



UNIVERZITET U NIŠU  
MEDICINSKI FAKULTET



**Dejan Mitić**

**ZNAČAJ HISTEROSKOPIJE  
U VANTELESNOM OPLOĐENJU**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor

**Prof. dr Radomir Živadinović**

Niš, 2016.



UNIVERSITY OF NIŠ  
FACULTY OF MEDICINE



**Dejan Mitić**

**IMPORTANCE OF HYSTEROSCOPY IN THE PROCESS  
OF IN VITRO FERTILIZATION**

DOCTORAL THESIS

Mentor

**Prof. dr Radomir Živadinović**

Niš, 2016.

|  |   |
|--|---|
| <b>I Autor</b>   |   |
| Ime i prezime:   | Dejan Mitić   |
| Datum i mesto rođenja:                                 | 27.11.1965. Niš   |
| Sadašnje zaposlenje:                                   | Ginekološko-akušerska klinika, KC Niš   |
| <b>II Doktorska disertacija</b>                        | Značaj histeroskopije u vantelesnom oplodnju  |
| Naslov   |   |
| Broj stranica:   | 92  |
| Broj šema / slika:                                     |   |
| Broj tabela:   | 37  |
| Broj grafikona:  | 13  |
| Broj bibliografskih podataka:                          | 72  |
| Ustanova i mesto gde je rad izrađen                    | Klinika za ginekologiju i akušerstvo, KC Niš  |
| Naučna oblast:   | Ginekologija sa akušerstvom   |
| Mentor:  | Doc. dr Radomir Živadinović   |
| <b>III Ocena i odbrana</b>                             |   |
| Datum prijave teme:                                    | 09.01.2013.   |
| Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije: | 04-83812<br>15.04.2013.   |
| Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata:         | 1. Prof. dr Jasmina Popović, predsednik<br>2. Doc. dr Radomir Živadinović, član<br>3. Prof. dr Zoran Pop-Trajković, član  |
| Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:     | 1. Prof. dr Jasmina Popović, predsednik<br>2. Doc. dr Radomir Živadinović, mentor<br>3. Doc. dr Aleksandra Petrić, član<br>4. Prof. dr Vesna Kopitović, član<br>5. Doc.dr Artur Bjelica, član |
| Datum odbrane doktorske disertacije:                   |   |

Naučni doprinos disertacije:

|  |
|--|
|  |
|--|

*Zahvalnost*

*☞ Rad posvećujem svojoj porodici s kojom je sve moguće – Tanji, Konstantinu,  
Viktoru i Milici*

# ZNAČAJ HISTEROSKOPIJE U VANTELESNOM OPLOĐENJU

## Kratak sadržaj

**Uvod:** Patološka stanja uterusa kao što su endometrijalni polipi, submukozni miomi, atezije i septumi smatraju se stanjima sa negativnim uticajem na uspešnost VTO. Histeroskopija može da dijagnostikuje moguće uzroke neuspeha VTO i u istom aktu da ih operativno reši. Zbog učestale patologije kavuma sve više se nameće ideja o primeni histeroskopije i pre prve VTO. Takođe, različite studije navode da proinflatorni odgovor endometrijuma nakon načinjene lokalne endometrijalne povrede može da poveća mogućnost za uspešnu implantaciju nakon embriotransfera u ciklusu VTO.

**Cilj rada:** Utvrditi učestalost patologije kavuma kod pacijentkinja u postupku VTO i ispitati uticaj histeroskopije na ishod VTO u slučajevima nakon operativnog rešavanja patoloških stanja uterusa, kada nema patološkog supstrata i nakon urađene lokalne endometrijalne povrede.

**Metode rada:** Histeroskopija je rađena 30-50 dana pre ciklusa VTO kod 114 ispitanica koje su činile studijsku grupu. Kontrolnu grupu je sačinjavala 151 pacijentkinja. Lokalna endometrijalna povreda rađena je na način koji nije opisan u dostupnoj literaturi.

**Rezultati:** Analizom dobijenih podataka utvrđena je skoro istovetna učestalost patologije pre prve VTO kao i nakon naredne, skoro u trećini slučajeva. Dobijena je statistički značajno veća stopa implantacije i stopa trudnoća nakon histeroskopije u odnosu na kontrolnu grupu. Verovatnoća za pozitivan ishod VTO raste za 2,1 puta nakon lokalne endometrijalne povrede u odnosu na kontrolnu grupu.

**Zaključak:** Histeroskopija je minimalno invazivna, sigurna, jednostavna metoda koja daje veće izgleda za ostvarivanje trudnoće nakon VTO. Predlog ovog istraživanja je da se protokol pripreme parova za VTO upotpuni obaveznom histeroskopijom i pre prvog ciklusa VTO.

**Ključne reči:** infertilitet, histeroskopija, lokalna endometrijalna povreda, ishod vantelesnog oplodjenja

**Naučna oblast:** Klinička medicina

**Uža naučna oblast:** Ginekologija sa akušerstvom

**UDC:**

# IMPORTANCE OF HYSTEROSCOPY IN THE PROCESS OF IN VITRO FERTILIZATION

## Summary

**Introduction:** Pathological states of the uterus cavity, such as endometrial polyp, submucous myoma, intrauterine synechiae or septum, are considered to be negative influence on IVF success. Hysteroscopy is able to diagnose the possible IVF causes of failure and surgically remove them in the same act. Due to frequent cavum pathology, the idea of applying hysteroscopy, even prior to the first IVF, has been seriously considered. Different studies have also stated that the endometrium proinflammatory response after a local endometrial injury can increase the possibility of successful implantation after an embryo transfer in the IVF cycle.

**Objective:** The aim of the project is to determine the frequency of the cavum pathology with patients in IVF process and to examine the impact of hysteroscopy on IVF outcome in cases of post surgical treatment of pathological states of the uterus, with no pathological substratum and after a local endometrial injury.

**Method:** A study group consisted of 114 patients with hysteroscopy performed 30 to 50 days before the IVF cycle. The control group consisted of 151 patients. The local endometrial injury was done in a way not described in any literature available.

**Results:** Having analyzed the obtained results, almost identical pathology frequency was confirmed prior to the first IVF cycle, as with the next, in nearly a third of the cases. Statistically viewed, significantly higher rates of implantation and pregnancies were obtained after hysteroscopy, in comparison to the control group. Probability of a positive IVF outcome rises 2,1 time after a local endometrial injury, when compared to the control group.

**Conclusion:** Hysteroscopy is minimally invasive, safe and simple method providing higher possibility of conceiving after IVF. This research suggests the protocol for IVF preparing couples to be accompanied by obligatory hysteroscopy even prior to the first IVF cycle.

**Key words:** infertility, hysteroscopy, local endometrial injury, in vitro fertilization outcome

**Scientific field:** Clinical medicine

**Field of Academic Expertise:** Gynecology with obstetrics

**UDC:**

## SADRŽAJ

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. UVOD.....</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1. Neplodnost - infertilitet .....                                     | 2         |
| 1.2. Biomedicinski potpomognuto oplodjenje (BMPO) .....                  | 6         |
| 1.3. Vantelesno oplodjenje (VTO) – in vitro fertilizacija (IVF) .....    | 8         |
| 1.3.1. Istorijat VTO.....  | 8         |
| 1.3.2. Indikacije za VTO .....   | 9         |
| 1.3.3. Klinički postupci u VTO ciklusu.....                              | 10        |
| 1.3.4. Implantacija i endometrijalna receptivnost.....                   | 16        |
| 1.3.4.1. Polaritet blastociste i uterusa .....                           | 19        |
| 1.3.4.2. Implantacioni prozor .....                                      | 19        |
| 1.3.4.3. Citokini i faktori rasta .....                                  | 19        |
| 1.3.4.4. Atezioni molekuli.....  | 21        |
| 1.3.4.5. Imune ćelije.....   | 22        |
| 1.3.5. Preporuke za poboljšavanje rezultata vantelesnog oplodjenja ..... | 24        |
| 1.4. Histeroskopija.....   | 27        |
| 1.4.1. Istorijat histeroskopije .....                                    | 28        |
| 1.4.2. Histeroskopska oprema.....  | 29        |
| 1.4.3. Indikacije za histeroskopiju .....                                | 31        |
| 1.4.4. Patološka stanja kavuma uterusa .....                             | 31        |
| 1.4.5. <i>Office</i> histeroskopija .....                                | 36        |
| 1.4.6. Histeroskopija i infertilitet.....                                | 37        |
| <b>2. CILJ RADA .....</b>  | <b>41</b> |



|  |           |
|--|-----------|
| <b>3. MATERIJAL I METODOLOGIJA RADA .....</b>    | <b>42</b> |
| 3.1. Mesto i vreme istraživanja .....            | 42        |
| 3.2. Ispitanici i grupisanje ispitanika.....     | 42        |
| 3.4. Histeroskopija.....                         | 44        |
| 3.5. Vantelesno oplodjenje – VTO .....           | 45        |
| 3.6. Statistička obrada .....                    | 46        |
| <b>4. REZULTATI.....</b>                         | <b>47</b> |
| 4.1. Ispitanici i grupisanje .....               | 47        |
| 4.2. Opšti parametri VTO.....                    | 48        |
| 4.3. Patološka stanja kavuma uterusa i VTO ..... | 61        |
| 4.4. Ishod VTO.....                              | 63        |
| <b>5. DISKUSIJA .....</b>                        | <b>70</b> |
| <b>6. ZAKLJUČAK .....</b>                        | <b>82</b> |
| <b>7. LITERATURA .....</b>                       | <b>84</b> |

## LISTA SKRAĆENICA

---

- VTO – Vantelesno oplodjenje
- BMPO – Biomedicinski potpomognuto oplodjenje
- HSG – Histerosalpingografija
- TVS – Transvaginalna sonografija
- AMH – Antimilerov hormon
- GnRH – Gonadotropni rilizing hormon
- FSH – Folikulostimulirajući hormon
- LH – Luteinizirajući hormon
- BMI – Indeks telesne mase
- OPU – Aspiracija jajnih ćelija
- ET – Embrio transfer
- ICSI – Intracitoplazmatska injekcija spermatozoida

# 1. UVOD

---

Bez obzira na brojna dostignuća na polju vantelesnog oplodjenja (VTO), i dalje je implantacija po embriotransferu (ET) oko 30%. Čak i kada se kolekcija oocita i fertilizacija uspešno obave u procesu VTO, procesi koji se dešavaju u periodu između uspešnog ET i pojave trudnoće i dalje su nepoznanica.

Neuspešna implantacija u asistiranoj reprodukciji predstavlja razlog neuspeha kod više od dve trećine parova, u ostalim slučajevima dominiraju embriološki činioci. Određene nepravilnosti uterine šupljine kao što su endometrijalni polipi, manji submukozni miomi, athezije i septumi smatraju se stanjima sa negativnim uticajem na uspešnost VTO.

S obzirom da je neuspeh implantacije nakon embriotransfera jedan od glavnih problema VTO ili *in vitro* fertilizacije (IVF) i da intrauterina patologija može da bude povezana sa neuspešnim ishodom, čini se neophodnim da se nakon neuspešnog postupka VTO, a pre započinjanja sledećeg, isključe svi potencijalno negativni faktori. Različiti su stavovi u vezi sa značajem histeroskopije kao rutinske bazične procedure u evaluaciji bračne neplodnosti, a posebno pre prvog pokušaja VTO<sup>[1]</sup>.

Evaluacija šupljine materice se uobičajeno sprovodi primenom histerosalpingografije (HSG), uprkos limitiranosti, i upotrebi rendgenskog zračenja. HSG ima nisku specifičnost i visoku stopu lažno pozitivnih (15,6%) i lažno negativnih nalaza (34,5%)<sup>[2]</sup>. Evaluacija je takođe moguća sonohisterografijom, koja je nešto praktičnija i pogodnija za ambulantno izvođenje. Transvaginalni ultrazvuk ima jaku korelaciju sa histeroskopijom za endometrijalne polipe, miome i ponekad adhezije<sup>[3,4]</sup>.

Ipak, histeroskopija je prihvaćena kao zlatni standard u dijagnostici i što je još važnije, omogućava tretman patoloških promena u istom aktu. Ambulantna ili dnevna histeroskopija (*office hysteroscopy*) se izvodi bez opšte anestezije, u ambulantnim uslovima, sa minimalnim rizikom, a sve zahvaljujući napretku tehnike i razvoju mini-histeroskopa sa spoljnim dijametrom manjim od 5 mm<sup>[5]</sup>.

Danas je zvanični stav da se histeroskopija preporučuje samo pacijentkinjama sa sumnjom na postojanje intrauterine patologije u cilju njenog lečenja i uklanjanja, kao i nakon

ponavljanih neuspeha VTO postupaka, iako je poznato da čak do 50% infertilnih pacijenata ima intrauterine abnormalnosti<sup>[6]</sup>.

Tako se nametnula sve više prisutna ideja o primeni histeroskopije pre prvog postupka IVF. Mnoge studije su iznale podatke da postoji značajna razlika u stopi trudnoća kod onih pacijentkinja koje su pre planiranog VTO postupka imale histeroskopiju i eventualnu korekciju otkrivenih abnormalnosti. Sa druge strane, u određenim radovima nije potvrđena razlika u stopi trudnoća<sup>[7,8]</sup>.

Podaci su kontradiktorni, i bez obzira na brojne randomizirane studije o uticaju histeroskopije na ishod VTO i dalje nije formiran protokol o obaveznoj histeroskopiji pre svakog postupka vantelesnog oplodjenja.

Ovo su razlozi koji su nas podstakli da uvažimo značaj ovog problema i učinimo ga validnim za predmet našeg istraživanja.

## **1.1. Neplodnost - infertilitet**

Neplodnost ili infertilitet se definiše kao izostanak trudnoće nakon jedne godine redovnih seksualnih odnosa, bez upotrebe kontraceptivnih sredstava, sa istim partnerom<sup>[9]</sup>. U prvoj godini oko 80% parova ostvari trudnoću dok u drugoj godini trudnoću ostvari još samo 6-7% parova.

Učestalost neplodnosti u razvijenim zemljama iznosi 10-18%, i ona je konstantno u porastu. Brojne promene u načinu života su dovele do niske fertiliteti, a to su najčešće brojni socio-ekonomski činioci, učestali razvodi, kasni ponovni brakovi i odlaganje rađanja. Unazad više decenija moguća je manipulacija ženskom plodnošću i biomedicinski potpomognutim oplodjenjem (BMPO)<sup>[10]</sup>. Sa postizanjem ženske slobode i emancipacije došlo je i do odlaganja rađanja do trenutka kada je plodnost žene smanjena. U isto vreme vera u uspešnost metoda BMPO je neopravdano porasla. U 2010-oj godini u svetu je urađeno oko milion postupaka vantelesnog oplodjenja. Za zadnjih 30 godina broj parova sa neplodnošću je povećan za 5%. Najčešći razlozi za ovo povećanje su sledeći:

## **Odlaganje rađanja i godine starosti**

Starenjem se kod žena neprestano smanjuje broj folikula, naročito posle 35. godine kada je prisutan rapidan pad broja folikula. Učestalost aneuploidije kod oocita raste od 22 – 24% u dvadesetim godinama, na 50% u periodu od 35. – 39. godine, do preko 90% u periodu nakon 40. godine. Bez obzira na veći broj unesenih embriona ET-om kod žena starijih od 40 godina, učestalost višeplođnih trudnoća je vrlo niska, oko 1,5 – 2,5%, što takođe ukazuje na nizak kvalitet i nekompetentnost oocita u tom dobu.

S druge strane, i uspešnost lečenja neplodnosti se smanjuje sa starenjem žene. Do 35. godine procenat trudnoća nakon VTO iznosi 30 – 40%, sa 40 godina je 5 – 10% a preko 42. godine uspeh pada na 1,5 – 2,5%.

## **Smanjenje ovarijalne rezerve**

Godine starosti žene nisu uvek pouzdan pokazatelj plodnosti, jer kod žena u sličnom dobu postoje znatne razlike. Istraživanja ovarijalne rezerve obuhvataju biohemijska i ultrazvučna merenja, a testovi koji se primenjuju su:

- bazalni nivo FSH i estradiola
- klomifen citrat dinamički test
- nivo inhibina B
- nivo Antimilerovog hormona – AMH
- broj antralnih folikula – AFC (antral follicular count)
- određivanje volumena jajnika

Visokopouzdan pokazatelj ovarijalne rezerve je nivo AMH-a zajedno sa brojem antralnih folikula koji se određuje transvaginalnom sonografijom 2. ili 3. dana menstrualnog ciklusa. Bez obzira na to, nijedan test nije pouzdan prediktor odgovora jajnika na stimulaciju u ciklusu VTO, kao ni prediktor trudnoća u ovom postupku.

## **Godine starosti muškaraca**

Tradicionalno shvatanje plodnosti muškarca još uvek je na snazi, međutim utvrđeno je da i plodnost muškarca opada sa povećanjem godina starosti. Posle 42. godine javljaju se određene promenekao što su blagi pad u volumenu testisa, broju Sertolijevih i Lajdigovih ćelija, volumenu ejakulata, koncentraciji i pokretljivosti spermatozoida i pad u nivou

androgena i polne funkcije. Udeo muškaraca kao uzroka infertiliteta pre 30 godina iznosio je oko 25%, dok su danas muškarci uzrok steriliteta u više od 50% slučajeva. Po nekim istraživanjima koncentracija spermatozoida u ejakulatu u svetskoj populaciji opada godišnje za 3%. Brojni su mogući epigenetski štetni uticaji među kojima su najčešći gojaznost, alkohol, pušenje, hemijski agensi, polutanti, mobilna telefonija i stres. Srećom, kompetentna oocita u citoplazmi poseduje mehanizme metilacije i modifikacije histona kojima se može delimično popraviti epigenetski uzrokovana šteta u spermatozoidima.

### **Gojaznost**

U svetu je porast gojaznosti kod žena i muškaraca 2-5% godišnje. Učestalost prekomerne telesne težine – body mass index (BMI) 25-30 kg/m<sup>2</sup> i gojaznosti – BMI >30 kg/m<sup>2</sup> povećana je u poslednjih 20 godina za tri puta. Zbog svetske epidemije gojaznosti često se koristi pojam *globesity*. Debljina se prenosi sa majke na dete poremećajima u intrauterinom životu, tako da ukoliko je majka u trudnoći gojazna, dete ima četiri puta povećan rizik da bude makrozomno.

Masno tkivo proizvodi biosignale u adipocitima i tako je uključeno u kontrolu metabolizma i energetske homeostaze, a takođe je uključeno i u kontrolu reprodukcije. Najvažniji produkti adipocita koji imaju endokrine i parakrine funkcije su adipokini (leptin, adiponektin, rezistin, apelin, adipsin), steroidni hormoni (estron, testosteron, glukokortikoidi), citokini i faktori rasta (TNF –  $\alpha$ , TGF –  $\beta$ , IL – 6), brojni enzimi lipogeneze, lipolize i stereoidogeneze, proteini i PAI – I (inhibitor aktivacije plazminogena).

Masno tkivo utiče na kontrolu neurosekrecije GnRH i direktno utiče na funkciju jajnika i folikulogenezu. Dovodi do češće pojave sindroma policističnih jajnika – PCOS i do inzulinske rezistencije i hiperandrogenemije. Normalan nivo adiponektina utiče direktno na folikul preko protein-kinaze ili dejstvom na IGF- I, a takođe inhibiše LH i hormon rasta. Adiponektin je nizak kod PCOS-a, inzulinske rezistencije i hiperandrogenemije tako da njegov viši nivo dovodi do boljih rezultata u lečenju metodom VTO.

Kod muškaraca gojaznost dovodi do smanjenja plodnosti preko hipogonadizma, niskih androgena, polne disfunkcije i smanjenja kvaliteta sperme.

Redukcija telesne težine kod žena od samo 5-10% povećava verovatnoću za trudnoću i korekcija povećane telesne težine treba da bude primarna mera za pripremu parova u lečenju infertiliteta.

### **Pušenje i alkohol**

Mesečni fekunditet kod parova koji puše je 8%, odnosno tri puta je niži nego kod nepušača. Uspeh IVF-a je manji za 50%, a učestalost spontanih pobačaja i tubarnih trudnoća je višestruko povećana.

Prekomerna upotreba alkohola ima nepovoljan uticaj na sazrevanje oocita i mehanizme metilacije, a kod muškaraca dovodi do oštećenja spermatogeneze i izaziva arest sazrevanja spermatozoida. Alkoholizam redukuje pokretljivost i morfologiju spermatozoida, povećava učestalost aneuploidija i kod žena i kod muškaraca i smanjuje njihovu plodnost za 20-30%.

### **Epigenetski uzroci**

Činioci okoline mogu da utiču na fenotip ili bolesti i mogu da se prenose transgeneracijski. Ishrana ili toksini ne izazivaju genetske nego epigenetske mutacije. Epigenetski mehanizmi regulišu aktivnost gena bez poremećaja redosleda DNK i Mendelovih zakona. Ekspresija gena očitava se upisivanjem (imprinting) u gene koji su važni za rast embriona, implantaciju i postnatalne promene i ona može da bude epigenetski kontrolisana ili poremećena. Glavno epigenetsko dejstvo je kontrola imprintinga metilacije DNK, modifikacije histona i remodeliranje hromatina. Radi se o promenama ekspresije gena, aktivnosti gena i fenotipa, bez promena redosleda DNK. Epigenetske promene mogu da se uporede sa različitim funkcijama somatskih ćelija koje imaju isti genotip, ali različitu ekspresiju gena koja se ostvaruje finim podešavanjem. Glavno obeležje epigenetike je metilacija koju katališu DNK metiltransferaze. Bez sumnje uslovi okoline u ranoj fazi razvoja mogu da izazovu znatne promene fenotipa u kasnijem životu. Neke od pojava koje imaju epigenetski uticaj na gamete, oplodnju i razvoj embriona i deteta su starenje koje utiče na DNK hipometilaciju ili hipermetilaciju nekih lokusa, gojaznost, poremećaj adipokina, pušenje, alkohol i drugo. U ljudskoj okolini i u hrani postoji hiljade hemikalija, konzervansa, kozmetičkih proizvoda i izvora jonizujućih zračenja koji epigenetski deluju štetno i smanjuju plodnost. Na ove promene je naročito osetljiva spermatogeneza. Brojni negativni uticaji

okoline prenose se intrauterino, ekspozicijom majke, ali se prenose i u postnatalnom životu. Gojaznost majke može da utiče na fetalni testis povećavanjem aromatizacije kojom se stvara više estrogena u odnosu na testosteron. Slično dejstvo imaju i steroidi iz mesa i ksenobiotici. Posebno dejstvo na oštećenje funkcije testisa ima povišena temperatura.

## 1.2. Biomedicinski potpomognuto oplodjenje (BMPO)

Termin BMPO obuhvata sve metode lečenja kojima se pomaže da dođe do oplodjenja, trudnoće i porođaja. Uključuje sve homologe i heterologe postupke, tj lečenje gametima neplodnog para ili jednim od gameta davaoca ili donora.

U anglosaksonskoj literaturi termin koji se koristi za sve metode lečenja infertiliteta, što uključuje pored VTO i intrauterinu inseminaciju, predstavlja asistirane reproduktivne tehnologije (*assisted reproductive technologies – ART*).

U metode BMPO spadaju:

- Intrauterina inseminacija (IUI)
  - Inseminacija spermom supruge (AIH)
  - Inseminacija spermom donora (AID)
- Vantelesno oplodjenje (VTO) – *in vitro fertilizacija* (IVF)
- Intracitoplazmatska injekcija spermatozoida – *intracytoplasmatic sperm injection* (ICSI)
- Prenos gameta ili zigota u jajovod (GIFT, ZIFT) – *gamete – zygote intrafallopian transfer*

Praktično, metoda koja se najviše koristi i koja je najuspešnija u lečenju ženske neplodnosti je IVF, a za lečenje teških oblika muške neplodnosti je ICSI. Pored ovih metoda, sa napredkom tehnologije, razvile su se i sledeće metode:

- Hirurško dobijanje spermatozoida – kod obstruktivne azoospermije
- Zamrzavanje i odmrzavanje gameta i embriona
- In vitro maturacija oocita (IVM)
- Onkofertilitetni postupci za obolele od raka



Od rođenja Lujze Braun, 1978. godine, i od tadašnje uspešnosti koja je iznosila 1 – 5% , uspeh pojedinačne IVF/ICSI metode sada iznosi od 30 – 50%, a sa zamrzavanjem gameta i embriona, kumulativna stopa trudnoća iz jednog ciklusa ide i do 60%. Naravno da sve žene nemaju tu mogućost koja zavisi od broja i kvaliteta jajnih ćelija, tako da njih 30 – 40% mogu da računaju na cikluse sa zamrznutim ćelijama i embrionima.

Na uspeh VTO u velikoj meri utiču i broj i kvalitet embriona koji se embriotransferom (ET) vraćaju ženi u matericu. Ranije, sa visokim dozama gonadotropina u protokolima stimulacije ovulacije, sa dobijanjem brojnih oocita, i sa više embriona koji su vraćani (tri i više), procenat trudnoća je bio visok ali je dolazilo češće i do hiperstimulacija, i višeplođnih trudnoća koje se sada tretiraju kao komplikacija VTO. Ti parametri su još izraženiji kako dolazi do napretka u embriološkoj laboratoriji, u kultivaciji i selekciji embriona.

Zbog navedenog, stručna udruženja zadnjih godina preporučuju blaže protokole stimulacije (mild stimulation, friendly stimulation) i manji broj embriona za ET. Zato se insistira na uvođenju singl embrio transfera (SET) kod mlađih žena i double embrio transfera (DET) kod starijih žena, kada se vraća jedan ili dva embriona, da bi se došlo do realnog cilja a to je manje od 10% blizanačkih trudnoća.

Bez obzira na preporuke stručnih udruženja, rezultati VTO se još uvek ne prikazuju uniformno. Rezultati se prikazuju određivanjem procenata sledećih parametara:

- Biohemijskih trudnoća (*biochemical pregnancy rate – BPR*)
- Kliničkih trudnoća (*clinical pregnancy rate - CPR*)
- Trudnoća koje napreduju (*ongoing pregnancy rate – OPR*)
- Stope implantacije (*implantation rate – IR*)
- Stope živorođene dece (*live birth rate – LBR*)

Ovi rezultati mogu da se odnose na broj započetih IVF/ICSI ciklusa, aspiraciju oocita ili embriotransfera. Ipak, najmerodavniji prikaz uspeha VTO je broj živorođene dece u odnosu na započeto lečenje.

### **1.3. Vantelesno oplodjenje (VTO) – *in vitro* fertilizacija (IVF)**

Vantelesno oplodjenje (VTO) je najvažnija metoda biomedicinski potpomognutog oplodjenja i primenjuje se u skoro 70% svih uzroka neplodnosti.

Postoje dva osnovna oblika lečenja:

- Vantelesno oplodjenje – konvencionalni način – IVF
- Intracitoplazmatska injekcija spermatozoida – ICSI

IVF metoda se sada koristi za lečenje ženske neplodnosti i blažih oblika muške neplodnosti, a ICSI za lečenje muške neplodnosti kod teških poremećaja spermatogeneze. Obe metode mogu biti homologne i heterologne, odn. mogu se koristiti gameti partnera ili gameti donora. Postoje brojni centri u kojima se oplodjenje kod svih pacijenata vrši isključivo ICSI metodom, zbog konsekutivno većeg procenta ET, međutim, smatra se da to nije opravdan trend jer je prirodni odabir spermatozoida koji oplodi oocitu sigurno bolje rešenje.

#### **1.3.1. Istorijat vantelesnog oplodjenja**

Pre VTO glavni uzrok neplodnosti bili su oštećeni i neprohodni jajovodi. Jedini načini rešavanja tubarnog problema bili su hirurška atezioliza, salpingoneostome, i mikrohirurške tehnike reanastomoze i reimplantacije tuba u uterus. Nakon ovakvog vida lečenja ponavljale su se obstrukcije tuba i česte su bile tubarne trudnoće. Zbog malog broja trudnoća posle ovih intervencija, morao se naći način da se zaobiđu jajovodi i da se pokuša oplodjenje van tela žene da bi se nakon toga embrion vratio u kavum uterusa.

Istovremeno, više međusobno zavisnih događaja je uticalo na početak VTO:

- Napredak u embriološkoj laboratoriji – Chang, Whitingham (1959 – 1978)
- Uvođenje laparoskopije – aspiracija oocita – Palmer, Fragenheim (1963 – 1975)
- Primena stimulacije ovulacije – klomifen, gonadotropini, HCG – Lunenfeld, Gemzell (1965 – 1970)
- RIA metoda za analizu hormona – estradiol, LH timing ovulacije (1971)
- Ultrazvučna dijagnostika rasta folikula – Donald, Kratochwill (1965 – 1981)

Prve neuspešne trudnoće se ostvaruju od 1973. godine, prvo u bolnici Bourn Hall u Melburnu, međutim, afirmacija metode kreće od 1978. godine kada se rađa prva beba iz

prirodnog ciklusa (Edwards, Streptoe), i od tog trenutka kreće brz napredak ove metode. Povećanje uspešnosti VTO, od 5 – 10% na 30 – 50%, duguje se sledećim važnim dostugnućima:

- Aspiracija oocita uz pomoć transvaginalnog ultrazvuka – Lenz, Wikland (1981 – 1990)
- Zamrzavanje embriona – Leyland, Zielmaker, Trounson (1984)
- Donacija oocita – Lutjan (1984)
- Zamrzavanje oocita – Chen, Gook, Trounson (1986)
- PGD – Handyside (1990)
- ICSI – Palermo (1992)

### **1.3.2. Indikacije za VTO**

Uzroci neplodnosti često su udruženi i složeni. Po pravilu, VTO je zadnji način lečenja i primenjuju se tak kada svim ostalim metodama lečenja ne dođe do željene trudnoće. Lečenje treba ranije usmeriti ka IVF/ICSI kada se radi o ženi starijoj od 35 godina, ukoliko u anamnezi ima prethodne abdominalne operacije, ako je prisutan težak poremećaj spermatogeneze kod partnera, i ako je prisutna endometriozna III i IV stadijuma.

Najčešće indikacije za IVF su:

- Tubarna neplodnost
- Endometriozna III i IV stadijuma
- Recidiv endometrioma
- Blaži i srednji stepen muške neplodnosti
- Neuspešno dosadašnje lečenje
- Dugogodišnji sterilitet – idiopatski i muški
- Godine žene > 35 godina

Najčešće indikacije za ICSI su:

- Teži stepen muške neplodnosti
- Izostanak oplodjenja u IVF-u
- Ponavljani neuspeh IVF-a
- Poor responders

- TESA i MESA
- Retrogradna ejakulacija
- Sekundarni ISCI

### **1.3.3. Klinički postupci u VTO ciklusu**

Nakon obrade i pripreme pacijenata i odabiranja odgovarajućeg protokola za IVF ciklus, predstoje tri etape koje moraju da se izvedu:

- Kontrolisana ovarijalna stimulacija (KOH)
- Aspiracija oocita – OPU (ovum pick up)
- Prenos embriona – embriotransfer (ET)

Posle ET-a, prati se funkcija žutog tela, postavlja se dijagnoza rane trudnoće i vrši se redovna kontrola trudnoće.

#### **Kontrolisana ovarijalna stimulacija**

Protokole za lečenje neplodnosti metodom IVF možemo podeliti u dve glavne grupe, u protokole u prirodnom i stimulisanom ciklusu. Termin čisti prirodni ciklus se koristi za ciklus u kome se oocite dobijaju u prirodnom ciklusu a vreme njihove aspiracije se određuje na osnovu početka pika luteinizirajućeg hormona (LH). Modifikovani prirodni ciklus je prirodni ciklus kada se za završno sazrevanje oocite i za određivanje vremena aspiracije koristi humani horiogonadotropin (HCG), a u kasnoj folikularnoj fazi mogu se primeniti niske doze gonadotropina i antagonisti gonadotropin rilizing hormona za prevenciju prevremene ovulacije.

Ukoliko primenjujemo bilo koju vrstu lekova za stimulaciju ovulacije u ranoj folikularnoj fazi, onda govorimo o stimulisanom ciklusu. Na taj način se, umesto jednog folikula u spontanom ciklusu, vrši regrutacija više folikula, zavisno od ovarijalnog kapaciteta, a takođe se primenom egzogenih hormona (HCG ili GnRH agonisti) utiče na završno sazrevanje oocita. Stimulisan ciklus može biti blažeg karaktera, sa manje upotrebljenih medikamenata, ili može biti sa agresivnijom terapijom kada govorimo o konvencionalnom ili standardnom protokolu za IVF.

U kliničkoj praksi, blažim protokolom bi trebalo da se dobije rast 3 – 5 folikula po ciklusu za IVF, od lekova se primenjuju klomifen – citrat (CC) ili inhibitori aromataze (IA) i niske doze gonadotropina s početkom uzimanja od 5. do 7. dana ciklusa. Za prevremeni skok endogenog LH koriste se GnRH antagonisti. Standardnim protokolom stimulacije kreće se sa davanjem visokih doza gonadotropina od 2. dana ciklusa, sa svrhom stvaranja desetak zrelih folikula. U ovim protokolima za prevenciju prevremenog porasta endogenog LH koriste se agonisti GnRH a za završno sazrevanje oocita daje se HCG.

Danas je u lečenju neplodnosti postupkom IVF-a vrlo važan pravilan izbor protokola za IVF. Moguće je uraditi IVF kod žene u čistom prirodnom ciklusu, bez upotrebe lekova za stimulaciju ovulacije, kod žene sa modifikovanim prirodnim ciklusom uz primenu lekova kojima se postiže bolja kontrola ovulacije, i u stimulisanom ciklusu. Stimulisan ciklus može biti blagog, srednjeg i jačeg stepena. U takvim se ciklusima primenjuju lekovi za stimulaciju ovulacije, kontrolu prevremenog porasta endogenog LH i kontrolu završnog sazrevanja oocita, i za određivanje vremena aspiracije oocita. Koriste se klomifen citrat, inhibitori aromataze, gonadotropini – urinarni i rekombinantni, GnRH agonisti i HCG i GnRH antagonisti.

Izbor protokola za IVF u današnje vreme mora da bude individualan, prilagođen starosti žene, njenom indeksu telesne mase (BMI) i ovarijalnoj rezervi. Ovarijalna rezerva se procenjuje na osnovu bazalnog nivoa hormona FSH, estradiola (E2), antimilerovog hormona (AMH), inhibina B, i odnosa FSH/LH. Takođe je od pomoći izračunavanje volumena jajnika, određivanje broja antralnih folikula (*antral follicul count* -AFC), i 3D power doppler markeri (indeksi vaskularizacije, protoka i uterina i perifolikularna vaskularizacija). U praksi se najviše koristi nivo AMH i broj antralnih folikula. I pored toga, tokom stimulacije ovulacije za IVF moguća su iznenađenja, češće u vidu slabog odgovora jajnika na stimulaciju ovulacije nego u vidu hiperstimulacije jajnika.

### **Protokoli stimulacije ovulacije**

Svi protokoli stimulacije ovulacije (SO) zahtevaju kontrolu ciklusa koja može i/ili mora da sadrži sledeće:

- Bazalno određivanje E2 i Pg
- Serijsko merenje folikula ultrasonografijom
  - Broj dominantnih i kodominantnih folikula

- Srednji prečnik najvećeg obima folikula
- Volumen folikula
- Debljina i karakteristike endometrijuma
- Davanje antagonista GnRH kod folikula veličine preko 13-15 mm
- Davanje HCG-a kada postoje 2-3 folikula prečnika preko 16-18 mm
- Između zadnje injekcije antagonista i HCG-a mora da prođe manje od 30 sati
- Serijsko ili povremeno određivanje E2, Pg, LH, HCG u kombinaciji sa nalazom UZ

### **Blagi protokoli**

Daje se klomifen citrat ili letrozol od 2. ili 3. dana ciklusa ukupno 5 dana. Fakultativno se daje niska doza FSH i antagonist GnRH od veličine folikula 13-15 mm. Aspiracija oocita se vrši 34-36 sati nakon HCG-a. FSH se daje od 5. dana ciklusa na 2. dan.

### **Dugi protokol sa agonistima GnRH**

Agonisti GnRH se daju od 19-21. dana u prethodnom ciklusu kontinuirano, do dana HCG-a. Kada se potvrdi supresija hormona, ili od 2. dana novog ciklusa, daju se svakodnevno gonadotropini. Doza gonadotropina zavisi od ovarijalne rezerve i ovaj protokol se naziva standardni protokol.

### **Kratki protokol sa agonistima GnRH**

Agonisti GnRH se daju od 1. dana ciklusa do dana HCG-a. Ovaj protokol se naziva i *flare up* protokol jer se koristi uticaj agonista na oslobađanje hipofiznog FSH i LH u sredini folikularne faze. Kod ovog protokola može da dođe do nastanka funkcionalnih cisti u prethodnom ciklusu, zbog čega je najbolje korišćenje kontraceptivnih pilula u pripremi za IVF.

### **Ultrakratki protokol**

Gonadotropini se koriste uobičajeno, od 2. dana ciklusa, a agonisti GnRH se daju samo 2., 3. i 4. dana ciklusa.

## **Protokol sa antagonistima GnRH**

Zadnjih godina sve je više u upotrebi protokol sa antagonistima gde postoji snažnija supresija LH, pa se nekad u kasnoj folikularnoj fazi dodaje i LH egzogeno. Kod ovih protokola razlikujemo sledeće protokole:

- Fiksni – antagonist se daje od 6. ili 7. dana ciklusa
- Fleksibilni – antagonist se daje kada su folikuli veći od 13-15 mm
- Singl doza – antagonist se daje u vidu depoa u jednokratnoj dozi od 3 mg
- Multi doza – antagonist se daje svakodnevno po 0,25 mg

Ovaj protokol se preporučuje kod žena sa policističnim ovarijalnim sindromom ili kod žena sa smanjenom ovarijalnom rezervom – poor respondera. Karakteristika ovog protokola je manja inicijalna kohorta folikula i asinhroni rast folikula. U proseku se dobija manji broj oocita, ali nema statističke značajnosti u stopi živorođene dece. Češće se koristi fleksibilni protokol, ultrazvučni pregled se vrši 5-og dana stimulacije i ukoliko dođe do prenatrženog odgovora jajnika, u smislu hiperstimulacije, umesto HSG-a kao okidač za završno sazrevanje oocita može da se administrira GnRH agonista. Nekad se preporučuje nakon toga zamrzavanje oocita i sledeći ciklus IVF-a sa zamrznutim materijalom.

Ne postoji najbolji protokol za stimulaciju ovulacije, ali zato postoji najbolji individualni izbor lekova, doza i protokola. Obavezno je poštovati sve prethodne nalaze i truditi se da se rizici svedu na minimum.

## **Aspiracija oocita – OPU**

Aspiracija jajnih ćelija je važna etapa IVF/ICSI postupka. Ovaj zahvat treba da se izvede sa minimalnom traumom koja je ipak neizbežna ako se punktiraju svi zreli folikuli. Izvodi se 34-36 sati nakon administracije HCG-a ili GnRH agonista. Za uspešnu aspiraciju vrlo je bitno da pacijentkinja bude optimalno pripremljena, da jajnici budu dostupni, bez patoloških promena, da se napravi dobar plan punkcije i da bude pouzdana oprema – ultrazvučni uređaj dobre rezolucije, vakuumska pumpa sa odgovarajućim negativnim pritiskom, grejač epruveta, a pored toga je potrebno paziti na sterilnost i da se asepsa vagine sprovodi bez embriotoksičnih materija. Ispiranje folikula ili flushing ne donosi bitnu prednost, tako da se igle sa dvostrukim lumenom rutinski ne upotrebljavaju. U toku aspiracije važno je da se folikul u potpunosti isprazni, nežnim pomeranjima vrha igle i uz blagu njenu

rotaciju. Aspirirana folikularna tečnost se šalje u embriološku laboratoriju i u toku aspiracije je neophodna dobra komunikacija sa biologom.

Na kraju intervencije briše se vagina, a moguće krvarenje se zaustavlja tamponadom, postavljanjem peana ili vrlo retko hemostatskim šavom. Savetuje se profilaksa antibioticima pre ili nakon OPU zahvata.

### **Praktični saveti za OPU**

Dezinfekcija spoljnih genitalnih organa i vagine:

- Potrebna je potpuna asepsa
- Ispiranje netoksičnim rastvorima
- Planiranje aplikacije TVS ultrazvučne sonde sa iglom

Planiranje punkcije:

- Odabir povoljnijeg jajnika – položaj
- Utvrđivanje rizika od punkcije – krvni sudovi, endometriom, ciste, blizina uterusa
- Proveriti sistem za aspiraciju

Punkcija i vakuumska aspiracija:

- Potisnuti UZ sondu, eventualno je neophodan pritisak odozgo
- Sterilna jednokratna igla 17G
- Nežni prolaz kroz vaginalni zid i ulaz u jajnik
- Odabrati pravilan redosled folikula za aspiraciju
- Ulazak u folikul u maksimalnom prečniku
- Uključivanje vakuuma (-140mm Hg), tek ulaskom u folikul
- Izbegavanje visokog negativnog pritiska
- Aspiracija do potpunog kolapsa folikula
- Isključivanje vakuuma pre izlaska iz jajnika
- Ispiranje sistema medijumom

Teškoće i komplikacije:

- Izbegavati transuterusnu punkciju



- Izbegavati mešanje aspirata sa endometriozom
- Intraperitonealno i retroperitonealno krvarenje u maloj karlici – rani i kasni simptomi
- Vaginalno krvarenje – prestaje samo ili je potrebna tamponada, postavljanje peana ili hemostatski šav
- Rizik od infekcije – preventivno davanje antibiotika

### **Prenos embriona – embriotransfer (ET)**

Važan preduslov uspeha IVF/ICSI postupka je nežan embriotransfer. Vršiti se od drugog do petog dana nakon aspiracije oocita ili oplodjenja. To znači da se embrion vraća u uterus u četvoroćelijskom, osmoćelijskom stadijumu, stadijumu morule ili blastociste. Najviši potencijal za implantaciju poseduje blastocista, međutim insistiranje na embriotransferu petog dana od oplodjenja povećava mogućnost zastoja u razvoju embriona i povećava mogućnost izostanka embriotransfera.

Otežani ET može da se očekuje kod dugog i nepravilnog cervikalnog kanala, kod ožiljaka od operacija i kod nepravilnog položaja fiksiranog uterusa. Vrlo često koristimo zupčasta klešta radi lakšeg prolaza katetera kroz unutrašnje ušće cerviksa. Dokazan je lakši ET uz pomoć abdominalnog ultrazvuka<sup>[11]</sup>. Embrioni se istiskuju dva centimetra od fundusa uterusa, a količina medijuma treba da bude minimalna, jer se sa većim volumenom povećava rizik od tubarne trudnoće. Brži ET (<120 sekundi od punjenja katetera) je uspešniji<sup>[12]</sup>. Sterilnost katetera je od presudne važnosti, jer kontaminacija bakterijama dovodi do značajne redukcije trudnoća.

### **Embriotransfer – *evidence based* podaci:**

- Priprema za ET
  - Pregled, ranije operacije, cervikometrija
  - Probni ET, ranija dilatacija
- Težak ET
  - Smanjuje uspeh IVF – a za 30%
  - Sluz i krv u kateteru ne šteti značajno
  - Zupčasta klešta su dopustiva
- Embriotransfer vođen UZ–om – po pravilu transabdominalni povećava uspeh za 30%
- Odstranjivanje cervikalne sluzi – nije potrebna aspiracija cervikalne sluzi

- Asepsa – kontaminacija katetera daje slabije rezultate IVF-a
- Meki ET kateter daje bolje rezultate
- Opsežna manipulacija pri ET-u dovodi do produkcije prostaglandina i izazva kontrakcije miometrijuma
- Volumen istisnutog medijuma je optimalno 10-20  $\mu$ L
  - >60  $\mu$ L rizik za ekspulziju i ektopičnu trudnoću
  - <10  $\mu$ L niži implantacioni procenat
- Dubina transfera embriona – 1-2 cm ispod fundusa
- Mirovanje nakon ET-a – dovoljno je 30 minuta
- ET blastociste, SET, DET

Za konačni uspeh IVF-a neophodna je optimalna funkcija žutog tela i receptivni endometrijum. Dokazano je da IVF/ICSI postupci smanjuju ove funkcije na više načina. Poremećen je implantacioni prozor, poremećena je ekspresija receptora i biosignala i premalo je granuloza ćelija nakon aspiracije.

Danas je lek izbora mikronizirani progesteron koji se primenjuje najčešće vaginalno, međutim i intramuskularna primena daje dobre rezultate za razliku od per os primene.

#### **1.3.4. Implantacija i endometrijalna receptivnost**

Susret ženskog i muškog pronukleusa sa haploidnim brojem hromozoma dešava se u ampuli jajovoda i nastaje zigot koji putuje ka kavumu uterusa. U toku puta počinje prva mitoza koja se završava 30 sati nakon oplodjenja, svakih sledećih 12 sati dolazi do nove deobe, i u stadijumu morule, koja poseduje 16 ćelija, embrion dolazi do kavuma. Stvara se blastocista a zatim nakon 60 sati boravka u uterušnoj tečnosti započinje implantacija.

Implantacija embriona predstavlja kritičnu tačku u reproduktivnom procesu i sastoji se od jedinstvenih bioloških događaja. Blastocista dolazi u neposredan dodir sa endometrijumom, formira placentu i tako se obezbeđuje kontakt između fetusa u razvoju i majčine cirkulacije. Uspešna implantacija zahteva receptivni endometrijum, funkcionalni embrion u stadijumu blastociste i sinhronizovani dijalog između maternalnog i embrionalnog tkiva. Humani endometrijum prolazi kroz kompleksnu seriju proliferativnih i sekretornih promena u svakom menstrualnom ciklusu i ispoljava kratak period receptivnosti, poznat kao „implantacioni prozor“. Endometrijum postaje receptivan za implantaciju blastociste oko 6.

dana od ovulacije i ostaje receptivan sledeća 4 dana (20-24. dan ciklusa). Ukoliko se ne desi implantacija, izostaje stimulacija potpuno razvijenog endometrijuma i dolazi do menstrualnog krvarenja. Sa uspešnom implantacijom endometrijum nastavlja dalje da se razvija i podleže brojnim morfološkim i molekularnim promenama da bi se obezbedila potpuna potpora embrionu u razvoju.

Metabolički aktivan zdrav embrion preimplantaciono stvara autokrini embrionalni mitogen – PAF (platelet activating factor), i aktivira embrionalni genom bez čega nema diferencijacije ploda nakon četvoroćelijskog stadijuma. PAF aktivira stvaranje EPF-a (early pregnancy factor), regulatora transformacije decidualnih limfocita, nakon čega dolazi do sinteze i embrionalnih činioca rasta, citokina i receptora, važnih kako za implantaciju tako i za dalji embrionalni razvoj<sup>[13]</sup>.

Nekoliko benignih ginekoloških bolesti kao što su endometrioza, hidrosalpings, miom i policistični ovarijalni sindrom (PCOS) mogu da smanje mesečnu fekundabilnost i uterusnu receptivnost. Asistirane reproduktivne tehnike (ART) koje se sada koriste mogu da izvrše selekciju najkvalitetnijih embriona i ART protokoli nastavljaju da se razvijaju, povećavajući stope trudnoća, smanjujući broj multiplih porođaja i stvarajući trudnoće sa zdravom decom kod roditelja sa genetskim greškama.

Bez obzira na sav napredak, stopa implantacije je i dalje relativno niska i u zadnjoj dekadi nije došlo do dovoljnog povećanja koje bi dozvolilo globalno protokolarno prihvatanje transfera samo jednog embriona (single-embryo transfer - SET). Uterusna receptivnost igra ključnu ulogu u uspostavljanju uspešne trudnoće i loša receptivnost može da limitira uspeh ART-a i da dovede do javljanja subfertilnosti kod prethodno pomenutih ginekoloških oboljenja.

Implantacija potpuno razvijene blastociste je neophodna za reprodukciju. Od strane budućeg embriona, cilj implantacije je invazija maternalnog tkiva i uspostavljanje pristupa materijama esencijalnim za preživljavanje i razvoj. Semialogenički embrion treba da bude prihvaćen od strane majčinog endometrijuma. Da bi se to postiglo neophodna je ekstenzivna priprema i dvosmerna komunikacija između blastociste i endometrijuma.

Sa endometrijalne strane potrebna je priprema za implantaciju koja se između ostalog dešava kroz uspostavljanje implantacionog prozora. U ovom vremenskom periodu uterus je pripremljen da primi blastocistu i da obezbedi implantaciju preko imunih ćelija, citokina,

faktora rasta, hemokina i adhezionih molekula<sup>[14]</sup>. Za uspešnu implantaciju potreban je funkcionalan endometrijum. U sekretornoj fazi implantacioni prozor se uspostavlja delovanjem progesterona na prethodno estrogenom pripremljenom endometrijumu.

Iz perspektive budućeg embriona priprema se dešava ekspresijom brojnih receptora i adhezionih molekula van preimplantacionog embriona i produkcijom citokina i drugih medijatora.

Proces implantacije se deli na nekoliko striktnih faza:

- apozicija,
- athezija,
- penetracija
- trofoblastna invazija.

Ova dešavanja su moguća samo u vremenskom periodu implantacionog prozora. Tokom procesa apozicije blastocista komunicira sa endometrijumom preko athezivnih molekula, u athezionoj fazi uspostavlja se polarizovana interakcija između blastociste i endometrijuma i postaje sve snažnija a potpomognuta je athezionim molekulima, imunim ćelijama i citokinima. Za vreme trofoblastne invazije dolazi do kontrolisane destrukcije majčinog tkiva da bi blastocista došla do bazalnog endometrijuma i nastavila dalje da se razvija.

Kritični korak u uspostavljanju trudnoće je decidualizacija, proces u kome endometrijum prolazi kroz ekstenzivne promene u morfologiji i ekspresija i sekrecija brojnih obrazaca koji podupiru implantacionu blastocistu. Implantacija blastociste se dešava 6-7 dana nakon fertilizacije i ukoliko je uspešna, nakon 10 dana blastocista je kompletno inkorporirana u zid uterusa.

Ključna pitanja koja ostaju su: način na koji se uspostavlja tolerancija semialogenog embriona, kako blastocista dobija pristup majčinom endometrijumu, i koji su mehanizmi koji determinišu da li će je majčino tkivo prihvatiti? Da li je blastocista agresor koji se bori da uđe u endometrijum ili majčino tkivo poziva blastocistu i podupire njen dalji razvoj?

#### **1.3.4.1. Polaritet blastociste i uterusa**

Polaritet blastociste i uterusa je esencijalan za više nivoa embrionalne implantacije i razvoja. Prvo, polaritet unutar oocite i blastociste u razvoju, važan je za diferencijaciju embrionalnih ćelija preimplantacionog embriona. Drugi nivo polariteta se uspostavlja kada blastocista priđe endometrijumu i kada dolazi do specifične orijentacije prema endometrijumu. Kod ljudi, unutrašnji pol blastociste se namešta direktno ka endometrijumu. Tačan mehanizam kojim se blastocista na pravi način orijentiše je nepoznat ali postoji nekoliko hipoteza koje daju moguće objašnjenje. Jedna od njih koristi hemokin gradijent u endometrijumu. Hemokini koji se nalaze u uterusu u vreme implantacije su CX3CL1, CCL7, CCL14 i CCL4, s druge strane identifikovano je nekoliko hemokin receptora na blastocisti kao što su CCR1, CCR3 i CX3CR1. Eksperimenti *in vitro* su potvrdili da CCL14 indukuje trofoblastnu migraciju a takođe su pokazali da sličan efekat imaju i CCL4 i CX3CL1. Podrška važnosti hemokina u migraciji blastociste, indirektno, dolazi iz opservacije da ožiljno tkivo na uterusu, od prethodne endometrijalne hirurgije ili od carskog reza, postaje atraktivno mesto za implantaciju. Ožiljno tkivo predstavlja perzistentni, inflamatorni fokus koji sekretuje hemokine, koji sa svoje strane privlače embrion.

#### **1.3.4.2. Implantacioni prozor**

Ključni koncept uspešne embrionalne implantacije je uspostavljanje dvosmernog dijaloga između blastociste i majčinog endomerijuma. Implantacioni prozor, definisan period uteruse receptivnosti nakon koje endometrijum postaje refraktaran, traje od 20-24. dana menstrualnog ciklusa ili 6-10. dana od LH pika. Uspostavljanje implantacionog prozora je pod kontrolom steroidnih hormona preko lokalnih medijatora.

#### **1.3.4.3. Citokini i faktori rasta**

Brojni citokini i faktori rasta učestvuju u interakciji majka-fetus. Klasa citokina koja ima važnu ulogu u implantaciji embriona je IL-6 familija citokina. Ova grupa sadrži brojne citokine, uključujući LIF, IL-6, IL-11, neurotrofički faktor, onkostatina M i kardiotrofin. Važna karakteristika ove klase citokina je njihova zajednička intracelularna signalizacija preko gp130, a nadalje, svi članovi ove familije su aktivatori STAT3.

LIF je proinflamatorni citokin koji zajedno sa LIF-βR inicira razne intracelularne signalne puteve. U uterusu, LIF-βR signalizacija se dešava primarno preko STAT3.

Ekspresija STAT3 je moguća samo u određenom periodu uterine receptivnosti. Ova limitirana STAT3 signalizacija nije zavisna od nivoa LIF-R ili afiniteta što ukazuje da se LIF-R signalni putevi menjaju tokom perioda verovatno kao rezultat različitih metaboličkih statusa endometrijuma tokom menstrualnog ciklusa.

LIF se prikazuje u luminalnom epitelu tokom 18-28. dana menstrualnog ciklusa (srednja i kasna sekretorna faza) uzimajući ulogu u implantaciji. Tokom sekretorne faze u luminalnom epitelu se nalazi i LIF- $\beta$ R. Decidualne stromalne ćelije takođe proizvode LIF.

Nekoliko molekula utiču na LIF ekspresiju. LIF je povezan sa inflamatornom reakcijom preko IL-1; TNF- $\alpha$  i leptin mogu da stimulišu LIF produkciju. IGF i TGF- $\beta$  takođe indukuju dozno zavisnu LIF sekreciju.

U endometrijumu LIF može da kontroliše odnose i broj imunih ćelija u vreme implantacije. LIF regrutuje makrofage i ne dozvoljava migraciju eozinofila i uterušnih NK (uNK) ćelija što je dokazano u eksperimentima na LIF-knockout (KO) miševima. Pokazano je da je LIF neophodan za uspešnu implantaciju blastociste ali ne i za njenu viabilnost.

LIF ne utiče samo na endometrijum, postoje dokazi da takođe ima uticaj na humanu blastocistu i njene prekursore. Budući embrion je takođe sposoban za regulisanje endometrijalne produkcije LIF-a i na taj način preuzima kontrolu nad endometrijalnom receptivnošću i nad svojom sudbinom.

IL-6 je proinflamatorni citokin koji se stvara u endometrijalnom epitelu i stromalnim ćelijama u vreme implantacije. Produkcija mu je ciklična a najviši nivoi su za vreme implantacionog prozora i menstrualnog krvarenja. Nivo IL-6 raste tokom sekretorne faze da bi nakraju te faze opet opao ali ne doseže niske koncentracije u odnosu na proliferativnu fazu. Ove fluktuacije mogu da budu pod dejstvom steroidnih hormona a IL-6 ekspresija pod uticajem IL-1. Suprotno, hCG i TGF- $\beta$  ihibišu produkciju IL-6. Receptori za IL-6 su nađeni na humanom embrionu od nivoa blastociste pa nadalje i embrionalni hCG ne samo da povećava stvaranje LIF-a iz endometrijuma nego i inhibiše endometrijalno otpuštanje IL-6. Na taj način blastocista može da pojača inflamaciju korišćenjem LIF-a a u isto vreme i da održava inflamaciju inhibišući IL-6.

IL-11 je multifunkcionalan citokin sa anti-inflamatornim dejstvom. In vitro studije ukazuju da IL-11 ima ulogu u stimulaciji decidualizacije kod ljudi, verovatno delujući na stromalne ćelije. Takođe, IL-11 izaziva dozno zavisno smanjenje u produkciji

proinflamatornog citokina TNF- $\alpha$  čija je produkcija najveće u sekretornoj fazi. TNF- $\alpha$  povećava stvaranje IL-11 in vitro u ranijim studijama. Defekt u IL-11 ili njegovim receptorima može da se javi u određenim slučajevima infertiliteta.

Leptin i njegovi receptori se nalaze u humanom endometriju i predstavljaju važan modulator u komunikaciji majka-blastocista. Leptin takođe pojačava ispoljavanje dejstva integrin  $\beta 3$  subjedinice a utiče i na molekule koji deluju na remodeliranje tkiva, kao što je metaloproteinaza (MMPs). U vreme implantacije embrion može da proizvodi leptin i da odgovori na njega. Takođe postoji mogućnost da IL-1 sistem i leptin utiču na međusobnu sekreciju, komuniciraju međusobno i obrasci njihovih dejstava pokazuju mnoge sličnosti.

Glikodelin kao imunomodulator teško se nalazi u proliferativnoj fazi, tokom sekretorne faze i rane trudnoće nivo glikodelina konstantno raste. Ima supresivnu ulogu na majčinu imunološku reakciju na fetalni alograft. Inhibiše migraciju T limfocita, [ $^3\text{H}$ ] prepoznavanje od strane limfocita i ćelijsku lizu od strane NK ćelija.

Pro- i anti-inflamatorni molekuli su uključeni ne samo u uspostavljanje implantacionog prozora nego i u komunikaciju embriona i endometrija. Svi citokini se stvaraju u endometriju ali i embrion stvara neke od njih u različitim fazama razvoja. U kontekstu implantacije, indukcija inflamacije može da se posmatra kao vid agresije od strane embriona. Citokini koje proizvodi embrion su proinflamatorni što sugeriše da je implantacija proces agresije u kojoj embrion izaziva i forsira endometriju da ga prihvati.

S druge strane, majčini signali su neophodni za stvaranje proinflamatornog okruženja u uterusu u vidu implantacionog prozora, nezavisno od embriona, implicirajući ovo dejstvo kao poziv. Majčini steroidi indukuju anti-inflamatorne molekule kao što su IGFBP-1 i IL-11 i tako kontrolišu inflamaciju izazvanu od embriona i nezavisnih maternalnih signala. Kontrolisana agresija se objašnjava i sledom događaja, npr. supresija pro-inflamatornog TNF- $\alpha$  od strane anti-inflamatornog IL-11 nakon pika TNF- $\alpha$  u sekretornoj fazi.

#### **1.3.4.4. Atezioni molekuli**

Atezijska vezivanja za endometriju je kritičan korak u implantaciji. Atezioni molekuli imaju ulogu u apoziciji i ateziji; selektini uglavnom u apoziciji a integrini u ateziji. L-selektin može da, zajedno sa oligosaharidnim ligandima na površini endometrija, utiče na rast fizioloških relevantnih interakcija što dozvoljava povlačenje

paralele između ranih faza implantacije (apozicija i ethezija) i leukocitne ekstravazacije iz krvnog korita. Uključivanje hemokina u ekstravazaciji leukocita i orijentaciji i privlačenju embriona podržava ovu paralelu. Blokiranje L-selektina antitelima dovodi do poremećaja u atheziji.

Integrini imaju važnu ulogu u implantaciji i uključeni su u receptivnost endometrijuma. Ekspresiju integrina na endometrijumu kontrolišu steroidi i neki od citokina kao što je IL-1. Integrini su višestrani i mogu da se vežu za brojne komponente EMC-a kao što su OPN, fibronektin, laminin i entaktin. Pored endometrijuma, i blastocista prikazuje integrine na spoljašnjem sloju.

Uloga mucina je još uvek nejasna. Prisutni su u mnogim delovima tela i funkcionišu uglavnom kao lubrikanti i protektivni agensi. Nivo mucina 1 (MUC-1) u vreme implantacije raste, verovatno pod uticajem progesterona i moguća uloga mu je zaštita embriona od majčinog imunog sistema i prevencija od vezivanja za neodgovarajuće mesto.

Kaderin, posebno E-kaderin, formira adherentne veze i povezuje se sa formiranjem permeabilne barijere koja reguliše segregaciju između maternalnih, imunokompetentnih imunih ćelija i embrionalnih molekula u primarnoj decidualnoj zoni. Moguća finalna funkcija E-kaderina u implantaciji je kontrola i navođenje trofoblastne invazije.

Pinopodi su progesteron zavisne organele na apikalnoj površini epitelnih ćelija endometrijuma kao celularne protruzije i vidljive su od 19. do 21. dana menstrualnog ciklusa. Njihova uloga je u uvlačenju uterusne tečnosti i makromolekula, čime se zid uterusa približava embrionu koji pliva u tečnosti. Area oko pinopoda je bogata integrinima i citoplazmatsko rearanžiranje potrebno za njihovo stvaranje može da izazove promenu ekspresije athezionih molekula i tako doprinese atheziji i apoziciji.

#### **1.3.4.5. Imune ćelije**

Brojne imune ćelije su prisutne u endometrijumu i sve one učestvuju na svoj način u uspešnom uspostavljanju trudnoće. Najvažnije od njih su uNK ćelije (uNKs), makrofagi, dendritične ćelije (DCs) i T ćelije.

uNKs se pojavljuju u endometrijumu tokom svakog menstrualnog ciklusa i ima ih u izobilju tokom kasne sekretorne faze i implantacionog prozora. One mogu da kontrolišu maternalni imuni odgovor na fetalni alograft, trofoblastnu invaziju i formiranje placente.



Utiču na vaskularizaciju endometrijuma produkujući vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF). Za uNKs diferencijaciju je odgovoran IL-15, IL-12 i/ili IL-18 ih aktivira da produkuju IFN- $\gamma$  a IL-11 i prolaktin utiču na proliferaciju, maturaciju i diferencijaciju uNKs. Nakon diferencijacije u decidualne NKs, počinju da povećavaju produkciju citokina, faktora rasta i angiogenetskih faktora. Decidualne NKs povećavaju protok krvi u fetomaternalnoj jedinici remodelišući spiralne arterije i pomažući migraciju trofoblata. Angiogenetski faktori koji se produkuju u decidualnim NKs su VEGF, PLGF, angiopoetin-2 i NKG5. Produkujući citokini i faktori rasta su TNF- $\alpha$ , IL-10, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, CSF-1, LIF i IFN- $\gamma$ . Ovim mehanizmom decidualne NKs doprinose implantaciji embriona i decidualizaciji endometrijuma.

Dendritične ćelije (DCs) i makrofagi su glavne antigen ćelije u endometrijumu. Nakon implantacije blastociste, DCs dolaze u endometrijum gde se gomilaju naročito oko implantiranog embriona. U decidui DCs predstavljaju 5-10% svih hematopoetskih uterušnih ćelija. One se neophodne ne samo za indukciju primarnog imunog odgovora nego i za indukciju imunološke tolerancije. Citokini i hemokini regulišu njihovu funkciju i diferencijaciju. Nivo koloni-stimulusnog faktora-1 (CSF-1) stvorenog u epitelu uterusa raste u vreme implantacije i nastavlja dramatično da se diže tokom procesa placentacije. CSF-1 je glavni regulator mononuklearne fagocitne linije i kontroliše proliferaciju, migraciju, viabilnost i funkciju DCs i makrofaga. Endometrijalne epitelne ćelije proizvode LIF i CSF-1. DCs sekretuju solubilni FMS-like tirozin kinazu 1 (sFLT1) i transformišući faktor rasta (TGF- $\beta$ 1) koji deluju lokalno i regulišu angiogenezu u endometrijumu a uključeni su u razoj regulatornih T (Treg) ćelija.

Makrofagi su urođene imune ćelije koje eliminišu mikrobe iz endometrijuma. Broj endometrijalnih makrofaga raste u kasnoj sekretornoj fazi. Decidualni makrofagi obuhvataju 20-25% svih decidualnih leukocita. Aktiviraju ih pro-inflamatorni citokini i mikrobialni lipopolisaharidi (LPS) i klasifikovani su kao M1-tip koji sekretuju TNF- $\alpha$  i IL-12 i koji učestvuju u progresiji inflamacije. M2 makrofagi povećavaju sekreciju antagonista IL-1R i esencijalni su za remodeliranje tkiva i imunotoleranciju tokom trudnoće. U ranoj trudnoći, proangiogenetski faktori sekretovani iz makrofaga ubrzavaju vaskularno remodeliranje da bi se uspostavila odgovarajuća utero-placentna cirkulacija.

S obzirom da nema morfološkog kriterijuma koji bi nedvosmisleno upućivao na receptivnost endometrijuma, histeroskopija sa vizuelizacijom endometrijuma i mogućnošću

operativnog zahvata u istom aktu može da doprinese povećanju stope implantacije kod svih postupaka biomedicinski potpomognutog oplođenja<sup>[15]</sup>.

### **1.3.5. Preporuke za poboljšavanje rezultata vantelesnog oplođenja**

Bez obzira što postoji trend vraćanja manjeg broja embriona kod embriotransfera, rezultati IVF/ICSI-a trajno se poboljšavaju. Brojne su preporuke za unapređenje ove metode, međutim pojedine preporuke za koje ne postoje kontrolisana istraživanja (RCT- randomised controlled trial) i dalje nas ostavljaju u nedoumici. Najčešće se savetuje optimalna priprema parova, prethodno lečenje i provereni klinički i embrionološki postupci IVF/ICSI - ja.

#### **Hirurško lečenje pre VTO**

Pre vantelesnog oplođenja neophodna je odgovarajuća dijagnostika koja može da bude i priprema za ovako složeno lečenje, koje ima ograničenu uspešnost. Laparoskopija i histeroskopija imaju puno indikacija kod ovih pacijentkinja.

Oštećene jajovode nalazimo u 15-30% pacijentkinja koje se leče IVF-om. Tečnost u hidrosalpingsima je toksična za oocite, embrione i za proces implantacije. Dokazano je da hidrosalpings smanjuje za 30-40% implantaciju, kliničke trudnoće i porođaje nakon IVF/ICSI – ja. Danas se preporučuje salpingektomija pre postupka IVF-a, a Cochraneova metanaliza je potvrdila da obostrano odstranjenje tuba ima značajni uticaj na viši procenat trudnoća. Ukoliko nije tehnički moguće uraditi salpingektomiju, laparoskopski se okludira proksimalni deo jajovoda. Ukoliko se tek pri aspiraciji primeti hidrosalpings neophodno je da se pod kontrolom UZ-a izvrši aspiracija tečnosti hidrosalpingsa.

Miomi uterusa i njihovo dejstvo na uspeh IVF-a nije potpuno razjašnjeno. Samo intramuralni miomi koji dolaze do kavuma uterusa statistički značajno smanjuju procenat trudnoća, a submukozni miomi dovode do i manjeg procenata trudnoće i povećavaju rizik od spontanih pobačaja. Verovatnije je da lokalizacija mioma više utiče na manji uspeh i lečenja i procenta trudnoća nego njihova veličina.

Polipi endometrijuma su najčešće asimptomatski ili daju iregularno krvarenje iz uterusa. Oni smanjuju mogućnost implantacije porastom sekrecije glikodelina. Pored toga remete transport spermatozoida i povećavaju lokalnu upalu.

## **Individualizacija stimulacije ovulacije**

Ne postoji najbolji protokol za stimulaciju ovulacije, ali zato postoji najbolji individualni izbor lekova, doza i protokola. Obavezno je poštovati sve prethodne nalaze i truditi se da se rizici svedu na minimum.

## **Poboljšanja u embriološkoj laboratoriji**

Pored kompetentnih oocita iz uspešne stimulacije ovulacije, na uspeh IVF-a u velikoj meri utiče broj i kvalitet dobijenih embriona u embriološkoj laboratoriji. Postoje brojne dileme kliničara i embriologa vezane za fertilizaciju, selekciju embriona, kulturu blastociste i selekciju spermatozoida za ICSI.

Intracitoplazmatska injekcija spermatozoida je najvažniji napredak BMPO-a u lečenju muške neplodnosti. Zadnjih godina korišćenje ICSI metode je postalo neopravdano učestalo tako da se u pojedinim centrima ICSI primenjuje kod svih postupaka oplodjenja. Današnje proširene indikacije za ICSI su:

- Teška muška neplodnost
- Hirurški dobijeni spermatozoidi
- Izostanak oplodjenja kod prethodnog IVF-a
- Oplodjenje sa zamrznutom spermom
- Kod planiranog PGD-a
- Spermatozoidi dobijeni elektroejakulacijom ili kod retrogradne ejakulacije

Razlozi za uniformnu primenu ICSI-a mogu da se svedu na želju za sigurnijim oplodjenjem i naizgled višom uspešnošću. Rasprava o opravdanosti ovog stava traje već 20 godina. Većina istraživanja je dokazala sledeće:

- ICSI je opravdan u 50-60% ciklusa
- Oplodjenje je kod ICSI metode 85% , a kod IVF-a 65-80%
- Cochrane-ova metaanaliza je pokazala da ICSI za ostale uzroke neplodnosti, osim muških uzroka, ne poboljšava značajno rezultate
- Utvrđeno je da se i kod subfertilnog spermograma postiže oplodnja IVF-om, zavisna je od metode i iskustva u pripremi sperme
- ICSI metoda stvara manje embriona u ciklusu od IVF-a

- Mogući rizici kod ICSI-a su zbog:
  - Neprirodnog oplođenja i fuzije gameta
  - Unošenja membrane nekapacitiranog spermatozoida u oocitu
  - Mogućeg unosa virusa i bakterija
  - Poremećene oscilacije kalcijuma u oociti
  - Poremećene aktivacije oocita
  - Poremećaja epigenetskih aktivnosti
  - Poremećaja oplođenja i embriogeneze

Selekcija spermatozoida za ICSI se svodi na morfološke kriterijume koje omogućavaju kvalitet mikroskopa i njegovi dodaci. Konvencionalnim svetlosnim mikroskopom nije moguće uočiti sve morfološke nedostatke spermatozoida, naročito strukture glave, organela i jedra, te se razmišlja o širem korišćenju nove metode - intracytoplasmatic morphologically selected sperm injection – IMSI, koja po početnim izveštajima daje bolje rezultate za 10-12%. Takođe postoje neka istraživanja koja su iznela sumnju u pouzdanost IMSI-a tvrdeći da se DNK integritet spermatozoida može utvrditi samo destruktivnim metodama i da pojava vakuola u glavi spermatozoida nije u korelaciji sa aneuploidijom spermatozoida, te za sada nije dokazano poboljšanje za tešku mušku neplodnost korišćenjem IMSI-a.

Selekcija embriona za bolji uspeh IVF/ICSI-a je takođe od ogromne važnosti. Mogućnosti selekcije su:

- Analiza broja, veličine i pravilnosti blastomera 2. ili 3. dana nakon oplođenja
- Prisustvo fragmentacija
- Odsustvo granulacija
- Debljina zone pelucide
- Bodovanje kumulus kompleksa
- Bodovanje kvaliteta blastociste

Najpouzdanija metoda za biranje euploidnih embriona za ET je preimplantacioni genetski skrining (PGS). Pored ovoga još jedna napredna metoda je *embryoscope*, kojom se posmatra razvoj i brazdanje embriona. Na osnovu bržeg ili usporenog brazdanja vrši se selekcija nekompetentnih embriona, koji se u daljem postupku odbacuju. Glavne indikacije za PGS su:

- Poodmakle godine starosti žene
- Ponavljani implantacioni neuspeh
- Ponavljani spontani pobačaji
- Morfološke ili dinamičke manjkavosti embriona
- Ranije hromozomske anomalije ploda
- Poboljšanje rezultata IVF-a

Udruženja ACOG i ESHRE ne preporučuju PGS kao rutinsku metodu.

Kultura blastociste omogućava selekciju embriona sa najboljim implantacionim potencijalom i transfer blastociste daje veću stopu trudnoća od ET-a 3. dana. Ukoliko se nekritički ide na transfer blastociste povećava se verovatnoća ciklusa bez ET zbog zastoja u razvoju svih embriona. Ipak se definitivna odluka o kultivaciji blastociste donosi 3. dana od oplodjenja ukoliko postoji više osmoćelijskih embriona, sa jednakim blastomerama i bez fragmentacije.

#### **1.4. Histeroskopija**

Histeroskopija je endoskopska metoda kojom stičemo uvid u šupljinu materice transcervikalnim pristupom. Osnovni histeroskop je dugi pravi teleskop vezan za izvor svetla i osvetljava područje koje ispituje. Distalni kraj teleskopa se uvodi u cervikalni kanal i pod direktnom vizuelizacijom instrument se dalje uvodi u kavum uterusa. Kamera je priključena na proksimalni kraj histeroskopa i sprovodi sliku na monitoru. Medijum, kao što je rastvor natrijum hlorida, ubacuje se kroz histeroskop da bi distendirao uterusnu šupljinu, omogućavajući bolju vizuelizaciju i operativni zahvat na širem području ispitivanog polja.

Histeroskopija je minimalno invazivna metoda koja se koristi za dijagnozu i tretman mnogih intrauterinih i endocervikalnih patoloških stanja<sup>[16]</sup>. Histeroskopska polipektomija, miomektomija i endometrijalna ablacija su tek nekoliko od brojnih intervencija koje se izvode. Svojom sigurnošću, efikasnošću i kratkim vremenom trajanja, dijagnostička i operativna histeroskopija je postala standard u ginekološkoj praksi<sup>[17]</sup>.

### 1.4.1. Istorijat histeroskopije

Histeroskopija se razvija unazad dva veka. Prvi naučnik koji je upotrebio svetlo da bi ostvario uvid unutar ljudskog tela bio je Bozzini 1805. godine. Razvoj histeroskopije se ipak vezuje za rad Pantaleoni-a koji je 1869. godine prvi izveo uterinu endoskopiju.

Histeroskop kakav je poznat danas vrlo je sličan ranom cistoskopu opisanom 1877. godine od strane Nitze-a. Instrumenti i tehnika endoskopije se unapređivala od strane Heineberg-a (1914), Rubin-a (1925), Mickulicz-Radecki-a (1927) i Norment-a (1949). Vulmiere je primenio hladno fiberoptičko svetlo, a Marleschki je predstavio ranu formu kontaktnog histeroskopa (1965). Edstrom i Fernstrom su 1980. godine uveli korišćenje rastvora visokomolekularnog dekstrana kao distenzionog medijuma, a Hamou je napravio 4-mm mikrokolpohisteroskop za dijagnostiku u reproduktivnom traktu.

Za zadnjih nekoliko decenija napredak u optičkoj i fiberoptičkoj tehnologiji i pronalasci nove hirurške opreme dramatično su poboljšali vizuelnu rezoluciju i hirurške tehnike u histeroskopiji. Mnoge histeroskopske procedure su zamenile stare, invazivne tehnike. Sada kada su instrumenti daleko manjeg dijametra nego ranije, *office* histeroskopija je zamenila procedure u operacionoj sali. Sa daljim unapređenjem tehnologije mogućnosti za dalji napredak histeroskopije su neograničene.

Dijagnostička *office* histeroskopija predstavlja ogroman napredak u ginekologiji u smislu metode koja može da se izvede i u ambulantnim uslovima, koja je bezbolna, sigurna, jeftina i na osnovu prihvatanja ove procedure od strane pacijenata postala je superiorna u odnosu na druge metode. Danas, histeroskopija predstavlja gold standard za evaluaciju endometrijuma. Korišćenjem endoskopa koji su malog kalibra prestala je potreba za cervikalnom dilatacijom. Malokalibarski histeroskop je pojednostavio pregled i dozvolio jednostavno i sigurno ispitivanje kavuma uterusa. *Office* histeroskopija može da se izvede u vrlo kratkom vremenskom periodu sa minimalnim morbiditetom i nelagodnom za pacijenta. Ova metoda se više ne smatra osnovnom dijagnostičkom procedurom kao što je bio slučaj sa dijagnostičkom laparoskopijom. Napredak u vrsti instrumenata je omogućio filozofski pristup „see and treat“ kada se brojna različita patološka stanja uočavaju i u istom trenutku operativno rešavaju, što predstavlja povećanje satisfakcije za pacijenta kod koga nema više dugačke preoperativne pripreme, skraćuje se vreme lečenja, a time i nivo stresa kod pacijenta<sup>[18,19]</sup>.

Prednost histeroskopske vizualizacije uključuje direktno sagledavanje endometrijuma i endocerviksa, omogućava i detektovanje minorfokalnih endometrijalnih lezija, kao i direktnu ciljanu endometrijalnu biopsiju. Nedostaci histeroskopije su potreba za skupom medicinskom opremom (kamera, insuflator, histeroskop i video oprema) i što intervencija zahteva iskusnog i veštog lekara endoskopistu.

## **1.4.2. Histeroskopska oprema**

### **Histeroskop**

Teleskop se sastoji od tri dela: okulara, tela i sočiva. Dužina i ugao distalnog dela instrumenta su važni za vizuelizaciju. Ugao gledanja koji može iznositi 0°, 12°, 15°, 25°, 30° i 70° omogućava panoramski pogled. Histeroskopi mogu biti rigidni i fleksibilni, a njihov dijametar varira od 3 do 10 mm. Rigidan histeroskop je najčešće korišćen instrument i njegov opseg dijametara omogućava kako *office* histeroskopiju, tako i kompleksne procedure u operacionoj sali. Histeroskopi veći od 5 mm zahtevaju cervikalnu dilataciju za njihov ulazak u kavum uterusa. Fleksibili histeroskopi se češće koriste za *office* histeroskopiju i vrlo su korisni u ispitivanju iregularnih oblika uterusa. Tokom insercije ova vrsta histeroskopa prolazi lakše kroz cerviks od rigidnih istog dijametra.

### **Izvor svetla**

Svaki histeroskop je povezan sa internim ili eksternim izvorom svetla za osvetljavanje na distalnom kraju. Kao energetski izvor može da se koristi tungsten, metal halid i ksenon. Ksenonski izvor svetla se predstavlja kao superioran izvor.

### **Hirurški instrumenti**

Hirurški instrumenti mogu da se koriste i kod rigidnih i kod fleksibilnih histeroskopa i uvode se kroz operacioni radni kanal. Postoje brojni instrumenti:

- Makaze – za inciziju septuma, polipa ili sečenje sinehija
- Forceps za biopsiju – za izvođenje direktne biopsije patološke promene
- Grasping instrumenti – za odstranjivanje stranih tela
- Loop elektrode – za recesiranje fibroida, polipa ili endometrijuma

- Vaporizujuće elektrode – za razaranje endometrijalnih polipa, fibroida, intrauterinih adhezija i septuma
- Morselator - za sečenje i odstranjivanje endometrijalnih polipa i fibroida

### **Izvori energije**

U histeroskopiji može da se koristi monopolarna ili bipolarna struja, kao i energija lasera. Monopolarna struja se često koristi kod resektoskopa sa hipotoničnim medijumom, kao što je glicin. Njome se seče i koaguliše tkivo, a dubina termičkog oštećenja se bazira na nekoliko faktora: endometrijalna debljina, brzina, pritisak, trajanje kontakta elektrode sa tkivom i jačina struje. Bipolarna struja se koristi sa izotoničnim medijumom i kod nje ne dolazi do rasipanja energije van dela kontakta sa tkivom. Sistem sa bipolarnim elektrodama poseduje tri tipa elektroda: *springle* elektroda se koristi za vaporizaciju većih polja, *twizzle* elektroda za temostatsku resekciju tkiva i *ball* elektroda koja se koristi za vaporizaciju i ablaciju.

### **Medijum**

U histeroskopiji je korišćenje medijuma vrlo važno za panoramsko posmatranje uterinog kavuma. Medijum omogućava širenje prostora i za adekvatno posmatranje je važan intrauterini pritisak koji je proporcionalan tonusu muskulature i debljini zida uterusa.

Ugljen dioksid je gas koji se brzo apsorbuje i vrlo lako se odstranjuje iz organizma. Omogućava jasnu sliku, međutim u prisustvu krvi vizuelizacija je vrlo loša.

Prednost tečnosti kao medijuma nad gasom je u simetričnoj distenziji uterusa i sposobnosti da ispere krv, mukus, mehuriće i male fragmente tkiva iz vidnog polja. Brojni sistemi su napravljeni za ubacivanje tečnosti za uterinu distenziju koji poseduju mogućnost za beleženje količine izgubljene tečnosti. Ova karakteristika je vrlo važna, jer može da prevenira apsorpciju hipotoničnih rastvora u organizmu i vrlo je bitna za sigurnost pacijenta. Kao medijumi koriste se 0,9 % rastvor natrijum hlorida, 5% manitol, 3% sorbitol i 1,5% glicin. Jedini hiperviskozni medijum koji se koristi je Dextran 70. Zbog svojih karakteristika prisutan je minimalan prolaz kroz cerviks i tube i osigurava odličnu vidljivost tokom izvođenja procedure.



### **1.4.3. Indikacije za histeroskopiju**

Tokom zadnjih godina došlo je do brojnih inovacija u hirurškim tehnikama i instrumentima za proceduru, a time su proširene indikacije za izvođenje ove metode.

Histeroskopija se izvodi kod sledećih stanja:

- Neobjašnjivo uterusno krvarenje kod premenopauzalnih pacijenata
- Rekurentna uterusna krvarenja kod postmenopauzalnih pacijenata sa atrofičnim endometrijumom
- Dijagnostikovanje intrauterine patologije uočene drugim dijagnostičkim procedurama (TVUZ, SIS, MRI)
- Evaluacija infertilnih pacijenata sa lošim HSG-om
- Rekurentni pobačaji
- Ponavljani neuspešni IVF ciklusi
- *Second look* nakon histeroskopske hirurgije
- Perzistentno postpartalno krvarenje
- Ekstrakcija IUU kod ranih trudnoća

U proceni uzroka infertiliteta histeroskopija se koristi kod ogromne grupe pacijenata, uključujući i pacijente kojima je neophodna potvrda suspektne patologije nađene tokom izvođenja HSG-a, SHS-a, i laparoskopije. Naročito je važno ustanoviti stanje endometrijuma i šupljine materice kod ponavljanih neuspešnih IVF postupaka. Indikacije za histeroskopiju nakon IVF ciklusa trebalo bi da budu istovetne sa razlozima pre uključivanja u lečenje metodom vantelesnog oplodjenja. Današnji stav je da je histeroskopija zlatni standard za pacijentkinje nakon neuspešnog IVF-a, a da ne postoje razlozi da se rutinski radi pre prvog IVF lečenja.

### **1.4.4. Patološka stanja kavuma uterusa**

#### **Endometrijali polip**

Endometrijalni polipi su benigne lokalizovane tvorevine endometrijalnog tkiva pokriveno epitelom i sa prisutnim različitim brojem žlezda, strome i krvnih sudova. Polipi su obično solitarni, ali mogu da budu i multipni. Mogu da budu pendikularni i da se pojave na bilo kom delu endometrijuma. Povremeno mogu da ispunjavaju celu šupljinu kavuma i čak

da dođu do spoljašnjeg cervikalnog ušća. Površina im je glatka, mada ponekad mogu da budu prisutna polja hemoragije i nekroze.

Polipi su uzrok iregularnog uterusnog krvarenja kod žena u reproduktivnom periodu u oko 15%, a kod postmenopauzalnih žena u oko 25%. Obično se dijagnostikuju tokom rutinskog UZ pregleda ili tokom ispitivanja uzroka infertiliteta. Bez obzira što tačan mehanizam kojim endometrijalni polipi uzrokuju infertilitet nije poznat, polipektomija u većini studija poboljšava signifikantno šanse za postizanje trudnoće. Razlozi za ovakav uticaj polipa na infertilitet je nepoznat, međutim, primećeno je povećanje nivoa glikodelina u perioovulatornom periodu kod žena sa polipom. Glikodelin je protein koji utiče na implantaciju smanjujući aktivnost NK ćelija i utiče na inhibiciju spajanja spermatozoida i oocita<sup>[20]</sup>.

Histopatološki nalaz kod endometrijalnih polipa ukazuje na lokalnu hiperplaziju endometrijuma. Žlezde iz stroma mogu da prikazuju brojne histološke varijacije, te se prepoznaje šest različitih tipova: hiperplastični, atrofični, funkcionalni, mešoviti endometrijalno-endocervikalni, adenomiomatozni i atipični polipoidni adenomiom. Ova klasifikacija ima malu kliničku značajnost, ali je korisna za korektnu identifikaciju ovih lezija i razdvajanje polipa od hiperplazije.

Histeroskopija je korisna da bi se potvrdila dijagnoza polipa, posebno jer u većini slučajeva polipi se ne detektuju tokom rutinskih ispitivanja ili nakon izvođenja kiretaže. Ultrasonografski, sa razvojem aparata visoke rezolucije, može da se postavi sumnja na postojanje polipa, ali njihova vizualizacija se jedino postiže histeroskopijom. Ona predstavlja zlatni standard za endometrijalne polipe jer je minimalno invanzivna procedura i dozvoljava kompletno odstranjivanje polipa pod direktnom vizuelnom kontrolom i na taj način se prevenira ponovna pojava ovih lezija. Postoje neka pravila koja moramo imati na umu kada planiramo resekciju polipa u ambulantnim uslovima, koristeći 5 French endoskopske instrumente:

- Baza polipa mora da bude pristupačna
- Polipi koji se nalaze na fundusu su mnogo teži za rad, obzirom da rigidni instrumenti nemaju lak pristup bazi polipa
- Polip ne bi trebalo da bude velikih dimenzija zbog otežavajuće ekstrakcije nakon resekcije

- Atrofični i hiperplastični polipi su jednostavniji za ekstrakciju zbog fibrozne građe i zbog toga se održava pritisak graspera na polip tokom izvlačenja kroz cervikalnu osovinu.

Zbog svega navedenog ginekolog mora da bude realan i da krene sa intervencijom samo kada očekuje kompletno odstranjivanje polipa. Ukoliko posle resekcije nije moguća ekstrakcija, sledeći koraci mogu da se preduzmu:

- Uvek uraditi biopsiju zbog postavljanja prave dijagnoze
- Dati Mizoprostol dve naredne večeri da bi došlo do spontane ekspulzije, što se i dešava u većini slučajeva
- Potvrditi ekspulziju nakon tri dana
- Nisu neophodni antibiotici

Veći polipi se odstranjuju koristeći resektoskop, i teži su za rad jer ispunjavaju uterini kavum a pošto su vaskularizovani može da se javi jače krvarenje tokom intervencije. Pre početka rada obavezno se gleda polip iz svih uglova radi nalaženja pravog mesta za početak resekcije. Vreme utrošeno za pravljenje plana resekcije skraćuje trajanje same intervencije i smanjuje rizik od komplikacija<sup>[21]</sup>.

### **Uterusne anomalije**

Septirani uterus predstavlja kongenitalnu uterusnu anomaliju koja nastaje nespajanjem embrionalnih Milerovih kanala. Učestalost anomalija može da bude i do 40% u populaciji infertilnih žena, pogotovo kod neuspešnih IVF ciklusa<sup>[22,23]</sup>. Septum je obično avaskularan, sastavljen od fibroznog tkiva, tako da ukoliko se implantacija desi na mestu septuma blastocista nema dovoljno nutritivnih materija za dalji razvoj. Pored toga zapremina uteruskog kavuma je smanjena, što utiče na ponavljane pobačaje ili na anomalije položaja ploda u trećem trimestru. Uterusni septum može da bude različite dužine i debljine, može da se proteže samo kroz kavum uterusa ili da se prostire i kroz cerviks. Odnos septuma i infertiliteta je pun kontraverzi i zbog toga je potrebno da se ispituju svi drugi faktori koji utiču na pojavu infertiliteta pre odluke o hirurškom tretmanu septuma. Dok se ranije septum uterusa rešavao hirurškim putem, zahtevajući laparotomiju i histerotomiju i to u slučaju tri spontana pobačaja u prvom i drugom trimestru, histeroskopskim pristupom indikacije za tretman septuma su se proširile i individualizovale za svaku pojedinačnu ženu.

Histeroskopijom dobijamo manje invazivni pristup uterusnom septumu, intervencija je povezana sa minimalnim morbiditetom i nelagodnošću, naročito ako se izvodi u ambulantnim uslovima.

Proces zarastanja i reepitalizacije kavuma uterusa traje najviše 4-5 nedelja i pacijentkinje su u poziciji da leče infertilitet mnogo ranije nego kod abdominalne metroplastike. Za resekciju septuma mogu da se koriste četiri histeroskopske metode: mehaničke makaze, resetoskop, fiberoptički laser i bipolarna elektroda. Najčešće korišćena metoda resekcije je resekcija semirigidnim makazama. Kod korišćenja bipolarne vaporizirajuće elektrode treba izbegavati ekscesivno korišćenje struje zbog stvaranja mnogobrojnih mehurića koji mogu da otežaju rad.

### **Miomi**

Miomi uterusa su benigni, solidni tumori, formirani od vezivnog tkiva i glatkomišićnog tkiva i okruženi tankom kapsulom sastavljenom od komprimiranog mišićnog tkiva. Predstavljaju skoro 20% svih tumora ženske populacije, pojavljuju se kod svake četvrte žene mada je prava incidenca nepoznata obzirom da je većina mioma asimpomska. U odnosu na njihovu lokalizaciju, miomi se klasifikuju kao subserozni, intramuralni i submukozni. Submukozni miomi predstavljaju 5 – 10 % svih mioma, nastaju u miometriju i nastavljaju sa rastom prema kavumu uterusa. Vrlo su važni jer su razlog teškim menstrualnim krvarenjima, dovode do infertiliteta, pelvičnog bola, dismenoreje i metroragija u postmenopauzi.

Submukozni miomi se dele na tri tipa u zavisnosti od stepena intramuralne afektacije, tako da tip 0 predstavlja miom koji je potpunim prečnikom prisutan u kavumu, sa peteljkom ili malom bazom, tip I predstavlja miom koji je sa više od 50% svoje zapremine u kavumu i tip II sa predominantnom intramuralnom lokalizacijom. Odgovarajuća preoperativna priprema i određivanje tipa mioma su ključni za kompletnu resekciju mioma. Vercellini je objavio da se 69% submukoznih mioma kompletno resekira.

Negativni efekat submukoznih mioma na fertilitet može se objasniti različitim mehanizmima. Prisutna je iregularnost u transportu spermatozoida i embriona, iregularnosti endometrijuma koje utiču na implantaciju i iregularnost u uterinoj kontraktilnosti koja interferira sa rastom tokom trudnoće.

Od kada je Neuwirth 1978. godine uradio prvu histeroskopsku miomektomiju, ova metoda je postala metoda izbora za resekciju submukoznih mioma. Prednosti ove tehnike u poređenju sa abdominalnom miomektomijom se ne dovode u pitanje – manji je morbiditet, rapidni oporavak i manja cena intervencije. Pored ovoga, moguć je vaginalni porođaj nakon histeroskopije za razliku od abdominalne miomektomije gde postoji rizik od tihe ili neme rupture materice tokom porođaja.

U odnosu na rezultate resekcije kod infertiliteta po literaturi, 30-77% svih pacijenata ostvari trudnoću nakon histeroskopske miomektomije. Stopa pobačaja je smanjena na 15%. Ovi procenti se naravno razlikuju u zavisnosti od godina starosti pacijentkinja, prisustva ili odsustva drugih uzroka infertiliteta i naravno veličine mioma. Najbolji rezultati se postižu kod pacijentkinja sa manje od 35 godina, sa miomima ispod 5 cm u prečniku i bez drugih uzroka steriliteta. U odnosu na tip submukoznih mioma, najveća stopa trudnoća (49%) je nakon resekcije tip 0 mioma, u poređenju sa tip I miomima (36%) i tip II miomima (33%).

### **Endometrijalna hiperplazija**

Endometrijalna hiperplazija se karakteriše proliferacijom endometrijalnih žlezdi i većim odnosom žlezde/stroma nego kod normalnog endometrijuma. Proliferativne žlezde variraju u veličini i obliku i mogu da pokazuju citološku atipiju. Hiperplazija najčešće nastaje zbog hronične estrogene stimulacije u odsustvu progesterona. Ovaj proces je često difuzan i vrlo retko je raširen po celom kavumu. Endometrijalna hiperplazija je česta kod peromenopauzalnih žena ili kod mlađih žena sa riziko faktorima za hiperestrogenemiju, kao što su obezitet, policistični ovarijalni sindrom ili infertilitet.

Makroskopska vizualizacija hiperplazije može da se potvrdi ukoliko se uočava jedno ili više od sledećih stanja:

- Fokalna ili difuzna endometrijalna debljina sa iregularnom površinom i polipoidnom ili papilarnom strukturom
- Povećanje superficijalne vaskularizacije sa poremećajem endometrijalnih krvnih sudova
- Dilatacija endometrijalnih žlezda, cistične gladnularne promene u debelom endometrijumu
- Povećanje gustine otvora endometrijalnih žlezda, sa ili bez povećanja otvora žlezda

Histeroskopska dijagnoza na kraju proliferativne faze, kada je mukoza najveće debljine, može biti otežana zbog sličnih karakteristika kao kod endometrijalne hiperplazije. Da bi se poboljšala histeroskopska dijagnostika i povećala senzitivnost i specifičnost ove metode određeni autori su definisali makroskopske kriterijume:

- Difuzan i polipoidni endometrijalni rast
- Beličasti žlezdani otvori sa uzdignutim ivicama, nejednake veličine i sa iregularnom distribucijom

#### **1.4.5. Office histeroskopija**

Moderna histeroskopska tehnika je prvi put opisana od strane brojnih autora krajem 70-ih i početkom 80-ih godina prošlog veka. Više od 10 godina cerviks i kavum uterusa su ispitivani dijagnostičkim histeroskopom dijametra 5 mm, koji je sadržavao sistem sočiva prečnika 4 mm ubačenim u jednostavni omotač, neophodan da sprovede medijum za distenziju u kavum uterusa. Nakon postavljanja spekuluma i vizualizacije vaginalne porcije uterusa korišćen je i tenakulum za fiksiranje cerviksa prilikom prolaska histeroskopa kroz cerviks.

Da bi se izbegao bol zbog aplikacije tenakuluma, trakcije cerviksa i stimulacije mišićnih vlakana cervikalnog kanala obavezno je korišćena lokalna anestezija ili kratkotrajna intravenska opšta anestezija. Dijagnoza je bila bazirana na vizualizaciji promena i ukoliko je bilo potrebe za tretmanom tih patoloških stanja, vršena je dilatacija cerviksa da bi se uveo histeroskop većeg dijametra sa radnim kanalom. Dugo vremena nije bilo značajnih poboljšanja na polju histeroskopije, kako tehnoloških, tako ni u tehnici rada. Početkom 90-ih godina pronalaskom kamera i fiberoptičkih sistema dijametra između 1,2 mm i 3 mm bilo je moguće napraviti ne samo tanak histeroskop za dijagnostičke svrhe, već histeroskop sa radnim kanalom, za operativnu manipulaciju sa dijametrom  $\leq 5$  mm. Zahvaljujući ovome dobijen je savršen dijagnostički alat koji se u istom aktu pretvara i u instrument za operativni tretman. Ovim je poništena razlika između dijagnostičke i operativne histeroskopije, tako da se ova procedura naziva nadalje jednostavno histeroskopija, gde je operativni deo savršeno integrisan sa dijagnostičkim delom ove metode. Zbog senzitivne inervacije uterusa koja počinje od miometrijuma prema spolja, dok endometrijum i bilo koje fibrotično tkivo nije inervisano, moguće je ovu proceduru izvoditi bez analgezije ili anestezije, bez bilo kakve nelagodnosti po pacijenta<sup>[18]</sup>.

Pristupačnost endokamera malih dimenzija po prihvatljivoj ceni dalo je mogućnost lekaru da vrši ovu intervenciju bezbolno, bez spekuluma i tenakuluma, vaginoskopskim pristupom. Vagina se distendira istim medijumom i vrlo lako se locira spoljašnje cervikalno ušće, a istraživanjem na preko 10.000 histeroskopija urađenim korišćenjem ove tehnike potvrđeno je odsustvo bola i nelagodnosti kod uvođenja histeroskopa kroz cerviks u 98,9 % pacijenata.

Jedan od najvećih problema za endoskopistu je prolaz kroz unutrašnje cervikalno ušće. Kako je današnja generacija histeroskopa ovalnog oblika, ovaj problem je rešen rotacijom instrumenta za 90°, da bi se longitudinalni glavni prečnik histeroskopa poklopio sa transverzalnim većim prečnikom unutrašnje ušća. Zbog ugla sočiva od 30° na vrhu histeroskopa neophodno je i promeniti poziciju unutrašnjeg ušća na ekranu. Ako želimo da pravilno postavimo instrument u osu cervikalnog kanala, unutrašnje ušće će se prikazati na donjem polu ekrana (slika). Time se izbegava stimulacija mišićnih vlakana u cerviksu.

Način ulaska histeroskopa u kavum, njegov dijametar i distenzija kavuma uterusa, faktori su od ogromnog značaja u smanjenju nelagode pacijenta tokom ovog ispitivanja. Pravilan protok između 200-350 ml u minuti, zajedno sa negativnim aspiracionim pritiskom od oko 0,2 bara je obično dovoljno da obezbedi dobru dilataciju kavuma na oko 30-40 mmHg. Ova vrednost je manja od pritiska unutar tuba (70 mmHg) zbog abdominalnog kontra-pritiska, te ne dozvoljava pasažu medijuma u trbušnu duplju, a time eliminiše bol i smanjuje rizik od vagalnog refleksa. Kako nema protoka tečnosti u kavumu za vreme izvođenja histeroskopije, problem loše vidljivosti je rešen sistemom za elektronski kontrolisanu irigaciju i sukciju (*Endomat*). Na taj način obezbeđen je protok od 150 do 200 ml u minuti, a takođe i endouterini pritisak od oko 40 mmHg.

Za korektno ispitivanje kavuma i redukciju nelagodnosti kod pacijenta preporučuje se korišćenje sočiva od 30°. Kada vrh endoskopa dođe na 1-1,5 cm od fundusa, pogled na ceo kavum i ušća jajovoda može da se postigne jednostavnim rotiranjem instrumenta oko njegove ose bez lateralnih pokreta koji u načelu stvaraju bol kod pacijenta.

#### **1.4.6. Histeroskopija i infertilitet**

Histeroskopija je postala veoma važna metoda u evaluaciji infertiliteta kod žena. Ispitivanje šupljine materice može da se sprovede još u početku lečenja, a dostupne metode

su histerosalpingografija i histeroskopija. Patologija kavuma je vrlo česta kod infertilnih pacijenata i nađena je u 19-62% pacijenata. Patološka stanja uključuju intrauterine sinehije, nespajanje Milerovih kanala (uterus arcuatus, uterus septus i uterus bicornis), endometrijalni polipi i submukozni miomi.

Anomalije Milerovih kanala mogu biti udružene sa normalnim fertilitetom, infertilitetom ili rekurentnim pobačajima. Ove promene mogu da variraju od kompletne ageneze Milerovog sistema do minimalnih nepravilnosti uterusa. Za dijagnostiku ovih promena obično je potrebna i histeroskopija i laparoskopija. Ukoliko se uoči septum histerosalpingografijom ili histeroskopijom, laparoskopijom koja sledi dajemo konačnu dijagnozu ili septuma ili uterus bicornisa ili uterus arcuatus. Rudimentarni rog uterusa može da se detektuje laparoskopski, a njegov odnos sa glavnim kavumom histeroskopski.

Ašermanov sindrom je obično rezultat manipulacija u kavumu nakon trudnoće. Kiretaža nakon porođaja ili pobačaja može da dovede do destrukcije bazalnog sloja endometrijuma i da nastane ožiljno tkivo sa sinehijama u kavumu. Pacijentkinje sa Ašermanovim sindromom pate od hipomenoreje, amenoreje, infertiliteta i gubitka trudnoće u prvom trimestru.

Histeroskopski, intrauterine adhezije se prikazuju kao fibrozne trake koje presecaju kavum i obično su bleđe boje od ostalog dela endometrijuma. Za terapiju i prognozu ovih stanja nijedna druga metoda osim ove nam ne daje više informacija o stepenu i složenosti ovih promena.

Uterusni miomi mogu da se nađu na različitim lokacijama. Oni koji ulaze u kavum uterusa su čest uzrok neregularnog uterusnog krvarenja i mogu da izazovu infertilitet. Različitim mehanizmima utiču na implantaciju embriona, takođe mogu da dovedu i do prevremenog ili disfunkcionalnog porođaja. Histeroskopski ovi benigni tumori se vide kao okrugle protruzije u kavumu uterusa, pokrivene bledim endometrijumom i razlikuju se od endometrijalnih polipa svojom konzistencijom. Histeroskopija nam pomaže u tačnom lociranju tumora, ali ne i u određivanju stepena intramuralnog angažovanja.

Hronični endometritis je potencijalni uzrok infertiliteta ili ranih pobačaja, a histeroskopski se prikazuje u vidu strawberry – like polja i predstavlja minor lezije endometrijuma<sup>[24]</sup>.



S obzirom da je neuspeh implantacije nakon embriotransfera (ET) jedan od glavnih problema VTO i da intrauterina patologija može da bude povezana sa neuspešnim ishodom, čini se neophodnim da se nakon neuspešnog postupka VTO, a pre započinjanja sledećeg, isključe svi potencijalno negativni faktori. Različiti su stavovi u vezi sa značajem histeroskopije kao rutinske bazične procedure u evaluaciji bračne neplodnosti, a posebno pre prvog pokušaja VTO.

Evaluacija šupljine materice se uobičajeno sprovodi primenom histerosalpingografije (HSG), uprkos limitiranosti i upotrebi rendgenskog zračenja. HSG ima nisku specifičnost i visoku stopu lažno pozitivnih (15,6%) i lažno negativnih nalaza (34,5%). Evaluacija je takođe moguća sonohisterografijom, koja je nešto praktičnija i pogodnija za ambulantno izvođenje. Transvaginalni ultrazvuk ima jaku korelaciju sa histeroskopijom za endometrijalne polipe, miome i ponekad adhezije<sup>[25]</sup>.

Ipak, histeroskopija je prihvaćena kao zlatni standard u dijagnostici i što je još važnije, omogućava tretman patoloških promena u istom aktu. Ambulantna, *office* histeroskopija se izvodi bez opšte anestezije, sa minimalnim rizikom, a sve zahvaljujući napretku tehnike i razvoju mini-histeroskopa sa spoljašnjim dijametrom jednakim ili manjim od 5 mm.

Danas je zvanični stav da se histeroskopija preporuči samo pacijentkinjama sa sumnjom na postojanje intrauterusne patologije u cilju njenog lečenja i uklanjanja, kao i nakon ponavljanih neuspeha IVF postupaka, iako je poznato da do 50% infertilnih pacijenata ima intrauterusne abnormalnosti.

Tako se nametnula sve više prisutna ideja o primeni histeroskopije pre prvog postupka VTO. Mnoge studije su iznale podatke da postoji značajna razlika u stopi trudnoća kod onih pacijentkinja koje su pre planiranog IVF postupka imale histeroskopiju i eventualnu korekciju otkrivenih abnormalnosti. Sa druge strane, u određenim radovima nije potvrđena razlika u stopi trudnoća.

Podaci su kontraverzni, i bez obzira na brojne randomizirane studije o uticaju histeroskopije na ishod VTO i dalje nije formiran protokol o obaveznoj histeroskopiji pre postupka vantelesnog oplodjenja<sup>[7,8]</sup>.

Ovo su razlozi koji su nas podstakli da uvažimo značaj ovog problema i učinimo ga validnim za predmet našeg istraživanja.

Naučna opravdanost našeg istraživanja sastoji se u činjenici da na osnovu dobijenih rezultata želimo da dođemo do adekvatnog protokola pristupu lečenja steriliteta, koristeći svrsishodnu i pravovremenu dijagnostičku i operativnu tehniku koja će rezultirati dobrim ishodom programa VTO. Formirani protokol će omogućiti pacijentkinjama da u što kraćem vremenskom periodu i uz adekvatan dijagnostičko-terapijski tretman, dođu do željenog potomstva.

Društvena opravdanost odnosi se na smanjenje dugotrajnog i višegodišnjeg lečenja bračne neplodnosti, kao i troškova lečenja pacijentkinja metodom VTO, koja se na žalost, na našim prostorima danas sreće kao ozbiljan medicinski i socijalni problem. Zato rešavanje ovog problema omogućava da se sa različitih aspekata sačuva mentalno i fizičko zdravlje bračnog para, dobro socijalno funkcionisanje, radna efikasnost, a istovremeno dođe do krajnjeg rešenja njihovog problema, ostvarivanja potomstva.

## 2. CILJ RADA

---

1. Ispitati učestalost patoloških promena u kavumu uterusa kod pacijentkinja koje su uključene u program VTO.
2. Ispitati efekat operativnog histeroskopskog tretmana patoloških stanja kavuma uterusa na ishod VTO.
3. Utvrditi uticaj histeroskopije na ishod VTO kod pacijentkinja bez patoloških promena kavuma uterusa.
4. Ispitati uticaj lokalne endometrijalne povrede načinjene u toku histeroskopije na ishod VTO.
5. Utvrditi da li je neophodno dopuniti protokol pripreme za VTO obaveznom histeroskopijom.

## 3. MATERIJAL I METODOLOGIJA RADA

---

### 3.1. Mesto i vreme istraživanja

Istraživanje je urađeno na Ginekološko – akušerskoj klinici, Kliničkog centra u Nišu, u periodu od juna 2012. do juna 2013. godine.

### 3.2. Ispitanici i grupisanje ispitanika

Ispitivanje je urađeno kao prospektivna studija a istraživanje je obuhvatilo 265 pacijentkinja koje se nalaze u programu VTO. Ispitivanu grupu čini 114 pacijentkinja kod kojih je sprovedena dijagnostička ili operativna histeroskopija, a kontrolna grupa obuhvata 151 pacijentkinju u programu VTO, bez prethodne histeroskopije.

Kriterijumi za uključivanje u istraživanje za obe grupe su bili:

1. Godine starosti do 40 ( uključujući i 40)
2. Bazalna vrednost FSH (d3) ne veća od 15 ij/ml (Elisa)
3. Vrednost AMH ne manja od 0,5
4. Index telesne mase (BMI) manji od 30 kg/m<sