
### 4.6.1 Ukupan uticaj histeroskopije na ishod VTO

Poređenjem svih 150 pacijentkinja koje su podvrgnute postupku histeroskopije pred VTO u odnosu na 103 pacijentkinje koje su ušle u postupak VTO bez prethodne histeroskopije dobijena je statistički značajno veća stopa kliničkih trudnoća po ET za grupu histeroskopije uz RR 1,48 (CI 1,06-2,07) kao i sledeći ishodi postupka VTO (Tabela 21, Grafikon 58).

	Histeroskopija pred VTO (N=150)		Bez histeroskopije pred VTO (N=103)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Lak embriotransfer	146	97.33%	95	92.23%	1.05 (0.99-1.12)	0.061
Stopa implantacije		26.12%		16.99%		
Ukupno trudnoća po ET	75	50.00%	35	33.98%	1.47 (1.07-2.01)	0.012
Biohemijska trudnoća po ET	5	3.33%	3	2.91%	1.14 (0.28-4.68)	0.851
Kliničke trudnoće po ET	69	46.00%	32	31.07%	1.48 (1.06-2.07)	0.017
Spontani pobačaji po ET	9	6%	3	2.91%	2.06 (0.57-7.42)	0.256
Tekuće trudnoće po ET	60	40.00%	29	28.16%	1.42 (0.98-2.05)	0.052

Tabela 21 Sumarni uticaj histeroskopije na ishod VTO.

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom



Grafikon 58 Sumarni uticaj histeroskopije na ishod VTO

#### 4.6.2 Uticaj histeroskopije kod patološkog nalaza kavuma na ishod VTO

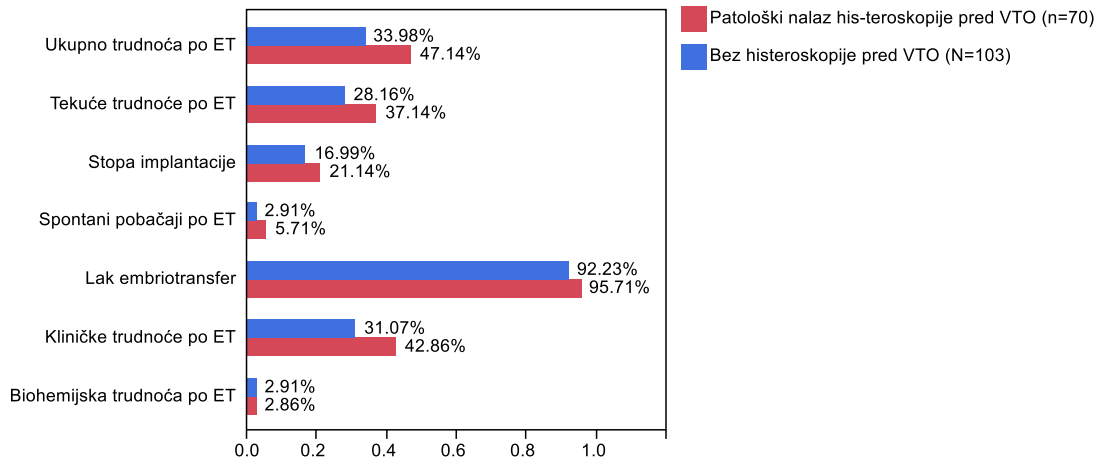
Poređenjem ishoda VTO kod pacijentkinja koje su pred postupak VTO imale histeroskopiju gde je nađen patološki nalaz kombinovano iz grupe B, grupe C grupe B2 (ukupno 74 pacijentkinja) spram 103 pacijentkinje koje su ušle u postupak VTO bez histeroskopije dobijena je veća stopa kliničke trudnoće kod pacijentkinja sa histeroskopijom uz RR 1,37 (CI 0,93-2,05), ali razlika nije dostigla statističku značajnost ( $p=0,112$ ) (Tabela 22, Grafikon 59).

	Patološki nalaz histeroskopije pred VTO (n=70)		Bez histeroskopije pred VTO (N=103)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Lak embriotransfer	67	95.71%	95	92.23%	1.06 (0.94-1.17)	0.357
Stopa implantacije		21.14%		16.99%		
Ukupno trudnoća po ET	33	47.14%	35	33.98%	1.38 (0.96-2.00)	0.082
Biohemijska trudnoća po ET	2	2.86%	3	2.91%	0.98 (0.17-5.72)	0.983
Kliničke trudnoće po ET	30	42.86%	32	31.07%	1.37 (0.93-2.05)	0.112
Spontani pobačaji po ET	4	5.71%	3	2.91%	1.96 (0.45-8.49)	0.358
Tekuće trudnoće po ET	26	37.14%	29	28.16%	1.31 (0.85-2.03)	0.212

Tabela 22 Ishod VTO kod patološkog nalaza histeroskopije spram odsustva histeroskopije

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom.





Grafikon 59 Ishod VTO kod patološkog nalaza histeroskopije spram odsustva histeroskopije

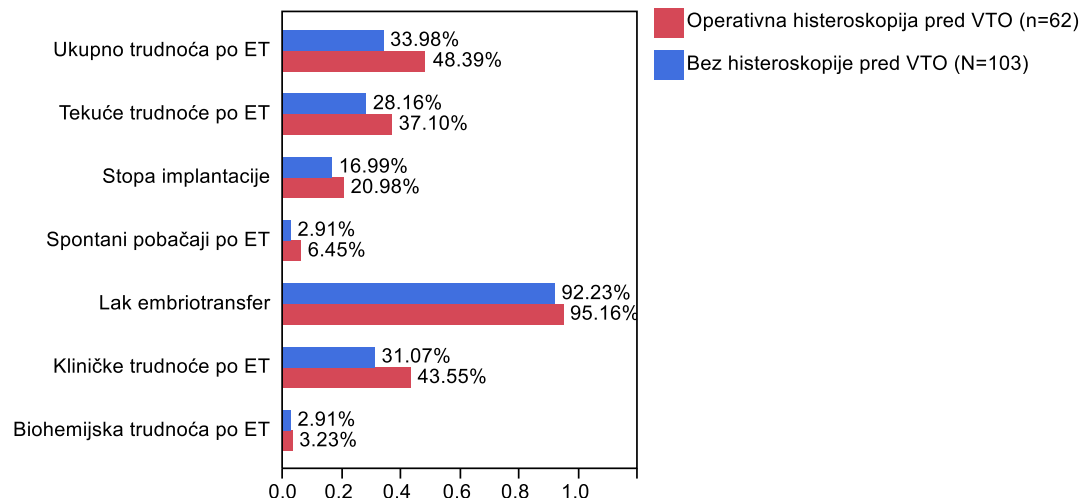
#### 4.6.3 Uticaj operativne histeroskopije na ishod VTO

Poređenjem ishoda VTO kod pacijentkinja koje su pred postupak VTO imale histeroskopiju gde je nađen patološki nalaz koji je zahtevao operativni tretman kombinovano iz -grupe C i grupe B2 (ukupno 62 pacijentkinje) spram 103 pacijentkinje koje su ušle u postupak VTO bez histeroskopije dobijena je veća stopa kliničke trudnoće kod pacijentkinja sa histeroskopijom uz RR 1,40 (CI 0,93-2,09), ali razlika nije dostigla statističku značajnost ( $p=0,105$ ) (Tabela 23, Grafikon 60).

	Operativna histeroskopija pred VTO (n=62)		Bez histeroskopije pred VTO (N=103)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Lak embriotransfer	59	95.16%	95	92.23%		0.465
Stopa implantacije		20.98%		16.99%		
Ukupno trudnoća po ET	30	48.39%	35	33.98%	1.42 (0.98-2.06)	0.067
Biohemijska trudnoća po ET	2	3.23%	3	2.91%	1.11 (0.19-6.44)	0.909
Kliničke trudnoće po ET	27	43.55%	32	31.07%	1.40 (0.93-2.09)	0.105
Spontani pobačaji po ET	4	6.45%	3	2.91%	2.21 (0.51-9.57)	0.274
Tekuće trudnoće po ET	23	37.10%	29	28.16%	1.31 (0.84-2.06)	0.231

Tabela 23 Ishod VTO kod operativne histeroskopije spram odsustva histeroskopije

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom.



Grafikon 60 Ishod VTO kod operativne histeroskopije spram odsustva histeroskopije

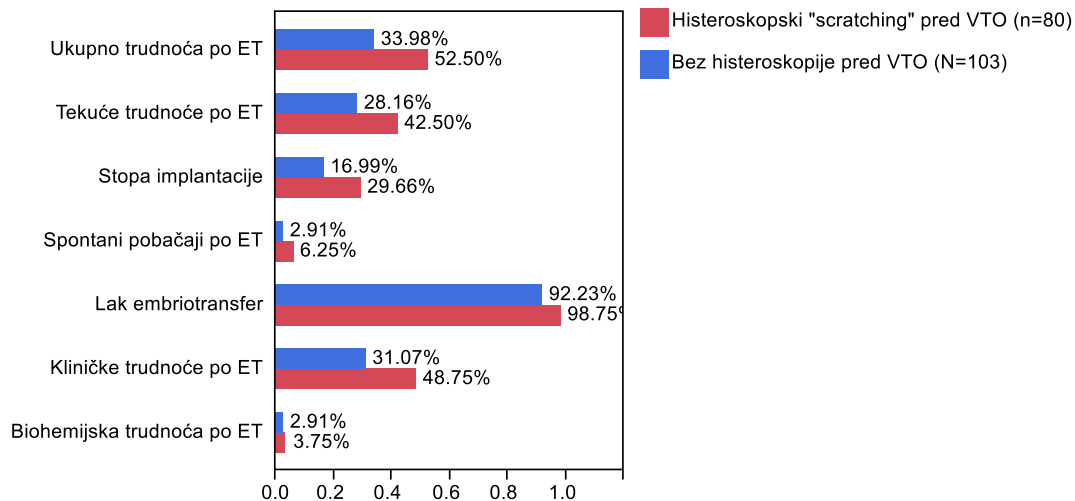
#### 4.6.4 Uticaj dijagnostičke histeroskopije i lezije endometrijuma na ishod VTO

Poređenjem ishoda VTO kod pacijentkinja koje su pred postupak VTO imale rutinsku dijagnostičku histeroskopiju uz uredan histeroskopski nalaz i sprovedenu proceduru “scratching-a” kombinovano iz grupe B i grupe B2 (ukupno 80 pacijentkinje) spram 103 pacijentkinje koje su ušle u postupak VTO bez histeroskopije dobijena je statistički značajno veća stopa kliničke trudnoće kod pacijentkinja sa histeroskopijom (48,75% spram 31,07%) uz RR 1,57 (CI 1,09-2,26),  $p=0,015$ , kao i statistički značajno veća stopa tekućih trudnoća i udela lakše procedure embrioransfera (Tabela 24, Grafikon 61).

	Histeroskopski "scratching" pred VTO (n=80)		Bez histeroskopije pred VTO (N=103)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Lak embriotransfer	79	98.75%	95	92.23%		0.043
Stopa implantacije		29.66%		16.99%		
Ukupno trudnoća po ET	42	52.50%	35	33.98%	1.54 (1.09-2.17)	0.012
Biohemijska trudnoća po ET	3	3.75%	3	2.91%	1.28 (0.26-6.21)	0.752
Kliničke trudnoće po ET	39	48.75%	32	31.07%	1.57 (1.09-2.26)	0.015
Spontani pobačaji po ET	5	6.25%	3	2.91%	2.14 (0.52-8.7)	0.273
Tekuće trudnoće po ET 34	34	42.50%	29	28.16%	1.51 (1.01-2.25)	0.043

Tabela 24 Ishod VTO kod urednog nalaza histeroskopije i ES spram odsustva histeroskopije

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom.



Grafikon 61 Ishod VTO kod urednog nalaza histeroskopije i ES spram odsustva histeroskopije

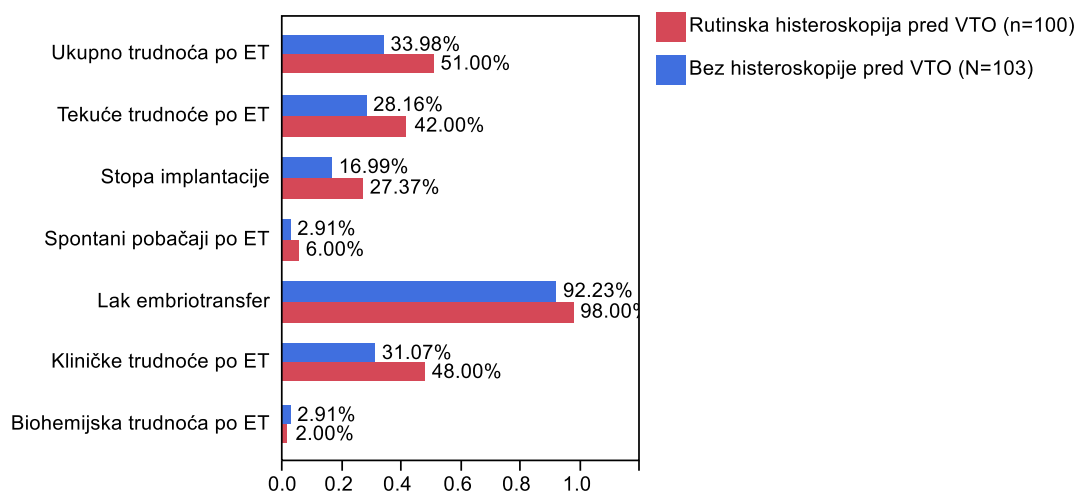
#### 4.6.5 Uticaj rutinske upotrebe histeroskopije na ishod VTO

Poređenjem ishoda VTO kod svih pacijentkinja koje su pred postupak VTO imale rutinsku dijagnostičku histeroskopiju (bez suspektnog ultrazvučnog nalaza) bez obzira na nalaz histeroskopije (uredan ili patološki) kombinovanjem grupe B i grupe B2 (ukupno 100 pacijentkinja) spram 103 pacijentkinja koje su ušle u postupak VTO bez histeroskopije dobijena je statistički značajno veća stopa kliničke trudnoće kod pacijentkinja sa histeroskopijom (48,00% spram 31,07%) uz RR 1,54 (CI 1,08-2,20),  $p=0,136$ , kao i statistički značajno veća stopa tekućih trudnoća i udela lakše procedure embrioransfera. (Tabela 25, Grafikon 62).

	Rutinska histeroskopija pred VTO (n=100)		Bez histeroskopije pred VTO (N=103)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Lak embriotransfer	98	98.00%	95	92.23%		0.049
Stopa implantacije		27.37%		16.99%		
Ukupno trudnoća po ET	51	51.00%	35	33.98%	1.55 (1.08-2.09)	0.014
Biohemijska trudnoća po ET	2	2.00%	3	2.91%	0.68 (0.117-4.02)	0.675
Kliničke trudnoće po ET	48	48.00%	32	31.07%	1.54 (1.08-2.20)	0.014
Spontani pobačaji po ET	6	6.00%	3	2.91%	2.06 (0.53-8.01)	0.285
Tekuće trudnoće po ET	42	42.00%	29	28.16%	1.49 (1.01-2.19)	0.039

Tabela 25 Ishod VTO kod rutinske histeroskopije spram odsustva histeroskopije

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$ testom



Grafikon 62 Ishod VTO kod rutinske histeroskopije spram odsustva histeroskopije

#### 4.6.6 Ishod postupka u zavisnosti od nalaza histeroskopije

Analizirajući različite subgrupe histeroskopskog nalaza, te porođenjem ishoda VTO kod pacijentkinja sa urednim histeroskopskim nalazom uz ES, pacijentkinja sa major patologijom kavuma uterusa i operativnim tretmanom, kao i pacijentkinja sa minor patologijom kavuma uterusa nije zabeležena statistički značajna razlika ni u jednomposmatranom parametru uz komparabilne stope kliničke i tekuće trudnoće (Tabela 26).

	Uredna histeroskopija uz "scratching" pred VTO (n=80)		Operativna histeroskopija pred VTO (n=62)		Minor lezije (n= 12)		p vrednost
	n	%	n	%	n	%	
Lak embriotransfer	79	98.75%	59	95.16%	12	100.00%	0.199
Stopa implantacije		29.66%		20.98%		20.00%	
Ukupno trudnoća po ET	42	52.50%	30	48.39%	5	41.67%	0.689
Biohemijska trudnoća po ET	3	3.75%	2	3.23%	0	0.00%	0.945
Kliničke trudnoće po ET	39	48.75%	27	43.55%	5	41.67%	0.968
Spontani pobačaji po ET	5	6.25%	4	6.45%	1	8.33%	0.579
Tekuće trudnoće po ET 34	34	42.50%	23	37.10%	4	33.33%	0.237

Tabela 26 Ishod VTO kod različitih nalaza histeroskopije

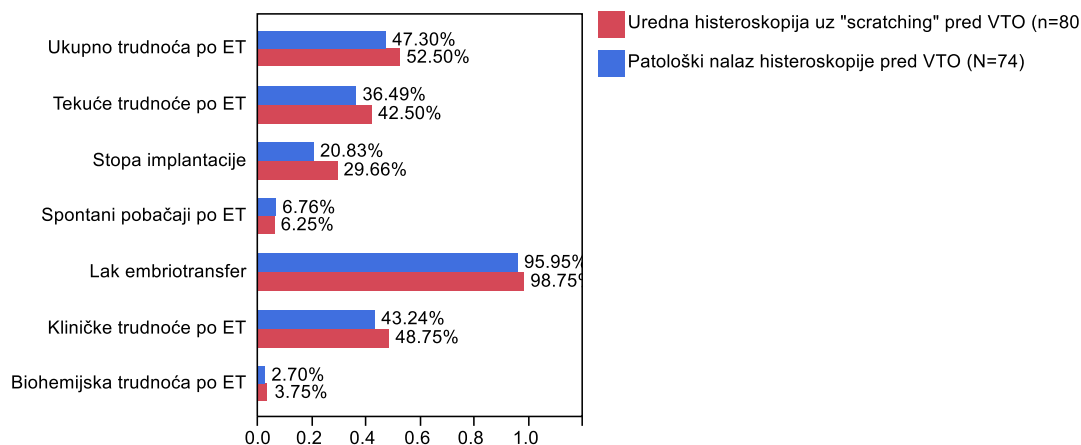
p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom

Dodatno nije postojala statistički značajna razlika u parametrima ishoda VTO kada su dihotomno međusobno poređene pacijentkinje sa urednim i one sa patološkim nalazom histeroskopije bilo da je reč o minor ili major patologiji kavuma (Tabela 27, Grafikon 63).

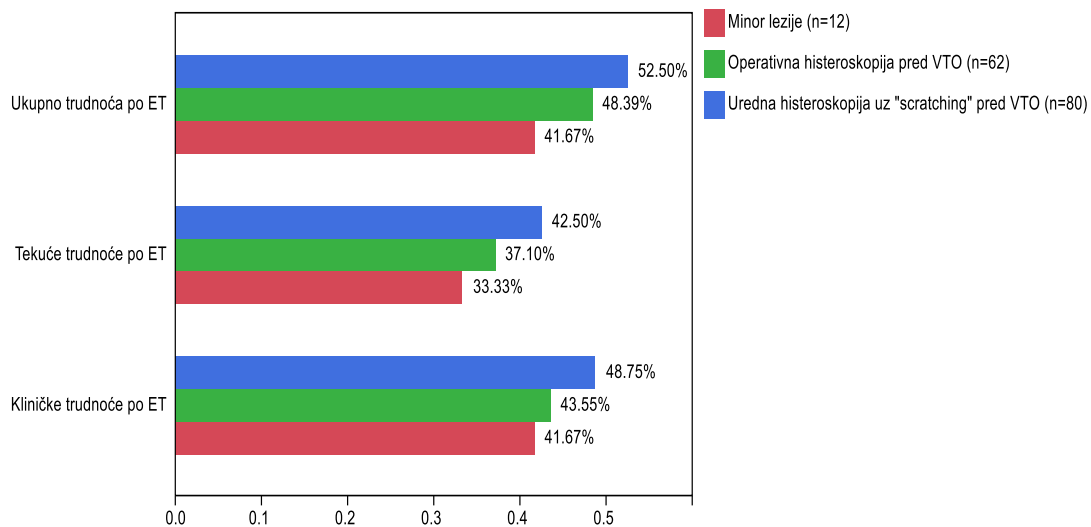
	Uredna histeroskopija uz "scratching" pred VTO (n=80)		Patološki nalaz histeroskopije pred VTO (N=74)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Lak embriotransfer	79	98.75%	71	95.95%		0.249
Stopa implantacije		29.66%		20.83%		
Ukupno trudnoća po ET	42	52.50%	35	47.30%	1.11 (0.80-1.54)	0.513
biohemijska trudnoća po ET	3	3.75%	2	2.70%	1.31 (0.22-7.63)	0.761
Kliničke trudnoće po ET	39	48.75%	32	43.24%	1.13 (0.80-1.61)	0.471
Spontani pobačaji po ET	5	6.25%	5	6.76%	1.09 (0.30-3.91)	0.891
Tekuće trudnoće po ET 34	34	42.50%	27	36.49%	1.44 (0.76-1.70)	0.504

Tabela 27 Ishod VTO kod urednog naspram patološkog nalaza histeroskopije

p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom.



Grafikon 63 Ishod VTO kod urednog naspram patološkog nalaza histeroskopije



#### 4.7 HISTEROSKOPIJA I ISHOD VTO KOD PRETHODNIH NEUSPELIH POSTUPAKA VTO

Od 253 pacijentkinje 103 je imalo prethodno jednu ili više neuspelih postupaka VTO te su ove pacijentkinje izdvojene u posebnu grupu radi detaljnije analize. Kod 68 (66,02%) njih sprovedena je histeroskopija pred postupak VTO, u ispitivanoj grupi B i C i dobijeni su sledeći nalazi (Tabela 28).

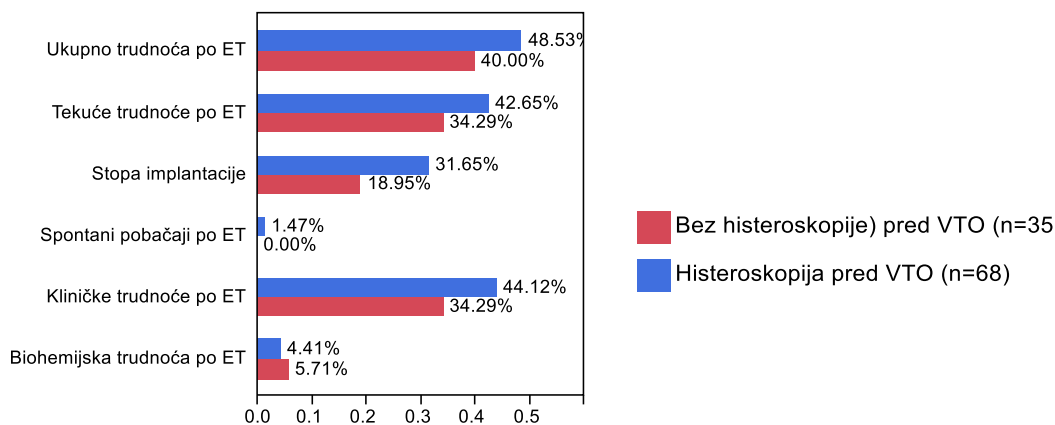
	Prethodna neuspela VTO (n=68)	
	n	%
Normalan nalaz histeroskopije	34	50%
Patološki nalaz histeroskopije	34	50%
Minor patologija	6	8.82%
Mikropolipoza endometrijuma	3	4.41%
"Strawbery like" endometrijum	3	4.41%
Major patologija	28	41.18%
Endometralni polip	13	19.11%
Uterini septum	12	17.65%
Submukozni miom	2	2.94%
Sy Asherman	1	1.47%

Tabela 28 Nalaz histeroskopije kod prethodno neuspele VTO

Kod pacijentkinja sa prethodnom neusplom VTOP sprovođenjem histeroskopije pred narednu VTO dobijena je veća stopa kliničkih trudnoća (44,12% naspram 34,29%, RR 1,28, 95% CI 0,76-2,18) koja nije dostigla statističku značajnost kao ni ostali posmatrani parametri (Tabela 29, Grafikon 64).

	Bez histeroskopije pred VTO (n=35)		Histeroskopija pred VTO (n=68)		RR (95% CI)	p vrednost
	n	%	n	%		
Stopa implantacije		18.95%		31.65%		0
Ukupno trudnoća po ET	14	40.00%	33	48.53%	1.21 (0.75-1.95)	0.4104
Biohemijska trudnoća po ET	2	5.71%	3	4.41%	0.77 (0.13-4.40)	0.7708
Kliničke trudnoće po ET	12	34.29%	30	44.12%	1.28 (0.76-2.18)	0.3362
Spontani pobačaji po ET	0	0.00%	1	1.47%		0.4709
Tekuće trudnoće po ET	12	34.29%	29	42.65%	1.24 (0.73-2.12)	0.4116

Tabela 29 Ishod VTO kod pacijentkinja sa prethodno neusplom VTO u zavisnosti od sprovođenja histeroskopije p vrednost računata Pearsonovim  $\chi^2$  testom.



Grafikon 64 Ishod VTO kod pacijentkinja sa prethodno neusplom VTO u zavisnosti od sprovođenja histeroskopije

#### 4.8 PREDIKCIJA TRUDNOĆE U POSTUPKU VTO I ULOGA HISTEROSKOPIJE

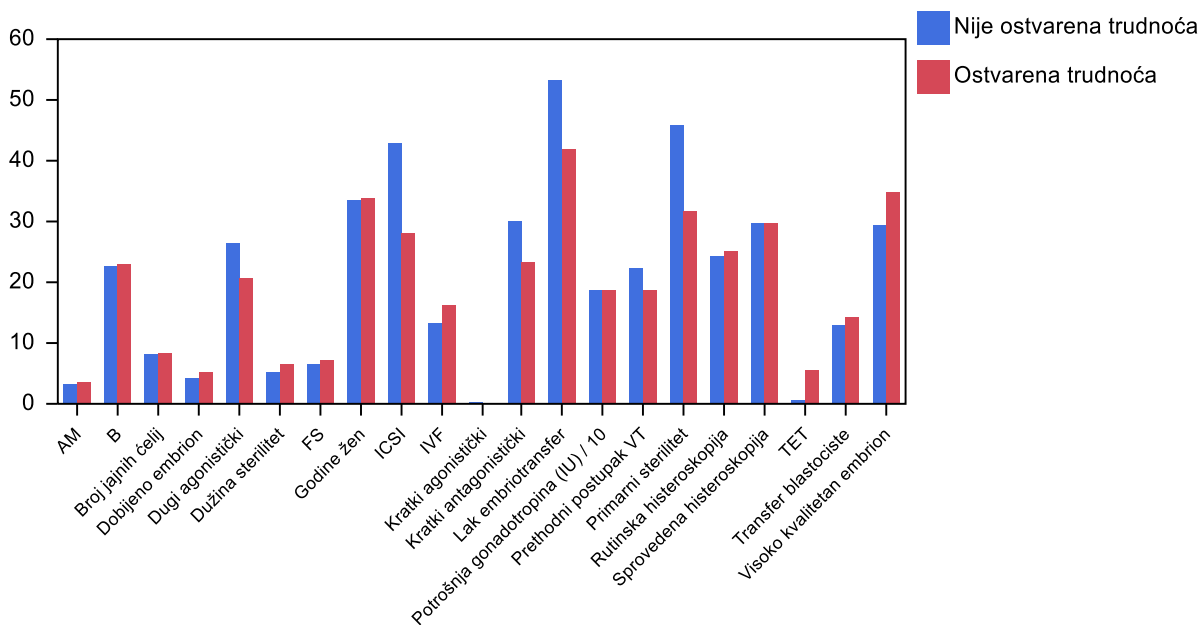
Kako bi se kreirao predikcioni model uspeha VTO izvršena je komparacija pacijentkinja koje su ostale trudne u aktuelnom postupku VTO i onih koje nisu ostale trudne u aktuelnom postupku VTO, na osnovu svih relevantnih varijabli karakteristika pacijentkinja, parametara

ovarijalne rezerve, toka postupka VTO, kao i sprovođenja histeroskopije. Pacijentkinje koje su ostale trudne imale su statistički značajno duže trajanje infertiliteta, veći broj dobijenih embriona, veći postotak prisustva bar jednog visoko-kvalitetnog embriona, i češći stadijum blastociste, kao i češću upotrebu histeroskopije pred postupak VTO i to kako po datim indikacijama, tako i rutinski (Tabela 30, grafikon 68).

Total Kolona	Nije ostvarena trudnoća (n=143)	Ostvarena trudnoća (n=110)	p
Godine žene	33.62	33.87	0.6129
BMI	22.72	22.89	0.7181
Dužina steriliteta	5.19	6.45	0.0105*
Primarni sterilitet %	45.85	31.62	0.1132
Prethodni postupak VTO	22.13	18.58	0.6067
Ovarijalna rezerva			
FSH	6.34	7.13	0.0233*
AMH	3.15	3.43	0.4001
Protokol stimulacije			0.6616
Kratki antagonistički %	30.00	23.20	
Dugi agonistički %	26.60	20.80	
Kratki agonistički %	0.40	0.00	
Tip fertilizacije			0.0353*
IVF %	13.20	16.00	
ICSI %	42.80	28.00	
Potrošnja gonadotropina (IU) / 100	18.632	18.6261	0.9948
Broj jajnih ćelija	8	8.34	0.6120
Dobijeno embriona	4.18	5.06	0.0156*
TET %	0.80	5.58	0.0002
Visoko kvalitetan embrion %	29.20	34.80	<0.0001*
Lak embriotransfer %	53.36	41.90	0.4676
Transfer blastociste %	13.01	14.23	0.0197*
Sprovedena histeroskopija %	29.64	29.64	0.0141*
Rutinska histeroskopija %	24.14	25.12	0.0161*

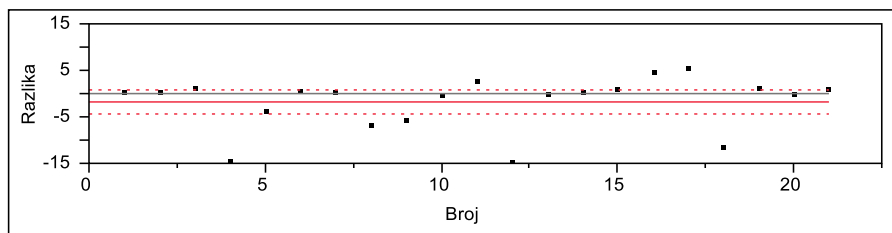
Tabela 30 Komparacija karakteristika pacijentkinja koje su ostale trudne i onih koje nisu ostale trudne u aktuelnom postupku VTO





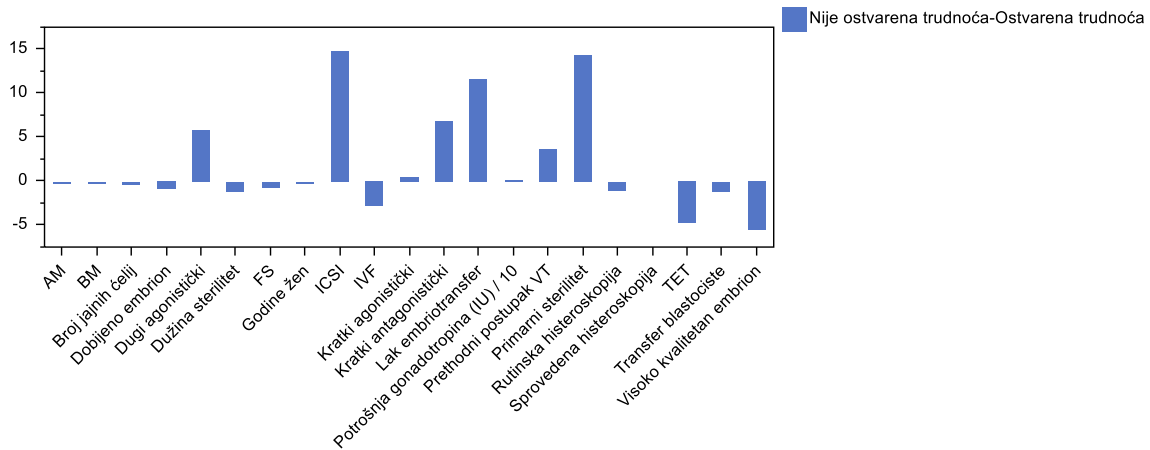
Grafikon 68 Komparacija karakteristika pacijentkinja koje su ostale trudne i onih koje nisu ostale trudne u aktuelnom postupku VTO

Testiranje (Upareni uzorci - Matched Pairs) je dodatno pokazalo da nema značajne razlike među navedenim karakteristikama,  $p = 0.1632$  (Grafikon 69).



Grafikon 69 Testiranje razlike

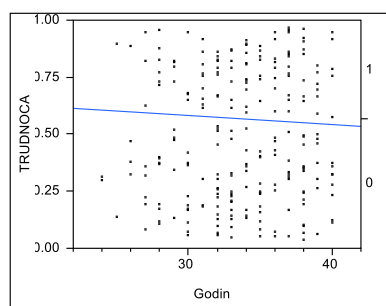
Pacijentkinje koje su ostale trudne imale su statistički značajno duže trajanje infertiliteta, veći broj dobijenih embriona, veći postotak prisustva bar jednog visoko-kvalitetnog embriona, i češći stadijum blastociste, kao i češću upotrebu histeroskopije pred postupak VTO i to kako po datim indikacijama, tako i rutinski (Tabela 30) (Grafikon 70).



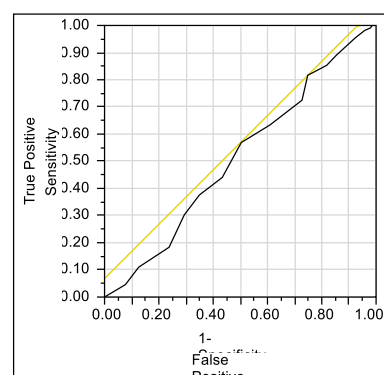
Grafikon 70 Razlika: Nije ostvarena trudnoća- Ostvarena trudnoća

Tako je u grupi pacijentkinja koje su ostale trudne histeroskopija sprovedena kod 68,18% a rutinska histeroskopija (bez prethodno viđenog patološkog nalaza u kavumu) kod 59,30% pacijentkinja dok je u grupi pacijentkinja koje nisu ostale trudne ovaj postotak iznosio 52,45% i 41,88%, istim redom ( $p=0,011$  za sve histeroskopije i  $0,014$  za rutinske histeroskopije).

Kontinuirane varijable poput godina žene, serumskih vrednosti AMH i broja oocita pored toga što im se prosečne vrednosti nisu statistički značajno razlikovale u grupi žena koje su ostvarile trudnoću spram onih koje nisu, ni primenom logističke regresije nisu pokazale statistički značajan uticaj na ishod VTO. Tako je za godine žene logističkom regresijom R iznosio svega 0,0007 ( $p=0,6174$ ) uz AUC 0,513 prilikom analize ROC krive, dok je za vrednosti AMH R iznosio 0,0021 ( $p=0,3993$ ) uz AUC 0,534 prilikom analize ROC krive. R vrednosti uticaja broja oocita na ishod VTO iznosile su 0,0008 ( $p=0,6107$ ) i AUC 0,523 (Grafikoni 71-76).

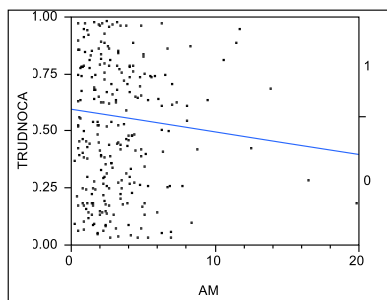


Grafikon 71

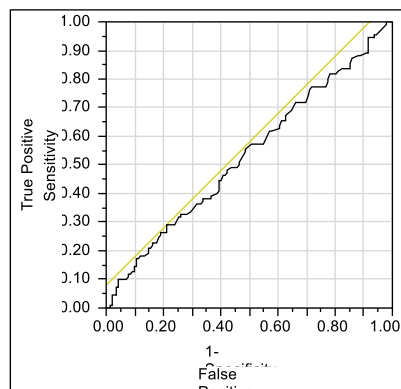


Grafikon 72

Uticaj godina pacijentkinja na ostvarivanje trudnoće

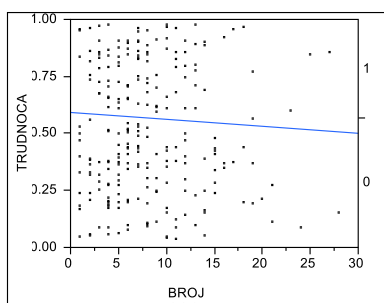


Grafikon 73

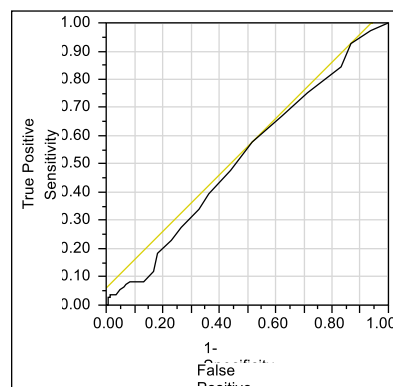


Grafikon 74

Uticaj serumskog AMH u ng/l na ostvarivanje trudnoće



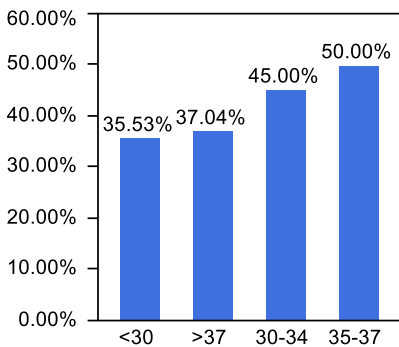
Grafikon 75



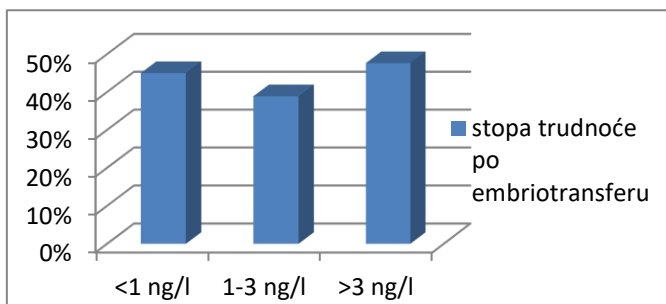
Grafikon 76

Uticaj broja dobijenih oocita na ostvarivanje trudnoće

Dodatno klasifikovanjem žena u starosne rangove na žene mlađe od 30 godina, žena starosti između 30-34 godine, žene starosti između 35-37 godina i žene starije od 37 godina, nije uočena statistički značajna razlika u uspehu VTO među posmatranim grupama ( $p=0,5227$ ), kao što nije uočena ni statistički značajna razlika u uspehu VTO kod paitentkinja čije su serumske vrednosti AMH bile ispod 1 ng/l, od 1-3 ng/l i preko 3 ng/l ( $p=0,428$ ) (Grafikon 77 i 78).

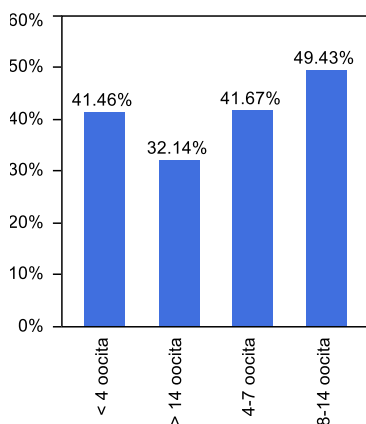


Grafikon 77 Stopa trudnoće po ET u različitim starosnim grupama.



Grafikon 78 Stopa trudnoće po ET u različitim kategorijama vrednosti AMH.

Najveća stopa trudnoće po embriotransferu zabeležena je kod pacijentkinja kod kojih je na aspiraciji dobijeno od 8 do 14 oocita (49,43%), najmanje kod pacijentkinja sa preko 14 oocita (32,14%) dok su i pacijentkinje sa 3 i manje oocita i pacijentkinje kod kojih je dobijeno od 4 do 7 oocita ostvarile stopu trudnoće po embriotransferu oko 41,5% i među svim posmatranim grupama nije dobijena statistički značajna razlika ( $p=0,406$ ) (Grafikon 79).



Grafikon 79 Stopa trudnoće po ET u različitim kategorijama broja oocita

Na osnovu svih navedenih varijabli generisan je prediktivan model uspeha VTO koji se pokazao značajnim uz  $p=0,0002$  te  $R$  od  $0,1421$ . Pojedinačna prediktivna vrednost upotrebljenih varijabli i njihova statistička značajnost prikazani su u Tabeli 31.

Prediktivna varijabla	Procena	Standardna greška	p vrednost	95% CI	
Godine	0.02986478	0.0439796	0.497	-0.05626	0.11691182
BMI	-0.0463537	0.0463719	0.317	-0.13915	0.0438806
DUZINA STERILITETA	-0.020816	0.0467835	0.656	-0.1132	0.07163282
TIP STERILITETA (primarni ili sekundarni)	0.16113065	0.1844236	0.382	-0.20194	0.52416604
Bazalni FSH	-0.1223227	0.0622841	0.050	-0.2471	-0.0014557
Serumski AMH	-0.057683	0.063491	0.364	-0.18453	0.06815858
Prethodni pokušaj VTO	0.02453822	0.1646132	0.881	-0.29997	0.34746738
Potrošnja gonadotropina (IU)	-0.0001164	0.0002557	0.649	-0.00062	0.00038714
BROJ OOCITA	0.01573184	0.0354722	0.657	-0.05303	0.08706804
VRACENO EMBRIONA	-0.2316735	0.2018206	0.251	-0.63487	0.16026625
Postijanje visokokvalitetnog embriona	0.66774223	0.1822273	0.0002*	0.320681	1.03853397
Težina ET	-0.3578441	0.3891957	0.358	-1.20061	0.3663866
Transfer blastociste	1.03405167	0.4187016	0.013*	0.29540638	2.01326174
Sprovođenje histeroskopije pred VTO	0.38001213	0.1615639	0.018*	0.06765345	0.70301401

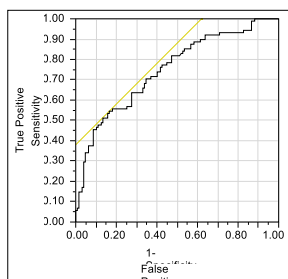
Tabela 31 Prediktivna vrednost različitih varijabli na mogućnost ostvarivanja trudnoće

Za date varijable računane su odnosi šanse (OR – Odds Ratio) za svaku pojedinačnu varijablu - da li i koliko može da se koristi kao prediktor uspeha VTO, i **od svih relevantnih varijabli jedino su se postojanje blastociste uz OR 7,91 (95% CI 1,80-56,06;  $p=0,0047$ ), postojanje bar jednog embriona visokog kvaliteta uz OR 3,80 (95% CI 1,90-7,98;  $p=0,0001$ ) i sprovođenje histeroskopije pred postupak VTO uz OR 2,13 (95% CI 1,14-4,08,  $p=0,0169$ ) pokazali kao statistički značajni prediktori trudnoće u postupku VTO (Tabela 32).**

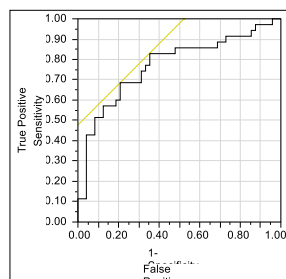
Prediktivna varijabla	OR	95% CI		p vrednost
Godine	1.612582	0.406518	6.49212	0.497
BMI	0.366212	0.049021	2.588161	0.317
DUZINA STERILITETA	0.701965	0.145964	3.379602	0.656
Bazalni FSH	0.119026	0.013575	0.974988	0.050
Serumski AMH	0.322658	0.02682	3.806042	0.363
Potrošnja gonadotropina (IU)	0.648216	0.09898	4.229589	0.648
BROJ OOCITA	1.529223	0.238906	10.49435	0.657
VRACENO EMBRIONA	0.39586	0.078909	1.898502	0.251
TIP STERILITETA (primarni ili sekundarni)	1.3802454	0.667723	2.8528888	0.382
Prethodno neuspela VTO	1.0503006	0.5488471	2.0035784	0.881
Visokokvalitetan embrion	3.8018373	1.8990666	7.9810338	0.0001*
Težina embriotransfera	2.0455942	0.4805744	11.036556	0.343
Transfer blastociste	7.9098067	1.8054552	56.065659	0.0047*
Histeroskopija pred VTO	2.1383281	1.1448881	4.0797186	0.0169*

Tabela 32 Prediktivna vrednost u OR različitih varijabli na mogućnost ostvarivanja trudnoće

**Finalno prediktivni model pokazao se uspešnim uz AUC 0,748 i model je pokazao najznačajniju prediktivnu vrednost u situacijama sa prethodnim neuspehim pokušajima VTO gde je AUC iznosila 0,771 (Grafikoni 80 i 81).**



Grafikon 80  
ROC kriva prediktivnog modela sa upotrebom histeroskopije kod svih pacijentkinja u uzorku

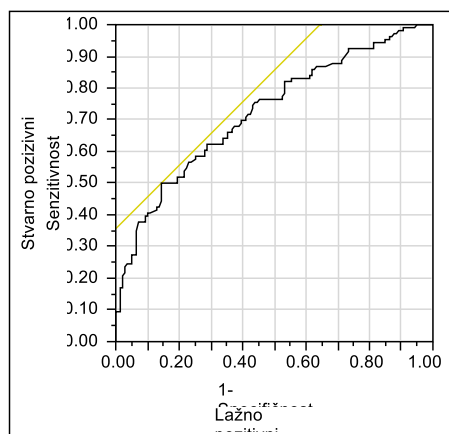


Grafikon 81  
ROC kriva prediktivnog modela sa upotrebom histeroskopije kod onih pacijentkinja sa prethodnom neuspehom VTO

**Prediktivna vrednost modela ostajala je u istom rangu uz AUC od 0,702 ukoliko bi model sadržao samo 3 prethodno navedene varijable (transfer blastociste, postojanje visokokvalitetnog embriona i izvođenje histeroskopije pred VTO).** Navedena suptilnija analiza odnosa koji su u ovom radu primarni izvršena je logističkom regresijom. U startu su kao mogući prediktori uključene sve varijable komparacije, a zatim su, prema Wildovom testu, u više koraka eliminisane sve varijable koje se nisu pokazale kao značajne za predviđanje ( $p > 0.05$ ). Tako je dobijen model nominalne logističke regresije baziran samo na postojanju transfera blastociste, visokokvalitetnog embriona i sprovođenja histeroskopije sa vrlo značajnim ocenama pouzdanosti: - (Testiranje celog modela (Goodness of fit):  $p < .0001^*$ , potreba popravljavanja modela (Lack of fit):  $0.0066^*$ , ROC kriva (Površina ispod krive = 0.72306, Grafikon 82) i izračunati parametri koji značajno doprinose prediktivnim mogućnostima modela za evidenciju DA/NE:

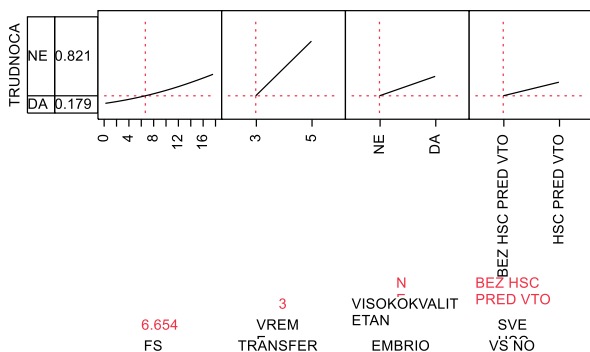
	Procena	p
FSH	0.10293285	0.0155*
VREME TRANSFERA[3]	-1.3020129	<0.0001*
VISOKOKVALITETAN EMBRION[NE]	-0.5181587	0.0005*
SVE HSC VS NO HSC[BEZ HSC PRED VTO]	-0.3847705	0.0080*

**Dalje, OR za FSH iznosio je 1.108, (95%CI 1.210-0.902) po jedinici, što ga čini skoro neutralnim kada je u pitanju uticaj na ishod, ali je značajan za pouzdanost modela, za transfer blastociste u odnosu na transfer embriona trećeg dana 13.518 (95%CI 4.224-50.072),  $p < 0,0001$ . OR za ostvarivanje trudnoće na osnovu postojanja visokokvalitetnog embriona iznosio je 2.819 (95% CI 1.585-5.122),  $p = 0,0004$ , dok je za upotrebu histeroskopije OR iznosio 2.159 (95%CI 1.231-3.850),  $p = 0,070$ .**

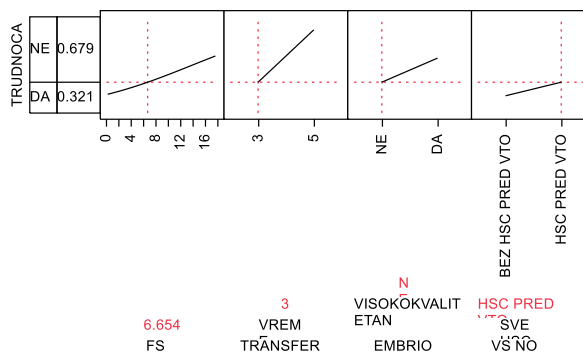


Grafikon 82 ROC kriva, TRUDNOCA='DA' ima pozitivan nivo

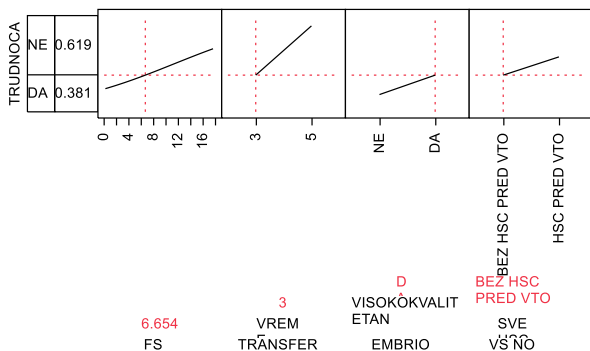
Pomoću profajlera je grafički predstavljen uticaj navedenih preiktora na verovatnocu pri-  
padanja grupama varijable TRUDNOCA (Grafikoni 83-86).



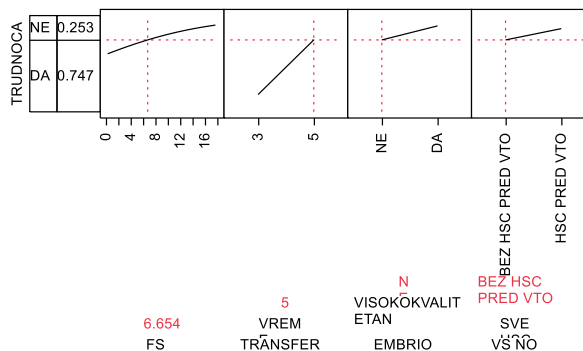
Grafikon 83



Grafikon 84



Grafikon 85



Grafikon 86

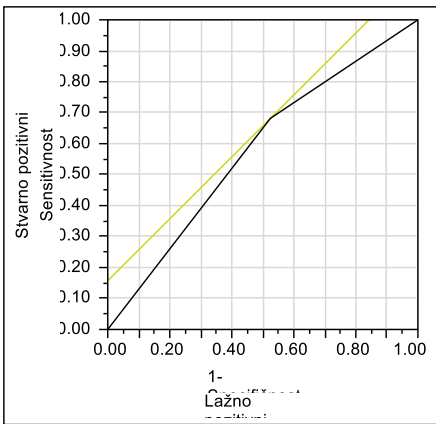
Na celokupnom uzorku pacijentkinja nominalnom logističkom regresijom data je ocena **koliko dobro samo prediktorska promenljiva sprovođenja histeroskopije pred VTO bez obzira na ispitivanu grupu u postavci studije naspram odsustva histeroskopije pred VTO predviđa ostvarivanje trudnoće.**

Model je testiran (Goodness of fit) i dobijena je vrednost  $p = 0.0111^* < 0.05^3$  iz čega sledi da samo činjenica sprovođenja histeroskopije dobro predviđa rezultate. Parametri predikcije i prema Waldovom testu značajno doprinose prediktivnim mogućnostima modela, a i ROC kriva (Grafikon 83) doprinosi povoljnom utisku (AUC = 0.579). Analiza odnosa šansi pokazala je OR za ostvarivanje trudnoće sprovođenjem histeroskopije od 1,943 (95%CI 1,162-3,284) ( $p=0,011$ ).

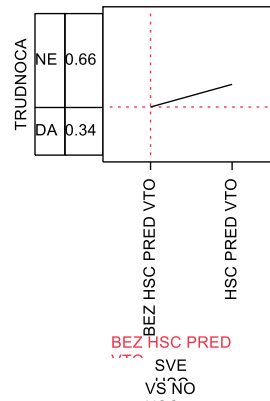
<sup>3</sup> Modeli se procenjuju kao značajni ako je  $p < 0.05$ , testira se koliko dobro model predviđa rezultate



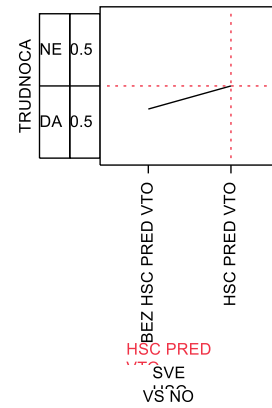
Ova analiza ide u prilog hipotezi da sama histeroskopija pred VTO povećava mogućnost ostvarivanja trudnoće (Grafikoni 87-89).



Grafikon 87 ROC kriva,  
SVE HSC VS NO HSC



Grafikon 88 Profiler 1



Grafikon 89 Profiler 2

## 5 DISKUSIJA

---

Istraživanje koje je sprovedeno kod 253 pacijentkinje ukazalo je na pozitivan uticaj histeroskopije na ishod postupka VTO koji je iskazan kroz primarni cilj - povećanje stope kliničkih trudnoća. Ovaj benefit uočen je, pre svega, u prvoj etapi istraživanja, gde je izvođenje histeroskopije pred postupak VTO, bilo da se na histeroskopiji našao patološki nalaz koji je operativno tretiran ili je histeroskopija pokazala uredan nalaz, dovelo do veće stope kliničke trudnoće u odnosu na pacijentkinje kod kojih histeroskopija pred VTO nije sprovedena, bez razlike u stopi trudnoće između grupe sa urednim i patološkim histeroskopskim nalazom.

U drugoj etapi istraživanja, rutinsko sprovođenje histeroskopije pred prvi postupak VTO takođe je dovelo do povećanja stope kliničke trudnoće za preko 10 % po embriotransefru (46% naspram 31,37%) ali u primarnoj analizi ovo poboljšanje ishoda VTO nije dostiglo statističku značajnost (RR 1,47; CI 0,88-2,43;  $p=0,13$ ). Iako usled volumena uzorka, poboljšanje u ovoj fazi studije nije dostiglo statističku značajnost, potvrđujući trendove novijih dobro dizajniranih studija o manjem benefitu histeroskopije u odnosu na prethodne stavove, koji je u najboljem slučaju umešten, celokupni rezultati našeg istraživanja dubljom analizom ukazuju na mnogostruke prednosti histeroskopije na tok i ishod VTO koji je dodatnim stratifikovanjem, spajanjem i analizom subgrupa dostigao statistički značajno povećanje stope kliničkih trudnoća i živorođenja u brojnim kliničkim situacijama, pa i u rutinskom sprovođenju histeroskopije, bez konvencionalnih indikacija.

U poređenju sa drugim istraživanjima, pre svega metaanalizama i multicentričnim studijama, nalazi naše studije relativno su mali, kako po volumenu pacijenata koji je mogao biti uključen u ispitivane grupe, i posledične statističke moći dobijenih i rezultata, tako i po dobijenom pozitivnom efektu, odnosno benefitu primenjivane procedure na povećanje stope kliničkih trudnoća i živorođenja. Manji uticaj dobijenih rezultata, usled navedenih metodoloških izazova, je nedostatak praktičnog svih pojedinačnih studija sprovedenih samo u jednom centru, uz napomenu da sve one, pa tako i naša studija, svoj najveći značaj ostvaruju kroz povećanje pula naučnih dokaza i rastućeg broja adekvatno dizajniranih studija koje treba da daju odgovor na uska i jasno

definisana pitanja iz svakodnevne prakse, i koji će, uz rezultate sličnih studija u nekim od narednih metaanaliza, poslužiti kao građa za izvlačenje jasnijih, snažnijih i statistički moćnijih zaključaka.

Metaanalize predstavljaju vrh piramide medicine zasnovane na dokazima u hijerarhiji studija koje se bave efektom tretmana, ali za pravilno izvođenje zahtevaju rigorozne standarde kvaliteta uključenih publikacija (199). Nauka konstrukcije, izrade i evaluacije metaanaliza izrasta u posebnu oblast medicine, uzevši u obzir velike implikacije po svakodnevnu kliničku praksu, te se sve više daje na značaju gradaciji uključenih studija, kao osnovne građe, kao i sumarnog rezultata metaanaliza, uz opštu napomenu da, ukoliko kvalitet uključenih studija bude loš i zaključci će biti loši. Ovo je izrodilo potrebu za razvojem jasnih pravila gradiranja, procene, razvoja i evaluacije preporuka u konceptu GRADE (200).

Pored kumulativnog efekta na ishod postupka VTO, iz rezultata naše studije jasno se uočavaju i trendovi u tretmanu infertiliteta postupcima VTO, kvantifikuje senzitivnost histeroskopije u detekciji patologije kavuma uterusa u odnosu na druge dijagnostičke procedure, stiče uvid u patološka stanja kavuma uterusa infertilnih pacijentkinja, kao i uvid u stavove pacijenata oko brojnih aspekata praktikovanja histeroskopije koji su krucijalni u daljem oblikovanju i razvoju upotrebe navedene procedure. Uvid u navedena saznanja, pored povećanja stope kliničkih trudnoća, predstavlja širi pojam uloge histeroskopije u tretmanu infertiliteta postupcima VTO, omogućava nam kompletniji uvid u kompleksnost tretmana iz aspekta uterinog faktora, te nas osnažuje u donošenju kvalitetnih kliničkih odluka, što je i bio cilj disertacije.

## **5.1 KARAKTERISTIKE PACIJENATA I CIKLUSA VTO**

Adekvatnost postupka randomizacije u drugoj etapi istraživanja, kao i uparivanja kontrolne grupe pacijenata u prvoj fazi istraživanja ogleđa se u tome što nije postojala statistički značajna razlika među pacijentkinjama u ispitivanim grupama, kako po osnovnim karakteristikama, godinama, indeksu telesne mase, tako ni po uzrocima steriliteta, tipu infertiliteta, osnovnim pokazateljima ovarijalne rezerve i parametrima toka ciklusa VTO ogleđanih u trajanju stimulacije, upotrebljenom protokolu stimulacije, metodi fertilizacije, broju dobijenih jajnih ćelija i broju i kvalitetu vraćenih embriona (Tabele 5-8 i Tabele 11-14). Iz navedenog se zaključuje da su razlike u ishodima VTO pre svega posledica primenjene histeroskopije, a mogućnost selekcionog biasa (predrasude) je svedena na minimum.

Prosečna starost pacijentkinja na celom uzorku iznosila je 33,73 godine, uz prosečan BMI od 22,79. Premda preselektovane inkluzionim kriterijumima nacionalnog programa, ovi podaci su u skladu sa opštim trendovima odlaganja rađanja i relativno starije reproduktivne dobi pacijenata, uz pomeranje ove granice čak i u odnosu na naša prethodna iskustva (7,40). Tako je 43,38% žena bilo starije od 35 godina, dok je samo 17% žena bilo mlađe od 30 godina.

Što se tiče uzroka steriliteta, dominirao je androgeni faktor sa gotovo 40%, praćen tubarnim i ovulatornim problemima. Uterini faktor bio je zastupljen ne kao dominantni, već kao kofaktor kod gotovo 12,25% pacijentkinja, uz značajnije varijacije među posmatranim grupama, što je u skladu sa metodološkom postavkom studije, činjenicom da su patološka stanja kavuma bila predušlov za uključivanje u određenu istraživačku grupu i da je za većinu navedenih pacijenata, usled odsustva drugih etioloških činilaca, nalaz kavuma poslužio za klasifikaciju etiologije.

Udeo idiopatskog infertiliteta iznosio je gotovo 20%. Po strukturi, uzroci steriliteta praktično su se poklapali sa drugim studijama koje su izučavale ishode kod prethodno neuspelih pokušaja VTO (38,75), dok je većina studija koja se bavila uzrocima infertiliteta kod pacijentkinja koje ulaze u prvi postupak VTO dobijala uzrok idiopatskog infertiliteta od blizu 30% (25). Razlog za ovakva zapažanja najverovatnije leži u slabijoj dostupnosti ART procedura u našoj sredini, te dugoj dijagnostici i odloženom tretmanu. Naime, prosečno trajanje infertiliteta pre postupka VTO iznosilo je skoro 6 godina, uz 77,55 % primarnog infertiliteta. Iskustva drugih studija iz zemalja sa bržom dijagnostikom i dostupnijim procedurama ukazuju na liberalniju upotrebu ART procedura u ranijoj fazi tretmana infertiliteta para, gde većina parova nema identifikovan uzor steriliteta (25,40). Protokom vremena određeni deo parova sa idiopatskim sterilitetom i spontano zatrudni, dok je kod parova sa RIF-om priroda njihovog stanja takva da sam infertilitet traje duže, zahteva detaljniju dijagnostiku, te je praćen manjom učestalošću idiopatskog steriliteta. Niži udeo idiopatskog infertiliteta u našoj studiji povezan je sa dužim trajanjem infertiliteta pre samog VTO tretmana, ukazujući da je struktura pacijenata sličnija RIF pacijentima stranih studija. Poređenja radi, iz švedskog registra uvidamo da uz prosečnu starost pacijentkinja od 33,2 godine koja odgovara našim rezultatima, prosečna dužina infertiliteta do uključivanja u postupak VTO iznosi svega 1,8 godinu (201).

Svega 5% pacijentkinja imalo je 2 i više prethodnih neuspelih postupaka VTO što je dodatno ogledalo slabe dostupnosti i upotrebljivosti ART procedura u našoj sredini. Ovo zapažanje

je najviše posledica načina finansiranja postupaka VTO od strane fonda, činjenice da je tokom većeg dela trajanja istraživanja nacionalni program podrazumevao samo 2 postupka VTO, te je u datim okolnostima ispitivanje kliničkog entiteta RIF po važećim kriterijumima praktično metodološki nemoguće, zahtevajući da određene subanalize u našem istraživanju uključe i pacijentkinje sa samo jednim neuspelim pokušajem VTO u anamnezi (160).

Parametri ovarijalne rezerve odgovarali su godinama žene, uz prosečne vrednosti AMH od 3,27 te 15,8% pacijentkinja sa vrednošću serumskog AMH ispod 1 ng/l, dok je analiza potrošnje gonadotropnih hormona pozicionirala naš centar u grupu klinika sa umerenijim stimulacijama od svega 1863 IU po ženi. Posledično, prosečan broj jajnih ćelija dobijenih na aspiraciji iznosio je 8,15. Kako je suprafiziološka stimulacija apostrofirana kao negativan faktor po receptivnost endometrijuma, primena blažih protokola stimulacije trebalo bi da doprinosi protektivnom uticaju na implantaciju.

U skladu sa evropskim i svetskim trendovima, rezultati naše studije potvrdili su sve veću upotrebu kratkog antagonističkog protokola i ICSI metode fertilizacije koji je upotrebljavan u gotovo 70% slučajeva (2). Sa druge strane, broj vraćenih embriona po ciklusu je ono što i dalje predstavlja najveći problem praktikovanja VTO u našoj sredini, sa upotrebom SET od svega 13%, praktično bez elektivnog SET i dominiranja TET od preko 60%, odnosno u većini slučajeva gde je to bilo moguće. Najgora posledica ove prakse ogleda se u neprihvatljivo visokoj stopi bližnakačkih trudnoća od 27,72% i troplodnih trudnoća od skoro 7% koja je zabeležena u celokupnom uzorku.

U poređenju sa prethodnim publikacijama sa naše klinike, tokom 5 godina uvođenja brojnih novina i sve češće upotrebe histeroskopije, uočava se i porast uspeha ciklusa, koji sa 39,92% stope kliničkih trudnoća po embriotransferu prevazilazi evropski prosek i predstavlja pomak u odnosu na naše ranije rezultate (2,7). Kultivacije embriona do blastociste, koja je praktikovana kod 6% pacijentkinja u studiji, stope implantacije od približno 20% (Tabela 9, 15) i sumarno povećanje stope kliničkih trudnoća pokazatelji su poboljšanja laboratorijskih uslova, te bi u svetlu stope troplodnih trudnoća od preko 5% moralo da posluži osnaživanju napora da se i u odsustvu adekvatnijih legislativnih mera zauzme klinički stav o drastičnom redukovanju prakse vraćanja tri embriona.

## 5.2 SENZITIVNOST PROCEDURE I UČESTALOST PATOLOŠKOG NALAZA NA HISTEROSKOPIJI

Nalaz histeroskopije je pokazao značajne razlike između definisanih i metodološki različito konstruisanih grupa, te je realniji uvid u senzitivnost procedure u poređenju sa drugim dijagnostičkim procedurama dobijen tek subanalizom. Grupa C sastojala se 100% od pacijentkinja se patološkim nalazom, podrazumevala je operativni tretman patološkog nalaza u kavumu, koji je u većini slučajeva prethodno i ultrazvučno verifikovan. Iako ne postoji jasan konsenzus o benefitu određenog operativnog tretmana, klinička praksa podrazumevala je operativno rešavanje sve nađene patologije (polipa, septum, mioma i sinehija, ali ne i dismorfičnog uterusa koji nije ubrajan u navedenu grupu). Na 50 žena sa operativnom histeroskopijom najčešću patologiju predstavljalo je prisustvo polipa sa 55%, septuma sa 25% te mioma sa 12% (Grafikon 34). Minor lezije, kao propratni nalaz, zabeležene su kod 16% pacijentkinja u ovoj heterogenoj grupi pacijentkinja. Slično tome, u prvoj etapi studije na 50 žena sa “urednom” histeroskopijom zabeleženo je 14% subtilnih lezija i jedini entiteti minor patologije podrazumevali su mikropolipozu endometrijuma i “Strawbery like”, ukazujući na senzibilisanost kliničara u klasifikovanju subtilnih lezija, mahom u ove 2 kategorije. Kako klinički značaj subtilnih lezija nije određen, ove pacijentkinje nisu isključivane iz primarne analize grupe B. Udeo subtilnih lezija pokazao je konstatnost u odnosu na pokušaj VTO po redu, kao i u odnosu na naše prethodne rezultate (23), i u skladu je sa nižom učestalošću komparativnih studija, pre svega TROPHY i InSIGHT, gde se kretala oko 12% (25,38), te daleko ispod 40%, koliko je zabeleženo u određenim studijama na RIF pacijentkima, što je moguće posledica već navedenog odsustva značajnijeg broja ovih pacijenata u našem uzorku (84).

Metodološki ispitivana grupa B2 daje nam najbolji uvid u **udeo prethodno neprepoznate patologije kavuma uterusa** kod pacijentkinja koje ulaze u prvi postupak VTO. Na 50 pacijentkinja u ovoj grupi dobijen je udeo patološkog nalaza od gotovo 34% i to udeo major patologije od gotovo 24% (predstavljenih pre svega polipima sa 12% i septumima sa 10%) i minor patologije kod 10 % pacijenata. Relativno visok udeo patološkog nalaza na rutinskoj histeroskopiji, znatno više od zabeleženih 12% u InSIGHT studiji, koja je takođe ispitivala uticaj rutinske histeroskopije na prvi postupak VTO, najverovatnije, ne oslikava našu suboptimalnu sonografsku dijagnostiku ili populaciju sa većim udelom patologije kavuma, koliko je odraz činjenice da je naša studija

sprovedena u referentnom tercijarnom centru za histeroskopsku hirurgiju, senzibilisanom u detekciji patologije kavuma, za razliku od heterogene izvođenosti InSIGHT studije u centrima bez značajnijeg histeroskopskog iskustva, što se finalno i ogleda u stopi neuspele histeroskopije koja je u navedenoj studiji iznosila blizu 10%, dok je kod nas bila ispod 1% i pre odgovarala po izvodljivosti i strukturi patologije kavuma rezultatima TROPHY studije koja je sprovedena u 7 referentnih histeroskopskih centara (38).

Grupisanjem svih 101 žena iz posmatranih grupa koje su podvrgnute histeroskopiji sa urednim ultrazvučnim nalazom, uredan nalaz histeroskopije je potvrđen kod 65,35% pacijentkinja, ukazujući na **sumarni udeo prethodno neprepoznate major patologije od 22,77% i minor patologije kavuma uterusa od 11,88%**. Ipak, nalaz histeroskopije, bilo da je reč o operativno tretiranoj major patologiji, urednom nalazu uz “scratching” ili konzervativno tretiranoj minor patologiji, nije uticao na ishod VTO niti po jednom posmatranom parametru (tabela 26).

Uprkos činjenici da histeroskopija predstavlja zlatni standard u evaluaciji materične šupljine i da je patološki nalazi kavuma uterusa češći u populaciji infertilnih žena, preporuke referentnih tela ne podrazumevaju upotrebu histeroskopije u inicijalnom pristupu ovoj populaciji pacijenata, već se kao primarna procedura koristi transvaginalna endosonografija – 2D ili 3D, sa ili bez primene kontrasta kao i HSG (40). Razlog za ovo je svakako invazivnost i cena procedure u svetlu očekivane dobiti. Premda poslednje studije ukazuju na potrebu za reevaluaciju navedenih stavova i benefit same histeroskopije u celokupnoj prognozi infertilnog para, nedoumice ostaju oko tačnog pozicioniranja histeroskopije u vremenu – kada raditi (u inicijalnoj obradi, pred postupak VTO, samo kada postoji sumnja na patologiju kavuma), obimu – kome raditi (pred prvi ili neuspeli postupak VTO) i tipu procedure – šta raditi (diskutabilan efekat tretmana brojnih patoloških stanja)(194).

Oslanjanje samo na druge procedure u svakodnevnoj kliničkoj praksi nosi određene rizike nepreciznosti, što je potvrđeno i našim istraživanjem. Na osnovu rezultata validnih studija nalaz HSG-a varira u zavisnosti od menstrualnog ciklusa i propratnih tehničkih izazova, mehurića vazduha, mukusa, menstrualnog debrisa, što smanjuje senzitivnost procedure na čak 55-70% (71). Određene studije ukazuju da HSG ima stopu lažno negativnih nalaza od 13,9% do 35,4 % i stopu lažno pozitivnih nalaza od 9,8 % do 15,6% (202) (203). Metaanalize dodatno potvrđuju da je senzitivnost procedure HSG relativno visoka (81-98%), ali je specifičnost vrlo niska (23-35%),

dajući visoku stopu kako lažno negativnih (10-90%), tako i lažno pozitivnih rezultata (22-44%) (204).

Nasuprot tome, u poređenju sa histeroskopijom 2D sonografija pokazuje senzitivnost od 84,5%, specifičnost od 98,7% i posledičnu pozitivnu prediktivnu vrednost od 98%, a negativnu prediktivnu vrednost od 89,2%. Intrauterine adhezije predstavljaju nalaz kod kojih sonografija pokazuje najmanju dijagnostičku vrednost koja se povećava dodavanjem kontrasta, kao i za drugu uterinu patologiju (205). U našoj sredini udeo navedene patologije je potvrđeno nizak (ispod 2%). Inkorporiranje 3D ultrazvučnog pregleda sa kontrastom čini sonografiju visoko preciznom i komparabilnom histeroskopiji za gotovo sva major patološka stanja kavuma uterusa, uz senzitivnost od 88%, specifičnost 100%, te pozitivnu i negativnu prediktivnu vrednost od redom 100% i 92% (100,204).

### **5.2.1 Udeo patološkog nalaza kavuma kod infertilnih pacijentkinja u drugim studijama**

Brojne studije ukazuju da će kod gotovo trećine pacijenata sa HSG ili ultrazvučno urednim nalazom histeroskopija detektovati određeni patološki susprat, uz udeo nedijagnostikovanih abnormalnosti od 9,7 do 43,3% (194), iako su Fatemi i saradnici dobili stopu prethodno neprepoznate patologije kavuma uterusa od svega 11% (83). Razlike u navednim procentima, kao i razlike u odnosu na našu studiju, svakako leže u metodološkim postavkama, primenjenoj terminologiji, ali i u organizaciji reproduktivne nege i verziranosti pojedinih centara ka histeroskopiji. Međutim, uticaj samog patološkog nalaza i njegovor tretmana na ishod VTO i dalje nije razjašnjen, predmet je kontroverzi i odsustva konsenzusa usled odsustva adekvatnih studija (33).

Jedna studija je na 100 žena sa idiopatskim infertilitetom sprovođenjem histeroskopije i biopsije endometrijuma našla patološki nalaz kod čak 86% pacijentkinja, ali ovaj podatak ne odgovara realnoj incidenci u svakodnevnoj kliničkoj praksi (206). Slično našim rezultatima, veća **indijska studija** je ispitivala uticaj histeroskopije na evaluaciju kavuma uterusa u zemljama u razvoju, zemljama sa ograničenom medicinskom negom šire populacije pacijenata i na 870 asimptomatskih infertilnih žena dobila sledeće rezultate: 12,9% pacijentkinja je imalo patološki nalaz na sonografiji, i kod njih je histeroskopski potvrđen patološki ultrazvučni nalaz u 67,3% slučajeva uz 32,7% urednih histeroskopskih nalaza, uprkos ultrazvučno postavljenoj sumnji. Sa druge strane,



kod 757 žena sa urednim ultrazvučnim nalazom histeroskopski je kod 14,2% viđen patološki nalaz iz domena major patologije. U ukupnom uzorku infertilnih asimptomatskih pacijentkinja sumarno je kod 21,1% pacijentkinja postojao major patološki nalaz kavuma (207). Među patološkim nalazima dominirale su intrauterine adhezije sa 17,8%, dok su polipi sa 1,7%, submukozni miomi sa 0,7% i kongenitalne malformacije sa 0,7% bili manje zastupljeni, što su različiti nalazi u odnosu na zapažanje naše i drugih, mahom evropskih studija, ukazujuću i na drugačije etiološke činioce u datim populacijama i pretpostavljenu veću učestalost tuberkuloznog endometritisa u Indiji (207). Navedena studija potvrđuje trendove naše studije o poboljšanoj sonografskoj dijagnostici i manjoj učestalosti neprepoznatog nalaza u odnosu na prethodno prijavljene.

Novija **egipatska studija**, detektovala je postojanje abnormalnog nalaza u kavumu kod čak 40,3% asimptomatskih pacijentkinja, i to 17,7% polipa, 10,5% submukoznih mioma, 4,8% septuma, 3,2% adhezija, 2,4% hiperplazija i 1,6% atrofičnog endometritisa, te ovi nalaze po strukturi patologije mnogo više odgovaraju našim rezultatima, iako je udeo patoloških nalaza značajno veći (208). Dodatno, navedena egipatska studija ispitivala je senzitivnost kontrastne sonohisterogarfije (SIS) i histeroskopije te dobila veću senzitivnost histeroskopije (98,0% naspram 96,2%) i veću specifičnost (100% naspram 98,7%), iako su i jedan i drugi parametar kao i pozitivne i negativne prediktivne vrednosti za obe procedure bile izuzetno velike, za razliku od standardne 2D sonografije koja ima pozitivnu prediktivnu vrednost od 85-90% u najboljem slučaju (208).

**Jedna od najvećih studija na temu neprepoznate patologije kavuma uterusa** je na populaciji 2500 neselektovanih pacijentkinja koje ulaze u postupak VTO (1532 pacijenta u prvi postupak VTO, a 968 pacijentkinje nakon prethodnih neuspelih postupaka VTO) sprovedla histeroskopiju uz dobijenu učestalost patološkog nalaza od 22,9% i, što se u velikoj meri poklapa sa rezultatima naše studije, uz manje razlike u strukturi patoloških analiza. Tako je navedena studija dobila endometralnih polipa u 7,68% slučajeva, submukoznih mioma 3,84%, septuma uterusa 2,92%, polipoidnog endometrija 1,24% i intrauterinih adhezija 1,08%, dok se nalaz endometritisa, uterusa T oblika, cervikalnih polipa i cervikalne stenozе nalazio u ispod 1% učestalosti (21). U navedenoj studiji je od 573 pacijentkinje sa abnormalnim nalazom sledstveni operativni tretman sproveden ambulantno, uz 70,8% polipektomija urađenih ambulantno.

Tradicionalno se smatra da pacijenti sa RIF-om imaju veću incidencu patološkog nalaza u kavumu uterusa. Ovo zapažanje je potvrđeno i u našoj studiji gde je kod pacijentkinja sa prethodnim neuspehim postupkom VTO dobijeno 50% patoloških nalaza na histeroskopji, premda usled konstrukcije našeg uzorka pacijentkinje nisu zadovoljavale kriterijume RIF-a, a i sama postavka ispitivanih grupa nije bila strukturisana da da odgovor na navedeno pitanje koje je u datim okolnostima svakako preценjeno. Sa porastom broja neuspehlih pokušaja svakako raste i uticaj uterinog faktora infertiliteta i udela patološkog nalaz na kavumu. U ispitivanju **incidence patološkog nalaza na histeroskopiji kod pacijenata sa RIF-om i uticaja njengovog tretmana** Cengsoy je na 157 pacijentkinja našao patološki nalaz kod 44,9%, od kojih je nakon histeroskopskog tretmana 48,1% ostvarilo trudnoću (75). Najčešći patološki nalaz bili su endometralni polipi koji su identifikovani kod 25% svih pacijentkinja, intrauterine adhezije kod 9%, polipoidni endometrijum 8,3% i septumi uterusa kod 2,6%. Najveće povećanje stope uspeha zabeleženo je nakon operativnog tretmana polipa, dok nakon tretmana sinehija povećanje nije bilo statistički značajno (75). U studiji Aletebi i sar. je na 132 pacijentkinje sa RIF-om dobijena učestalost patološkog nalaza na histeroskopiji kod 38% pacijentkinja, uz dominiranje nalaza polipa kod 22%, adhezija kod 9,8% i endometritisa kod 3,7% pacijentkinja i kod navedenih pacijentkinja je, nakon operativnog tretmana, dobijena statistički značajno veća stopa kliničkih trudnoća u sledstvenim ciklusima koja je iznosila blizu 50% (209). Pozitivan efekat tretmana intrauterine patologije dokumentovan je i ranije, ali je najizraženiji bio u sudiji Elmorsy sa 65,2% ostvarenih trudnoća, iako na malom volumenu pacijenata (210).

Ukupna učestalost patološkog nalaza na histeroskopiji je u **metaanalizi**, koja je mahom uključila studije sa prethodnim neuspehim pokušajima VTO iz 2008. Godine, na 5 uključenih studija iznosila od 25-56% (187), dok je u metaalanizi Pundir i saradnika iz 2014. godine kod pacijentkinja koje ulaze u prvi postupak VTO iznosila 10-59% (191), ali su obe metaanalize ustanovile da operativni tretman istih dovodi do iste stope trudnoće kao i kod pacijentkinja sa urednim histeroskopskim nalazom. Pozitivan efekat histeroskopije je, na osnovu navedene 2 metaanalize kao i naših rezultata, izraženiji kod pacijentkinja sa RIF-om uz NNT, 7 spram 11, najverovatnije usled drugačijeg reproduktivnog potencijala samih subpopulacija pacijenata i činjenice da kod RIF-a uterini i implantacioni poremećaju koji se tretiraju histeroskopijom imaju značajniju ulogu nego u opštoj populaciji infertilnih pacijentkinja.

Kako je i naš centar visoko specijalizovan u tretmanu infertiliteta, rezultati relativno niske stope patoloških nalaza pozitivni su pokazatelji adekvatne upotrebe dijagnostičkih procedura i svakako da su rezultati studija sa blizu 50% patoloških nalaza pre rezultat insuficijentne dijagnostike. Specifičnost i senzitivnost transvaginalne sonografije u poređenju sa histeroskopijom varira od 60 do 97%, u zavisnosti od studije, iako nove 3D kontrastne metode sonografije pružaju senzitivnost i specifičnost praktično identične histeroskopiji (100,211). Ipak, detekcija subtilnih lezija ostaje u domenu histeroskopije i učestalost ovih abnormalnosti mahom se kreće u 10-15%, premda se one često previde usled odsustva saznanja o njihovoj kliničkoj ulozi i kliničkoj interpretaciji 10-15% (23,38,84). To je i razlog zbog čega samo pojedini autori iz verziranih centara prijavljuju incidencu subtilne patologije kavuma.

*Udeo patoloških nalaza na histeroskopiji ne odlikava samo patologiju određene populacije i histeroskopske standarde u određenoj sredini, nego i standarde dostupnosti ginekoloških usluga. Intenzitet ispitivanja pacijentkinja na Klinici za ginekologiju i akušerstvo KCV, pred rutinsko uključivanje u nacionalni program VTO svakako je visok, te je odraz manje učestalosti patološkog nalaza delimično i posledica pretodno intenzivnijeg kliničkog rada i ne može se prosto prevesti na opštu populaciju infertilnih pacijentkinja koje neretko prolaze kroz histeroskopski tretman u inicijalnoj dijagnostici infertiliteta, uzevši u obzir implementiran koncept transvaginalne endoskopije u inicijalnoj dijagnostici (24).* Ovaj podatak predstavlja metodološki izazov koji se viđa u brojnim zapadnoevropskim zemljama. Naša studija je kao inkulzione kriterijume u prvoj etapi postavila odsustvo histeroskopije unutar 3 meseca od uključivanja u program VTO. Navedena postavka bazirana je na činjenici da neposredni efekti histeroskopije u smislu lezije endometrijuma ne traju duže, ali u sredinama sa rutinski implementiranom histeroskopijom, kao što je naša (gde smo neretko svedoci i preterane upotrebe navedene procedure) uvek ostaje metodološki izazov i nedostatak studije nemogućnost procene realnog uticaja ranijih histeroskopija. Iz tog ugla su nam dragoceni podaci studija zemalja poput Velike Britanije i drugih zdravstvenih sistema sa limitiranom dostupnošću histeroskopiji na osnovu preporuka stručnih tela.

### **5.3 UTICAJ HISTEROSKOPIJE NA ISHOD VTO**

Sumarnom analizom rezultati sprovedenog istraživanja ukazuju na pozitivan uticaj histeroskopije na ishod VTO iskazano kroz statistički značajno veću stopu kliničkih trudnoća, kao primarnog ishoda nakon upotrebe histeroskopije, iako se statistička značajnost navedenog benefita

donekle razlikovala u etapama istraživanja i među ispitivanim grupama, te je realan benefit bio značajnije uočljiv tek analizom posthok formiranih subgrupa kada smo želeli da damo odgovore na usko formulisana pitanja određenih kliničkih situacija.

**Prva etapa istraživanja** je u prospetivnoj nerandomizovnoj formi dobila statistički značajno ( $p=0,013$ ) veću stopu kliničkih trudnoća (CRP) kod pacijentkinja kojima je pred postupak VTO sprovedena histeroskopija, bilo da je dobijen uredan nalaz i sprovedena procedura ES (CPR 50%) ili je nađen patološki nalaz koji je u istom aktu i tretiran (CPR 42%), u odnosu na pacijentkinje kojima pred postupak VTO nije sprovedna histeroskopija (CRP 30,77%) (Tabela 7, Grafikon 31). Kako se posmatrane grupe nisu razlikovale, niti po osnovnim karakteristikama, niti po toku samog postupka VTO (Tabele 5-7), **ovim je potvrđena druga istraživačka hipoteza kako histeroskopija izvedena neposredno pre postupka vantelesne oplodnje dovodi do značajno veće stope trudnoća kod svih pacijentkinja, bez obzira na prisustvo ili odsustvo patološkog nalaza u kavumu uterusa, u odnosu na pacijentkinje bez izvedene histeroskopije i sa urednim ultrazvučnim nalazom kavuma uterusa.**

Rezultati prve etape su, dakle, u skladu sa prethodnim zapažanjima sa naše klinike, publikovane u formi retrospektivne studije (189), kao i rezultatima prvih studija na datu temu. Iz dobijenih rezultata uočava se najveća stopa trudnoće u grupi žena sa urednom histeroskopijom, iako ona nije bila statistički značajno veća od pacijentkinja sa patološkim nalazom na histeroskopiji. Dodatnom analizom subgrupa celog uzorka, stopa kliničkih trudnoća za uredan histeroskopski nalaz iznosila je 48,75%, za major patologiju 43,45%, a za minor patologiju 41,67%, potvrđujući određene trendove, ali bez statistički značajne razlike. Laka prednost kod pacijentkinja sa urednim nalazom donekle može biti i posledica rutinske kliničke prakse inkorporiranja jatrogene lezije endometrijuma u standardnu dijagnostičku histeroskopiju.

**Druga etapa studije**, koja je po svom dizajnu predstavljala RCT prospektivno je ispitala izolovani uticaj upotrebe rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO kod asimptomatskih pacijentkinja, uz uredan ultrazvučni nalaz. Najveća metodološka prednost, pored dizajna koji je podrazumevao randomizaciju, predstavlja i činjenicu da se navedenim pristupom odstupalo od ustaljene kliničke prakse u cilju postavljanja novog indikacionog područja. U skladu sa dizajnom studije nisu uočene razlike među pacijentkinjama, niti po osnovnim karakteristikama i uzroku steriliteta, niti po toku samog postupka VTO u navedenim grupama (Tabele 11-14). Iako je stopa

kliničkih trudnoća u grupi histeroskopije iznosila 46%, a u grupi bez histeroskopije 31,37%, uz gotovo identične stope biohemijskih trudnoća i spontanih pobačaja, incijalni rezultati studije **nisu dovoljno statističke značajnosti ( $p = 0,089$ ) potvrdili treću istraživačku hipotezu** kako rutinska primena histeroskopije pre prvog postupka vantelesne oplodnje dovodi do značajno veće stope trudnoća ciklusa vantelesne oplodnje. Ipak, sami rezultati ukazali su na nedvosmislene trendove poboljšanja, te je analiza rizika, odnosno šansi, ustanovila da je RR za ostvarivanje kliničke trudnoće nakon primene histerioskopije 1,47 uz 95% CI od 0,88-2,43, ( $p=0,13$ ), i trend povećanja šansi za trudnoću još je izraženiji u slučaju tekućih trudnoća, odnosno živorođenja uz RR 1,57 (0,87-2,80). *Relativno široki intervali poverenja svakako smanjuju nekritičku interpretaciju kako primena rutinske histeroskopije pred prvu VTO povećava šansu za trudnoću od gotovo 50%, a odsustvo statističke značajnosti najverovatnije leži i u relativno maloj moći uzorka za naveden parametar ishoda. Ipak, studija je sublimirala trendove i zapažanja ostalih istraživanja koja se detaljnije elaboriraju u daljem toku, a koji ukazuju na dovoljno velik benefit da ova opcija i dalje intrigira kako pacijente tako i kliničare, a nedovoljno velik benefit da nedvosmisleno ukaže na statističku značajnost i oslobodi nas potrebe daljih istraživanja na datu temu.*

**Potvrda treće istraživačke hipoteze ipak je dobijena naknadnom analizom subgrupa iz celog uzorka**, gde je spajanjem odgovarajućih pacijenata iz grupa A i A2, kao i B i B2 volumen uzorka povećan na 100 pacijentkinja sa rutinski sprovedenom histeroskopijom (mahom pred I VTO) i 103 pacijentkinje koje nisu podvrgnute histeroskopiji pred VTO, a gde su ostvarene stope kliničkih trudnoća od 48% naspram 31,07% istim redom, uz RR od 1,54 i CI od 1,08-2,20. Iako je donja granica intervala poverenja bila relativno niska i iznosila je svega 1,08, dvostruko veći volumen doprineo je dostizanju signifikantnog nivoa statističke značajnosti za stopu kliničke trudnoće od  $p=0,0136$ , kao i za stopu tekućih trudnoća od RR 1,49 (CI 1,01-2,19) gde je  $p$  isnosio 0,0386.

Ključna prednost, odnosno snaga disertacije ogleda se u postavci studije na način da odgovarajućim subanalizama i spajanjem grupa povećava volumen i statističku moć, te ispita različite aspekte uloge histeroskopije na tretman infertiliteta postupcima VTO, i ponudi zaključke na brojna individualizovana pitanja, kako iz ugla histeroskopskog nalaza, tako i iz ugla karakteristika pacijenata. Dodatno iskustvo jednog centra koji je decenijama verziran u histeroskopiji i postupcima VTO, uz uniformniji i standardizovaniji rad manje grupe kliničara, smanjuje heterogenost u radu

koji se zapaža u drugim istraživanjima. Randomizacija u drugoj etapi istraživanja je svakako retkost u našoj naučnoistraživačkoj praksi i predstavlja dodatnu snagu studije. Sa druge strane, glavni **nedostaci studije** leže u činjenici da kao primarna mera ishoda nije uzimana stopa živorođenja, uprkos preporukama da se na ovaj način sagledavaju uticaji intervencija u ART procedurama. Odluku da se u metodologiji ograničimo na stopu kliničkih trudnoća objašnjavamo ne samo potrebom za većim volumenom ispitanica koji bi bio neophodan kako bi i ova varijabla dostigla statističku moć i vremenskim ograničenjima za sprovođenje istraživanja, već i činjenica da disertacija obrađuje ulogu histeroskopije koja ima pretpostavljeni efekat na implantaciju, dok stopa živorođenja uzima u obzir i standarde daljeg vođenja trudnoće i perinatalne zaštite koji svakako nisu homogeni, s obzirom da većina pacijenata dolazi iz različitih sredina, sa drugačijim standardima perinatalne zaštite. Ovo bi u konačnici moglo da uslovi određene predrasude u interpretaciji rezultata. Iako metodološki nisu planirani kao primarni pokazatelji ishoda disertacije, rezultati prve etape istraživanja, koja je hronološki ranije sprovedena, svakako su izraženi i kroz stopu živorođenja, dok su rezultati istraživanja u drugoj etapi pored kliničkih prezentovali i stopu tekućih trudnoća, kao postojanje živorođenja ili vijabilne trudnoće nakon 12 gestacijske nedelje koja se uzima kao adekvatan surogat stopi živorođenja.

*Uočavaju se i određeni nedostaci studije koji su odraz sistema u kome se VTO praktikuje.* Tako je naša studija ispitivala uticaj samo na ishod svežeg transfera, uzevši u obzir odsustvo postupaka krioprezervacije u nacionalnom programu VTO, i od situacionih metodoloških nedostataka svakako dominira odustvo rutinske primene SET-a u našoj sredini, visoke upotrebe TET-a koji je praktično napušten u većini evropskih zemalja, što otežava bolje poređenje naših rezultata i rezultata drugih studija, pre svega iz ugla stope trudnoća koja je kod nas zbog toga nešto viša, mada je ovaj nedostatak u disertaciji prevaziđen izražavanjem stopa implantacije kao markera, ne samo kvaliteta embriona, već i receptivnosti endometrijuma. Nedostatkom studije mogao bi se i uzeti i mali volumen ispitanih za određene subpopulacije pacijenata, poput onih sa RIF-om ili određenim patološkim nalazom.

**Brojne studije su ispitivale različite aspekte uticaja histeroskopije na tretman infertiliteta i na ishod postupaka ART.** Bosteels i saradnici su u poslednjem Cochrane izveštaju izneli odsustvo značajnijih dokaza o uticaju tretmana značajnijih patoloških stanja uterusa na ishod postupaka IUI ili VTO (33), dok je celokupan efekat histeroskopije u širem smislu, bilo dijagnostičke, ili operativne, na ishod tretmana infertiliteta postupcima prvog ili repetitivnog ciklusa VTO

obrađen posebnim sistematskim izveštajima i metaanalizama autora El-Toukhy 2008, Bosteels 2010, Potdar 2012, kao i Sardo 2016, dok je Pundir 2014 ispitala samo ulogu rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO (55,177,187,194). Pored heterogenosti studija uključenih u navedene metaanalize, većeg ili manjeg kvaliteta po dizajnu, kao i heterogenih rezultata koji su mahom favorizovali histeroskopiju, navedene metaanalize su izdvojile i potrebu za razdvajanjem uloge histeroskopije u datim kliničkim situacijama – prvom postupku VTO ili prethodnim neuspelim postupcima VTO, uz osvrt na celovit doprinos histeroskopije tretmanu infertiliteta u jednom pragmatičnijem pristupu.

Iz tog ugla i naša studija je sproveda određene posthoc subgrupne analize iz kojih izvlačimo dragocene zaključke koje uže možemo primeniti na svakodnevnu kliničku praksu i koje su povećanjem volumena osnaživale zaključke u smislu statističke i kliničke značajnosti.

Subanalizom **ukupnog uticaja histeroskopije** na ishod VTO poređenjem svih 150 pacijentkinja koje su podvrgnute postupku histeroskopije pred VTO u odnosu na 103 pacijentkinje koje su ušle u postupak VTO bez prethodne histeroskopije dobijena je statistički značajno veća stopa kliničkih trudnoća po ET za grupu histeroskopije, uz RR 1,48 (CI 1,06-2,07) ( $p=0,0172$ ) (Tabela 20, Grafikon 50). Kako je već navedeno da je uredan nalaz histeroskopije i dalje dovodio do najveće stope kliničkih trudnoća, isključivanjem ovih pacijentkinja iz analize i ostavljanjem samo pacijentkinja koje su pred postupak VTO imale operativnu histeroskopiju, spram pacijentkinja koje su ušle u postupak VTO bez histeroskopije dobijena veća stopa kliničke od RR 1,37 (CI 0,93-2,05), izgubila je statističku značajnost ( $p=0,112$ ) (Tabela 21).

O samoj ulozi histeroskopije još je Almong 2010. godine opisao da sama histeroskopija per se predstavlja jedini faktor koji povećava stopu implantacije (212). Poslednja metaanaliza o ulozi histeroskopije u poboljšanju reproduktivnog ishoda infertlnih parova pokušala je da sagleda ovaj problem iz pragmatičnijeg ugla, primenljivog u svakodnevnoj kliničkoj praksi (194). Metaanaliza **Sardo i saradnika** publikovana 2016. godine je finalno uključila 7 studija i volumen od 2976 pacijenta. Iako je kvalitet dokaza uključenih studija okarakterisan kao izuzetno nizak, u smislu stope živorođenja dobijena je veća stopa u grupi žena koje su bile podvrgnute histeroskopiji uz RR od 1,48, i to kako za pacijente koji ulaze u svoj prvi postupak VTO, uz RR od 1,44 (iako u navedenoj studiji ovo nije dostiglo statističku značajnost), tako i za pacijente sa prethodnim

neuspelim postupcima VTO uz RR od 1,48, što se gotovo podudara sa rezultatima naše studije (194).

Veći volumen studija identifikovan je u praćenju parametara stope kliničkih trudnoća, gde je i kvalitet dokaza okarakterisan kao umeren, a ne nizak, te je na 2545 pacijenata ukupni rezultat uticaja histeroskopije favorizovao histeroskopiju sa RR od 1,45, i ovaj efekat je perzistirao i nakon dalje stratifikacije pacijenata na 2112 pacijentkinja sa prethodnim neuspehom implantacije uz RR od 1,41, kao i kod 433 pacijentkinje koje su ulazile u svoj prvi postupak VTO uz RR 1,55 i bio je statistički značajan u svim posmatranim grupama (194). Nijedna studija u metaanalizi nije ispitala stopu komplikacija, dok su podaci o stopi pobačaja ukazivali da histeroskopija ne doprinosi smanjenju istih.

RCT Shawki i sar. o ulozi rutinske histeroskopije pred postupak ICSI, bez obzira na redni broj pokušaja, je na 110 pacijenata bez histeroskopije i 105 pacijenata sa histeroskopijom kod prethodno urednog HSG i sonografskog nalaza identifikovao postojanje patološkog nalaza kod 33,3% pacijentkinja koji je tretiran u istom aktu (210). U navedenoj studiji koja je po volumenu i strukturi vrlo komparabilna sa našom (pogotovo subanalizom svih rutinskih histeroskopija), u ispitivanoj histeroskopskoj grupi 48,5% je imalo prethodne neuspele postupke VTO i udeo prethodno neprepoznatog patološkog nalaza u ovoj grupi iznosio je 48,5%. Stopa kliničkih trudnoća iznosila je 27,2% za grupu pacijentkinja bez histeroskopije i 38% za grupu pacijentkinja sa histeroskopijom, uz 35,7% kod histeroskopski urednog nalaza i 42,8% u grupi patološkog histeroskopskog nalaza koji je u istom aktu i tretiran, i navedena razlika je bila statistički značajna, uz primećene i razlike i u stopi implantacije. Rezultati navedene studije se gotovo podudaraju sa našim dobijenim rezultatima iako su za razliku od nas, u navedenoj studiji diskretno bolje rezultate dobili za patološki nalaz u kavumu uterusa – operativnu histeroskopiju (210)

U daljoj analizi uticaja histeroskopije na ishod VTO, dodatna stratifikacija svakako postoji i u smislu upotrebne vrednosti histeroskopije bilo da je ona dijagnostička, rutinska ili operativna histeroskopija u slučaju postojanja određenog patološkog nalaza kavuma i čiji je benefit demonstriran kako stranim tako i našim prethodnim istraživanjima (173,189), iako nije potvrđen značajnijim metaanalizama (33).

U našoj studiji subanaliza operativne histeroskopije dobila je stopu kliničkih trudnoća od 43,55% spram 31,07% za pacijentkinje bez histeroskopije i kao što je pomenuto ovaj benefit po



uspeh VTO nije bio toliko izražen koliko je ostvaren poređenjem samo pacijentkinja sa urednom histeroskopijom i sprovedenom procedurom ES spram pacijentkinja bez histeroskopije, uz ostvarenu stopu kliničkih trudnoća od 48,75% te RR za ostvarivanje kliničke trudnoće upotrebom histeroskopskog scartchinga od 1,57 (CI 1,09-2,26) uz  $p=0,0149$ .

Iako naša studija nije bila dizajnirana da daje odgovore na pitanja o uticaju pojedinačnih histeroskopskih nalaza, pa čak ni prisustvu različitih entiteta patologije kavuma uterusa, subanalizom je ustanovljeno odsustvo razlike u stopi kliničkih trudnoća, pobačaja, i tekućih trudnoća bilo da je histeroskopija našla patološki nalaz u formi subtilne ili major patologije, ili uredan nalaz uz stopu kliničkih trudnoća od 41,67%; 43,55%; i 48,75% istim redom ( $p= 0,968$ ). Iako u literaturi nema nedvosmislenih dokaza o realnom kliničkom značaju patoloških stanja kavuma uterusa i negativnom uticaju na reproduktivni ishod niti ishod postupaka ART, postoji osnovana, i biološki moguća hipoteza da ovaj uticaj ipak postoji. Rezultati disertacije u tom smislu dokazuju da se rešavanjem navedene patologije negativan uticaj, ukoliko je i postojao prevazilazi, uz dodatan dobitak kvaliteta implantacionog potencijala uterusa verovatno postupkom lezije endometrijuma koji je uz uredan histeroskopski nalaz u svim subanalizama davao najveću stopu trudnoća.

*Uvidom u kompleksnost interpretacije uloge histeroskopije u daljem toku diskusije su radi preglednije komparacije, donekle razdvojene studije koje su ispitivale ulogu histeroskopije u različitim kliničkim situacijama.*

## **5.4 RUTINSKA HISTEROSKOPIJA PRE PRVOG POSTUPKA VTO**

Manje studija u literaturi se bavilo izolovano ulogom rutinske histeroskopije kod neselektovane populacije infertilnih pacijentkinja na ishod prvog postupka VTO. Najveća metaanaliza na datu temu do sada, Pundir i sar. o rutinskoj upotrebi histeroskopije pred prvi postupak VTO dobila je veću stopu živorođenja praktično za 30%, uz RR od 1,3, ali su u stručnim krugovima rezultati dovedeni u pitanje usled dizajna i malog volumena uključenih studija u kojima nije bilo značajnijih RCT, te je apostrofirana potreba za postavljanjem većih multicentričnih studija (191).

Navedena metaanaliza obradila je samo jednu RCT, El Nashar i sar., koja je uključila 124 žene i dobila benefit rutinske histeroskopije uz stopu kliničkih trudnoća od 40,3% naspram 24,2%,

i 5 nerandomizovanih studija gde su Karayalcin i saradnici 2012. godine takođe dobili benefit rutinske histeroskopije pred prvu VTO, uz povećanje stope živorodenja sa 22,6 % na 36,9 %; Kilić i saradnici su 2013. godine na 100 žena sa rutinskom histeroskopijom spram 398 žena bez histeroskoije dobili stopu živorodenja od 26% naspram 18,3% i Trninić Pjević i saradnici 2013. godine na 193 žene sa rutinskom histeroskopijom i 287 žena bez histeroskopije dobili stopu živorodenja od 35,2% naspram 27,5%, ali je i jedna od uključenih nerandomizovanih studija, Yu i saradnika 2012. godine na 215 žena sa rutinskom histeroskopijom pred prvu VTO i 284 žene bez rutinske histeroskopije dobila odsustvo statistički značajne razlike između navedenih grupa uz stopu živorodenja 34% napsram 35,6%, iako su u subanalizi navedene studije pacijentkinja sa operativnom histeroskopijem u poređenju sa normalnim nalazom na histeroskopiji imali statistički značajno veću stopu živorodenja (51,2% naspram 33,6%) (188,189,213,214). Rezultati naše studije potvrđuju ovaj “hronološki pad” dobijenog kliničkog značaja histeroskopije na ishod VTO i trendove koji nas približavaju poslednjim, bolje dizajniranim studijama.

Kada su analizirane samo stope kliničkih trudnoća, metaanaliza Pundir je na 2681 pacijentkinje od kojih je 1177 pacijentkinja bilo podvrgnuto histeroskopiji i 1504 su bez prethodne histeroskopije ušle u prvi postupak VTO dobila pozitivne efekte, i kod randomizovane studije – RR 1,67, i kod nerandomizovanih studija uz RR od 1,41, kao i sumarno kod svih studija uz RR od 1,44 i NNT 10, dok su stope živorodenja prijavile samo 4 nerandomizovane studije uz ranije pomenut benefit izvođenja histeroskopije iskazan kroz RR od 1,3 i NNT 11 (191). Stratifikacijom rezultata metaanaliza nije dobila razliku u stopi trudnoća kod žena koje su imale operativnu histeroskopiju ili uredan histeroskopski nalaz, što odgovara i nalazima naše aktuelne studije.

Pomenuta studija Kilic i sar. iz Istambula takođe je po volumenu komparabilna našoj studiji, iako po dizajnu nije bila RCT. Većina pomenutih studija turskih autora teško su mogli organizovati RCT, pošto kod njih zdravstvena politika nalaže izvođenje histeroskopije pred prvi postupak VTO. Na 100 pacijentkinja kod kojih je sprovedena studija, dobijen je udeo patološkog nalaza od 41% uz dominiranje endometralnih polipa (23% svih pacijenata), septuma (13%) i mioma (3%), iako su sve pacijentkinje imale uredan HSG ili sonografski nalaz, i stopa živorodenja iznosila je 26% u grupi histeroskopije spram 18,3% u kontrolnoj grupi bez histreoskopije, s tim što je detaljnijom subanalizom stopa živorodenja bila ubedljivo najveća - 36,5% - u grupi sa patološkim i tretiranim nalazom, u poređenju sa 18,6% u grupi uredne histeroskopije koja se nije

razlikovala od pacijentkinja kojima nije sprovedena histeroskopija, uz NNT u ostvarivanju dodatne trudnoće od 13 za grupu sa urednim nalazom i svega 5 za grupu sa patološkim nalazom (213).

Zapažanje da pacijentkinje nakon tretirane uterine patologije imaju najveću stopu trudnoće primećeno je u brojnim studijama, iako mi nismo došli do takvog zaključka. Studije koje su dobile bolje rezultate na operativnoj histeroskopiji nude različita objašnjenja navedenog fenomena. Jedno je da intenzitet lezije endometrijuma u toku standardne dijagnostičke histeroskopije nije suficijentan onom koji nastaje nakon operativne, što je i primećeno u različitim heterogenim studijama gde se procedura dodatnog ES sprovodi u okviru histeroskopije kod pacijentkinja sa urednim nalazom, ukazujući na mogući benefit ovog pristupa. Vođenim takvim stavom, ES je na našoj klinici standardni tretman, te stoga rezultati naše studije više odgovaraju onima sa intenzivnijom lezijom endometrijuma kao ključnom procedurom, čak i u slučaju urednog nalaza.

Drugo objašnjenje pozitivnog uticaja operativnog tretmana leži u činjenici da patološki nalaz kavuma ukazuje na drugačiju subpopulaciju pacijenata - na pacijente sa genuinim uterinim faktorom kojima je dominantan problem i bio u datoj patologiji, te će prevazilaženjem istog one svakako imati benefit, dok pacijentkinje sa urednim histeroskopskim nalazom imaju kompleksniji poremećaj implantacije, najverovatnije molekularno i genetski uslovljen, koji se ponekad ne može prevazići histeroskopskom lezijom endometrijuma, čak i ako se ona primeni, što donekle baca sumnju na svemoguću ulogu histeroskopije per se.

Noviji RCT na temu uticaja histeroskopije na ishod prve VTO, Elsetohy i sar. randomizovao je 97 žena na rutinsku histeroskopiju pred prvi postupak VTO i 96 žena na prvi postupak VTO bez prethodne histeroskopije i dobijeno je gotovo za 70% veća stopa trudnoća u grupi pacijentkinja sa rutinskom histeroskopijom (192). U datoj studiji, iako su sve žene imale uredan ultrazvučni nalaz, histeroskopija je otkrila iregularnosti kod 43,3% pacijentkinja (polipi 9,3%, miomi 7,2%, adhezije 6,2%, itd.) i dobijena je ukupna stopa trudnoće od 70,1% u histeroskopskoj i 45,8% u kontrolnoj grupi pacijentkinja, uz izuzetno visok RR od 2,77, koji je perzistirao i u stopi živorođenja iznosivši 58% za grupu histeroskopije i 33% za grupu bez histeroskopije (192). Rezultati ove studije svakako u velikoj meri odgovaraju drugoj etapi našeg istraživanja, uz veći volumen randomizacionog dela koji je navedenim autorima i doprineo većoj statističkoj značajnosti.

Ipak ubedljiva razlika u navedenoj studiji nije možda realno komparabilna sa našim rezultatima, i pre bismo rekli da navedena studija, kao i studija Kilic i sar. ukazuje na suboptimalnu dijagnostiku pacijenkinja pred ulazak u postupak VTO, pošto učestalost neprepoznatog patološkog nalaza od 6,2% pacijenkinja se neprepoznatim submukoznim miomima kompromituje standrade kliničke prakse. U svakodnevnoj kliničkoj praksi teško sme da se dogodi da pacijenkinja pred VTO ima neprepoznati miom, te je stav autora da je tolerabilna granica sonografski nedetektovane major patologije kavuma uterusa oko 20%, te da vrednosti iznad toga u određenoj meri kompromituju i same rezultate istraživanja.

Nasuprot njima, najveća multicentrična RCT na datu temu - InSIGHT studija - nije dobila razlike u stopi trudnoća kod pacijenkinja sa i bez rutinske histeroskopije pred prvi postupak VTO, iako je dobijena malo veća stopa biohemijskih trudnoća u grupi histeroskopija, ukazujući kako je moguće da je histeroskopija ipak imala određenih benefita na implantaciju, te doprinela implantaciji i manje vijabilnih embriona koji nisu imali potencijala za dalji rast i razvoj (25) Mi nismo dobili statistički značajnu razliku niti biohemijskih trudnoća, niti spontanih pobačaja za navedenu komparaciju.

Sve navedene studije ispitivale su kumulativni uticaj histeroskopije i nisu bile dizajnirane da daju odgovor na pitanje o uticaju pojedinih patoloških nalaza i njihovog tretmana na ishod VTO. Tako je i u pomenutoj InSIGHT studiji septum, i u situacijama gde je notiran, ostavljan netretiran pošto to nije deo standardne kliničke prakse u Holandij (193). Ova situacija dodatno opisuje kompleksnost interpretacije rezultata drugih studija, koje se sprovode u drugačijem kliničkom i socioekonomskom okruženju i naglašavaju potrebu sprovođenja i lokalnih studija, odnosno publikovanja sopstvenih rezultata, ne samo kao doprinosa široj naučnoj zajednici, već, pre svega, kao dragocene alatke u konsultaciji pacijenata o realnim očekivanjima u datim okolnostima.

## **5.5 HISTEROSKOPIJA PRE NAREDNOG POKUŠAJA VTO KOD RIF –A.**

Rekurentni neuspeh ciklusa VTO svakako predstavlja frustrirajuću situaciju, kako za kliničare, tako i za pacijente, i nesumnjivo je da pojam RIF predstavlja specifičan klinički entitet sa svim svojim pojedinostima. Histeroskopija nakon neuspele VTO više od decenije predstavlja praktično standardnu kliničku praksu u pristupu ovim pacijentima u svetu, pa i kod nas, što otežava sprovođenje dobro dizajniranih studija koje bi nedvosmisleno ispitale njen efekat na uspeh same

VTO usled odsustva pacijenata sa RIF-om koji nikada nisu bili podvrgnuti histeroskopiji. Još je 2005. godine u britanskoj anketi 70% centara reklo da je histeroskopija standardna praksa kod pacijenta sa RIF-om (74). Pored mogućih različitih patofizioloških mehanizama koji ukazuju na otežanu implantaciju kod pacijentkinja sa RIF-a, brojne studije ukazuju na to da je kod RIF pacijentkinja stopa uterine patologije, kao potencijalnog uzorka RIF-a, veća nego kod drugih infertilnih pacijentkinja, te da iznosi od 25-50% (75,76). Iako metodološki nismo ispitivali RIF pacijente, poređenja radi, u našoj studiji 50% pacijenata sa neuspelom VTO imalo je određeni patološki nalaz na histeroskopiji koji svakako nije bio neprepoznat kod svih pacijenata.

Ipak, u literaturi su sve glasniji stavovi protagonista rutinske upotrebe histeroskopije pred prvi postupak VTO, koji naglašavaju kako će po datim stopama uspeha koje vladaju u svetu preko 60% pacijenata iskusiti RIF, te biti kandidati za histeroskopiju u daleko stresnijoj situaciji, te, s obzirom na laku izvodljivost i bezbednost same histeroskopije, ne vide razlog za čekanje neuspeha.

Iako je ova tema prvi put ispitana od strane Schiana i sar. 1999. godine i od Oliveire i saradnika 2003. godine koji su ustanovili visoku učestalost patologije kavuma i benefit histeroskopskog tretmana istih, reč je bilo o manjim nerandomizovanim studijama (204), te je prva značajnija studija, po dizajnu RCT, na temu uloge histeroskopije kod RIF –a, publikovana je od strane **Demirolo i Gurgan** još 2004. godine na 421 pacijentkinji sa 2 i više prethodnih neuspelih postupaka VTO sa 2 ili više kvalitetna embriona. Od 210 pacijentkinja koje su podvrgnute histeroskopiji kod 56 (26%) je idetifikovan patološki nalaz koji je operativno lečen. Dobijena je veća stopa trudnoće u predstojećem postupku VTO kod pacijentkinja randomizovanih da budu podvrgnuti histeroskopiji, i to bilo da je nalaz bio uredan (32,5%), ili patološki, uz tretman u istom aktu (30,4%) i značajno veći u odnosu na grupu RIF pacijenata koji randomizacijom nije podvrgnut histeroskopiji (21,6%) (173). **Rama Raju** i saradnici su 2006. godine na 520 mladih pacijenata sa RIF-om sprovedli RCT te podvrgli rutinskoj histeroskopiji 255 žena spram 265 kontrolnih i dobili udeo patološkog nalaza od 38%, koji je operativno tretiran, te ukupno statistički značajno veću stopu trudnoća od 44,4% za grupu sa urednom histeroskopijom naspram 40% za grupu sa histeroskopski detektovanim i tretiranim patološkim nalazom i 26,2% u slučaju gde histeroskopija nije sprovedena (174).

Prva metaanaliza na temu uloge histeroskopije na ishod VTO kod RIF –a iz 2008. godine ukazala je na pozitivan efekat histeroskopije čak i u odsustvu patološkog nalaza, uz povećanje

stope trudnoće, RR 1,75 (187). Ipak, navedena metaanaliza zasnivala se, pre svega, na prvim rezultatima publikovanim od strane Demirol i Gurgan, kao i Rama Raju - studijama koje po volumenu i dizajnu nisu bile besprekorne, ali koje su jasno ukazivale na benefit histeroskopije i na osnovu kojih je u narednim godinama postala praktično deo rutinske kliničke prakse kod RIF pacijenata (173,174). Naša subanaliza na pacijentke sa prethodnom neuspehom VTO, i u odsustvu kriterijuma RIF-a, dobila je umereno povećanje stope trudnoća primenom histeroskopije sa 34,29% na 44,12% uz RR 1,28 ali CI od 0,76-2,18.

Nakon navedene metaanalize usledile su brojne studije koje su ispitivale razne aspekte uticaja histeroskopije na ishod VTO, uz oprečne rezultate, različitog dizajna, ali ipak komparabilne sa rezultatima našeg istraživanja.

Tako su **Makrakis** i sar. 2009. godine sproveli prospektivnu studiju na 1475 pacijentkinja sa bar 2 neuspešna postupka VTO, kod kojih su sve pacijentkinje podvrgnute histeroskopiji i kod kojih je kod 540 njih, praktično preko trećine, nađen patološki nalaz. I nakon isključivanja pacijentkinja sa patološkim nalazom i uparivanja 414 pacijentkinja sa urednim histeroskopskim nalazom dobijena je veća stopa kliničkih trudnoća u grupi histeroskopije od 35% naspram 25 % u grupi bez histeroskopije (166).

Iz potrebe za dobro dizajniranim studijama sprovedena je najveća multicentrična RCT koja u konačnici nije uspeła da dobije benefit izvođenja rutinske histeroskopije kod pacijenata sa neuspehim postupcima VTO, ali uz određene metodološke specifičnosti koje otežavaju prostu interpretaciju rezultata i o koje će, radi poređenja sa našim rezultatima, biti detaljno analizirane (38). Dodatno, po dizajnu ni TROPHY ni InSIGHT studije nisu navele ES kao obavezan deo procedure.

Hipoteza prvih studija o pozitivnom uticaju histeroskopije bazirala se, pre svega, na detekciji i tretmanu intrauterine patologije, što se po rezultatima TROPHY studije čini malo verovatnim, te kao glavni dokaz benefita histeroskopije ipak ostaje procedura ES, koja u TROPHY studiji nije sistematski rađena, a koja je i po poslednjim metaanalizama i studijama ipak efikasna (176,181,215). Iako sama histeroskopija nosi određenu trauma, u slučaju TROPHY studije i 2,9 mm optike ova trauma mogla je biti manja i nedovoljna da podstakne poželjan efekat u odnosu na standardne 5 mm histeroskopije primenjene u našoj i drugim studijama (7,32). Poseban problem u interpretaciji uticaja patološkog nalaza su svakako brojna neslaganja u smislu dijagnostike, predloženog tretmana, obima procedure i eventualnog efekta.

## **5.6 UTICAJ HISTEROSKOPIJE NA PROCEDURU ET**

Kako jedan od pretpostavljenih benefita histeroskopije leži u olakšavanju procedure samog embriotransfera kao bitne komponente uspešnog postupka VTO, naša studija je jedna od ređih koje su ispitivale i udeo procenta lakog transfera u odnosu na sprovođenje histeroskopije. Uzimanjem celog volumena uzorka, lak embriotransfer u našoj studiji ostvaren je kod 97,33% pacijentkinja kojima je sprovedena histeroskopija, spram 92,23% pacijentkinja gde histeroskopija nije sprovedena, ukazujući na određene benefite, ali bez statistički značajne razlike ( $p=0,061$ ). Slično nama, ni u TROPHY studiji nije dobijena razlika u procentu transfera koji su okarakterisani kao laki, u zavisnosti od prethodne upotrebe histeroskopije (92% lakih transfera kod primene histeroskopije i 94% lakih transfera bez primene histeroskopije) što se popududara sa nalazima naše studije (38).

## **5.7 UTICAJ JATROGENE LEZIJE ENDOMETRIJUMA NA ISHOD VTO**

Kako se jatrogena lezija endometrijuma - ES apostrofira kao dominantan mehanizam pozitivnog uticaja histeroskopije, brojne studije su ispitivale efikasnost navedene procedure, bilo da se izvodila izolovano, ili u sklopu same histeroskopije, pogotovo u sklopu RIF-a. Metodološki nedostatak naše studije leži i u činjenici što nismo ispitivali uticaj dijagnostičke histeroskopije sa ili bez dodatka jatrogene lezije endometrijuma, kako već godinama to predstavlja standard rada brojnih kliničara, pa i autora.

Nakon što je prva studija 2003. godine ukazala na mogućnost dupliranja stope trudnoće kod pacijentkinja koje ulaze u postupak VTO upotrebom procedure ES (172), brojne studije su u daljim godinama ispitivale uticaj ES na implantaciju, bilo kao izolovane procedure ili u sklopu histeroskopije. Većina studija ispitivale je ulogu ES u sklopu RIF-a, i u mnoštvu navedenih studija većina njih je dobila benefit na ishod sledstvenog postupka VTO, od kojih su najznačajnije studije Barash i sar. 2003.; Guven i sar. 2014.; Raziel i sar. 2007.; Nastri i sar. 2013.; Shohayeb i sar. 2012.; Singh i sar. 2015. godine; itd. (172,216–220). Sa druge strane, određeni, manji broj autora u svojim studijama nije uspeo da dokaže benefit uporebe lezije endometrijuma na ishod VTO, poput Baum i sar. 2012. i Yeung i sar. 2014. godine, iako je studija Baum i saradnika sprovedena samo na 18 pacijentkinja kojima je sproveden ES i dobijeno je neverovatnih 0% stope kliničkih trudnoća, što, malo je reći, kompromituje nalaz studije, način izvođenja procedure i sprovođenja

samog postupka VTO I nema osnova da bi ove podatke smatrali relevantnim (221,222). Dodatna studija Yeung i sar., koja na značajnijem volumenu nije uspjela da dokaže pozitivan efekat ES, također je imala ograničenja, pre svega činjenicu da je ispod 10% pacijenata imalo 3 i više neuspelih prethodnih postupaka VTO, kao i da su pacijentkinje grupe bez ES u period od tri 3 meseca pred studiju već bile podvrgnute histeroskopiji ili sonohisterografiji, procedurama koje su mogle da imaju ulogu ES (221).

Od studija kvalitetnijeg dizajna, Karimzadeh i sar. Su 2009. godine u RCT na 115 pacijentkinja sa RIF-om u slučaju sprovođenja ES dobili stopu kliničkih trudnoća od 27,9% naspram 8,9% u grupi bez ES (178). Slično, Raziel je na 120 pacijenata sa bar 4 neuspele procedure VTO u RCT na 60 pacijenata sproveo dvostruku biopsiju endometrijuma 21. i 26. dana ciklusa, te dobio 2.44 puta veću stopu kliničkih trudnoća u odnosu na kontrolnu grupu koja nije imala intervenciju (218)

U svetlu brojnih heterogenih studija, koje su ipak dominantno ukazivale na benefit same procedure, sprovedene su 3 metaanalize navedenih istraživanja o ulozi ES na ishod VTO, bilo u sklopu histeroskopije ili kao izolovane procedure.

Prva metaanaliza **Potdar i sar. 2012.** godine dobila je na sumarnom uzorku od 2062 pacijentkinje sa RIF-om 70% veću stopu kliničkih trudnoća ukoliko je pred sledstveni ciklus VTO sprovedena procedura lezije endometrijuma (36,8% naspram 23,1%), uz povećanje uspeha za 1,51 puta (RR 1,51) sa 24,5% na 36,5% ukoliko se procedura izvodila u formi histeroskopije, odnosno 2,32 puta (RR 2,32) sa 18,4% na 38,1% ukoliko je izvođena samo biopsija endometrijuma, uz kumulativno povećanje stope uspeha za obe intervencije i histeroskopiju i biopsiju endometrijuma od preko 70% (RR 1,71) (177). I stopa živorođenja, iako nije bila primarna mera ishoda, bila je praktično duplirana izvođenjem jatrogene lezije endometrijuma uz RR od 2,46. Interesantno je da je navedena metaanaliza isključila prethodno publikovanu studiju sa naše klinike usled nedovoljno jasnog dizajna i isuviše velikog vremenskog perioda između histeroskopije i same procedure VTO, metodoloških nedostataka koji su u aktuelnoj studiji prevaziđeni.

Isto zapaženje dobijeno je i metaanalizom koji je dodatno stratifikovao studije na randomizovane studije gde je dobijeno povećanje stope uspeha VTO nakon lezije endometrijuma od RR 2,63, dok je za nerandomizovane studije ovo povećanje iznosilo 1,95 puta (181).



Ipak, kvalitet opisanih studija u smislu dizajna, kao i u studijama koje su se bavile isključivo efektima histeroskopije, apostrofirani su kao diskutabilni, uz nametanje potrebe sprovođenja dodatnih, statistički moćnijih, multicentričnih studija koje će nam ponuditi preciznije odgovore.

Razlog za sumnju svakako postoji i usled brojnih studija sa oprečnim stavovima o stvarnom benefitu ES na ishod VTO, naročito u svetlu ogromne upotrebe navedenih procedura.

Velika retropektivna kohortna studija u populaciji pacijenata sa rekurentnim neuspešnim procedurama VTO sa doniranim jajnim ćelijama, entitetom gde se manje sumnja u kvalitet embriona, je na 737 ciklusa tokom perioda od 7 godina dobila odsustvo statistički značajne razlike u smislu stope kliničkih trudnoća i stope živorođenja kod pacijentkinja koje su bile podvrgnute ES i onih koje nisu (223), iako je subanalizom ipak dobijena veća stopa kliničkih trudnoća kod ES samo kod pacijentkinja sa miomima uterusa, ukazujući da ova procedura i sam efekat lezije endometrija sa sledstvenom kaskadom odgovora može pokazati benefit u situacijama gde je usled određenih patoloških stanja samog uterusa kompromitovana receptivnost.

Gibreel i sar. su kod pacijentkinja sa prethodnim neuspešnim pokušajima VTO sproveli RCT i podelili ih na grupu sa primenom dvostruke biopsije endometrijuma i grupu sa upotrebom placebo procedure što je retkost u publikovanim studijama, te su na 387 žena dobili stopu živorođenja od 47,2% u grupi ES naspram 38,1% u kontrolnoj grupi i ova razlika nije dostigla statističku značajnost (176). Ipak, dubljom startifikacijom rezultata navedena studija je za subpopulaciju pacijenata sa 2 ili više prethodnih neuspešnih pokušaja VTO, što odgovara savremenoj definiciji RIF-a, pri multivarijantnoj analizi ustanovila da je izvođenje ES najznačajniji prediktor uspeha uz OR od 3,23, više nego za postojanje blastociste gde je OR iznosio 2,51 (176).

Nasuprot navedenim rezultatima u svetlu studija koje ne ukazuju na benefit ES, ni poslednja RCT Yeung i sar. o ulozi ES kod RIF pacijentkinja, uprkos očekivanjima, nije potvrdila benefit lezije endometrijuma pošto je u datoj subpopulaciji pacijenata dobijena stopa trudnoća od 34,09% naspram 27,65% i ova razlika nije dostigla statističku značajnost (215). U studiji TK i sar. na 55 žena u grupi ES i 56 u kontrolnoj grupi nisu se statistički razlikovale ni stopa živorođenja (31,81% naspram 25,53%), kao ni pobačaja, ali je moguće da statistička značajnost nije dostignuta usled nedovoljne veličine uzorka, te time manje statističke moći u detekciji suptilnijih razlika u

stopi uspeha, pošto je za datu studiju post hoc analizom ustanovljeno da je moć svega 65%, a, gledajući rezultate, zapažamo ipak određeno postojanje razlike (215).

**Poslednji Cochran izveštaj, trenutno najrelevantniji dokaz u literaturi o uticaju lezije endometrijuma u procedurama ART**, uzeo je 14 studija sa ukupno 1063 pacijentkinja u ispitivanim i 1065 pacijentkinja u kontrolnim grupama u kojima je procedura ES rađena u periodu od sedmog dana prethodnog ciklusa do sedmog dana aktuelnog ciklusa VTO i dokazano je da ES dovodi do povećanja stope živorodena za 42% uz RR od 1,42, uz umeren kvalitet dokaza usled šireg intervala poverenja, odnosno da, ukoliko žene bez ES ostvaruju stopu živorodjenja od 26%, ukoliko se sprovede ES, stopa živorodjenja penje se od 28-48% (224). Kao i u drugim studijama, i navedeni izveštaj je ustanovio da benefit nije uniforman fenomen i da praktično izostaje pred prvi pokušaj VTO uz RR 0,98, dok je najizraženiji baš u subpopulaciji žena sa RIF.

U navedenom izveštaju izvođenje procedure svakako je povezano i sa većom stopom kliničkih trudnoća uz RR od 1,34, dok nije dokazano da lezija endometrijuma ima efekta na stopu pobačaja, stopu multiplih trudnoća, kao ni na krvarenje u toku trudnoće, i procedura je okarakterisana kao umereno bolna u većini inkorporiranih studija (224). Ipak i navedeni izveštaj uključio je 7 ispitivanja kod pacijentkinja sa prethodnim RIF-om, 5 studija sa bilo kojim pokušajem VTO i jednu studiju sa prvim postupkom VTO. U metaanalizu nisu uključeni rezultati naknadnih studija Mahran i Singh koji su takođe dobili pozitivan uticaj, te je apostrofirala umeren do slab kvalitet dokaza za navedene zaključke, kako u smislu dizajna i kvaliteta uključenih studija, tako i u smislu statističke moći dobijenih zaključaka. Još jednom je naglašena potrebu publikovanja dobro dizajniranih velikih multicentričnih RCT koji bi izolovano gledali proceduru ES i koji su u toku te u skorijoj budućnosti očekujemo rezultate.

Od budućih studije svakako očekujemo i dodatno stratifovanje po svim bitnim kliničkim varijablama, uzevši u obzir činjenicu da se kontekst VTO menja u smislu dominantne uloge FET kao modaliteta, a praktično sve prethodno navedene studije ispitivale su uticaj ES u svežem ciklusu.

### **5.7.1 Lezija endometrijuma kao izolovana procedura ili u sklopu histeroskopije**

*Pitanje brojnih autora je da li postoji opravdanost histeroskopskog sprovođenja procedure ES ili je dovoljno, uzevši u obzir manju cenu da se procedura sprovodi kao samostalna. Kako*

*prednosti histeroskopije prevazilaze samo leziju endometrijuma, iz ugla uvida u subtilnu i major patologiju kavuma, mogućnost tretmana patologije kao i ciljane lezije histeroskopija je definitivno kompletnija procedura, iako u konačnici kost benefit analiza ne postoji konsenzus i kvantifikacija benefita. Sa druge strane, postavlja se pitanje i da li je sama histeroskopija dovoljna, te da li joj rutinski treba pridružiti ES prilikom svakog izvođenja pred postupak VTO.*

Iako ni o navedenom pitanju ne postoji jasan konsenzus, stavovi pojedinih autora koji odgovaraju i stavovima naše kuće ukazuju da invazivniji pristup lezije endometrijuma koji se postiže prilikom histeroskopije može imati izraženiji efekat (225), iako, pre svega iz ugla kost benefit analize, većina autora pribegava ES upotrebom pipele (226), dok postoje i procedure u kojima se sama dijagnostička histeroskopija smatra suficijentnom u promovisanju endometralne reakcije i bez dodatne procedure ES. Potvrdu za naš stav crpimo i iz rezultata akutelne disertacije gde je najveća stopa kliničkih trudnoća zabeležena u grupi pacijentkinja sa urednim nalazom i sprovedenom lezijom endometrijuma. Uzevši u obzir pozitivan efekat procedure po poslednjem Cochrane izveštaju, smatramo da bi sama procedura i optimalizacija njenog rada zahtevala dublju analizu iz ugla brojnih tehničkih aspekata rada i njihovih posledica, čime se nismo bavili u akutelnoj studiji te izvlačimo stavove iz iskustava drugih studija.

U pokušaju da da odgovor na navedeno pitanje najrelevantnija studija El-Khayat i sar. je ispitivala uticaj izvođenja samo histeroskopije i histeroskopije sa ES kod pacijentkinja u postupku IUI u formi RCT na 332 pacijentkinje, i nisu dobili statistički značajnu razliku u uspehu uz stopu kliničke trudnoće od 13,8% u grupi sa histeroskopskim ES, naspram 12% u grupi sa histeroskopijom bez ES (227). Ipak, na osnovu rezultata studije ne možemo zaključiti da ES nije koristan, već da je i sama lezija prilikom dijagnostičke histeroskopije za postupak IUI suficijentna da pokrene kaskadu proinflamatornih mehanizama.

Ista grupa autora ispitivala je ulogu dodatnog ES u proceduri histeroskopije na ishod VTO u formi RCT na 200 žena sa RIF –om (219). U studiji sličnog dizajna kao prethodno opisane, ispitivana grupa je u ciklusu pred VTO imala histeroskopiju sa ES, dok je kontrolna grupa imala samo histeroskopiju bez dodatne procedure ES i dobijena je statistički značajno veća stopa implantacije kliničkih trudnoća i živorođenja u grupi gde je histeroskopija kombinovana sa ES. Stopa implantacije iznosila je 12% naspram 7%, stopa kliničkih trudnoća 32% naspram 18%, a stopa živorođenja 28% naspram 14%, dok stopa pobačaja nije pokazala statistički značajnu razliku

(219). Ova studija je dodatan dokaz o potrebi snažnije lezije endometrijuma kako bi se ostvario benefit postupaka VTO, pogotovo kod pacijentkinja sa RIF-om, što je u skladu sa našom praksom. Jedan od nedostataka naše studije leži i u činjenici što smo mi navedene stvari već inkorporirali u svakodnevnu kliničku praksu, te ih nismo ni mogli porediti u navedenoj studiji. Ipak, prethodno navedena studija koristila je novakovu kiretu za proceduru biopsije endometrijuma, dok se u našem centru koristi biopsija i lezija endometrijuma histeroskopskom hvataljkom mehaničkim putem.

U pokušaju da finalno odgonetnu ulogu dodatka ES rutinskoj dijagnostičkoj histeroskopiji Seval i sar. su na 345 RIF pacijenata kod kojih je 7-14 dana pred postupak narednog VTO sprovedena rutinska histeroskopija i dobijen uredan nalaz sproveli dodatnu proceduru ES monopolarnim instrumentom ili ograničili proceduru samo na dijagnostičku histeroskopiju. U grupi pacijentkinja kojima je uz histeroskopiju dodatno rađen i histeroskopski scratching dobijena je statistički značajno veća stopa implantacije (37,7% naspram 24,5%), kao i stopa kliničkih trudnoća (37,7% naspram 27,6%), ukazujući da standardna procedura dijagnostičke histeroskopije pred postupak VTO, čak i u slučaju urednog nalaza, treba da sadrži sprovođenje lezije endometrijuma (228).

## **5.8 ULOGA HISTEROSKOPIJE PRED POSTUPAK VTO U SVETLU TROPHY I INSIGHT STUDIJE**

Kako bi pružili odgovor o ulozi histeroskopije na ishod postupaka VTO u različitim kliničkim situacijama, uz gorući problem nedovoljnog broja dobro dizajniranih multicentričnih RCT kao najdragocenijih dokaza savremene medicinske prakse, u vodećim evropskim centrima poslednjih godina vođene su baš 2 takve studije koje je naučna i stručna javnost sa nestrpljenjem iščekivala i čiji su rezultati finalno publikovani 2016. godine u časopisu Lancet.

TROPHY studija bavila se ulogom histeroskopije na ishod postupaka VTO kod pacijentkinja sa rekurentnim neuspelim postupcima VTO, dok je InSIGHT studija ispitivala uticaj rutinske histeroskopije kod pacijentkinja koji ulaze u svoj prvi postupak VTO, a kod kojih prethodno nikada nije sprovedena histeroskopija i obe studije su zaključile da izvođenje histeroskopije ni u jednoj ni u drugoj kliničkoj situaciji ne dovodi do veće stope uspeha VTO, iskazano kako kroz stopu kliničkih trudnoća, tako i kroz stopu živorođenja (25,38). Stopa živorođenja u TROPHY studiji na 350 pacijentkinja randomizovanih za histeroskopiju pred postupak iznosila je 29%, dok

je kod 352 pacijentkinje koje nisu izložene histeroskopije pred VTO stopa živorođenja iznosila isto 29%, uz zaključak da navedene intervencija kod pacijentkinja sa rekurentnim neuspelim pokušajima VTO ne povećava stopu živorođenja (38). InSIGHT studija je kod 373 pacijentkinja razdomizovanih u pravcu histeroskopije dobila kumulativnu stopu živorođenja nakon 6 ciklusa od 57%, dok je kod pacijentkinja koje su ušle u svoj prvi program VTO bez prethodne histeroskopije kumulativna stopa živorođenja iznosila 54%, bez statistički značajne razlike i uz zaključak da rutinska histeroskopija pred prvi postupak VTO ne dovodi do veće stope uspeha (25).

Inicijalni rezultati obe navedene studije predstavljale su “hladan tuš” za stručnu javnost i, donekle, razočarenje usled kompromitovane uloge procedure kojom se rutinski bavimo u svakodnevnom kliničkom radu pošto su poljuljale neke do sada uvažavane premise. Ipak, dubljom analizom ovih studija, njihove metodološke postavke i samog izvođenja dobijaju se određene specifičnosti koje otežavaju prihvatanje proste interpretacije da histeroskopija ne nosi benefit. Ove specifičnosti donekle kompromituju, odnosno stavljaju pod sumnju negativne zaključke navedenih studija o ulozi histeroskopije. Uprkos tome, studije nam svojom bogatom građom daju uvid u brojne druge nedvosmislene uloge i koristi histeroskopije u “pripremi” pacijenta za postupak VTO, koje su značajne i u odsustvu jasnog povećanja stope živorođenja.

**InSIGHT studija** sprovedena je u 22 holandske bolnice te je po dizajnu okarakterisana kao pragmatična, verovatno eufemizam autora za ovako širok opseg rada i brojne centre u kojima se radila sama procedura. Svesni smo činjenica o velikim varijabilnostima u tehnici, iskustvu i interpretaciji operativnog histeroskopskog rada i u jednom centru, a kamoli u 22 različita centra koji se nedvosmisleno razlikuju u svojim histeroskopskim kapacitetima. Drugi značajan podatak iz rezultata studije predstavlja činjenica da je od 369 pacijentkinja uključenih u histeroskopsku studiju kod 44 sama procedura nije sprovedena usled brojnih, uglavnom socijalnih razloga, iako je 5 žena odustalo usled straha od histeroskopije, a kod 13 žena je došlo do trudnoće pre same intervencije.

Najznačajniji detalj InSIGHT studije svakako leži u činjenici da je kod 8,9% žena sama procedura histeroskopije bila neuspešna u smislu izvođenja, i da je sumarno kod samo 80,2% žena uspešno sprovedena procedura histeroskopije.

Stopa implantacija, kliničkih trudnoća, pobačaja i živorođenja nije se razlikovala po grupama kako kumulativno, tako ni po pojedinačnim ciklusima pošto su pacijentkinje imale i do 6

ciklusa VTO. Vreme do ostvarivanja trudnoće se takođe nije značajnije razlikovalo u zavisnosti od upotrebe histeroskopije. Razlika u odnosu na našu studiju je što su ovde, pre svega, podaci kumulativno gledali uspeh na višestruke cikluse VTO koji su usledili kod datih pacijentkinja, bez primarnog ispitivanja uticaja na sledstveni ciklus VTO, koji je poznat povoljni efekat procedurae ES koja svakako ima limitirano trajanje procedure. U tom smislu sam dizajn nije odgovarao pitanju da li histeroskopska lezija endometrijuma kao dominantan efekat neposredno povećava stopu za uspeh. Ipak, u subanalizi uspeha kada se gleda samo prvi ciklus VTO takođe nije dobijena značajna razlika, uz stopu kliničkih trudnoća od 27% u grupi histeroskopije i 30% u grupi bez histeroskopije, sa rezultujućim kumulativnim uspehom stope živorodenja nakon 6 ciklusa od 57% za grupu histeroskopije i 54% za grupu bez histeroskopije.

Kao što je navedeno, “pragmatičnost” InSIGHT studije koliko je osnažuje toliko predstavlja i nedostatak iste. Ispitivanje 22 različita okruženja u kojima se praktikuje histeroskopija, u kojima se praktikuje IVF donosi brojne izazove. Prvi je, svakako, poznata intra i inter observerska varijabilnost u radu, kao što je čak rečeno u jednom istraživanju (72). Dodatno, iz iskustava sa uterinim anomalijama poznato nam je koliko primena različitih dijagnostičkih kriterijuma utiče na reproducibilnost i kliničke implikacije izvođenja same histeroskopije (135,229).

Druga negativna posledica ovakve metodologije studije predstavlja činjenica da je procedura histeroskopije sprovedena kod svega 80% pacijentkinja te da je ista izostala kod 11 % usled brojnih drugih razloga, ali je kod 9 % izostala usled nemogućnosti da se izvede. Ovo je svakako najdiskutabilniji nalaz InSIGHT studije koji donekle kompromituje validnost iste. Decenijama je u centrima koji se bave histeroskopijom, uz adekvatnu edukaciju, stopa izvodljivosti procedure svakako preko 99%, uz prihvatljivu stopu neuspeha od <0,5 %, uključujući tu i našu sredinu (20,23). Problematičan aspekt studije ne leži samo u činjenici da je iz ovog razloga 9% žena isključeno iz ispitivanja, već dodatno baca sumnju na sam histeroskopski rad.

Finalno, InSIGHT studija je još jednom potvrdila ulogu histeroskopije u detekciji uterinih abnormalnosti pošto je, uprkos urednom nalazu drugih procedura, stopa detekcije abnormalnosti kavuma iznosila 13%, mahom polipa ali i mioma spetuma i adhezija iako u značajnom broju slučajeva navedene abnormalnosti, mahom miomi i septumi nisu bili tretirani u toku histeroskopije, što je još jedan od ključnih metodoloških problema studije (25).

**TROPHY studija** je sprovedena kao multicentrični RCT u 8 evropskih centara (3 Velika Britanija, 2 Belgija, 2 Italija, 1 Češka) koji predstavljaju referente centre za histeroskopsku hirurgiju i već se iz same postavke uočava značajna razlika u odnosu na InSIGHT studiju, uzevši u obzir činjenicu da je u TROPHY studiji od 323 pacijentkinje ni jedan slučaj neuspelog ulaska u kavum uterusa nije zabeležen, a da je samo u jednoj situaciji, usled neadekvatne vizuelizacije procedura, ostala nezavršena. Ovo je svakako rezultat posvećenog rada u smislu pripreme za studiju, obuke kadra, čak i razvoja opreme koja je sprovedena u pripremnom periodu i prethodno publikovana i ukazuje na metodološki problem prethodno opisane InSIGHT studije i neprihvatljivo visoku stopu neuspelih procedura (6). U osnovnim karakteristikama pacijentkinje se, kao ni u našoj studiji, nisu razlikovale po demografskim i antropometrijskim parametrima, kao ni po trajanju i uzroku infertiliteta.

Specifičnost navedene studije koja je čini komparabilnom sa našom je što je dominantno izučavala uspeh samo sledstvenog ciklusa VTO, a ne kumulativni uspeh i što je u datim okolnostima, pre svega, ispitivan uticaj histeroskopije na uspeh narednog svežeg ciklusa, modaliteta koji se i kod nas dominantno promenjuje. Tako je u TROPHY studiji od 301 procedure embriotransfera u histeroskopskoj grupi 292 bilo u svežem ciklusu, kao i 277 od 290 embriotransfera u grupi pacijentkinja kojima nije sprovedena histeroskopija.

Stopa kliničke trudnoće po embriotransferu je ipak bila istovetna u obe grupe 42% naspram 42%, kao i živorođenja 32% naspram 33% i ova razlika je bila postojana i kada se razmatrala po započetom ciklusu, kao i po ciklusu sa embrionima vrhunskog kvaliteta (38). Takođe, stope implantacije nisu pokazale razliku u posmatranim grupama (32% naspram 32%).

U analizi subgrupa pacijentkinje sa patološkim nalazom na histeroskopiji ostvarile su stopu živorođenja od 30 %, dok su pacijentkinje sa normalnom nalazom na histeroskopiji ostvarile stopu živorođenja od 28%, što je bez značajne razlike poput rezultata našeg istraživanja. Pacijentkinje sa subtilnim lezijama ostvarile su, paradoksalno, najveću stopu živorođenja od 33%, što, uprkos odsustvu statističke značajnosti, predstavlja donekle neočekivan nalaz koji se u širem smislu može tumačiti i kao posledica tretmana i samim tim kao benefit histeroskopije.

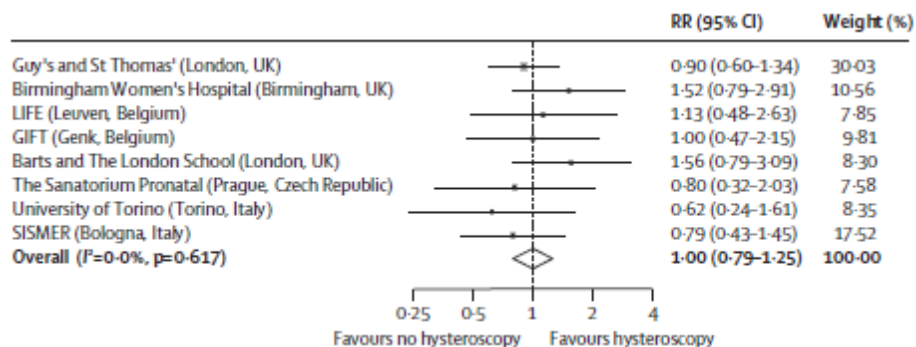
Pored odsustva dokaza o eksplicitnom povećanju stope živorođenja upotrebom histeroskopije pre procedure VTO, što je i jedina implikacija za kliničku praksu, dublja analiza studije nedvosmisleno je ukazala na određene benefite. Tako je i TROPHY studija kao i naša dobila

značajan broj cervikalne, kao i minor i major patologije kavuma uterusa. Cervikalne abnormalnosti nađene su kod 5% pacijentkinja, dok su major abnormalnosti kavuma uterusa nađene kod približno 12% pacijenata (2% polipi, 1% submukozni miomi, 2% parcijalni septumi, itd.), identične prevalence kao i subtilne odnosno minor lezije koje su takođe utvrđene kod 13-14% pacijenata, uz dominantan znak hipervaskularizacije. Ovo su svakako značajni nalazi pošto je TROPHY studija potvrdila da kod pacijentkinja sa RIF-om 26 % žena ima određene histeroskopski detektabilne promene uterusa (38).

Jedan od najznačajnijih metodoloških izazova i, moguće, nedostataka TROPHY studije krije se u heterogenoj učestalosti prethodne upotrebe histeroskopije. U okviru inkluzionih kriterijuma uzeto je odsustvo histeroskopije tokom prethodna 2 meseca, kao i kod nas, iako o smislu ovog intervala svakako nema konsenzusa. Ipak, TROPHY studija je sprovedena internacionalno, uz sve specifičnosti koje određeni nacionalni protokoli u reproduktivnoj medicini nose. Grubo gledano, nije bilo razlike u učestalosti prethodne histeroskopije među grupama, tako da je 45% koje su bile podvrgnute histeroskopiji pred postupak VTO već imalo histeroskopiju u prethodnom toku lečenja, kao i 44% pacijentkinja kontrolne grupe. Detaljnija analiza pokazala je da se ovaj postotak drastično razlikovao između 3 centra u Velikoj Britaniji gde je svega 16% pacijentkinja ranije imalo histeroskopiju i drugih evropskih centara gde je 59% pacijentkinja imalo histeroskopiju i pre uključivanja u studiju, što svakako predstavlja značajan metodološki problem. Najverovatnije je ova razlika posledica strožijih preporuka o upotrebi histeroskopije u Velikoj Britaniji (40).

U svakom slučaju, smatra se da ovaj nedostatak ne dozvoljava simplifikovanu interpretaciju rezultata o odsustvu benefira histeroskopije kod RIF-a. Naime, detaljnom analizom uspeha ciklusa VTO uočava se da su baš u 2 od 3 pomenuta britanska centra gde pacijentkinje u prošlosti mahom nisu imale histeroskopiju, primećene najveće razlike u uspehu VTO kod grupe pacijentkinja sa i bez histeroskopije i da je u ovim centrima rutinska histeroskopija pred postupak VTO povećala stopu uspeha gotovo za 50% uz OR od 1,52 u jednom i 1,56 u drugom centru što se i vidi iz grafičkog prikaza, iako statističkim testovima heterogenost centara nije dostigla statističku značajnost (Slika 28).





Slika 28 “Forest plot” analiza različitih centara i TROPHY studiji

Ipak, u celokupnim rezultatima u navednoj studiji nije postojala razlika u stopi uspeha kod onih žena koje su imale, odnosno nisu imale prethodnu histeroskopiju, kako u smislu patološkog nalaza koji je nađen, tako i u smislu stope živorođenja.

## 5.9 MOLEKULARNI I PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI POZITIVNOG UTICAJA HISTEROSKOPIJE NA ISHOD VANTELESNE OPLODNJE

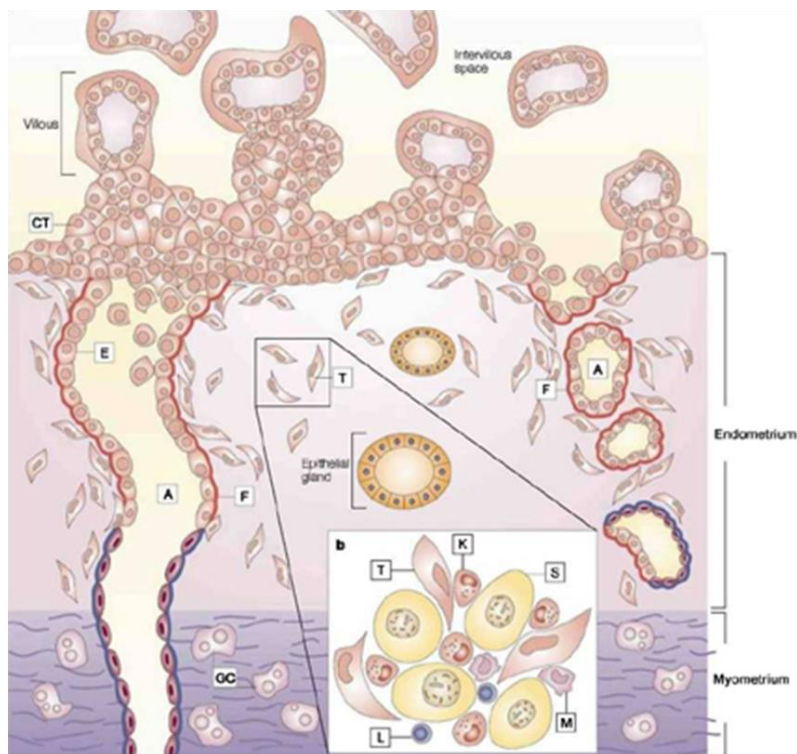
*Pored statističkih zaključaka postupna interpretacija efekta bilo koje medicinske intervencije mora da poseduje i odgovarajuću biološku osnovu. Tretman poznate, otkrivanje i tretman prethodno neprepoznate patologije kavuma uterusa koji se sreće na histeroskopiji, kao i otklanjanja mehaničkih iregularnosti na nivou cervikalnog kanala koji bi mogli otežavati samu proceduru embriotransfera i time ugroziti tok i uspeh VTO, uzimaju se kao opšte prihvaćeni benefiti same histeroskopije na ishod VTO. Oko navedenih tvrdnji ne postoji apsolutno slaganje i adekvatne studije koje bi nedvosmisleno potvrdile i kvantifikovale navedeni efekat (33,83,230). Ipak, kada se govori o dodatnom pozitivnom uticaju histeroskopije na ishod procedura VTO na osnovu dosadašnjih iskustava u literaturi, pre svega se misli na jatrogenu leziju endometrijuma, ES sa sledstvenom kaskadom molekularnih događaja za koju se pretpostavlja da povećava receptivnost endometrijuma, olakšava implantaciju embriona i dovodi do boljeg reproduktivnog ishoda procedure VTO (177).*

Predlagane su brojne biološki i patofiziološke održive i smislene hipoteze kako bi se objasnio pozitivan efekat histeroskopije i propratne lezije endometrijuma na ishod postupka VTO, iako tačan mehanizam i dalje nije u potpunosti razjašnjen i opšte prihvaćen.

Animalni modeli su još početkom 20. veka ukazivali na uticaj mehaničke manipulacije endometrijuma kod oglednih životinja na proces decidualizacije (231), ali je tek 2003. godine Barash na 45 pacijentkinja ukazao na mogućnost lokalne lezije endometrijuma kao intervencije koja duplira stopu trudnoće u postupcima VTO (172). Ključne patofiziološke pretpostavke navedenog mehanizma bile su baš indukovanje adekvatne decidualizaciji, kao i činjenica da lokalna lezija endometrijuma modulira ekspresiju estrogenih receptora i pokreće kaskadu reparatornih, proinflatornih i angiogenetskih mehanizama (223,232).

Efekat mehaničke stimulacije endometrijuma na navedene mehanizme i bolju decidualizaciju poznat je i od ranije u studijama mikrokiretaže, kao i uljanih rastvora koji su primenjivani u proceduri HSG i koji se i smatraju odgovornim za takozvani terapijski efekat navedene procedure i veće stope trudnoća koja je usledila po izvođenju HSG-a (233).

*Saznanja reproduktivne imunologije ključna su u razumevanju samog momenta implantacije i mogućnosti moduliranja navedenih efekata (Slika 29). Uspešna implantacija placentarnih sisara zahteva 2 ključna fiziološka događaja – receptivan endometrijum za implantaciju vijabilnog embriona i protekciju semialotipskog fetusa od dejstva maternalnog imunog sistema (234).*

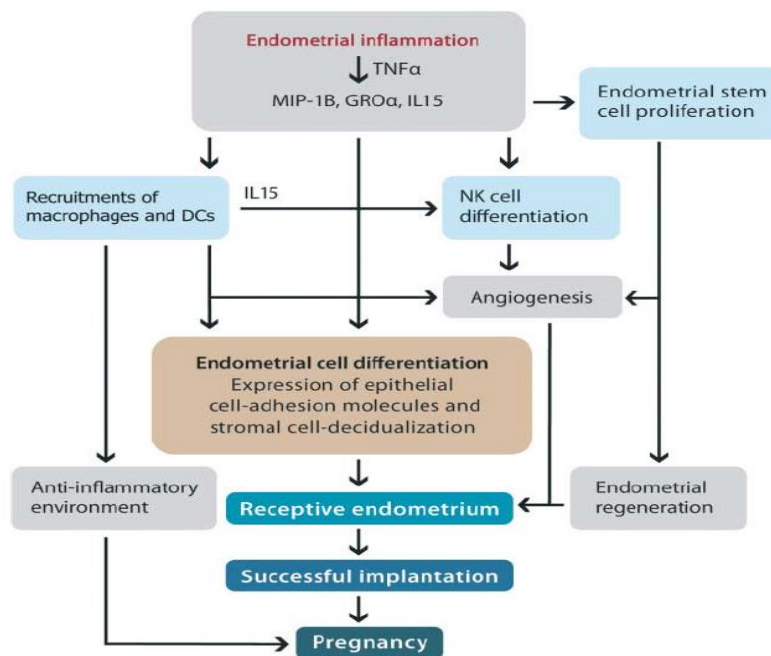


Slika 29 Imunološki aspekti implantacija, preuzeto iz Makriganakis i sar. 2006.

Smatra se da je Th 2 poželjan imuni odgovor za uspešnu implantaciju, te da je imunološka neravnoteža, uz dominaciju komponenata Th 1 imunog odgovora u značajnoj meri uzrok RIF-a, kao i da ES može da pomogne u favorizovanju Th 2 odgovora (231,236).

Dokazano je da lokalna trauma endometrijuma indukuje inflamatorni odgovor koji promoviše uspešnu implantaciju tako što je biopsija endometrijuma u ispitivanoj grupi jedne studije sprovedena 8. i 11. dana ciklusa, nakon čega su 21. dana ciklusa uzimani kontrolni uzorci kod pacijentkinja koje su bile izložene biopsiji i kod onih koje nisu bile izložene biopsiji, pri čemu je dobijena statistički značajno veća koncentracija makrofaga i dendritičnih ćelija (HLA-DR+ CD 11c+), kao i povećan nivo proinflamatornih citokina, faktora tumorske nekroze alfa (TNF  $\alpha$ ), onkogen regulatora rasta (GRO), interleukina -15 i makrofag inflamatornog proteina 1B, kao i direktan stimulatorni efekat navedenog TNF  $\alpha$  na ekspresiju mRNK medijatora MIP -1B, GRO i IL-15 (237). Ista studija utvrdila je pozitivnu korelaciju između nivoa makrofaga, ekspresije MIP -1B i TNF  $\alpha$  i sledstvenog ishoda trudnoće.

Mogući algoritam kaskade opisanog odgovora iskazan je u sledećoj šemi publikovanoj od strane istih autora (Slika 30) (238).



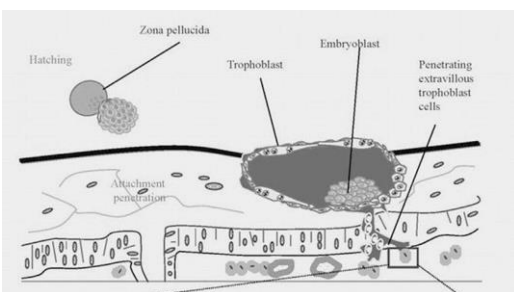
Slika 30 Humoralna kaskada odgovora na leziju endometrijuma, preuzetio iz Granot i sar. 2012.

Značajan mehanizam pored decidualizacije leži i u modulaciji ekspresije brojnih gena vezanih za proces implantacije koji je indukovano biopsijom endometrijuma. Ispitivanje ekspresije

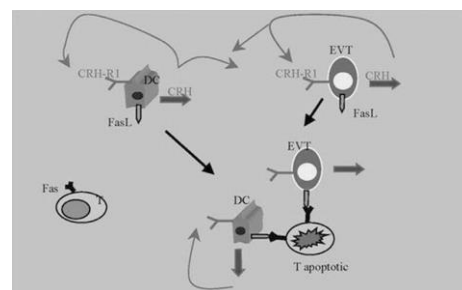
gena 20.-21. dana spontanog ciklusa pokazalo je različitu regulaciju i ekspresiju gena kod pacijentkinja koje prethodno nisu bile podvrgnute biopsiji endometrijuma i kod onih kojima je sprovedena biopsija endometrijuma u folikularnoj fazi ili lutealnoj fazi prethodnog ciklusa. Jedan od najznačajnijih gena čija se ekspresija razlikovala bio je gen bešičnog transmembranskog proteina, UB1b, uz svakako povećanu ekspresiju i drugih gena iz familija antiapoptičnih gena, gena ćelijske komunikacije i transdukcije signala, gena koji kodiraju ekstracelularni matriks i njegovu proteolizu, ćelijske adhezione molekule, proteine membrana ćelijske površine, kao i imuni odgovor, odnosno zarastanje rana uz povećanja ekspresije određenih gena i do 10 puta (182).

Prethodno izneto potvrđeno je i naknadnim studijama koje su ispitivale prediktivne faktore uspeha VTO. Analiza endometrijalne sekrecije identifikovala je citokinski profil prediktivan za uspeh VTO. Na 210 žena ispitivani su IL-1 beta, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, TNF alfa, INF gama, MCP-1 i drugi solubilni markeri implantacije i multivarijantnim logističkim modelom je dobijena značajna asocijacija MCP-1 i IP-10 u smislu implantacije i IL-1 beta i TNF alfa u smislu kliničkih trudnoća, ukazujući da je prediktivna vrednost poslednja 2 markera praktično ekvivalentna kvalitetu embriona (239).

**Kompleksnost navedenih implantacionih mehanizama još više dolazi do izražaja kada se uzmu u obzir brojne veze hormonskih, imunoloških i genetskih mehanizama koji su modulirani, kako od strane endometrijuma tako i od strane embrionalnih struktura.** Plastičan primer je i potencijalna uloga Kortikotropnog rilizing hormona (CRH) koga sekretuje i ekstravilozni trofoblast, ali i ćelije decidue uz dalji autokrini i parakrini mehanizam delovana, a koji dalje moduliraju imuni odgovor T ćelija i vode ka uspešnoj implantaciji blastociste, uz zapažanje da je većina proinflama-tornih mehanizama olakšana samim procesom reparacije (Slike 31 i 32), preuzete iz Minas i sar. 2005.) (231).



Slika 31 Invazija blastoviste



Slika 32 Uloga CRH

**Lezija endometrijuma, dakle, deluje i putem povredom izazvane decidualizacije, i putem molekularne kaskade koja povećava sinhronizaciju i ekspresiju proimplantacionih gena, ali i putem reparatornog imunološkog odgovora.** Ipak, hijerarhija molekularnih i genetskih događaja koji koordinišu proces implantacije daleko je od rasvetljene, te sve navedene pretpostavke ipak predstavljaju samo hipoteze, uz velika očekivanja od dalje upotrebe molekularnih genetskih istraživanja, na bazi NGS procedura u pomoći oko razjašnjenja navedenih stanja.

Pored ES kao izolovane procedure, pretpostavljeno je i da irigacija materične šupljine fiziološkim rastvorom u toku histeroskopije mehanički otklanja određene potencijalno štetne anti-adhezivne glikoproteinske molekule sa površine endometrijuma koji mogu remetiti receptivnost poput COX -2, mucin -1 i integrin  $\alpha$ Vb3 (240).

### **5.9.1 Uticaj endometrijuma na razvoj embriona**

*Noviji stavovi ukazuju na prevaziđenost koncepta razdvojenog uterocentričnog ili embriocentričnog pogleda na uspeh implantacije, uzevši u obzir kompleksnost njihove suptilne komunikacije.* Baš ova komunikacija smatra se odgovornom za kaskadu molekularnih mehanizama koji će omogućiti uspešnu implantaciju, ali novije studije na animalnim modelima ukazuju i na dodatne benefite optimalnog endometrijuma i njegove uloge u moduliranju kvaliteta samog embriona pošto je i kvalitet embriona, pa čak u pul euploidnih ćelija, mnogo dinamičniji proces u odnosu na ranija shvatanja.

Binder i sar. su ispitali ulogu vazoaktivnog endotelnog faktora rasta (VEGF) na rani razvoj embriona i implantaciju (241), i dobijeno je time lapse analizom da na mišjem modelu VEGF, medijator prisutan u endometrijumu i koji je po poslednjim studija dominantnije izražen nakon upotrebe histeroskopije i lezije endometrijuma (235) pozitivno utiče na preimplantacioni razvoj embriona, na vreme kavitacije, broj ćelija blastociste i dimaniku rasta, kao i na stopu implantacije i dalji razvoj ekstremiteta (241). Kako razvoj i implantacija embriona zahteva suptilan i sinhronizovani dijalog sa endometrijumom, jedna od supstanci koja je u ovom dijalogu ispitivana bio je i VEGF, koji se sekretuje iz endometralnih žlezda i nakuplja u kavumu uterusa i za koji je dokazano da je slabije izražen kod žena sa idiopatskim infertilitetom, kao i da dodavanje VEGF u funkcionalnim studijama značajno povećava adhezivna svojstva epitelijalnih ćelija (241,242). VEGF ima primarnu ulogu u angiogenezi, ali receptori za njegove različite izoforme postoje i u

nedometriju, kao i u embrionalnim strukturama te je na mišjem modelu dokazano kako obe izoforme, VEGF 121 i VEGF 165, doprinose boljem razvoju embriona u odnosu na standardne IVF medijume za kultivaciju, kao i da obe izoforme imaju brojne uloge u preimplantacionom razvoju embriona i da su obe prisutne u mikrosredini – miljeu kavuma uterusa tokom preimplantacione faze (241).

*Navedeni radovi mogu se smatrati revolucionarnim pošto su dokazali da različiti molekularni mehanizmi i signali koji se sekretuju u endometriju ne utiču samo na komunikaciju, apoziciju, adheziju i implantaciju embriona, već i na njegov izolovano embriološki razvoj, odnosno na sam kvalitet, brišući time granicu uterocentrične i embriocentrične teorije i otvarajući polje hipotezi da određene uterine manipulacije i menjanje intrauterinog humoralnog miljea u konačnici može uticati i na komplikovan embrionalni razvoj, nezvano sa samim procesom implantacije.* Poznato je da su razvoj embriona, čak i njegova genetska komponenta, udeo euploidnih i aneuploidnih ćelija, prisustvo mozaicizma, koji ga u konačnici determinišu, ne toliko statične i prethodno određene osobine, već su u svojoj prirodi mnogo dinamičnije i definitivno pod uticajem određenih faktora, pa i faktora endometrija (18,241,243). Kulturanje embriona sa endometrialnim ćelijama ustanovljena je praksa i potvrđeno je da ima pozitivan efekat na razvoj embriona, te još jednom apostrofira ulogu endometrija ne samo u implantaciji već i u razvoju embriona (244).

### **Postoje i oprečni stavovi o biološkoj osnovi uloge lezije endometrija.**

Kako prethodno navedeni patofiziološki mehanizmi, i iskustva kliničkih studija koji o pozitivnom efektu ES još uvek nisu doveli do opšteg stručnog i naučnog konsenzusa o upotrebi procedure, mahom usled suboptimalnog dizajna i volumena dosadašnjih studija, pojedini autori apostrofiraju na oprez u nekritičkom prihvatanju procedure, ukazujući da su genetski i molekularni mehanizmi implantacije isuviše fragilni i suptilni kako bi bili adekvatno modulirani grubom intervencijom poput lezije endometrija.

Tako su u interesantnom radu koji bismo mogli prevesti kao “**Zagrebat i spod slučaja grebanja**” Simon i Bellver ukazali na metodološke nedostatke studija koje su dovele do razvoja procedure, kao i na određene patofiziološke mehanizme koji ga čine malo verovatno uspešnim (245). Autori ukazuju na hiperinflaciju i hipereksploataciju pojma metaanaliza kojih su identifikovali preko 40 000. Pored odsustva dobro dizajniranih RCT kao osnovne građe validnih i adekvatnih metaanaliza, ukazuje se na odsustvo primene adekvatnih statističkih alatki u sprovođenju istih.

Priznaćemo da ova konstatacija stoji i da je pojam metaanaliza ranije imao mnogo veću težinu, ali ovo je širi problem savremene medicine zasnovane na dokazima.

Navedeni rad ukazuje na izuzetno mali volumen slučajeva uključenih u ključne metaanalize o ES, kao i na njihove brojne metodološke nedostatke i heterogenost u ispitivanoj grupi, samom izvođenju intervencije, analiziranim parametrima i primarnim ishodima. Dodatno, osporavaju se i svi prethodno predloženi molekularni mehanizmi koji se tradicionalno uzimaju kao biološka osnova za benefit procedure. Koncept decidualizacije izvučen je iz studija na glodarima, uz napomenu da kod ljudi ovo ne može biti pod dejstvom mehaničkog stimulusa već jedino hormonski uslovljeno ka endometralnim stromalnim ćelijama, naglašava se kako niti citokinski profil u reparacionim mehanizmima uterusa nije do kraja definisan, niti je definisan citokinski profil receptivnog endometrija, a za koncept korekcije negativnog efekta stimulacije na napredovanje endometrija smatraju da je čak i suprotan i da stimulacija u proseku pravi dvodnevno genomsko odlaganje, a ne napredovanje receptivnog endometrija, te da ni ES, ni njegova uloga u stimulaciji nisu detaljno ispitani iz ugla genetike receptivnosti (245). *U dubljem osvrtu na stanje u stručnim i naučnim krugovima, još jednom se napominje bitnost dizajniranja kvalitetnih studija kao osnova naših zaključaka a ne metaanaliza suboptimalnih studija uz opasku da nam treba više dobrih kuvara nego kritičara, te da nam u ovom začaranom krugu nastalom neadekvatnom upotrebom podataka određene studije unose više konfuzije nego razjašnjenja.*

Iako stavovi da procedura ne postoji ni u prirodnoj koncepciji stoje, sa druge strane infertilitet i postupci VTO daleko su od prirodne koncepcije. Moguće je da negativan uticaj ovarijalne stimulacije na razvoj i napredak endometrija i njegovu receptivnost (153), kao i posebna patološka stanja, nedovoljno ispitana, ali svakako prisutna u entitetu RIF – a, mogu imati benefita od indukovane decidualizacije, sekrecije citokina i interferiranja sa napretkom endometrija za razliku od prirodne - spontane reprodukcije, pošto su baš ovi mehanizmi u COS – u i RIF-u narušeni (246)

## **5.10 ANALIZA TROŠAK DOBIT HISTEROSKOPIJE NA ISHOD VTO**

Na osnovu poslednje Cochrane metaanalize na 1033 pacijenta kojima je sproveden ES rođene su 34 bebe više kao posledica izvođenja same procedure, odnosno da se na 30 sprovedenih procedura lezije endometrija rodi jedna beba više (224). Ljudska i klinička priroda nameće nam

stav da je i jedan novi život više vredan truda, iako u eri savremene medicine, medicine zasnovane na dokazima i analizama trošak-dobit moramo imati na umu i celokupno opterećenje zdravstvenog sistema. Iz tog ugla bi u balansiraju ove analize, pogotovo za našu sredinu, bilo od izuzetne važnosti da dalje povećavamo efikasnost navedene procedure, ali i da smanjujemo trošak opterećenja zdravstvenog sistema procedurom uvođenjem ambulantne – office histeroskopije. Pored psihološkog i fizičkog stresa tretman infertiliteta predstavlja i značajno finansijsko opterećenje (190).

U pokušaju da detaljnije kvantifikuju analizu trošak dobit Kasius i sar. su ispitivali isplativost različitih strategija histeroskopije nakon neuspešnih VTO, rutinske histeroskopije pred prvu VTO i strategiju bez histeroskopije i zaključili da model rutinske histeroskopije pred prvu VTO nudi najveći monetarni benefit, te da u navedenom modelu, uzevši u obzir cenu do tri ciklusa VTO, povećanje stope uspeha od svega 2,8% čini proceduru prihvatljivom. U navedenoj studiji postavljena su 2 hipotetička modela sa 3 navedene strategije koji imitiraju situacije iz svakodnevnih prakse. U hipotetičkim modelima uzimana je incidenca patološkog nalaza po relevantnim studijama, efekat tretmana na ishod VTO po relevantnim studijama, stope živorođenja nacionalnog registra i troškovnik procedura tretmana infertiliteta na osnovu lokalnih podataka i pretpostavljenu cenu VTO od 2381 evra u Holandiji za 2004., na koju je dodavana inflacija zdravstvenih usluga od 1,2-2,5% godišnje (97). Ovi navode služe da se detaljnije upoznamo sa prirodom i relativnošću interpretacija analiza koje ispitiuju trošak i dobit određenih procedura preuzetih iz drugih zdravstvenih sistema. U modelu I pretpostavljeno je da će svi pacijenti imati benefit od histeroskopije u smislu povećanja stope trudnoće, dok je u modelu II pretpostavljeno da će samo pacijentkinje sa patološkim nalazom na histeroskopiji imati benefit.

Kako je navedena metaanaliza uzela ukupne troškove histeroskopije od 126 evra, prosečan porast stope trudnoće usled histeroskopije od 4,5% prevalencu uterinih abnormalnosti od 25,5%, prosečnu stopu živorođenja na osnovu postupaka VTO od 23,5%, te prosečnu cenu postupka VTO od 2550 evra, u modelu I cena živorođenja iznosila je 9341 evra u grupi rutinske histeroskopije, 10 570 evro za grupu histeroskopije kod RIF-a i 10 851 evro za grupu bez histeroskopije, čineći rutinsku histeroskopiju isplativom pri povećanju stope živorođenja od svega 2,8% te 90% veće šanse da je rutinska histeroskopija isplativija od strategije bez histeroskopije. U u datom modelu cena dodatnog živorođenja za zdravstveni sistem iznosila je oko 2000 evra (97).



U modelu II, gde se pretpostavljeno povećanje stope uspeha VTO očekuje samo u slučaju detekcije i tretmana patološkog nalaza, cena po živorodenju iznosila je 10 604 evra u grupi rutinske histeroskopije, 10 859 evra za grupu histeroskopije kod RIF-a i 10 867 evra za grupu bez histeroskopije, te je u ovom modelu, koji je verovatno realističniji, u praksi cena dodatnog živorodenja upotrebom histeroskopije oko 15 800 evra (97).

Sistematski pregled i analiza trošak dobit histeroskopske polipektomije na ishod tretmana infertiliteta po poslednjoj studiji iz 2017 sprovedenoj u SAD-u, sistemu sa svakako drugačijim ekonomskim parametrima, takođe je dobila isplativost navedenog pristupa (107). Ulazni parametri u datoj analizi podrazumevali cenu ambulantne histeroskopske polipektomije od 732 evra, operativne histeroskopske polipektomije od 4011 evra, cenu inseminacije po ciklusu od 924 evra, te cenu VTO po ciklusu od 15 450 evra, na osnovu relevantnih podataka u SAD-u, i ovi podaci svakako odstupaju od naše i evropske realnosti, ali je na osnovu studija Perez Medina i Shohayeb kao referentnih parametara efekta tretmana, uz američki prosek uspeha procedura asistirane reprodukcije sprovedena evaluacija celokupnog efekta.

Dobijeno je da ambulantna histeroskopija uštedi 6658 evra, a operativna 728 evra cene jedne kliničke trudnoće ostvarene tretmanom do 4 ciklusa IUI, te je ambulantna histeroskopija isplativa ukoliko kumulativna stopa trudnoće nakon 4 ciklusa IUI prelazi 30,2% odnosno 52,6% za operativnu histeroskopiju. U ciklusima VTO, ambulantno sprovedena histeroskopska polipektomija dovodi do uštede 15854 evra, a operativna polipektomija 6644 evra, te čini polipektomiju isplativom procedurom pred postupak VTO ukoliko stopa trudnoće po ciklusu prelazi 26,4% u slučaju ambulantne histeroskopije, odnosno 31,7% u slučaju klasične operativne histeroskopije (107).

Uprkos odsustvu nedvosmislenih pokazatelja isplativosti i jasnim kliničkim smernicama, anketa sprovedena na 189 klinika za vantelesnu oplodnju u Australiji, Novom Zelandu i Velikoj Britaniji ustanovila je da 83% kliničara preporučuje ES, od kojih 92% preporučuje ES kod RIF-a, a 6% kod svih pacijenata koji ulaze u program VTO. Većina ispitanika, njih 73%, izrazilo je stav da je procedura korisna u slučajevima RIF-a, dok je 53% izrazilo je neslaganje sa korisnošću procedure rutinski pred prvi postupak VTO (171). Samo 4 % ispitanika preporučilo je proceduru pred IUI, ili spontanu koncepciju.

Ista studija je, na osnovu stavova lekara, identifikovala koja je to subgrupa pacijenata kojima se procedura preporučuje, i to su uglavnom one subpopulacije pacijenata gde se može sumnjati u implantacioni mehanizam kao što su RIF, idiopatski infertilitet, endometrioza, starije životno doba, habitualni pobačaj

### **5.11 OPTIMALAN NAČIN IZVOĐENJA PROCERUDE U SMISLU TAJMINGA, LOKACIJE, I UPOTREBE NAVEDENIH MODALITETA**

Postoje brojni izazovi u izvođenju histeroskopije pred postupak VTO, koji u konačnici utiču i na klinički ishod i na interpretaciju rezultata brojnih studija. Poznato je da je, kada je procedura histeroskopije snimana i potom puštana timu iskusnih ginekologa perfektno slaganje u interpretaciji nalaza postojalo u svega 77% slučajeva, ukazujući na umerenu interobserversku pouzdanost (72). **Prednost naše studije** svakako leži u činjenici da su procedure sprovedene na jednom mestu, centru sa značajnim iskustvom u histeroskopskoj hirurgiji i to od strane malog broja operatera uz veći stepen internog slaganja.

Operativni histeroskopski tretman upotrebom elektrohiruških instrumenata dovođen je u vezu sa mogućim negativnim uticajem na razvoj endometrijuma. Kako bi detaljnije odgovorili na navedeno pitanje Kogan i sar., na desetogodišnjem iskustvu, ustanovili su da operativni tretman primenom elektrohiruških metoda pred postupak VTO dovodi do statistički značajnog smanjenja debljine endometrijuma koja je u ciklusima pre operacije iznosila 10,7 mm naspram 9,1 mm nakon histeroskopije, ali bez uticaja na strukturu, kvalitet i receptivnost endometrijuma, što se finalno ogleda u stopi trudnoća od 19,5% pre histeroskopije i 24,4% nakon histeroskopije i statistički značajno većoj stopi rođenja (26).

U svetlu brojnih studija izvođenja lezije endometrijuma putem ES uočavaju se metodološki problemi i razlike u metodi izvođenja i drugim parametrima. Tako se opisana procedura najčešće izvodi u lutealnoj fazi prethodnog ciklusa, najčešće jednom ili dva puta, mada su opisana i 4 izvođenja u prothodnoj fazi (172,176). Dodatno, aktualizuje se i ispitivanje ES u ranoj folikularnoj fazi aktuelnog ciklusa u kome se izvodi sama procedura VTO. Poslednje studije ukazuju da je sprovedenje procedure najoptimalnije u lutealnoj fazi prethodnog ciklusa, pre svega usled činjenice da je u ovom periodu najveća ekspresija gena uključenih u implantaciju, i sama procedura

može poslužiti kao stimulus navedenom setu gena. Sa druge strane, lezija endometrijuma u proliferativnoj fazi aktuelnog ciklusa uvek ostavlja sumnju na kvalitet istog u daljoj sekretornoj transformaciji i mogućnosti prijema embriona (176).

Lezija endometrijuma na sam dan aspiracije jajnih ćelija dokazano negativno utiče na ishod VTO, uz brojne pretpostavljene mehanizme, bilo mehaničke, kao što su debris nekrotičnog tkiva i urgušci u kavumu u vreme transfera ili superponirane infekcije endometrijuma koji ovde može da nastane, iako je sama bezbednost procedure potvrđena brojnim studijama (178).

**Razmatranja optimalnog vremena za izvođenje procedure** imaju više vremenskih markera koji se analiziraju, od studija u kojima su rađene lezije endometrijuma u folikularnoj fazi aktuelnog ciklusa, najčešćih studija sa izvođenjem procedure u prethodnom ciklusu usled pretpostavljenih patofizioloških benefita inflamatornog odgovora, do poslednjeg vremenskog markera koji se tradicionalno postavlja na 6 meseci od procedure, a na osnovu ranih radova o delotvornom efektu uljanih HSG procedura (233).

Druge studije u ispitivanju uticaja lezije endometrijuma na ishod postupka IUI, a nakon prethodno neuspelog postupka IUI ustanoviće da je optimalno vreme za izvođenje procedure sredina folikularne faze prethodnog ciklusa usled dovoljnog vremena za humoralne i mehanizme ekspresije proimplantacionih gena da dostignu svoj pun potencijal (247). Ovo je u suprotnosti sa dominantnom praksom sprovođenja procedure u lutealnoj fazi, iako noviji dokazi ukazuju da, čak i u svežem ciklusu VTO, reparatorni mehanizmi nakon lezije u proliferativnoj fazi odlaganjem sazrevanja endometrijuma dovode do bolje sinhronizacije embriona i endometrijuma koja može biti narušena (248).

O ulozi **ultrazvučnog navođenja** same procedure ES, ista studija je ustanovila i da ultrazvučno navođeno sprovođenje procedure može biti od koristi zato što nam omogućava lociranje i leziju očekivanog mesta za embriointplantaciju (247). Iako je pojam optimalnog mesta za implantaciju i ultrazvučne verifikacije lokalizacije i dalje predmet brojnih kontraverzi, poslednji Cochrane izveštaj koji je uključio 21 studiju na datu temu dobio je u metaanalizi na 6218 pacijenata kako ultrazvučno vođeni embriotransfer povećava šansu za uspeh i do 50% uz OR 1,47, pa, čak i kada se uključe samo studije visokog kvaliteta. Ipak, intervali poverenja metaanalize ukazuju da ukoliko je stopa živorođenja bez ultrazvučnog vođenja procedure embriotransfera 23%, dodatkom ultrazvučnog navođenja ovaj postotak raste na 28-33% (249).

### 5.11.1 Embriotransfer i histeroskopija

Procedura embriotrasfera (ET) predstavlja poslednju intervenciju u kompleksnoj kaskadi događaja koju nazivamo ciklus VTO i, samim tim, jedan od najkritičnijih događaja od koga se očekuje da prođe besprekorno, da ne bi ugrozio sav prethodni rad, a čiji se elementi i izazovi ne analiziraju kao poseban entitet u brojnim radovima koji se bave uspehom VTO (250). Analiza procedure ET u smislu njegove personalizacije doživljava se više u smislu njegovog tajminga, upotrebe genetskih istraživanja, sinhronizacije sa napretkom embriona, dualnog transfera, a manje u smislu samog operativnog rada (251,252).

U tehničkom smislu, većina transfera karakterišu se kao laki, iako se u i do 25% procedura nailazi na poteškoće koje se definišu kao otpor u inserciji ET katetera koji zahteva cervikalnu tarkciju, a ponekad i sondiranje i dilataciju cervikalnog kanala, kao i prisustvo krvi na spoljnom omotu ili u samom kateteru, dok se lakom procedurom definiše procedura bez potrebe za manipulacijom cerviksa, dilatacijom i bez krvi u kateteru (253).

Poslednja studija na datu temu utvrdila je da nisu sve komponente otežanog transfera podjednako loše za ishod postupaka VTO, te da potreba za trakcijom cervikalnog kanala, kao i prisustvo krvi u spoljnom omotaču katetera nisu faktori koji smanjuju stopu uspeha VTO, dok potreba za sondiranjem, odnosno dilatacijom cervikalnog kanala, kao i prisustvo krvi u unutrašnjoj komponenti ET katetera negativno utiču na ishod VTO (250).

Pored navedenog, otežana procedura ET povezana je i sa povećanom stopom vanmateričnih trudnoća, naročito u prisustvu tubarnih oštećenja i prethodne vanmaterične trudnoće (230). Potreba optimalizacije procedure ET se pored adekvatne krive učenja postiže upotrebom histeroskopije. Većina studija identifikovala je izraženiju fleksiju ili retrofleksiju cervikalnog kanala, kao i endocervikalna trauma usled prethodnih intervencija kao faktore rizika za optežan transfer. Upotreba histeroskopije u ciklusu pred VTO, daje kliničaru prednost u detaljnoj evaluaciji cervikalnog kanala, ispravljanju određenih subtilnih anatomskih nepravilnosti, dilataciji istog u slučaju izraženije stenoze, kao i evaluaciju konfiguracije kavuma, dužine cervikalnog kanala, dubine fundusa, uz optimalizovanje pozicije ET, te očekivano lakše procedure ET, iako ovaj ishod nije bio u fokusu istraživanja brojnih studija o ulozi histeroskopije na ishod VTO.

Dodatno, histeroskopija kod izraženijih cervikalnih problema može imati ulogu i u plasiranju određenih vodiča, trancervikalnih katetra, i drugih operativnih metoda. Interesantan prikaz 3 slučaja gde je u slučajevima teškog ET, koji su u prošlosti zahtevali upotrebu anestezije (najčešće pacijenti sa kongenitalnim anomalijama ili prethodnim operacijama na grliću materice) uspešno primenjena procedura histeroskopske aplikacije i fiksacije trancervikalnog stenta, koji je kasnije služio kao kanal za uspešnu proceduru embriotransfera (230).

Jedna studija je histeroskopski ispitivala nivo oštećenja endometrijuma kod ET koji su registrovani kao teški ili laki, i dobila značajno poklapanje pošto su u grupi žena sa lakim transferom 32% njih imali manje lezije endometrijuma 3% umerene a 65% nije imalo leziju endometrijuma, dok su kod pacijentkinja sa teškim ET 42% imale lakša oštećenja, 29% umerena, a samo 29% je prošlo bez oštećenja endometrijuma, uz krv na katetru kod 25 žena sa lakim, 56% žena sa umerenim i 71% žena sa teškim transferom (254).

**I naša studija je primetila manji broj procedura ET karakterisanih kao laki kod pacijentkinja koje nisu bile podvrgnute histeroskopiji.**

U studiji Eryllmaz i saradnika o **potrebnom vremenskom periodu** između histeroskopske polipektomije i samog postupka VTO zaključeno je da sam interval ne utiče na ishod VTO (255). Ipak navedena studija analizirala je samo 60 pacijenata koji su podeljeni na 29 njih kojima je polipektomija rađena unutar 6 meseci od procedure VTO i 31 pacijentkinje kod kojih je od procedure prošlo više od 6 meseci tako da zaključci studije nisu previše relevantni za svakodnevnu praksu. Slične zaključke o činjenici da nakon histeroskopske resekcije polipa ne treba da prođe značajnije vreme do samog postupka ET dobila je i studija Lass i saradnika, koji su komparabilne stope FET a dobijali već u prvom mesecu nakon polipektomije kada je i dokazano da oporavak intrauterinog miljea ne zahteva dodatan period (256).

Kako novija patofiziološka saznanja ukazuju na benefit ovog zaceljivanja noviji radovi pokušavaju da dokažu koliko sam benefit traje, odnosno ne dali je prošlo dovoljno dugo vremena već da li je prošlo previše vremena od histeroskopije do IVF-a. *U budućnosti očekujemo da se dođe do jasnijeg koncenzusa oko tajminga, tehnike procedure, njene upotrebe u različitim kliničkim situacijama, kao i potrebom za ponavljanjem procedure pre svakog narednog embriotransfera.*

**U potrazi za idealnom lokacijom lezije endometrijuma** Huang je u pilot studiji uakzao da je najoptimalnije mesto i vreme položaj 10-15 mm ispod fundusa na zadnjem zidu i to u aktuelnom ciklusu u kome se vrši ovarijalna stimulacija, ali na izuzetno malom uzorku (184). Inspirisana prethodno definisanim statovima o najoptimalnijem mestu za implantaciju embriona na osnovu sonografskih studija koje se nalazi 10-20 mm ispod nivoa fundusa (257), navedena studija je ispitivala uticaj ciljane lezije endometrijuma pod kontrolom histeroskopije u folikularnoj fazi aktuuelnog ciklusa VTO između 4-og i 7-og dana ciklusa, 10-15 mm ispod fundusa površine lezije 2x2 mm (Slika 33).



Slika 33 Optimalno mesto lezije endometrijuma, preuzeto iz Huang i sar. 2011

Navedena studija, uključila je svega 6 pacijenata u ispitivanu grupu, kod koje je dobijena stopa implantacije od 56% i svih 6 pacijentkinja su zatrudnele, dok je kod 24 kontrolne pacijentkinje stopa implantacije iznosila 21% uz stopu kliničke trudnoće od 46%.

Volumen uzorka nam svakako ne dozvoljava izvlačenje ozbiljnijih zaključaka, ali najveća vrednost navedene studije leži u pokušaju standardizacije same procedure ES što je po mnogim autorima od ključnog značaja kako za uspeh procedure, tako i za dalju naučnu evaluaciju njenog značaja. Navodi se kako je standardizacija procedure bitan faktor uspeha (173), i jedan od nedostataka naše studije leži i u činjenici što nije više urađeno na standardizaciji same lokacije lezije endometrijuma, njene dubine, opsega i drugih parametara, već je to prepušteno individualnim stavovima operatera u odsustvu jasnih kliničkih smernica. Studija koja bi selektivno ispitivala ove faktore morala bi da bude značajno drugačijeg dizajna i volumena.

**Optimalan tajming izvođenja operativne histeroskopije** *mora da nađe balans između vremena dovoljno blizu proceduri embriotransfera kako bi pozitivan efekat histeroskopije i dalje*

*bio izražen, i dovoljno vremenski udaljeno od samog ET, pogotovo u slučajevima operativne histeroskopije, kako mehanička trauma endometrijuma ne bi bila pogubna po šansu za implantaciju.*

U toku same stimulacije neretko se zapaze određena patološka stanja kavuma poput endometralnih polipa. O najoptimalnijem tretmanu nema jasnog konsenzusa i kliničke opcije mogu biti otkazivanje ciklusa i histeroskopska polipektomija, nastavak stimulacije krioprezervacija embriona i histeroskopska polipektomija, histeroskopska polipektomija pre aspiracije bez otkazivanja embriotransfera, ili ignorisanje nalaza polipa i standardnog nastavka ciklusa VTO. Većina autora pribegava strategiji krioprezervacije svih embriona, histeroskopskoj polipektomiji i sledstvenom FET-u (258), iako niti uticaj samog polipa niti njegovog operativnog tretmana na ishod VTO nije definitivno potvrđen (111).

Još je 2005. na uzorku od svega 6 pacijenatkinja predstavljena mogućnost histeroskopske polipektomije od 7-9 og dana ciklusa i naknadnog svežeg embriotransfera uz ostvarenu trudnoću kod 3 od 6 pacijentkinja (112).

Poslednja i najveća studija na datu temu identifikovala je 160 pacijenata kod kojih je u toku stimulacije sonografski detektovan endometralni polip, te je poredila ishode procedure VTO u zavisnosti od različitih operativnih i konzervativnih pristupa, i ponudila je na značajnijem uzorku odgovore na navedena pitanja o uticaju polipa ali i njegovog tretmana i tajminga procedure na ishod VTO (113). Od 160 žena kojima je u toku stimulacije dijagnostikovam polip 58 je podvrgnuto histeroskopskoj polipektomiji bez otkazivanja svežeg transfera i to u periodu od 3-17 dana pre same procedure ET, dok je kod preostalih 102 pacijentkinje nastavljen ciklus VTO bez histeroskopske polipektomije. Nakon što su pacijenti upareni po veličini polipa, što je neretko bila i indikacija za polipektomiju, finalno su poređena 43 slučaja u svakoj grupi. Stope kliničke trudnoće i živorođenja nisu se razlikovale među grupama i iznosile su 34,9% naspram 32,5% i 30,2% naspram 27,9% istim redom za grupu polipektomije naspram grupe bez polipektomije (113). Nije postojala razlika u distribuciji lokacije polipa, ali je multivarijantnim regrisionim modelom na svih 58 pacijentkinja u grupi polipektomije i 102 pacijentkinje bez polipektomije ustanovljeno da je jedini faktor koji je uticao na manju stopu živorođenja bilo vreme od same procedure do procedure ET te da **ni jedna trudnoća nije zabeležena u slučajevima gde je od histeroskopije do ET prošlo manje od 5 dana** (113). Ključne poruke navedene studije primenljive u praksi su svakako

da nastavak ciklusa bez polieptomije ne utiče negativno na ishod VTO, kao i da operativni tretman istog ukoliko se sprovede bar 5 dana od ET ne smanjuje stopu svežeg uspeha VTO, i time strategiju krioprezervacije čini nepotrebnom.

Ovi nalazi u skladu su sa zapažanjima o negativnom uticaju ES na dan aspiracije i ukazuju da endometrijum treba bar 5 dana da se oporavi od neposredne traume (178), što je i pokazano u Cochran izveštaju gde se najoptimanije vreme navodilo od 7-og dana prethodnog do 7-og dana aktuelnog ciklusa (224).

**Naveća i najznačajnija studija** o optimalnom vremenskom razmaku između histeroskopije u smislu njene dijagnostičke i “scratching” uloge, i same procedure ET je na 1258 pacijentkinja u selektovanoj populaciji pacijenata sa urednim nalazom histeroskopije, podelila pacijente u grupu kojima je histeroskopija sprovedena do 50 dana od procedure ET (407 pacijentkinja), grupu kojima je histeroskopija sprovedena od 50 dana do 6 meseci od procedure ET (280 pacijentkinja) i pacijente gde je histeroskopija sprovedena više od 6 meseci od procedure ET (571 pacijentkinja) (188). Karayalcin i sar. su dobili najveću i statistički značajno različitu stopu implantacije, kliničke trudnoće i živorođenja u grupi pacijentkinja kojima je histeroskopija rađena do 50 dana od ET uz trend opadanja svih navedenih rezultata po grupama kako je odmicao period od histeroskopije do same VTO, uz stopu implantacije koja je iznosila 22,1%, 16,1% i 11,1% stopu kliničke trudnoće od 45,2%, 34,3% i 27,1% te stopu živorođenja od 36,9%, 27,9% i 22,6% po navedenim grupama istim redom (188). Interesantno je da navedena studija nije imala kontrolnu grupu žena bez histeroskopije usled činjenice da u njihovm zdravstvenom sistemu pacijenti dobijaju VTO preko redovnog zdravstvenog osiguranja jedino ukoliko su imali histeroskopiju unutar godinu dana od VTO, još jednom naglašavajući razlike u sistemima reproduktivne medicine. I u navedenoj studiji tim ljudi koji je izvodio procedure histeroskopije bio je 6 ginekologa što je najbliži našim iskustvima.

Navedena studija kao ni brojne druge nisu dodatno sprovodile proceduru ES te rezultati navedene studije spadaju u korpus onih studija koji samu traumu histeroskopije označavaju kao suficijentnu.



## 5.12 IZAZOVI PRIMENE HISTEROSKOPIJE U BUDUĆIM PARADIGMAMA VTO

Napredak laboratorijskih uslova, porast stope implantacije pojedinačnih embriona, globalna efikasnost i bezbednost postupaka VTO, te očekivanja pacijenata i stručne javnosti od asistirane reprodukcije u svetlu svih naučnih i tehnoloških inovacija, PGS-a na bazi NGS-a, dublje genetske analiza ploda, predviđaju da će budućnost VTO biti u formi transfera jednog euploidnog, genetski selektovanog embriona u FET ciklusu (9,157). Ovaj format praktikovanja VTO uveliko je sadašnjost u brojnim centrima, i trebalo bi da upotrebu svih kliničkih alatki u pristupu infertilnom paru uključujući tu i histeroskopiju gledamo kroz prizmu savremenih trendova.

*Histeroskopija će definitivno ostati zlatni standard tretmana intrauterine patologije. Stav autora je da ukoliko do takvih tančina i suptilne evaluacije dovodimo embrionalni aspekt postupka VTO, da sa ništa manje posvećenosti ne smemo pristupiti ni uterinom aspektu što je svakako u skladu sa stavovima pacijenata dobijenih u našoj studiji. Iako se personalizovani pristup embriotransferu i minucioznije ispitivanje receptivnosti endometrijuma očekuje i daljim razvojem genetskih i humoralnih testova receptivnosti endometrijuma (239,245) histeroskopija će i dalje imati nezamenjivu ulogu u anatomskoj evaluaciji. Ipak, dosadašnja uloga histeroskopije i benefit na ishode VTO ispitivan je mahom u sklopu kontrolisane ovarijalne stimulacije (KOS).*

Poznato je da KOS ima negativan uticaj na receptivnost endometrijuma (153) i stopu implantacije i pretpostavka je da molekularni i patofiziološki mehanizmi kojima histeroskopije i ES povećavaju stopu implantacije leže baš u otklanjanju ovih specifičnih hormonskih disrupcija koje je KOS stvorila. Iz tog ulga jedno nefiziološko stanje endometrijuma koje nastupa u KOS sa napredovanjem endometrijuma i pomeranjem prozora implantacije prevazilazi se drugim nefiziološkim stanjem jatrogene lezije istog radi postizanja implantacione ravnoteže (153). Ukoliko budućnost VTO vodi ka vraćanju odmrznutog embriona u skroz spontanom ciklusu, najuspešnijem konceptu onda i u datim uslovima treba reevaluirati potencijalne benefite histeroskopije.

Do sada su značajnija istraživanja za datu kliničku okolnost sprovedena mahom i kontekstu spontane koncepcije te su u jednom RCT na 120 žena sa idiopatskim infertilitetom dobili istu kumulativnu stopu spontane trudnoće kod pacijentkinja sa ES i bez njega (225). Cochranov izveštaj o upotrebi ES u smislu povećanja trudnoće u spontanoj koncepciji ili IUI identifikovao je

9 studija na 1512 žena, dobijeno je da i u navedenim situacijama ES može povećati šansu za trudnoću i do 2 puta ali uz nizak nivo kvaliteta dokaza, niti značajnije razlike u smislu vremena izvođenja procedure (259).

Prvi ciklusi VTO i RIF su patofziološki i klinički verovatno različiti entiteti. Isto tako, transfer embriona u FET i svežim ciklusima ima drugačije receptivne mehanizme i u budućnosti daljih istraživanja uticaja histeroskopije na ishod postupaka VTO pre svega očekujemo da dobijemo odgovore na pitanja o ulozi histeroskopije pre FET-a u prirodnom ciklusu kako kod inicijalnih postupaka VTO, tako i kod RIF-a (93). Najnovija studija o ulozi histeroskopije na ishod FET-a kod RIF –a iako retrospektivna, na 173 pacijenta dobila je statistički značajno veću stopu trudnoće ukoliko je rađena lezija endometrijuma (42,1% naspram 22,2%) (260). Sa druge strane RCT na ovu temu na 45 žena sa ES i 48 kontrolnih pacijentkinja bez ES pred FET ciklus dobila je čak i negativan uticaj lezije endometrijuma na ishod sledstvenog ciklusa u smislu stope implantacije I stope kliničkih trudnoća podsećajući nas da iskustva jednog kliničkog kontesta ne možemo jednostavno da prevedemo u drugi te da nam trebaju nove velike studije na ovu temu kako bismo sa validnim podacima medicine zasnovane na dokazima mogli da odgovorimo na izazove budućnosti (261).

Kako je spontani ciklus po poslednjim izveštajima optimalan način sprovođenja FET procedure (157) najveća i jedina RCT koja je ispitivala ulogu ES u baš ovom kliničkom kontekstu i koja je u štampi, nije uspela da identifikuje benefit rutinskog sprovođenja ES pred postupak FET u prirodnom ciklusu (185). Mak i saradnici su u navedenoj studiji na 115 žena sa ES i 114 žena bez ES dobila odsustvo statističke značajne razlike u stopi kliničke trudnoće (48,4% ES naspram 43,0% kontrolna grupa uz RR 1,12) i stope implantacije (36,5% ES naspram 32,8% kontrolna grupa uz RR 1,14). Stopa živorođenja i drugi parametri ishoda takođe nisu pokazali statistički iznačajnu razliku, kao i analiza subgroupa, u odnosu na broj prethodnih neuspelih procedura VTO (185).

Pored navedenih svakako da u budućnosti očekujemo adekvatne studije koje će detaljnije ispitiati učestalost neprepoznate patologije kavuma uterusa, ulogu postojanja određenih patoloških stanja i njihovog tretmana kako na spontanu reprodukciju tako i na postupke VTO.

*Na osnovu do sada iznetog nema značajnijih dokaza o pozitivnom uticaju ES na ishod spontane koncepcije, niti FET-a bilo u prirodnom ili arteficialnom hormonski pripremljenom ciklusu, što još jednom potvrđuje hipotezu da patofiziološki mehanizmi ES pre svega služe da kompenzuju određene iregularnosti izazvane ovarijalnom stimulacijom ili postojeće u slučaju implantacionih poremećaja kod RIF-a.*

Uzevši u obzir kompleksnost patofiziološkog modela benefita lezije endometrijuma na poboljšanu implantaciju, i pretpostavljene patogeneze poremećaja invazije trofoblasta i placentalne kao izvornog problema brojnih kliničkih entiteta iz oblasti savremene perinatologije, u budućnosti primene histeroskopije možda bi bilo smisljeno očekivati dalje ispitivanje ove veze i potencijalnog pozitivnog uticaja histeroskopije na tok trudnoće. Ovo je svakako samo hipoteza koja bi za datu problematiku bila ogroman metodološki izazov kako u smislu identifikovanja kliničkih situacija primenljivosti, tako i u smislu ogromnog volumena pacijenata koji bi bio nepohodan, pošto navedene pojave imaju svakako manju incidencu i statističke kalkulacije moći u cilju konstrukcije adekvatnog volume uzorka najverovatnije bi zahtevale hiljade ispitanica po ispitivanoj grupi. Određeni registri, koncept upravljanja masovnim podacima (big data management), dali bi nam uvidu u ovu problematiku, doduše u drugačijem dizajnu.

*Preporuke za dalji rad svakako leže i u potrebi uspostavljanja i implementiranja validnih registara endoskopskih procedura u reproduktivnoj medicini poput onih koji su već decenijama u upotrebi za same procedure asistirane reprodukcije.*

Dodatno bi trebalo razmotriti i ulogu histeroskopije u određenim drugim kliničkim entitetima poznatim da ugrožavaju receptivnost endometrijuma poput endometrioze, sindroma polističnih jajnika i drugo.

### **5.13 DODATNE ULOGE HISTEROSKOPIJE KOD INFERTILNIH PACIJENKINJA**

Iako je tretman infertiliteta primaran cilj doktorske disertacije, ne smemo da zaboravimo da postoje i drugi aspekti ženinog zdravlja. Poznato je da pacijentkinje sa infertilitetom usled određenih hormonskih specifičnosti imaju povećan rizik razvoja **endometralnog karcinoma i atipične hiperplazije** (262). U našoj prethodno opisanoj seriji 2000 histeroskopija, identifikovali smo 3 pacijentkinje sa karcinomom endometrijuma (23), što se donekle poklapa sa nalazima najveće studije do sada na datu temu gde je na 19 826 infertilnih pacijenata identifikovano 6 slučajeva

endometralnog karcinoma, uz incidencu od 0,03% što je u navedenoj japanskoj studiji predstavljalo 5 puta veću incidencu u odnosu na žene iste dobi bez prisustva infertiliteta (262). Uzevši u obzir širi kontekst reproduktivnog zdravlja, činjenice da pacijentkinje sa infertilitetom imaju veću incidencu endometralnog karcinoma, kao i da danas postoje brojne dokazane, efikasne i bezbedne opcije prezervacije fertiliteta za navedene pacijentkinje ukoliko se bolest dijagnostikuje u ranom stadijumu (263) nameće se zaključak o koristi upotrebe histeroskopije kod infertilnih pacijentkinja i u ove svrhe a ne samo u svrhu povećanja stope uspeha VTO.

Takođe postojale su sumnje da li histeroskopije i njena nekritička upotreba može imati i neželjenih efekata na ishode sledstvenih trudnoća i smuslu veće učestalosti određenih **obstetričkih komplikacija**, pre svega spontanijh pobačaja, prevremenijh porođaja i otežanog toka porođaja a kao rezultaat eventualne traume cervikalnih struktura. Moffat i saradnici su na 654 primipara koje su pre aktuelne trudnoće imale tretmana infertiliteta identifikovali 167 pacijentkinja kojima je u toku tretmana infertiliteta sprovedena dilatacija cervikalnog kanala i histeroskopia i 327 pacijentkinja koje tokom tretmana infertiliteta nisu bile podvrgnute histeroskopiji i nisu dobili statistički značajnu razliku u incidenci pobačaja, prevremenijh porođaja, poremećaja insercije posteljice poput placente previe, prevremenog prsnuća plodovijh ovojakaja, prevremenog porođaja niti manje telesne mase novorođenčadi (264).

Posebna uloga histeroskopije leži i u tretmanu **pacijentkinja sa habitualnim pobačajima**. Međutim, ova kategorija pacijenata nije obavezno kandidat za postupke VTO, iako su patofiziološki mehanizmi i klinička prognoza po mnogim hipotezama slična je ako ne i istovetna kliničkom entitetu RIF-a (265). Činjenica da je histeroskopija standardni klinički postupak u ispitivanju pacijentkinja sa habitualnim pobačajima donekle je bila osnov i za njeno sistematsko uvođenje u algoritam ispitivanja RIF pacijenata a u perspektivi i svih infertilnih pacijentkinja koje zahtevaju postupak VTO. U studiji Weiss na 67 pacijenata nakon 2 uzastopna i 98 pacijenata nakon 3 i više uzastopnijh pobačaja, dobijena je učestalost od 19% kongenitalnih i 11% stečenijh anomalija uterusaja dok 70% nije imalo patološkog nalaza na histeroskopiji, i nije nađena razlika u incidenci histeroskopskih abnormalnosti kod pacijentkinja sa 2 odnosno 3 i više spontanijh pobačaja ukazujući da se iz ugla histeroskopije ispitivanje treba sprovesti nakon 2 spontanaja pobačaja (265). Nalazi su svakako potvrđeni i naknadnim studijama koji ukazuju da je stopa kongenitalnijh anomalija baš najizraženija kod pacijentkinja sa infertilitetom i habitualnim pobačajima (137). Dodatno ova i brojne druge studije dobile su aneuploidiju citogenetskom analizom prethodnog konceptaja kao

relativno redak razlog habitualnog pobačaja, ukazujući kako na suboptimalnu moć genetskih analiza u dato vreme, činjenicu da euploidnost nije jedini preduslov genetske ispravnosti i potencijala, ali i značajnu ulogu uterinog faktora kod habitualnih pobačaja, i analogno pacijentkinjama sa RIF-om. Sa druge strane mogućnost spontane rezolucije problema u datim situacijama je velika i ona se mora adekvatno predočiti pacijentima usled velike šanse za urednu narednu trudnoću koja postoji kod ovih pacijenata i u odsustvu sprovođenja bilo kakvih intervencija, a na osnovu poznatih predikcionih matriks tabela (Tabela 33). Navedeni predikcioni matriks, na osnovu istraživanja Brigham i saradnika osnov je za konsultaciju parova sa habitualnim pobačajima u poslednjim ESHRE preporukama (266).

Godine žene	Broj prethodnih neuspelih trudnoća i šansa za sledeću uspešnu trudnoću			
	2	3	4	5
20	92	90	88	85
25	89	86	82	79
30	84	80	76	71
35	77	73	68	62
40	69	64	58	52
45	60	54	48	42

Tabela 33 Predikcioni model kod habitualnih pobačaja, preuzeto iz Brigham i sar 1999.

#### **5.14 PREDIKTIVNI MODELI USPEHA POSTUPAKA VTO I ULOGA HISTEROSKOPIJE**

Uspeh VTO je i dalje kontraverzan pojam, bez jasnog konsenzusa o njegovoj definiciji, usled nedovoljnog inkorporiranja bezbednosti kao ključnog ishoda, te i dalje velikog prostora za manipulaciju i nekritički marketing (36). Sa druge strane koliko god da je nekritička potraga za uspehom generisala i negativne trendove poput multiplih trudnoća, nedovoljne odnosno prekomerne upotrebe procedura VTO, ona je ujedno i bila motor pokretač svih inovacija koje su oblast ART pozicionirale na pijadestal savremene reprodukcije. Predikcija uspeha ART iz tog razloga izrasla je u nauku za sebe koja nam daje smernice koji su to faktori na koje treba da obratimo pažnju i optimalizujemo ih u našem radu (267).

Savremena medicina u velikoj meri zasniva se na integrisanju biostatističke u svakodnevnu praksu, napretkom informaciono komunikacionih tehnologija razvojem moćnijih softverskih alati uz napomene da se u budućnosti očekuje mnogo od sistema upravljanja velikim podacima koji bi trebalo da zamene konvencionalnu hijerarhiju metaanaliza. Oduševljenje prediktivnim modelima koje gledamo u drugim granama medicine ne sme biti nekritičko ukoliko uđemo u filozofiju njihove matematičke postavke. Citat Geogre Boxa jednog od ljudi najzaslužnijih za razvoj prediktivnih modela kaže “Svi modeli su pogrešni, ali neki mogu biti korisni” (268).

Brojni modeli su korišćeni u dosadašnjem radu i oni su samo potvrdili ono što većina ljudi u reproduktivnoj medicini zna, a to je da postoji negativna asocijacija između godina, žene, bazalnih parametara ovarijalne rezerve odnosno nivoa vrednosti FSH, kao i trajanja infertiliteta i uspeha VTO, uz svakako pozitivnu asocijaciju broja dobijenih jajnih ćelija i kvaliteta embriona na uspeh VTO (27). U navedenoj metaanalizi je na osnovu 14 publikovanih studija potvrđeno koji su osnovni faktori rizika uspeha i neuspeha, na osnovu čega postavljamo dalje strategiji u borbi sa infertilitetom, promocijom rađanja u ranijoj životnoj dobi, bržim upućivanjem pacijentkinje u program VTO i optimalizovanjem ovarijalne stimulacije. Ipak navedena metaanaliza publikovana je pre više od 7 godina, i nije uključila savremene testove ovarijalne rezerve, kao ni upotrebu histeroskopskih procedura (27).

U našem prediktivnom modelu uspeha VTO koji je bio sačinjen samo od 253 pacijentkinje u aktuelnoj studiji paradoksalno nije potvrđen uticaj godina, na ishod VTO, iako je ovo pre rezultata stratifikacije i randomizacije u selekcionim postupcima. Žene koje su ostale trudne imale su duže trajanje infertiliteta što takođe nije u skladu sa trendovima ali ova razlika je bila 6,45 naspram 5,18 godina. Očekivano nismo dobili statistički značajnu razliku niti po jednom parametru toka vođenja postupka VTO, ali ni po ukupnom broju jajnih ćelija koji je iznosio 8,34 u grupi trudnih i 8,0 ćelija kod pacijentkinja koje nisu bile trudne (tabela 30). Statistički značajna razlika od svih relevantnih varijabli koje su analizirane zabeležena je samo za broj dobijenih embriona (5,06 kod trudnih naspram 4,185,  $p=0,0156$ ); postojanje embriona visokog kvaliteta za proceduru ET (79,82% kod trudnih naspram 51,77%,  $p<0,0001$ ); transfer embriona u stadijumu blastociste (12,96% kod trudnih naspram 1,40%,  $p= 0,0002$ ), ali i sprovođenja histeroskopije generalno (68,18% trudnih naspram 52,45%,  $p= 0,0116$ ) ili rutinski (59,30% trudnih naspram 41,88%,  $p= 0,0142$ ).

U našem modelu nije postojala statistički značajna razlika među nivoima AMH i godina, verovatno usled malog uzorka za analizu ovakih varijabli. Ni broj oocita pojedinačno nije bio prediktor trudnoće što je u suprotnosti sa dominantnim stavovima, iako je najveća stopa trudnoće zabeležena kod pacijentkinja sa dobijenih 8-14 oocita (grafikon 79).

Novije metaanalize su na 28 studija i 5705 ciklusa VTO ukazali na superiornost inkorporiranja nivoa AMH i AFC u evaluaciju te značajnog povećanja moći prediktivnih modela upotrebom navedenih markera (269). U navedenom logističkom regresionom modelu, uprkos činjenici da AFC i AMH zajedno i samostalno predviđaju ovarijalni odgovor bolje od godina žene uz vrednosti AUC za godine žene od 0,61, dok su vrednosti AUC za AMH 0,78, za AFC 0,76, ili kombinovano AMH i AFC daje AUC od 0,8. Ipak, godine žene su i dalje ostale najbolji prediktor sledstvene šanse za živorođenje uz AUC od 0,57, i dodavanje novih parametara ovarijalne rezerve nije povećalo senzitivnost prediktivnih modela u tom smislu (269).

Rezultati navedenih studija naglašavaju bitnost konstatnog usavršavanja moći prediktivnih modela, i razvoja istih inkorporiranjem novih kliničkih alatki koji se koriste u praksi. Tako je analizom prvog britanskog prediktivnog modela razvijenog početkom devedesetih godina prošlog veka – Templetonov model razvijen Nelsonov model 2011 pokazano da modeli kako bi bili svrshodni i pomagali kliničarima u konsultovanju pacijenata, te samim pacijentima u donošenju najboljih odluka, moraju kontinuirano unositi korekcije u skladu sa napretkom stope uspeha VTO, ali i dodavanjem novih kliničkih varijabli (16).

Naš prediktivni model na bazi logističke regresije imao je statističku značajnost od  $p=0,0002$  prilikom testiranja koliko dobro predviđa rezultate, iako je klinička značajnost ipak bila skromnija uz R vrednost 0,1421 a koji ukazuje da je procenat ukupne nesigurnosti 14,21%. Od svih parametara uključenih u finalni model jedino su se postojanje embriona visokog kvaliteta za proceduru embriotransefra uz  $p=0,0002$ , transfer blastociste uz  $p=0,0135$  i činjenica da li je pred postupak sprovedena histeroskopija uz  $p=0,0187$  pokazali signifikantnim u predviđanju uspeha VTO. Dodatnom analizom modela u cilju kvantifikacije uticaja pojedinačnih varijabli na mogućnost ostvarivanja trudnoće, te izračunavanjem odnosa šansi (OR), za postojanje embriona visokog kvaliteta za proceduru embriotransefra OR je iznosio 3,80 (CI 1,89-7,98,  $p=0,0001$ ), transfer blastociste je dao OR za ostvarivanje trudnoće od 7,9 (CI 1,80-56,06,  $p=0,0047$ , a činjenica

da je pred postupak sprovedena histeroskopija dala je OR za ostvarivanje trudnoće od 2,13 (CI 1,14-4,08, p= 0,0169).

Finalna prediktivna moć predikcionog modela analizom ROC krive bila je zadovoljavajuća uz AUC 0,748. AUC (površina pod krivom) merilo je prediktivne snage modela. Vrednosti AUC od 0,9-1 smatraju se sjajnim; 0,8-0,9 dobrim; 0,7-0,8 zadovoljavajućim, 0,6-0,7 slabim a 0,5-0,6 odsutnom sposobnošću predikcije. Prediktivna moć našeg modela bila je dakle zadovoljavajuća, ali je interesantno da je najsnažinja bila baš za predikciju trudnoće kod prethodnih neuspelih VTO uz AUC od 0,771, kao i da je ostavljanjem samo pomenute 3 varijable pokazala prediktivnu vrednost istog ranga uz AUC 0.702 (Grafikoni 80-82).

Tek su u skorije vreme studije koje se putem logističke regresije bave predikcijom uspeha VTO, dominantno na retrospektivnim ispitivanjima, počeli da inkorporiraju pojam histeroskopije i ES kao bitne varijable koja se i pokazuje kao značajan doprinos uspehu procedura VTO.

Najnovija studija u Mariboru o prediktivnim faktorima uspeha VTO koji kod pacijenata sa RIF-om u prethodnom toku lečenja potvrdila je da je za datu subpopulaciju pacijenata pored kvaliteta embriona strategije transfera blastociste procedura endometralne lezije bila važan prediktor uspeha. Na 429 pacijentkinja sa bar 3 neuspešna pokušaja VTO Reljič i saradnici dobili su gotovo dvostruko veću stopu kliničke trudnoće od 44,4 naspram 26,5% u slučaju izvođenja histeroskopije i ES, te je dokazano, upotrebom multivarijantnog logističkog regresionog modela, da transfer bar jednog embriona visokog kvaliteta uz OR 4,32, transfer embriona u stadiju blastociste uz OR 3,02 i lezije endometrijuma sa OR 1,73 dovode do veće stope trudnoća kod RIF-a, i kao nezavisni prognostički faktori što se potpunosti podudara sa našim rezultatima kako po postojanju tako i po značaju prediktivnih varijabli (270).

### **5.15 STAVOVI PACIJENATA O POSTUPCIMA HISTEROSKOPIJE**

Pored izvodljivosti, bezbednosti, efikasnosti i reproducibilnosti određene dijagnostičke ili terapijske procedure, koje su kod histeroskopije potvrđene brojnim studijama, kako u svetu (20) tako i u našoj sredini (23), prihvatljivost od strane pacijenta ostaje i biće uvek jedan od najznačajnijih faktora u implementaciji određene medicinske procedure.

Prihvatljivost od strane pacijenata posebno je bitna u delikatnoj grupi infertilnih pacijentkinja uzevši u obzir celokupno breme tretmana koje parovi i pacijentkinje nose.



Anketnim upitnikom o ukupnim iskustvima, pre svega bolnosti i komforu pacijentkinja koje su podvrgnute histeroskopiji dobijeni su pohvalni rezultati uz prosečnu ocenu odsustva bolnosti i ukupnog komfora za histeroskopiju na skali od 1-10 od 9,05 za bolnost i 9,18 za komfor što je odgovaralo iskustvima pacijentkinja sa ultrazvučnim pregledom transvaginalnom sonografijom, te ocenjeno znatno manje bolnim od procedure HSG (prosečna ocena bolnosti 5,83) i znatno komfornijim od HSG-a koji je dobio prosečnu ocenu komfora od svega 4,82 na skali od 1-10. Rezultati HSG-a nisu bili primarni predmet interesovanja, pošto je svega 41 pacijentkinja imala prethodno sprovedenu proceduru HSG i to mahom bez upotrebe anestezije, ali su anamnestički podaci kod žena kod kojih je procedura sprovedena samo navedeni kao opšti orijentir. Značajan metodološki nedostatak u interpretaciji dobijenih rezultata predstavlja činjenica da je kod gotovo svih pacijentkinja procedura histeroskopije sprovedena u kratkotrajnoj intravenskoj anesteziji, što je uvrežena praksa u našoj sredini kako zbog stava pacijenata tako i zbog sistema rada, te komparacije sa drugim studijama koje su ocenjivale ove karakteristike u ambulantnim uslovima nisu moguće.

Stavovi pacijentkinja o bolnosti i komforu histeroskopije sa druge strane nisu se razlikovali u odnosu na pokušaj VTO po redu, kao ni u odnosu na operativni nalaz (Tabela 17).

Poznato je da je borba sa infertilitetom izuzetno stresan događaj za parove, naročito za žene, da se psihološka trauma neuspešnog procesa smatra jednim od traumatičnijih događaja komparabilan sa gubitkom voljene osobe kao i da sam psihološki stres može negativno uticati na kot i ishod postupaka VTO (271–273). U eri asistiranih reproduktivnih tehnologija, glavni razlog konačnog neuspeha je odustajanje para od tretmana, pojma o čemu se malo razmišlja kada se dizajnira strategija procedure VTO, a koji je u konačnici ključ uspeha (274,275). Glavni razlog odustajanja od tretmana u zapadnoevropskim zemljama je pre svega breme tretmana koje može biti usled psihološkog stresa, slabe prognoze, problema u partnerskom odnosu. Fizičko opterećenja koje je najčešće uzrokovano infekcijom, administracijom injekcija i hiperstimulacijom sindromom, dovodi do stope odustajanja od 62% nakon 3 neuspešna pokušaja, u zemljama kod kojih su svi ciklusi finansijski pokriveni (276). Iz organizacionog i psihološkog ugla se poslednjih decenija intenzivni naponi ulažu u dizajniranje tretmana na način da što manje interferira sa personalnim i profesionalnim životom para, i brojne terapijske opcije se godinama unazad ne analiziraju samo iz ugla efikasnosti i bezbednosti već i uticaja na kvalitet života, prihvatljivost od strane pacijenta i celokupnog ugođaja iz ugla pacijenta definisan kao “patient friendly” (77,277,278).

U našoj sredini finansijska sredstva para na žalost igraju ulogu u odustajanju bar koliko i psihološko breme te je usled insuficijentnog finansiranja postupaka VTO kako po broju tako i obimu procedure, maksimalizacija šanse za uspeh dodatan pritisak i za pacijente i za zdravstvene radnike, uz napomenu da cena neuspelog ciklusa kod nas ostavlja teže posledice po ukupnu prognozu para. Finansijsko opterećenje para razlog je za odustajanja i manju upotreba ART procedura i u bogatijim zemljama ukoliko politika javnog finansiranja ART procedura nije adekvatna (279).

Iz tog ugla naš zadatak je da u pristup infertilnom paru, sprovođenje procedure VTO i drugih procedura ozbiljno uzmemo u razmatranje i inkorporiramo stavove naših pacijenata kao bitne stavke partnerskog odnosa.

Istraživanje u toku disertacije je zaključilo da 98.67% pacijenata podržava rutinsku upotrebu histeroskopije pred prvu VTO, čak 83.3% pacijenata podržava rutinsku upotrebu histeroskopije pred svaki postupak VTO, nakon što im je predočena mogućnost i najmanjih benefita, čime je finalno potvrđena i **prva istraživaka hipoteza kako je upotreba rutinske histeroskopije pre postupaka vantelesne oplodnje je visoko prihvatljiva od strane pacijenata.**

Simptomatično je da je u našem istraživanju dobijena statistički značajna razlika u podršci rutinske histeroskopije pred svaki postupak VTO (91,18% napsram 76,83%) kod pacijenata koji su iskusili prethodno neuspehu VTO (Tabela 18) potvrđujući stav o traumatičnom iskustvu koje neuspela VTO ostavlja na parove i njihovoj spremnosti da u postupak VTO uđu maksimalno pripremljeni uz što manje nepoznanica.

Kako je glavni cilj para da dođe do potomstva, stopa živorođenja je glavni motiv i pokretač za parove u postupku VTO kao što su pokazale i studije o implementaciji SET-a (280), tako da su parovi po svim istraživanjima spremni da prihvate bilo koju opciju za koju postoji osnovana sumanj da povećava stopu trudnoće, što je u vremenu odsustva jasnih kliničkih preporuka i dokaza “klizav teren” za nekritički marketing, nepotrebne procedure, trošak i dodatne rizike, čemu smo svedoci u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Sa druge strane svesni smo i želje pacijenta da tretman bude bezdedan, što manje neprijatan, uz primetne afinitete ka umerenijim terapijskim opcijama, poput umerene stimulacije u IVF-

u (277). Iz tog ugla bitno nam je da razmotrimo kako pacijenti prihvataju dodatnu operativnu proceduru, najčešće u opštoj anesteziji iako je ambulantni pristup prihvatljiviji, i koji su faktori koji utiču na njihovu odluku.

Analogno našem ispitivanju, u studiji koja je ispitivala stavove žena o dodatnim injekcijama, ceni tretmana i stopi živorođenja dobijeno je da jedna dodatna injekcija neće negativno uticati na izbor pacijentkinje, ali ukoliko se želi kompenzovati stres i cenu prihvatanja ove dodatne opcije povećanje stope trudnoća treba da iznosi bar 6%, što nam služi kao model u analizi stavova pacijenata o očekivanjima od prihvatanja i drugih terapijskih modaliteta koji nisu standard (276). Navedena studija je čak razvila model u kome je dokazano koliko karakteristike samih pacijenata utiču na stavove. Godine žene, prihodi, paritet i trajanje infertiliteta najznačajniji su parametri koji oblikuju stavove pacijentkinja, te je žena starosti 35 godina sa sekundarnim infertilitetom spremna da prihvati povećanje cene od 1000 evra ukoliko bi je to izložilo povećanju stope trudnoće od 13% u proseku, dok je za ženu starosti 40 sa primarnim infertilitetom koji traje preko 2,5 godine ta cena bila prihvatljiva i za povećanje stope živorođenja od 6% (276)

Prospektivna studija na gotovo 1000 žena tokom 11 godina u Australiji ispitivala je bezbednost, efikasnost i prihvatljivost ambulantne histeroskopije, i dobijenje uspešan histeroskopski pristup u 94% pacijentkinje, uz potrebu za dodatnom histeroskopijom kod 26% pacijentkinja, mahom usled nemogućnosti kompletnog operativnog odstranjivanja mioma i većih polipa. U toku ispitivanja 88 % pacijenata je izjavilo kako bi rado ponovili proceduru. Glavni razlozi za uspeh procedure bili su bolnost menopauzalni status i paritet a glavni faktor koji je uticao na prihvatljivost pacijenta bila je razlika između očekivanog i stvarnog bola (281).

Naše istraživanje ukazalo je i na značajan problem u stavovima pacijenata o praktičnim aspektima izvođenja procedure koji je sigurno generisan višegodišnjim stavovima i radom ginekologa i zdravstvenog sistema uopšte. Iako je koncept ambulantne histeroskopsije inkorporiran, bezbedan i prihvaćen od strane pacijenata u brojnim sredinama gotovo 2 decenije (20,282) 97,33% naših pacijentkinja preferira obavljanje procedure u operacionoj sali bolnice, a 96,67% pacijentkinja preferira obavljanje procedure u OIV anesteziji. Ovo je svakako posledica odsustva adekvatne edukacije i činjenice da su kao odgovore za date stavove pacijentkinje navodile strah od intervencije, strah od bola, prethodno “pozitivno”iskustvo sa anestezijom, stav da je borba sa infertilitetom dovoljno stresna i da ne žele dodatna opterećivanja te priliku da se relaksiraju i

“odspavaju”. Rizici o cena anestezije svakako nisu zanemarljivi te rezultati naše studije mogu poslužiti kao validna osnova za identifikovanje izazova koji se adekvatnom edukacijom u budućnosti moraju prevazići. Ipak moramo imati na umu da su infertilne pacijentkinje motivisane za istrajanje na cilju, te da im dodatni diskomfor i rizici u našoj sredini nisu prioritet kao u određenim zapadnoevropskim zemljama, pre svega usled motivacije za ostvarivanjem roditeljstva. Tako je u InSIGHT studiji većina neuspelih histeroskopija zapravo bila posledica bolnosti i sledstvenog odustajanja pacijentkinja od tretmana što je teško zamislivo u našoj sredini (25)

Dugo trajanje infertiliteta kod naših pacijentkinja pre dobijanja adekvatnog tretmana, u poređenju sa stranim studijama nesumljivo dovodi do dodatnih psiholoških posledica te autoakuzacionih i heteroakuzacionih fenomena koji olakšanje ponekada traže u prihvatanju, čak i traženju brojnih kliničkih intervencija. Svedoci smo intenzivnog, nekritičkog i prekomernog tretmana infertilnih pacijenata kako u dijagnostičkom tako i u terapijskom smislu brojnim intervencijama koje sigurno nisu bez troška i rizika, a za koje je nedvosmisleno dokazano da nemaju nikakav uticaj na tok i ishod VTO. Indikaciju za navedeni tretman postavljaju koliko lekari, toliko i pacijenti opterećeni i dezinformisanim brojnim podacima koji su pre iz domena marketinga industrije i klinika nego medicine zasnovane na dokazima. Ovo dodatno nameće potrebu o dubljem uvidu u brojne etičke izaove sa kojima se suočavaju svi kliničari koji se bave ovom delikatnom oblašću.

## **5.16 PREPORUKE ZA NAŠU SREDINU – IMPLEMENTACIJA AMBULANTNOG (OFFICE) PRISTUPA**

Na osnovu naših rezultata ali i svega iznetog formulisanje kliničkih preporuka za našu sredinu uzevši u obzir sve specifičnosti našeg zdravstvenog sistema podrazumevale bi:

1. Peporuku za obavljanje histeroskopije kod ultrazvučno detektovane patologije kavuma uterusa, uz adekvatno informisanje pacijenta o odsustvu nedvosmislenih naučnih dokaza o realnom uticaju samog nalaza i povećanju stope trudnoće nakon procedure. U datim kliničkim okolnostima, stavovima pacijenata, a u svetlu rezultata naše studije ova preporuka trebalo da se u budućim istraživanjima dodatno osnaži sprovođenjem dobro dizanim, poželjno multicentričnih RCT.

2. Preporuku za obavljanje histeroskopije kod svih pacijenata koje su iskusile bar jedan neuspeli pokušaj VTO, uz adekvatno informisanje pacijenta o odsustvu nedvosmislenih naučnih dokaza o benefitu procedure u smislu povećanja stope trudnoće.
3. Iako povećanje stope kliničke trudnoće nakon sprovođenja rutinske histeroskopije pred prvu VTO koji je dobijen u našoj studiji inicijalno nije dostigao statističku značajnost, stavovi pacijenata, nedvosmislene prednosti histeroskopije poput otkrivanja neprepoznate patologije i najverovatnije povećanje stope kliničke trudnoće, nameću uslovnu preporuku za histeroskopiju u datoj situaciji, uzevši u obzir limitiran broj pokušaja VTO u našoj sredini.

Rutinska upotreba histeroskopije kako pred prvu VTO, tako i pred bilo koju VTO svakako je svrsishodna, ali je preporuka uslovna usled odsustva statistički značajnijeg povećanja stope kliničke trudnoće, uz značajno opterećenje zdravstvenog sistema i suboptimalnu analizu trošak/dopit. Ova klinička indikacija praktikovanja histeroskopije bila bi svrsishodna jedino u slučaju implementacije koncepta ambulantne histeroskopije što je svakako dalji zadatak našeg kliničkog i naučno-istraživačkog rada i jedna od glavnih preporuka disertacije.

Glavni nedostaci histeroskopije u sredinama sa skromnijim budžetom zdravstvenih centara su slabija dostupnost u manjim centrima, suboptimalna analiza trošak/dobit i posledično značajne liste čekanja za proceduru (207). Kako je vreme do postupka VTO i trudnoće jedan od najbitnijih faktora, i ključni prioritet pacijenata što je potvrđeno i našom studijom, značajniji naponi moraju se uložiti kako bi histeroskopija postala dostupnija, izvodljivija za širi krug operatera i pacijenata i smanjila celokupno opterećenje ne samo zdravstvenog sistema već i borbe sa infertilitetom za brojne parove. Uzevši u obzir limitirano finansiranje postupaka VTO u našoj sredini strategije upotrebe histeroskopije tek nakon neuspešnih pokušaja nisu adekvatna opcija.

Kako bismo čak i svetlu diskutabilnog poboljšanja uspeha VTO nakon histeroskopije učinili odnos troška i dobiti efikasnijim, pored unapređivanja efikasnosti procedure neophodno je smanjiti njenu cenu, invazivnosti i opterećenje zdravstvenog sistema. Ambulantna histeroskopija predstavlja spoj svega navedenog i iako je u brojnim centrima prihvaćena i dokazana kao bezbedna, efikasna i izvodljiva gotovo 2 decenije (20), njeno prihvatanje u ovom formatu je ograničeno, pogotovo u našoj sredini (23). Pored stavova pacijenata tu su pre svega organizacioni

problemi, iako najveću kočnicu u prihvatanju ambulantne histeroskopije predstavljaju najverovatnije sami ginekolozi i opterećenje standardizacijom treninga i akreditacije operatera (283).

Iskustva određenih zemalja na ovom putu mogu nam biti od koristi u implementiranju ambulantne – office histeroskopije (OH). U Velikoj Britaniji je broj OH je sa 514 tokom 2003. godine porastao na 17529 tokom 2009. i 25992 tokom 2012. čineći trećinu svih histeroskopija uz trend rasta. Iskustva ove zemlje identifikuju sledeće korake kao bitne u uspešnom implementiranju sistema OH (283).

### **Organizacija službe:**

1. Ambulantna služba za dijagnostičku histeroskopiju treba da se organizuje u okviru bolnice u datoj zajednici uz mogućnost operativne histeroskopije za selektovane slučajeve.
2. Klinike za histeroskopiju bi trebalo da poseduju adekvatnu savremenu opremu u skladu sa nacionalnim standardima.
3. Savetuje se osnivanje koncepta “jednodnevnih klinika” za problematiku poput iregularnog uterinog krvarenja sa histeroskopskim i sonografskim pristupom.

Klinička racionalnost za promenu pristupa leži u činjenici da se savremena medicina suočava sa starenjem populacije, porastom učestalosti komorbiditeta, te potrebom za bržim, preciznijim dijagnostičkim testovima, povećanim očekivanjima pacijenata te povećanjem opterećenjem ginekološke službe što zahteva implementiranja novog pristupa pružanja medicinskih usluga koji će biti najefikasniji (poput jednodnevnih klinika), bezbedniji (savremene minimalno invazivne terapijske opcije) i najisplativiji (ambulantno okruženje) (284).

Iz navedenog modela predložen je sledeći **algoritam implementacije** sa sukcesivnim koracima:

1. Promeniti stavove osoblja, kolega i pacijenata identifikovanjem i prevazilaženjem prepreka.
2. Razvoj dijagnostičkih ambulantnih histeroskopskih službi uz cilj da se 70-90% navedenih procedura izvodi ambulantno.
3. Uvođenje ambulantne operativnu histeroskopiju za polipe < 2 cm, uz adekvatnu opremu, brošure i inicijalno samo za selektovane pacijente.

4. Uvođenje jednodnevne "vidi i leči" klinike u konceptu ambulantne histeroskopije, nakon adekvatne obuke uz intergisanu ultrazvučnu službu, prevashodno za poremećaje menstrualnog krvarenja kao primarnog interesa.
5. Uvođenje sveouhvatne službe za operativnu histeroskopiju i primarnim intervecijama polipima, enometrijalnim ablacijama i histeroskopskim sterilizacijama.

Predloženi protokol svakako bi modifikovali našim kliničkim standardima te najčešćom strukturom intervencija sa kojom se susrećemo i definitivno bi to bilo sukcesivno izmeštanje koncepta jednodnevne dijagnostike infertiliteta koji smo, doduše u bolničkim uslovima uspešno implementirali pre više od 10 godina (24).

Pored edukovanog tima, poželjno licenciranog za datu problematiku, jedna od ključnih stvari u pažljivoj implementaciji ambulantne histeroskopije je i adekvatna selekcija pacijenata. Pacijenti koji nisu pogodni za ambulantnu histeroskopiju su oni koji i nakon adekvatnog savetovanja i dalje odbijaju opciju ambulantnog rada, i iskustva naše studije ukazuju da je ovo oblast na kojoj ćemo morati najviše da poradimo; pacijentkinje otežane pokretljivosti; pacijeni koji nisu u mogućnosti da daju pisanu saglasnost, klinički teži nalazi kavuma uterusa koji po proceni operatera predstavljaju ograničenje za ambulantni rad, iako izveštaji centara koji su godinama implementirali ovaj koncept sa uspehom opisuju tretman i velikih submukoznih mioma (283,285).

Ambulantna histeroskopija je pre više od deceniju potvrđena kao efikasna i bezbedna u izvođenju gotovo svih histeroskopskih operacije i to na ogromnim serijama pacijenata poput serije od 4863 pacijentkinje u studiji Bettocchi i sar. ili 2500 histeroskopija u drugoj turskoj studiji i to bez značajnijih operativnih komplikacija, razvoja endometritisa, čak i u odsustvu profilaktičke primene antibiotika ili potrebe za mikrobiološkim ispitivanjima u odsustvu jasnih kliničkih znakova genitalne infekcije (21,282)

Pored navedenih preporuka kao dalji zadatak našeg kliničkog i naučno-istraživačkog rada na osnovu rezultata disertacije svakako ostaje borba za podizanje svesti o infertilitetu i njegovom blagovremenom tretmanu, kontinuirana edukacija kako pacijenata tako i zdravstvenih radnika o svim medicinskim, društvenim i psihosocijalnim aspektima borbe sa infertilitetom kao i posledicama koje neadekvatna praksa izaziva.

Dalji naučnoistraživački napor očekuje se u definisanju realnog kliničkog uticaja brojnih patoloških stanja kavuma uterusa kako na spontanu reprodukciju tako i na ishod ART procedura,

kao i merljivog efekta i očekivane koristi nakon operativnog tretmana navedenih stanja. Dosadašnja iskustva ukazuju da će odgovor na ova pitanja biti moguć jedino zajedničkim zalaganjem i postavljanjem velikih multicentričnih dobro dizajniranih studija.

Isti pristup se očekuje i u daljem osnaživanju uloge histeroskopije u tretmanu infertiliteta postupcima VTO, uzevši u obzir postulate individualizovane medicine, te dolaska do konkretnih odgovora na konkretna pitanja. Kada raditi histeroskopiju, kako raditi histeroskopij, kome raditi histeroskopiju pred VTO samo su osnovne smernice. Primenjivati histeroskopiju ili samo leziju endometrijuma, raditi intervenciju u aktuelnom ciklusu VTO ili prethodnom ciklusu, optimalizovati tehniku lezije endometrijuma, kao i evaluacija uticaja svih navedenih entiteta na buduće paradigme VTO, transfer u svežem ili odmrznutom ciklusu, potrebu za histeroskopijom u prirodnom ili stimulisnom ciklusu i brojna druga pitanja zahtevaće naš odgovor u budućim studijama, koji dugujemo pre svega našim pacijentima a koji će svakako zavisiti i od holističkog pristupa i pogleda na ulogu ART procedura u savremenoj ljudskoj reprodukciji.



## 6 ZAKLJUČAK

---

Histeroskopija ima dragocenu i nezamenjivu ulogu u tretmanu infertiliteta postupcima van-telesne oplodnje koja se ogleda ne samo u direktnom povećanju uspeha vantelense oplodnje u brojnim kliničkim situacijama nego i u optimalizovanju pristupa infertilnim pacijentima koji ulaze u postupak VTO, a na osnovu postulata medicine zasnovane na dokazima i personalizovane medicine. Ključno pitanje je šta očekujemo od reproduktivne medicine danas, kako predviđamo buduće trendove i paradigme ove oblasti i imamo li prava da u navedenim očekivanjima previdimo i zanemarimo stanje materice.

Standardi koje treba da zadovoljimo, očekivanja naših pacijenata i nas samih, nameću nam, u eri ekspanzivnog rasta ART procedura, povećanja upotreba sofisticiranih molekularnih procedura i uvođenja brojnih inovacija potrebu za vraćanjem na holistički pristup pacijentu i osnaživanje uloge kliničkog tretmana. Želja za uspehom mora naći optimalnu ravnotežu između bezbednosti, i uvažiti sve relevantne kliničke specifičnosti pacijenata u ovoj multidisciplinarnoj oblasti.

Disertacija je iznedrila brojne kliničke zaključke koji prevazilaze samo uticaj histeroskopije na ishod VTO i ukazuju na brojne druge aspekte i pozitivne strane upotrebe navedene procedure u sprovođenju asistirane reprodukcije.

1. Histeroskopija predstavlja najsenzitivniju metodu u dijagnostici i tretmanu patologije kavuma uterusa kojom se otkriva prethodno neprepoznata patologija kavuma uterusa kod trećine pacijenata koji ulaze u postupak VTO, bilo da je reč o pacijentima koji ulaze u prvi postupak VTO ili su imali prethodni neuspeli postupak VTO.
2. Sprovođenje histeroskopije pred postupak VTO bilo da se na histeroskopiji nađe uredan ili patološki nalaz koji se tretira u istom aktu, u odnosu na ulazak u postupak VTO bez sprovedene histeroskopije dovodi do statistički značajno veće stope kliničke trudnoće po embriotransferu.
3. Rutinsko sprovođenje histeroskopije pred prvi postupak VTO kod pacijentkinja sa urednim ultrazvučnim nalazom povećava stopu kliničke trudnoće iako ovo povećanje ima diskutabilnu statističku značajnost.

4. Rutinsko sprovođenje histeroskopije kod svih pacijenata pred postupak VTO dovodi do stastički značajno veće stope kliničkih trudnoća po embriotransferu u odnosu na pacijente kojima histeroskopija nije sprovedena.
5. Primena histeroskopije pred postupak VTO dovodi do manje učestalosti teških procedura embriotransfera stvarajući preduslove za optimalan ishod VTO.
6. Primena jatrogene lezije endometrijuma u toku dijagnostičke histeroskopije dovodi do najveće stope trudnoće sledstvenog postupka VTO opravdavajući rutinski dodatak ove intervencije dijagnostičkoj histeroskopiji.
7. Rutinsko sprovođenje histeroskopije pred prvi ili svaki postupak VTO visoko je prihvatljivo od strane pacijenata, i prihvatljivost histeroskopije raste sa brojem prethodnih neuspelih pokušaja VTO.
8. Iskustva pacijenata u smislu bolnosti i komfora nakon histeroskopije odgovaraju iskustvima pacijenata nakon transvaginalne endosonografije.
9. Većina pacijenata preferira sprovođenje histeroskopije u bolničkim uslovima u opštoj intravenskoj anesteziji.
10. Sprovođenje histeroskopije, broj dobijenih embriona, postojanje embriona visokog kvaliteta za proceduru embriotransfera i sprovođenje embriotransfera u stadijumu blastociste nezavisni su prediktori uspeha ciklusa VTO.

Histeroskopiju i dalje možemo smatrati klinički apsolutno preporučljivom u situaciji prethodnog neuspelog postupka VTO i sumnje na patološki nalaz kavuma uterusa dok njena rutinska primena pred prvi ili svaki postupak VTO (u slučaju da je histeroskopija već sprovedena) na osnovu rezultata studije nema apsolutnu opravdanost u trenutnom kliničkom kontekstu našeg zdravstvenog sistema. Rutinska upotreba histeroskopije pred prvi ili svaki postupak VTO opravdana je iz ugla zdravstvenog sistema jedino ukoliko se implementira koncept ambulantne histeroskopije.

Na osnovu najnovijih kliničkih i naučnih saznanja kao i rezultata disertacije, savremena uloga odnosno klinička relevantnost histeroskopije ogleda se u implementaciji personalizovanog pristupa i drugih postulata individualizovane medicine. Postavljanje pacijenta i svih njegovih specifičnosti u centar pažnje i maksimalna optimalizacija algoritma dijagnostike i tretmana infertilnog para pre svega u postupku vantelense oplodnje zahteva da se se svim relevantnim činionicima ljudske reprodukcije, uključujući i stanje materice posvetia najveća moguća pažnja.

Potruga za uspehom nedvosmisleno ne leži isključivo niti u embrionalnim ni u uterinim faktorima, već u shvatanju činjenice da su ova dva entiteta komplementarna, a ne konkurentna i deo jednog novog kvailteta koji nastaje, optimalne komunikacije i sinhronizacije embriona i materice. Ovome doprinose i određene histeroskopske intervencije otvarajući put ka balansu utero-centrične i embriocentrične teorije uspeha VTO. Odgovornost koja proizilazi iz holističkog pristupa ogleđa se i u pitanju da ukoliko briga o embrionu podrazumeva kompleksnost ispitivanja ne samo morfologije nego uveliko i metabolomike, hromozomskog statusa i celokupnog genoma, smemo li uterus ostaviti bez dostojne kliničke procene.

Uloga histeroskopije vraća pojam reproduktivne hirurgije kao bitnog aspekta bavljenja reproduktivnom medicinom, i osnažuje kvalitet timskog rada u ovoj multidisciplinarnoj oblasti. Reproductivna medcina je prethodnih decenijama izašla iz ruku operativne ginekologije, te u svojoj percepciji savremeni subspecijalisti infertiliteta, reproductivni endokrinolzi mahom uzimaju druge aspekte kao bitne, ponekad zapostavljajući osnovne kliničke postulate.

Savremena medicina od nas ne zahteva samo statistički uspeh jedne kliničke intervencije već insistira na celokupnom pozitivnom iskustvu pacijenta što se postiže jedino celovitim pristupom i sagledavanjem svih aspekata pacijenta, tretmana i ishoda. Dati pacijentu pravu poruku, upoznati pacijenta i involvirati ga u proces odlučivanja odagnavanjem nepoznanica, osećajem sigurnosti i kontrole, te finalno osnažiti pacijenta da pomogne sam sebi koliko i lekar postulati su optimalnog pristupa pacijentu i histeroskopija nedvosmisleno pomaže da postignemo ove ciljeve.

## 7 LITERATURA

---

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978; 2: 366.
2. Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Kupka MS, De Mouzon J, Erb K, Mocanu E, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2012: Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2016; 31(8): 1638-52.
3. Thompson C. IVF global histories, USA: between Rock and a marketplace. *Reprod Biomed Soc Online*. 2016;2:128–35.
4. Kirby T. Robert Edwards: Nobel Prize for father of in-vitro fertilisation. *Lancet*. 2010;376(9749):1293.
5. Fritz MA, Speroff L. *Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility*. 8th ed. Fritz MA, Speroff L, editors. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins; 2011.
6. El-Toukhy T, Campo R, Sunkara SK, Khalaf Y, Coomarasamy A. A multi-centre randomised controlled study of pre-IVF outpatient hysteroscopy in women with recurrent IVF implantation failure: Trial of Outpatient Hysteroscopy - [TROPHY] in IVF. *Reprod Health*. 2009;6:20.
7. Kopitovic V, Milatovic S, Pjevic AT, Bjelica A, Bujas I, Tabs N. [Results and experiences after 1000 IVF cycles at the Clinic for Gynecology and Obstetrics in Novi Sad]. *Med Pregl*. 2011;64(11–12):565–9.
8. Munro SK, Farquhar CM, Mitchell MD, Ponnampalam AP. Epigenetic regulation of endometrium during the menstrual cycle. *Mol Hum Reprod*. 2010;16(5):297–310.
9. Dahdouch EM, Balayla J, Garcia-Velasco JA. Comprehensive chromosome screening improves embryo selection: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2015;104(6):1503–12.
10. Wade JJ, MacLachlan V, Kovacs G. The success rate of IVF has significantly improved over the last decade. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2015;55(5):473–6.
11. Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirel A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: Definition and management. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(1):14–38.
12. Timeva T, Shterev A, Kyurkchiev S. Recurrent implantation failure: the role of the endometrium. *J Reprod Infertil*. 2014;15(4):173–83.
13. Margalioth EJ, Ben-Chetrit A, Gal M, Eldar-Geva T. Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3036–43.
14. Diedrich K, Fauser BCJM, Devroey P, Griesinger G. The role of the endometrium and embryo in human implantation. *Hum Reprod Update*. 2007; 13(4): 365-77.
15. Ng EHY, Li RHW, Chen L, Lan VTN, Tuong HM, Quan S. A randomized double blind comparison of atosiban in patients undergoing IVF treatment. *Hum Reprod*. 2014;29(12):2687–94.
16. Te Velde ER, Nieboer D, Lintsen AM, Braat DDM, Eijkemans MJC, Habbema JDF, et al. Comparison of two models predicting IVF success; The effect of time trends on model performance. *Hum Reprod*. 2014;29(1):57–64.
17. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human Reproduction Update*. 2006; 12(6):731-46.
18. Benagiano G, Brosens I, Habiba M. Structural and molecular features of the endomyometrium in endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):386–402.

19. Garcia-Velasco JA, Acevedo B, Alvarez C, Alvarez M, Bellver J, Fontes J, et al. Strategies to manage refractory endometrium: State of the art in 2016. *Reprod Biomed Online*. 2016;32(5):474–89.
20. Campo R, Van Belle Y, Rombauts L, Brosens I, Gordts S. Office mini-hysteroscopy. *Human Reproduction Update*. 1999; 5(1):73-81.
21. Karayalcin R, Ozcan S, Moraloglu O, Ozyer S, Mollamahmutoglu L, Batioglu S. Results of 2500 office-based diagnostic hysteroscopies before IVF. *Reprod Biomed Online*. 2010;20(5):689–93.
22. Daniilidis A, Pantelis A, Dinas K, Tantanasis T, Loufopoulos PD, Angioni S, et al. Indications of diagnostic hysteroscopy, a brief review of the literature. *Gynecol Surg*. 2012;9(1):23–8.
23. Kopitovic V, Budakov D, Pjevic AT, Pop-Trajkovic S, Djurdjevic S, Ilic D, et al. Results and experiences after 2000 performed hysteroscopies. *Srp Arh Celok Lek*. 2012;140(11–12):728–31.
24. Kopitovic V, Pjevic AT, Milatovic S. [The role and contribution of transvaginal endoscopy to diagnostics and treatment of infertility]. *Srp Arh Celok Lek*. 2013;141(11–12):830–4.
25. Smit JG, Kasius JC, Eijkemans MJC, Koks CAM, van Golde R, Nap AW, et al. Hysteroscopy before in-vitro fertilisation (inSIGHT): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10038):2622–9.
26. Kogan L, Dior U, Chill HH, Karavani G, Revel A, Shushan A, et al. Operative hysteroscopy for treatment of intrauterine pathologies does not interfere with later endometrial development in patients undergoing in vitro fertilization. *Arch Gynecol Obstet*. 2016;293(5):1097–100.
27. van Loendersloot LL, van Wely M, Limpens J, Bossuyt PMM, Repping S, van der Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2010;16(6):577–89.
28. Forman EJ, Tao X, Ferry KM, Taylor D, Treff NR, Scott RT. Single embryo transfer with comprehensive chromosome screening Results in improved ongoing pregnancy rates and decreased miscarriage rates. *Hum Reprod*. 2012;27(4):1217–22.
29. Swain JE. Decisions for the IVF laboratory: comparative analysis of embryo culture incubators. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(5):535–47.
30. Kovacs P. Embryo selection: the role of time-lapse monitoring. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:124.
31. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014;101(3):656–663.e1.
32. Bosteels J, Kasius J, Weyers S, Broekmans FJ, Mol BWJ, D’Hooghe TM. Treating suspected uterine cavity abnormalities by hysteroscopy to improve reproductive outcome in women with unexplained infertility or prior to IUI, IVF, or ICSI. *Gynecol Surg*. 2013;10(3):165–7.
33. Bosteels J, Kasius J, Weyers S, Broekmans FJ, Mol BW illem J, D’Hooghe TM. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. *Cochrane database Syst Rev*. 2015;2(2):CD009461.
34. Allen BD, Adashi EY, Jones HW. On the cost and prevention of iatrogenic multiple pregnancies. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(3):281–5.
35. Lien Y-R, Lu H-F, Peng F-S, Chiu B-C, Yeh S-H, Yang Y-S. Factors associated with failure to achieve birth emphasizing a successful singleton at term following in vitro fertilization. *Int J Gynaecol Obstet*. 2010;110(1):57–60.
36. Ubaldi FM, Capalbo A, Colamaria S, Ferrero S, Maggiulli R, Vajta G, et al. Reduction of multiple pregnancies

- in the advanced maternal age population after implementation of an elective single embryo transfer policy coupled with enhanced embryo selection: pre- and post-intervention study. *Hum Reprod.* 2015;30(9):2097–106.
37. Harbottle S, Hughes C, Cutting R, Roberts S, Brison D. Elective Single Embryo Transfer: an update to UK Best Practice Guidelines. *Hum Fertil (Camb).* 2015;18(3):165–83.
  38. El-Toukhy T, Campo R, Khalaf Y, Tabanelli C, Gianaroli L, Gordts SS, et al. Hysteroscopy in recurrent in-vitro fertilisation failure (TROPHY): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387(10038):2614–21.
  39. Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod.* 2007;22(6):1506–12.
  40. O'Flynn N. Assessment and treatment for people with fertility problems: NICE guideline. *Br J Gen Pract.* 2014;64(618):50–1.
  41. Gnoth C, Godehardt D, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Freundl G. Time to pregnancy: results of the German prospective study and impact on the management of infertility. *Hum Reprod.* 2003;18(9):1959–66.
  42. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Hum Reprod.* 2009;24(11):2683–7.
  43. Sulovic V, Ljubic A. [Medical and social factors affecting reproduction in Serbia]. *Srp Arh Celok Lek.* 2002;130(7–8):247–50.
  44. Alkema L, Raftery AE, Gerland P, Clark SJ, Pelletier F, Buettner T, et al. Probabilistic projections of the total fertility rate for all countries. *Demography.* 2011; 48(3):815–39.
  45. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2015;103(6): 44-50.
  46. Revelli A, Bionani V, Gennarelli G, Canosa S, Dalmasso P, Benedetto C. IVF results in patients with very low serum AMH are significantly affected by chronological age. *J Assist Reprod Genet.* 2016; 33(5):603–9.
  47. Forti G, Krausz C. Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(12):4177–88.
  48. Pellicer A, Gaitan P, Neuspiller F, Ardiles G, Albert C, Remohi J, et al. Ovarian follicular dynamics: from basic science to clinical practice. *J Reprod Immunol.* 1998;39(1–2):29–61.
  49. Busardo FP, Gulino M, Napoletano S, Zaami S, Frati P. The evolution of legislation in the field of Medically Assisted Reproduction and embryo stem cell research in European union members. *Biomed Res Int.* 2014;2014:307160.
  50. Cohen J, Trounson A, Dawson K, Jones H, Hazekamp J, Nygren KG, et al. The early days of IVF outside the UK. *Hum Reprod Update.* 2005;11(5):439–59.
  51. CHANG MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature.* 1959;184:466–7.
  52. Edwards RG, Donahue RP, Baramki TA, Jones HWJ. Preliminary attempts to fertilize human oocytes matured in vitro. *Am J Obstet Gynecol.* 1966;96(2):192–200.
  53. De Kretzer D, Dennis P, Hudson B, Leeton J, Lopata A, Outch K, et al. Transfer of a human zygote. *Lancet (London, England).* 1973;2(7831):728–9.
  54. Kamphuis EI, Bhattacharya S, van der Veen F, Mol BWJ, Templeton A. Are we overusing IVF? *BMJ.* 2014; 348: 252.

55. Bosteels J, Weyers S, Puttemans P, Panayotidis C, Van Herendael B, Gomel V, et al. The effectiveness of hysteroscopy in improving pregnancy rates in subfertile women without other gynaecological symptoms: A systematic review. *Hum Reprod Update*. 2009;16(1):1–11.
56. Zayed SM, Elsetohy KA, Zayed M, Fouda UM. Factors affecting pain experienced during office hysteroscopy. *Middle East Fertil Soc J*. 2015;20(3):154–8.
57. Campo R, Molinas CR, Rombauts L, Mestdagh G, Lauwers M, Braekmans P, et al. Prospective multicentre randomized controlled trial to evaluate factors influencing the success rate of office diagnostic hysteroscopy. *Hum Rep*. 2005; 20(1):258-63.
58. Emanuel MH. New developments in hysteroscopy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2013;27(3):421–9.
59. Marciniak A, Nawrocka-Rutkowska J, Wisniewska B, Szydłowska I, Brodowska A, Starczewski A. [Role of office hysteroscopy in the diagnosis and treatment of uterine pathology]. *Pol Merkur Lekarski*. 2015;39(232):251–3.
60. Siam S. Role of office hysteroscopy in the evaluation of infertile women after controlled ovarian stimulation/intra uterine insemination failure. *Middle East Fertil Soc J*. 2014;19(4):239–42.
61. Valle RF. Development of hysteroscopy: from a dream to a reality, and its linkage to the present and future. *J Minim Invasive Gynecol*. 2007;14(4):407–18.
62. Graham A, Datta S. Outpatient hysteroscopy. *Obstet Gynaecol Reprod Med*. 2015;26(1):7–11.
63. Stocker L, Umranikar A, Moors A, Umranikar S. An overview of hysteroscopy and hysteroscopic surgery. *Obstet Gynaecol Reprod Med*. 2013;23(5):146–53.
64. Wortman M, Daggett A, Ball C. Operative hysteroscopy in an office-based surgical setting: review of patient safety and satisfaction in 414 cases. *J Minim Invasive Gynecol*. 2013;20(1):56–63.
65. Centini G, Troia L, Lazzeri L, Petraglia F, Luisi S. Modern operative hysteroscopy. *Minerva Ginecol*. 2016; 68(2):126–32.
66. McGurgan PM, McIlwaine P. Complications of hysteroscopy and how to avoid them. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2015; 29(7):982–93.
67. La Sala GB, Montanari R, Dessanti L, Cigarini C, Sartori F. The role of diagnostic hysteroscopy and endometrial biopsy in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril*. 1998; 70(2):378–80.
68. Fatemi HM, Kasius JC, Timmermans A, Van Disseldorp J, Fauser BC, Devroey P, et al. Prevalence of unsuspected uterine cavity abnormalities diagnosed by office hysteroscopy prior to in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2010;25(8):1959–65.
69. Taskin EA, Berker B, Ozmen B, Sonmezer M, Atabekoglu C. Comparison of hysterosalpingography and hysteroscopy in the evaluation of the uterine cavity in patients undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril*. 2011; 96(2):349–52.
70. Ludwin A, Ludwin I, Banas T, Knafel A, Miedzyblocki M, Basta A. Diagnostic accuracy of sonohysterography, hysterosalpingography and diagnostic hysteroscopy in diagnosis of arcuate, septate and bicornuate uterus. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011; 37(3):178–86.
71. De Felice C, Porfiri LM, Savelli S, Alfano G, Pace S, Manganaro L, et al. Infertility in women: combined sonohysterography and hysterosalpingography in the evaluation of the uterine cavity. *Ultraschall Med*. 2009; 30(1):52–7.
72. Kasius JC, Broekmans FJM, Veersema S, Eijkemans MJC, Van Santbrink EJP, Devroey P, et al. Observer agreement in the evaluation of the uterine cavity by hysteroscopy prior to in vitro fertilization. *Hum Reprod*.

- 2011;
73. Kasius JC, Broekmans FJM, Sie-Go DMDS, Bourgain C, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: A multicenter observer study. *Hum Reprod.* 2012; 27(1):153-8.
  74. Tan BK, Vandekerckhove P, Kennedy R, Keay SD. Investigation and current management of recurrent IVF treatment failure in the UK. *BJOG.* 2005; 112(6):773–80.
  75. Cenksoy P, Ficicioglu C, Yildirim G, Yesiladali M. Hysteroscopic findings in women with recurrent IVF failures and the effect of correction of hysteroscopic findings on subsequent pregnancy rates. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;287(2):357–60.
  76. Moini A, Kiani K, Ghaffari F, Hosseini F. Hysteroscopic findings in patients with a history of two implantation failures following in vitro fertilization. *Int J Fertil Steril.* 2012; 6(1):27–30.
  77. Campo R, Meier R, Dhont N, Mestdagh G, Ombet W. Implementation of hysteroscopy in an infertility clinic: The one-stop uterine diagnosis and treatment. *Facts, views Vis ObGyn.* 2014;6(4):235–9.
  78. Oliveira FG, Abdelmassih VG, Diamond MP, Dozortsev D, Nagy ZP, Abdelmassih R. Uterine cavity findings and hysteroscopic interventions in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer who repeatedly cannot conceive. *Fertil Steril.* 2003; 80(6):1371–5.
  79. Feghali J, Bakar J, Mayenga JM, Segard L, Hamou J, Driguez P, et al. [Systematic hysteroscopy prior to in vitro fertilization]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2003;31(2):127–31.
  80. Perez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, et al. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod.* 2005; 20(6):1632–5.
  81. Donnez J, Dolmans MM. Uterine fibroid management: From the present to the future. *Hum Reprod Update.* 2016; 22(6):665-686.
  82. Tomažević T, Ban-Frangež H, Virant-Klun I, Verdenik I, Požlep B, Vrtačnik-Bokal E. Septate, subseptate and arcuate uterus decrease pregnancy and live birth rates in IVF/ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2010;21(5):700–5.
  83. Fatemi HM, Kasius JC, Timmermans A, Van Disseldorp J, Fauser BC, Devroey P, et al. Prevalence of unsuspected uterine cavity abnormalities diagnosed by office hysteroscopy prior to in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 2010; 25(8):1959-65.
  84. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod.* 2015;30(2):323–30.
  85. Cobo A, Garcia-Velasco JA. Why all women should freeze their eggs. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2016; 28(3):206–10.
  86. MacLennan M, Crichton JH, Playfoot CJ, Adams IR. Oocyte development, meiosis and aneuploidy. *Semin Cell Dev Biol.* 2015;45:68–76.
  87. Keefe D, Kumar M, Kalmbach K. Oocyte competency is the key to embryo potential. *Fertil Steril.* 2015; 103(2):317–22.
  88. Jia C-W, Wang L, Lan Y-L, Song R, Zhou L-Y, Yu L, et al. Aneuploidy in Early Miscarriage and its Related Factors. *Chin Med J (Engl).* 2015; 128(20):2772–6.
  89. Schoolcraft WB. Importance of embryo transfer technique in maximizing assisted reproductive outcomes.



- Fertil Steril. 2016; 105(4):855–60.
90. Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, Folger SG, Jamieson DJ, Warner L, et al. Assisted Reproductive Technology Surveillance - United States, 2014. *MMWR Surveill Summ.* 2017; 66(6):1–24.
  91. Cobo A, Garrido N, Pellicer A, Remohi J. Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and development of a predictive model for oocyte survival rate. *Fertil Steril.* 2015;104(6):1426–8.
  92. Galliano D, Bellver J, Diaz-Garcia C, Simon C, Pellicer A. Art and uterine pathology: How relevant is the maternal side for implantation? *Hum Reprod Update.* 2015;21(1):13–38.
  93. Coates A, Kung A, Mounts E, Hesla J, Bankowski B, Barbieri E, et al. Optimal euploid embryo transfer strategy, fresh versus frozen, after preimplantation genetic screening with next generation sequencing: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2017;107(3):723–730.
  94. Meldrum DR, Su HI, Katz-Jaffe MG, Schoolcraft WB. Preimplantation genetic screening 2.0: an evolving and promising technique. *Fertility and sterility.* 2016; 106: 64–5.
  95. Xu B, Geerts D, Bu Z, Ai J, Jin L, Li Y, et al. Regulation of endometrial receptivity by the highly expressed HOXA9, HOXA11 and HOXD10 HOX-class homeobox genes. *Hum Reprod.* 2014;29(4):781–90.
  96. Haouzi D, Assou S, Mahmoud K, Tondeur S, Rème T, Hedon B, et al. Gene expression profile of human endometrial receptivity: Comparison between natural and stimulated cycles for the same patients. *Hum Reprod.* 2009;24(6):1436–45.
  97. Kasius JC, Eijkemans RJC, Mol BWJ, Fauser BCJM, Fatemi HM, Broekmans FJM. Cost-effectiveness of hysteroscopy screening for infertile women. *Reprod Biomed Online.* 2013; 26(6):619-26.
  98. Vernaev V, Reis Soares S, Budak E, Bellver J, Remohi J, Pellicer A. [Clinical factors associated with the outcome of oocyte donation]. *Gynecol Obstet Fertil.* 2007; 35(10):1015–23.
  99. Seshadri S, El-Toukhy T, Douiri A, Jayaprakasan K, Khalaf Y. Diagnostic accuracy of saline infusion sonography in the evaluation of uterine cavity abnormalities prior to assisted reproductive techniques: A systematic review and meta-analyses. *Hum Reprod Update.* 2015; 21(2):262-74.
  100. Apirakviriyā C, Rungruxsirivorn T, Phupong V, Wisawasukmongchol W. Diagnostic accuracy of 3D-transvaginal ultrasound in detecting uterine cavity abnormalities in infertile patients as compared with hysteroscopy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;200:24–8.
  101. Casper RF. It's time to pay attention to the endometrium. *Fertil Steril.* 2011 Sep;96(3):519–21.
  102. Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Endometrial pattern, thickness and growth in predicting pregnancy outcome following 3319 IVF cycle. *Reprod Biomed Online.* 2014;29(3):291–8.
  103. Bozkurt M, Sahin L, Ulas M. Hysteroscopic polypectomy decreases NF-kB1 expression in the mid-secretory endometrium of women with endometrial polyp. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;189:96–100.
  104. Di A, Sardo S, Mazzon I, Bramante S, Bettocchi S, Bifulco G, et al. Hysteroscopic myomectomy : a comprehensive review of surgical techniques. 2008;14(2):101–19.
  105. Lucas E S, Salker M S, Brosens J J. Uterine plasticity and reproductive fitness. *Reprod Biomed Online.* 2013; 27(5):506–14.
  106. Di Spiezio Sardo A, Taylor A, Tsirkas P, Mastrogamvrakis G, Sharma M, Magos A. Hysteroscopy: a technique for all? Analysis of 5,000 outpatient hysteroscopies. *Fertil Steril.* 2008; 89(2):438–43.
  107. Mouhayar Y, Yin O, Mumford SL, Segars JH. Hysteroscopic polypectomy prior to infertility treatment: A

- cost analysis and systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017;213:107–15.
108. Onalan R, Onalan G, Tonguc E, Ozdener T, Dogan M, Mollamahmutoglu L. Body mass index is an independent risk factor for the development of endometrial polyps in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2009; 91(4):1056–60.
  109. Hatasaka H. Clinical management of the uterine factor in infertility. *Clin Obstet Gynecol.* 2011;54(4):696–709.
  110. Shen L, Wang Q, Huang W, Wang Q, Yuan Q, Huang Y, et al. High prevalence of endometrial polyps in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril.* 2011; 95(8):2722–4.
  111. Rackow BW, Jorgensen E, Taylor HS. Endometrial polyps affect uterine receptivity. *Fertil Steril.* 2011; 95(8):2690–2.
  112. Batioglu S, Kaymak O. Does hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation affect IVF? *Reprod Biomed Online.* 2005;10(6):767–9.
  113. Ghaffari F, Arabipoor A, Bagheri Lankarani N, Hosseini F, Bahmanabadi A. Hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation in IVF/ICSI cycles: a cross-sectional study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016; 205:37-42.
  114. Di Spiezio Sardo A, Calagna G, Guida M, Perino A, Nappi C. Hysteroscopy and treatment of uterine polyps. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015;29(7):908–19.
  115. Isikoglu M, Berkkanoglu M, Senturk Z, Coetzee K, Ozgur K. Endometrial polyps smaller than 1.5 cm do not affect ICSI outcome. *Reprod Biomed Online.* 2006;12(2):199–204.
  116. Zupi E, Centini G, Lazzeri L. Asherman syndrome: an unsolved clinical definition and management. *Fertility and sterility.* 2015; 104: 1380–1.
  117. Bougie O, Lortie K, Shenassa H, Chen I, Singh SS. Treatment of Asherman’s syndrome in an outpatient hysteroscopy setting. *J Minim Invasive Gynecol.* 2015;22(3):446–50.
  118. Hart R, Khalaf Y, Yeong CT, Seed P, Taylor A, Braude P. A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod.* 2001;16(11):2411–7.
  119. Munro MG, Critchley HOD, Broder MS, Fraser IS. FIGO classification system (PALM-COEIN) for causes of abnormal uterine bleeding in nongravid women of reproductive age. *Int J Gynaecol Obstet.* 2011; 113(1):3–13.
  120. Wise LA, Laughlin-Tommaso SK. Epidemiology of Uterine Fibroids: From Menarche to Menopause. *Clin Obstet Gynecol.* 2016;59(1):2–24.
  121. Somigliana E, Vercellini P, Benaglia L, Abbiati A, Barbara G, Fedele L. The role of myomectomy in fertility enhancement. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008;20(4):379–85.
  122. Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril.* 2009; 91(4):1215–23.
  123. Donnez J, Donnez O, Matule D, Ahrendt H-J, Hudecek R, Zatik J, et al. Long-term medical management of uterine fibroids with ulipristal acetate. *Fertil Steril.* 2016;105(1):165–173.
  124. Sunkara SK, Khairy M, El-Toukhy T, Khalaf Y, Coomarasamy A. The effect of intramural fibroids without uterine cavity involvement on the outcome of IVF treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2010;25(2):418–29.
  125. Yan L, Ding L, Li C, Wang Y, Tang R, Chen Z-J. Effect of fibroids not distorting the endometrial cavity on

- the outcome of in vitro fertilization treatment: a retrospective cohort study. *Fertil Steril*. 2014;101(3):716–21.
126. Arslan AA, Gold LI, Mittal K, Suen T-C, Belitskaya-Levy I, Tang M-S, et al. Gene expression studies provide clues to the pathogenesis of uterine leiomyoma: new evidence and a systematic review. *Hum Reprod*. 2005;20(4):852–63.
  127. Maheshwari A, Gurunath S, Fatima F, Bhattacharya S. Adenomyosis and subfertility: A systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes. *Hum Reprod Update*. 2012;18(4):374–92.
  128. Larsen SB, Lundorf E, Forman A, Dueholm M. Adenomyosis and junctional zone changes in patients with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011;157(2):206–11.
  129. Benaglia L, Cardellicchio L, Leonardi M, Faulisi S, Vercellini P, Paffoni A, et al. Asymptomatic adenomyosis and embryo implantation in IVF cycles. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(5):606–11.
  130. Vercellini P, Consonni D, Dridi D, Bracco B, Frattaruolo MP, Somigliana E. Uterine adenomyosis and in vitro fertilization outcome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2014;29(5):964–77.
  131. Li T, Li Y-G, Pu D-M. Matrix metalloproteinase-2 and -9 expression correlated with angiogenesis in human adenomyosis. *Gynecol Obstet Invest*. 2006;62(4):229–35.
  132. Benaglia L, Cardellicchio L, Leonardi M, Faulisi S, Vercellini P, Paffoni A, et al. Asymptomatic adenomyosis and embryo implantation in IVF cycles. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(5):606–11.
  133. Alabiso G, Alio L, Arena S, Barbasetti di Prun A, Bergamini V, Berlanda N, et al. Adenomyosis: What the Patient Needs. *J Minim Invasive Gynecol*. 2016;23(4):476–88.
  134. Molinas CR, Campo R. Office hysteroscopy and adenomyosis. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2006. 20(4):557-67.
  135. Grimbizis GF, Di Spiezio Sardo A, Saravelos SH, Gordts S, Exacoustos C, Van Schoubroeck D, et al. The Thessaloniki ESHRE/ESGE consensus on diagnosis of female genital anomalies. *Gynecol Surg*. 2016;13(1):1–16.
  136. Grimbizis GF, Gordts S, Di Spiezio Sardo A, Brucker S, De Angelis C, Gergolet M, et al. The ESHRE/ESGE consensus on the classification of female genital tract congenital anomalies. *Hum Reprod*. 2013;28(8):2032–44.
  137. Chan YY, Jayaprakasan K, Zamora J, Thornton JG, Raine-Fenning N, Coomarasamy A. The prevalence of congenital uterine anomalies in unselected and high-risk populations: A systematic review. *Hum Reprod Update*. 2011;17(6):761–71.
  138. Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update*. 2001;7(2):161–74.
  139. Venetis CA, Papadopoulos SP, Campo R, Gordts S, Tarlatzis BC, Grimbizis GF. Clinical implications of congenital uterine anomalies: A meta-analysis of comparative studies. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(6):665–83.
  140. Ludwin A, Ludwin I, Pitynski K, Banas T, Jach R. Role of morphologic characteristics of the uterine septum in the prediction and prevention of abnormal healing outcomes after hysteroscopic metroplasty. *Hum Reprod*. 2014;29(7):1420–31.
  141. Acien P, Acien M. The presentation and management of complex female genital malformations. *Hum Reprod Update*. 2016;22(1):48–69.
  142. Grimbizis GF, Campo R. Clinical approach for the classification of congenital uterine malformations. *Gynecol Surg*. 2012; 9(2):119–29.

143. Abuzeid M, Ghourab G, Abuzeid O, Mitwally M, Ashraf M, Diamond M. Reproductive outcome after IVF following hysteroscopic division of incomplete uterine septum/arcuate uterine anomaly in women with primary infertility. *Facts, views Vis ObGyn*. 2014;6(4):194–202.
144. Gergolet M, Campo R, Verdenik I, Kenda Suster N, Gordts S, Gianaroli L. No clinical relevance of the height of fundal indentation in subseptate or arcuate uterus: a prospective study. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(5):576–82.
145. Brucker SY, Rall K, Campo R, Oppelt P, Isaacson K. Treatment of congenital malformations. *Semin Reprod Med*. 2011; 29(2):101–12.
146. Ban-Frangež H, Tomažević T, Virant-Klun I, Verdenik I, Ribič-Pucelj M, -Bokal EV. The outcome of singleton pregnancies after IVF/ICSI in women before and after hysteroscopic resection of a uterine septum compared to normal controls. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009;146(2):184–7.
147. Kormányos Z, Molnár BG, Pál A. Removal of a residual portion of a uterine septum in women of advanced reproductive age: Obstetric outcome. *Hum Reprod*. 2006;21(4):1047–51.
148. Zolghadri J, Momtahan M, Aminian K, Ghaffarpassand F, Tavana Z. The value of hysteroscopy in diagnosis of chronic endometritis in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011;155(2):217–20.
149. Cicinelli E, Resta L, Nicoletti R, Zappimbulso V, Tartagni M, Saliani N. Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis. *Hum Reprod*. 2005;20(5):1386–9.
150. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010; 93(2):437–41.
151. Quaas A, Dokras A. Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Rev Obstet Gynecol*. 2008;1(2):69–76.
152. Koler M, Achache H, Tsafirir A, Smith Y, Revel A, Reich R. Disrupted gene pattern in patients with repeated in vitro fertilization (IVF) failure. *Hum Reprod*. 2009;24(10):2541–8.
153. Fatemi HM, Popovic-Todorovic B. Implantation in assisted reproduction: A look at endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online*. 2013;27(5):530–8.
154. Bourgain C, Devroey P. The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update*. 2003;9(6):515–22.
155. Fatemi HM, Van Vaerenbergh I. Significance of premature progesterone rise in IVF. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2015;27(3):242–8.
156. Kyrou D, Al-Azemi M, Papanikolaou EG, Donoso P, Tziomalos K, Devroey P, et al. The relationship of premature progesterone rise with serum estradiol levels and number of follicles in GnRH antagonist/recombinant FSH-stimulated cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012;162(2):165–8.
157. Blockeel C, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Tournaye H. A fresh look at the freeze-all protocol: a SWOT analysis. *Hum Reprod*. 2016; 31(3):491–7.
158. Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS, et al. Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science*. 2003;299(5605):405–8.
159. Woodward BJ, Lenton EA, Turner K. Human chorionic gonadotrophin: embryonic secretion is a time-dependent phenomenon. *Hum Reprod*. 1993;8(9):1463–8.
160. Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirel A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: definition

- and management. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(1):14–38.
161. Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, Brosens J, Campbell BK, Raine-Fenning NJ. What exactly do we mean by “recurrent implantation failure”? A systematic review and opinion. *Reproductive BioMedicine Online*. 2014. 28(4):409-23.
  162. Farquharson RG, Jauniaux E, Exalto N. Updated and revised nomenclature for description of early pregnancy events. *Hum Reprod*. 2005;20(11):3008–11.
  163. Younis JS, Ben-Ami M, Ben-Shlomo I. The Bologna criteria for poor ovarian response: a contemporary critical appraisal. *J Ovarian Res*. 2015;8:76.
  164. Hossain A, Phelps J, Agarwal A, Sanz E, Mahadevan M. A Review of The Society for Assisted Reproductive Technology Embryo Grading System and Proposed Modification. *Int J Fertil Steril*. 2016;10(2):141–7.
  165. Seshadri S, Sunkara SK. Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):429–38.
  166. Makrakis E, Pantos K. The outcomes of hysteroscopy in women with implantation failures after in-vitro fertilization: findings and effect on subsequent pregnancy rates. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010; 22(4):339–43.
  167. D’Arpe S, Franceschetti S, Caccetta J, Pietrangeli D, Muzii L, Panici PB. Management of hydrosalpinx before IVF: a literature review. *J Obstet Gynaecol*. 2015;35(6):547–50.
  168. Matorras R, Rabanal A, Prieto B, Diez S, Brouard I, Mendoza R, et al. Hysteroscopic hydrosalpinx occlusion with Essure device in IVF patients when salpingectomy or laparoscopy is contraindicated. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013;169(1):54–9.
  169. Potdar N, Gelbaya TA, Konje JC, Nardo LG. Adjunct low-molecular-weight heparin to improve live birth rate after recurrent implantation failure: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013;19(6):674–84.
  170. Seshadri S, Sunkara SK, Khalaf Y, El-Toukhy T, Hamoda H. Effect of heparin on the outcome of IVF treatment: A systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2012;25(6):572–84.
  171. Lensen S, Sadler L, Farquhar C. Endometrial scratching for subfertility: Everyone’s doing it. *Hum Reprod*. 2016;31(6):1241–4.
  172. Barash A, Dekel N, Fieldust S, Segal I, Schechtman E, Granot I. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2003;79(6):1317–22.
  173. Demiroglu A, Gurgan T. Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod Biomed Online*. 2004;8(5):590–4.
  174. Rama Raju GA, Shashi Kumari G, Krishna KM, Prakash GJ, Madan K. Assessment of uterine cavity by hysteroscopy in assisted reproduction programme and its influence on pregnancy outcome. *Arch Gynecol Obstet*. 2006;274(3):160–4.
  175. Coughlan C, Yuan X, Demiroglu A, Ledger W, Li TC. Factors affecting the outcome of “endometrial scratch” in women with recurrent implantation failure. *J Reprod Med*. 2014;59(1–2):39–43.
  176. Gibreel A, El-Adawi N, Elgindy E, Al-Inany H, Allakany N, Tournaye H. Endometrial scratching for women with previous IVF failure undergoing IVF treatment. *Gynecol Endocrinol*. 2015;3590:1–4.
  177. Potdar N, Gelbaya T, Nardo LG. Endometrial injury to overcome recurrent embryo implantation failure: A systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2012;25(6):561–71.

178. Karimzade MA, Oskouian H, Ahmadi S, Oskouian L. Local injury to the endometrium on the day of oocyte retrieval has a negative impact on implantation in assisted reproductive cycles: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;281(3):499–503.
179. Cakmak H, Taylor HS. Implantation failure: Molecular mechanisms and clinical treatment. *Human Reproduction Update.* 2011. 17(2):242-53.
180. Panagiotopoulou N, Karavolos S, Choudhary M. Endometrial injury prior to assisted reproductive techniques for recurrent implantation failure: A systematic literature review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;193:27–33.
181. El-Toukhy T, Sunkara S, Khalaf Y. Local endometrial injury and IVF outcome: A systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2012;25(4):345–54.
182. Kalma Y, Granot I, Gnainsky Y, Or Y, Czernobilsky B, Dekel N, et al. Endometrial biopsy-induced gene modulation: first evidence for the expression of bladder-transmembranal uroplakin Ib in human endometrium. *Fertil Steril.* 2009 ;91(4):1042–9, 1049-9.
183. Haider S, Knofler M. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta.* 2009;30(2):111–23.
184. Huang S, Wang C-J, Soong Y-K, Wang H-S, Wang M, Lin C, et al. Site-specific endometrial injury improves implantation and pregnancy in patients with repeated implantation failures. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011;9(1):140.
185. Mak JSM, Chung CHS, Chung JPW, Kong GWS, Saravelos SH, Cheung LP, et al. The effect of endometrial scratch on natural-cycle cryopreserved embryo transfer outcomes: a randomized controlled study. *Reprod Biomed Online.* 2017; 35(1):28-36
186. Li L, Shi J, Zhang Q-F, Yan J, Yan L-Y, Shen F, et al. Effect of curettage and copper wire on rabbit endometrium: a novel rabbit model of endometrial mechanical injury. *Chin Med J (Engl).* 2011;124(11):1708–13.
187. El-Toukhy T, Sunkara SK, Coomarasamy A, Grace J, Khalaf Y. Outpatient hysteroscopy and subsequent IVF cycle outcome: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2008;16(5):712–9.
188. Karayalcin R, Ozyer S, Ozcan S, Uzunlar O, Gurlek B, Moraloglu O, Batioglu S, et al. Office hysteroscopy improves pregnancy rates following IVF. *Reprod Biomed Online.* 2012;25(3):261–6.
189. Trninc-Pjevic A, Kopitovic V, Pop-Trajkovic S, Bjelica A, Bujas I, Tabs D, et al. [Effect of hysteroscopic examination on the outcome of in vitro fertilization]. *Vojnosanit Pregl.* 2011;68(6):476–80.
190. Bouwmans CAM, Lintsen BME, Eijkemans MJC, Habbema JDF, Braat DDM, Hakkaart L. A detailed cost analysis of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment. *Fertil Steril.* 2008; 89(2):331–41.
191. Pundir J, Pundir V, Omanwa K, Khalaf Y, El-Toukhy T. Hysteroscopy prior to the first IVF cycle: A systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(2):151–61.
192. Elsetohy KAAA, Askalany AH, Hassan M, Dawood Z. Routine office hysteroscopy prior to ICSI vs. ICSI alone in patients with normal transvaginal ultrasound: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;291(1):193–9.
193. Smit JG, Kasius JC, Eijkemans MJ, Koks CA, Van Golde R, Oosterhuis JG, et al. The inSIGHT study: costs and effects of routine hysteroscopy prior to a first IVF treatment cycle. A randomised controlled trial. *BMC Womens Health.* 2012;12(1):22.
194. Di Spiezio Sardo A, Di Carlo C, Minozzi S, Spinelli M, Pistotti V, Alviggi C, et al. Efficacy of hysteroscopy

- in improving reproductive outcomes of infertile couples: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2016; 22(4):479-96.
195. Cohen J, Grudzinkas G, Johnson M. Pre-IVF hysteroscopy to enhance uterine receptivity may be justified. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(2):135-6.
  196. Vercellini P, Ragni G, Trespidi L, Oldani S, Panazza S, Crosignani PG. Adenomyosis: a deja vu? *Obstet Gynecol Surv*. 1993;48(12):789-94.
  197. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Human reproduction*. 2000; 15: 723-32.
  198. Gottardo F, Kliesch S. [Semen analysis: spermogram according to WHO 2010 criteria]. *Urologe A*. 2011; 50(1):101-8.
  199. Sigman M. A meta-analysis of meta-analyses. *Fertil Steril*. 2011; 96(1):11-4.
  200. Hultcrantz M, Rind D, Akl EA, Treweek S, Mustafa RA, Iorio A, et al. The GRADE Working Group clarifies the construct of certainty of evidence. *J Clin Epidemiol*. 2017 May; doi: 10.1016/j.jclinepi.2017.05.006. [Epub ahead of print]
  201. Aanesen A, Westerbotn M. Prospective study of a Swedish infertile cohort 2005-08: population characteristics, treatments and pregnancy rates. *Fam Pract*. 2014;31(3):290-7.
  202. Wang Y, Jamal W, Kadoch IJ. An unexpected hysterosalpingographic finding. *J Obstet Gynaecol Can*. 2009; 31(7):597-8.
  203. Wang CW, Lee CL, Lai YM, Tsai CC, Chang MY, Soong YK. Comparison of hysterosalpingography and hysteroscopy in female infertility. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1996;3(4):581-4.
  204. Bozdog G, Aksan G, Esinler I, Yarali H. What is the role of office hysteroscopy in women with failed IVF cycles? *Reprod Biomed Online*. 2008;17(3):410-5.
  205. Pundir J, El Toukhy T. Uterine cavity assessment prior to IVF. *Womens Health (Lond Engl)*. 2010; 6(6):841-8.
  206. Makled AK, Farghali MM, Shenouda DS. Role of hysteroscopy and endometrial biopsy in women with unexplained infertility. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;289(1):187-92.
  207. Bahadur A, Malhotra N, Singh N, Gurunath S, Mittal S. Comparative study on the role of diagnostic hysteroscopy in evaluation of the uterine cavity prior to in vitro fertilization in a developing country. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;288(5):1137-43.
  208. Abdelazim IA, Elezz AA. Complementary roles of hysteroscopy and saline infusion hysterosonography in uterine cavity assessment before in vitro fertilization. *Asian Pacific J Reprod*. 2012;1(1):13-6.
  209. Aletebi F. Hysteroscopy in women with implantation failures after in vitro fertilization: Findings and effect on subsequent pregnancy rates. *Middle East Fertil Soc J*. 2010;15(4):288-91.
  210. Shawki HE, Elmorsy M, Eissa MK. Routine office hysteroscopy prior to ICSI and its impact on assisted reproduction program outcome: A randomized controlled trial. *Middle East Fertil Soc J*. 2012;17(1):14-21.
  211. Abo Dewan KAA, Hefeda MM, Elkholy DGE. Septate or bicornuate uterus: Accuracy of three-dimensional trans-vaginal ultrasonography and pelvic magnetic resonance imaging. *Egypt J Radiol Nucl Med*. 2014;45(3):987-95.
  212. Almog B, Shalom-Paz E, Dufort D, Tulandi T. Promoting implantation by local injury to the endometrium. *Fertil Steril*. 2010; 94(6):2026-9.

213. Kilic Y, Bastu E, Ergun B. Validity and efficacy of office hysteroscopy before in vitro fertilization treatment. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;287(3):577–81.
214. Yu HT, Wang CJ, Lee CL, Huang HY, Chen CK, Wang HS. The role of diagnostic hysteroscopy before the first in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycle. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;286(5):1323–8.
215. TK A, Singhal H, Samuel P, Acharya M, Kamath MS, George K. Local endometrial injury in women with failed IVF undergoing a repeat cycle: a randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2017; 214:109-114.
216. Guven S, Kart C, Unsal MA, Yildirim O, Odaci E, Yulug E. Endometrial injury may increase the clinical pregnancy rate in normoresponders undergoing long agonist protocol ICSI cycles with single embryo transfer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;173(1):58–62.
217. Nastri CO, Teixeira DM, Martins WP. Endometrial injury in the menstrual cycle prior to assisted reproduction techniques to improve reproductive outcomes. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology.* 2013; 29: 401–2.
218. Raziel A, Schachter M, Strassburger D, Bern O, Ron-El R, Friedler S. Favorable influence of local injury to the endometrium in intracytoplasmic sperm injection patients with high-order implantation failure. *Fertil Steril.* 2007; 87(1):198–201.
219. Shohayeb A, El-Khayat W. Does a single endometrial biopsy regimen (S-EBR) improve ICSI outcome in patients with repeated implantation failure? A randomised controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;164(2):176–9.
220. Singh N, Toshyan V, Kumar S, Vanamail P, Madhu M. Does endometrial injury enhances implantation in recurrent in-vitro fertilization failures? A prospective randomized control study from tertiary care center. *J Hum Reprod Sci.* 2015;8(4):218–23.
221. Yeung TWY, Chai J, Li RHW, Lee VCY, Ho PC, Ng EHY. The effect of endometrial injury on ongoing pregnancy rate in unselected subfertile women undergoing in vitro fertilization: A randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2014;29(11):2474–81.
222. Baum M, Yerushalmi GM, Maman E, Kedem A, Machtinger R, Hourvitz A, et al. Does local injury to the endometrium before IVF cycle really affect treatment outcome? Results of a randomized placebo controlled trial. *Gynecol Endocrinol.* 2012;28(12):933–6.
223. Dain L, Ojha K, Bider D, Levron J, Zinchenko V, Walster S, et al. Effect of local endometrial injury on pregnancy outcomes in ovum donation cycles. *Fertil Steril.* 2014;102(4):1048–54.
224. Nastri CO, Lensen SF, Gibreel A, Raine-Fenning N, Ferriani RA, Bhattacharya S, et al. Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane database Syst Rev.* 2015; (3):CD009517.
225. Shokeir T, Ebrahim M, El-Mogy H. Hysteroscopic-guided local endometrial injury does not improve natural cycle pregnancy rate in women with unexplained infertility: Randomized controlled trial. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016;42(11):1553–7.
226. Nastri CO, Lensen S, Polanski L, Raine-Fenning N, Farquhar CM, Martins WP. Endometrial injury and reproductive outcomes: There’s more to this story than meets the horse’s blind eye. *Human Reproduction.* 2015. 30(3):749.
227. El-Khayat W, Elsadek M, Saber W. Comparing the effect of office hysteroscopy with endometrial scratch versus office hysteroscopy on intrauterine insemination outcome: A randomized controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015; 194:96-100.
228. Seval MM, Sukur YE, Ozmen B, Kan O, Sonmezer M, Berker B, et al. Does adding endometrial scratching



- to diagnostic hysteroscopy improve pregnancy rates in women with recurrent in-vitro fertilization failure? *Gynecol Endocrinol.* 2016; 32(12):957–60.
229. Smit JG, Overdijkink S, Mol BW, Kasius JC, Torrance HL, Eijkemans MJC, et al. The impact of diagnostic criteria on the reproducibility of the hysteroscopic diagnosis of the septate uterus: A randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2015; 30(6):1323–30.
  230. Elmahdy M, Salam HFA, Kobeisy NA. Office Hysteroscopy in Difficult Embryo Transfer ; Case Report of Three Cases. 2016;167–70.
  231. Minas V, Loutradis D, Makrigiannakis A. Factors controlling blastocyst implantation. *Reprod Biomed Online.* 2005;10(2):205–16.
  232. Li R, Hao G. Local injury to the endometrium: its effect on implantation. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2009; 21(3):236–9.
  233. Schwabe MG, Shapiro SS, Haning RVJ. Hysterosalpingography with oil contrast medium enhances fertility in patients with infertility of unknown etiology. *Fertil Steril.* 1983;40(5):604–6.
  234. Gupta SK. Embryo Implantation and Pregnancy: Immunologic Intricacies and Strategies for its Success. *American journal of reproductive immunology.* 2016; 75: 205–7.
  235. Makrigiannakis A, Petsas G, Toth B, Relakis K, Jeschke U. Recent advances in understanding immunology of reproductive failure. *J Reprod Immunol.* 2011;90(1):96–104.
  236. Makrigiannakis A, Minas V. Mechanisms of implantation. *Reprod Biomed Online.* 2007;14 (1):75–82.
  237. Gnainsky Y, Granot I, Aldo PB, Barash A, Or Y, Schechtman E, et al. Local injury of the endometrium induces an inflammatory response that promotes successful implantation. *Fertil Steril.* 2010;94(6):2030–6.
  238. Granot I, Gnainsky Y, Dekel N. Endometrial inflammation and effect on implantation improvement and pregnancy outcome. *Reproduction.* 2012;144(6):661–8.
  239. Boomsma CM, Kavelaars A, Eijkemans MJC, Lentjes EG, Fauser BCJM, Heijnen CJ, et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. *Hum Reprod.* 2009; 24(6):1427–35.
  240. Witz CA, Takahashi A, Montoya-Rodriguez IA, Cho S, Schenken RS. Expression of the alpha2beta1 and alpha3beta1 integrins at the surface of mesothelial cells: a potential attachment site of endometrial cells. *Fertil Steril.* 2000;74(3):579–84.
  241. Binder NK, Evans J, Gardner DK, Salamonsen LA, Hannan NJ. Endometrial signals improve embryo outcome: Functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice. *Hum Reprod.* 2014; 29(10):2278–86.
  242. Evans J, Hannan NJ, Edgell TA, Vollenhoven BJ, Lutjen PJ, Osianlis T, et al. Fresh versus frozen embryo transfer: Backing clinical decisions with scientific and clinical evidence. *Hum Reprod Update.* 2014;20(6):808–21.
  243. Munne S, Wells D. Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2017;107(5):1085–91.
  244. Melnick AP, Murphy EM, Masbou AK, Sapra KJ, Rosenwaks Z, Spandorfer SD. Autologous endometrial coculture biopsy: is timing everything? *Fertil Steril.* 2015;104(1):104–9.e1.
  245. Simón C, Bellver J. Scratching beneath “the Scratching Case”: Systematic reviews and metaanalyses, the back door for evidencebased medicine. *Hum Reprod.* 2014;29(8):1618–21.

246. Horcajadas JA, Minguez P, Dopazo J, Esteban FJ, Dominguez F, Giudice LC, et al. Controlled ovarian stimulation induces a functional genomic delay of the endometrium with potential clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4500–10.
247. Soliman BS, Harira M. Local endometrial scratching under ultrasound-guidance after failed intrauterine insemination and cycle outcome: A randomized controlled trial. *Middle East Fertil Soc J.* 2017;22(1):60–6.
248. Hayashi T, Kitaya K, Tada Y, Taguchi S, Funabiki M, Nakamura Y. Single curettage endometrial biopsy injury in the proliferative phase improves reproductive outcome of subsequent in vitro fertilization-embryo transfer cycle in infertile patients with repeated embryo implantation failure. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2013;40(3):323–6.
249. Brown J, Buckingham K, Buckett W, Abou-Setta AM. Ultrasound versus “clinical touch” for catheter guidance during embryo transfer in women. *Cochrane database Syst Rev.* 2016; 3:CD006107.
250. Ghanem ME, Ragab AE, Alboghdady LA, Helal AS, Bedairy MH, Bahlol IA, et al. Difficult embryo transfer (ET) components and cycle outcome. Which is more harmful? *Middle East Fertil Soc J.* 2016;21(2):114–9.
251. Fang C, Huang R, Li TT, Jia L, Li LL, Liang XY. Day-2 and day-3 sequential transfer improves pregnancy rate in patients with repeated IVF-embryo transfer failure: A retrospective case-control study. *Reprod Biomed Online.* 2013;26(1):30–5.
252. Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. *J Hum Reprod Sci.* 2015;8(3):121–9.
253. Tomas C, Tikkinen K, Tuomivaara L, Tapanainen JS, Martikainen H. The degree of difficulty of embryo transfer is an independent factor for predicting pregnancy. *Hum Reprod.* 2002;17(10):2632–5.
254. Cevrioglu AS, Esinler I, Bozdag G, Yarali H. Assessment of endocervical and endometrial damage inflicted by embryo transfer trial: a hysteroscopic evaluation. *Reprod Biomed Online.* 2006;13(4):523–7.
255. Eryilmaz OG, Gulerman C, Sarikaya E, Yesilyurt H, Karsli F, Cicek N. Appropriate interval between endometrial polyp resection and the proceeding IVF start. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(6):1753–7.
256. Lass A, Williams G, Abusheikha N, Brinsden P. The effect of endometrial polyps on outcomes of in vitro fertilization (IVF) cycles. *J Assist Reprod Genet.* 1999;16(8):410–5.
257. Mains L, Van Voorhis BJ. Optimizing the technique of embryo transfer. *Fertil Steril.* 2010; 94(3):785–90.
258. Madani T, Ghaffari F, Kiani K, Hosseini F. Hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation in IVF cycles. *Reprod Biomed Online.* 2009;18(3):412–5.
259. Lensen SF, Manders M, Nastri CO, Gibreel A, Martins WP, Templer GE, et al. Endometrial injury for pregnancy following sexual intercourse or intrauterine insemination. *Cochrane database Syst Rev.* 2016; (6):CD011424.
260. Kanazawa E, Nakashima A, Yonemoto K, Otsuka M, Yoshioka N, Kuramoto T, et al. Injury to the endometrium prior to the frozen-thawed embryo transfer cycle improves pregnancy rates in patients with repeated implantation failure. *J Obstet Gynaecol Res.* 2017;43(1):128–34.
261. Aflatoonian A, Baradaran Bagheri R, Hosseinisadat R. The effect of endometrial injury on pregnancy rate in frozen-thawed embryo transfer: A randomized control trial. *Int J Reprod Biomed (Yazd, Iran).* 2016;14(7):158–453.
262. Fujiwara H, Ogawa S, Motoyama M, Takei Y, MacHida S, Taneichi A, et al. Frequency and characteristics of endometrial carcinoma and atypical hyperplasia detected on routine infertility investigations in young women: A report of six cases. *Hum Reprod.* 2009;24(5):1045–50.

263. Gressel GM, Parkash V, Pal L. Management options and fertility-preserving therapy for premenopausal endometrial hyperplasia and early-stage endometrial cancer. *Int J Gynaecol Obstet.* 2015;131(3):234–9.
264. Moffat R, Bergsma N, Sartorius G, Raggi A, Güth U, Geyter C De. Does prior hysteroscopy affect pregnancy outcome in primigravid infertile women? *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(2):130.e1-130.e6.
265. Weiss A, Shalev E, Romano S. Hysteroscopy may be justified after two miscarriages. *Hum Reprod.* 2005;20(9):2628–31.
266. Brigham SA, Conlon C, Farquharson RG. A longitudinal study of pregnancy outcome following idiopathic recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 1999;14(11):2868–71.
267. Bhattacharya S, Templeton A. What is the most relevant standard of success in assisted reproduction? Redefining success in the context of elective single embryo transfer: Evidence, intuition and financial reality. *Human Reproduction.* 2004. 19(9):1939-42.
268. Welsing PMJ. Statistical modelling: essentially, all models are wrong, but some are useful. Review series on statistical modelling. *Rheumatology (Oxford, England).* 2015; 54: 1133–4.
269. Broer SL, van Disseldorp J, Broeze KA, Dolleman M, Opmeer BC, Bossuyt P, et al. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: An individual patient data approach. *Hum Reprod Update.* 2013; 19(1):26-36.
270. Reljic M, Knez J, Kovac V, Kovacic B. Endometrial injury, the quality of embryos, and blastocyst transfer are the most important prognostic factors for in vitro fertilization success after previous repeated unsuccessful attempts. *J Assist Reprod Genet.* 2017; 34(6):775-779.
271. Daugirdaite V, van den Akker O, Purewal S. Posttraumatic stress and posttraumatic stress disorder after termination of pregnancy and reproductive loss: a systematic review. *J Pregnancy.* 2015;2015:646345.
272. Pasch LA, Gregorich SE, Katz PK, Millstein SG, Nachtigall RD, Bleil ME, et al. Psychological distress and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2012; 98(2):459–64.
273. Verhaak CM, Smeenk MJ, Nahuis MJ, Kremer JAM, Braat DDM. Long-term psychological adjustment to IVF/ICSI treatment in women. *Hum Reprod.* 2007; 22(1):305–8.
274. Schroder AK, Katalinic A, Diedrich K, Ludwig M. Cumulative pregnancy rates and drop-out rates in a German IVF programme: 4102 cycles in 2130 patients. *Reprod Biomed Online.* 2004; 8(5):600–6.
275. Sarais V, Reschini M, Busnelli A, Biancardi R, Paffoni A, Somigliana E. Predicting the success of IVF: External validation of the van Loendersloot's model. *Hum Reprod.* 2016;31(6):1245–52.
276. Musters AM, De Bekker-Grob EW, Mochtar MH, Van Der Veen F, Van Mello NM. Womens perspectives regarding subcutaneous injections, costs and live birth rates in IVF. *Hum Reprod.* 2011;26(9):2425–31.
277. Olivennes F. Patient-friendly ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online.* 2003;7(1):30–4.
278. Cai QF, Wan F, Dong XY, Liao XH, Zheng J, Wang R, et al. Fertility clinicians and infertile patients in China have different preferences in fertility care. *Hum Reprod.* 2014; 29(4):712–9.
279. Connolly MP, Hoorens S, Chambers GM. The costs and consequences of assisted reproductive technology: an economic perspective. *Hum Reprod Update.* 2010;16(6):603–13.
280. Twisk M, van der Veen F, Repping S, Heineman M-J, Korevaar JC, Bossuyt PMM. Preferences of subfertile women regarding elective single embryo transfer: additional in vitro fertilization cycles are acceptable, lower pregnancy rates are not. *Fertil Steril.* 2007; 88(4):1006–9.
281. Ma T, Readman E, Hicks L, Porter J, Cameron M, Ellett L, et al. Is outpatient hysteroscopy the new gold

- standard? Results from an 11 year prospective observational study. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2017; 57(1):74–80.
282. Bettocchi S, Ceci O, Nappi L, Di Venere R, Masciopinto V, Pansini V, et al. Operative office hysteroscopy without anesthesia: analysis of 4863 cases performed with mechanical instruments. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 2004;11(1):59–61.
283. Kolhe S. Setting up of ambulatory hysteroscopy service. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015;29(7):966–81.
284. Cooper NAM, Barton PM, Breijer M, Caffrey O, Opmeer BC, Timmermans A, et al. Cost-effectiveness of diagnostic strategies for the management of abnormal uterine bleeding (heavy menstrual bleeding and post-menopausal bleeding): a decision analysis. *Health Technol Assess.* 2014;18(24):1–201, v–vi.
285. Haimovich S, Lopez-Yarto M, Urresta Avila J, Saavedra Tascon A, Hernandez JL, Carreras Collado R. Office Hysteroscopic Laser Enucleation of Submucous Myomas without Mass Extraction: A Case Series Study. *Biomed Res Int.* 2015;2015:905204.

## 8 PRILOZI

---

### 8.1 PRILOG 1

Upitnik o prihvatljivosti i podnošljivosti histeroskopije

Ime i prezime:

Godine žene:

Koliko dug pokušavate da osvarite trudnoću u godinama i mesecima:

Pokušaj vantelesne oplodnje po redu:

Da li Vam je do sada sprovođenja procedura histeroskopije: 1. DA 2. NE

Ukoliko ste imali histeroskopiju, ocenite na skali od 1 do 10 iskustvo bola gde 1 predstavlja najveći moguć bol a 10 odsustvo bola u toku i nakon intervencije:

Ukoliko ste imali histeroskopiju, ocenite na skali od 1 do 10 prijetnost i komfor gde 1 predstavlja najveću moguću neprijetnost i nekomfor a 10 apsolutno prijatno iskustvo i komfor u toku i nakon intervencije:

Ukoliko ste imali ultrazvučni pregled vaginalnom sondom, ocenite na skali od 1 do 10 iskustvo bola gde 1 predstavlja najveći moguć bol a 10 odsustvo bola u toku i nakon intervencije:

Ukoliko ste imali ultrazvučni pregled vaginalnom sondom, ocenite na skali od 1 do 10 prijetnost i komfor gde 1 predstavlja najveću moguću neprijetnost i nekomfor a 10 apsolutno prijatno iskustvo i komfor u toku i nakon intervencije:

Ukoliko ste imali histerosalpingografiju (HSG – „prođuvavanje jajovoda“), ocenite na skali od 1 do 10 iskustvo bola gde 1 predstavlja najveći moguć bol a 10 odsustvo bola u toku i nakon intervencije:

Ukoliko ste imali histerosalpingografiju (HSG – „prođuvavanje jajovoda“), ocenite na skali od 1 do 10 prijetnost i komfor gde 1 predstavlja najveću moguću neprijetnost i nekomfor a 10 apsolutno prijatno iskustvo i komfor u toku i nakon intervencije:

Da li podrđavate rutinsku upotrebu histeroskopije pre prvog pokušaja vantelesne oplodnje:

1. DA
2. NE

Da li podržavate rutinsku upotrebu histeroskopije pre svakog pokušaja vantelesne oplodnje:

1. DA
2. NE

Ukoliko biste mogli da birate gde bi želeli da se sprovodi proceduru histeroskopije:

1. U ambulantnim uslovima kod svog izabranog ginekologa
2. U ambulantnim uslovima u bolnici
3. U Operacionoj sali u bolnici
4. Drugo (navesti):

Ukoliko biste mogli da birate kako bi želeli da se sprovodi proceduru histeroskopije:

1. U opštoj intravenskoj anesteziji (gde prespavate celu proceduru)
2. U lokalnoj anesteziji (u budnom stanju uz primenu lekova za smirenje)
3. U lokalnoj anesteziji (u budnom stanju bez primene lekova za smirenje)
4. Bez primene bilo kakvih lekova i procedura anestezije (u budnom stanju)

Navedite vašim rečima razloge za izbor neke od ponuđenih opcija u prethodna dva pitanja: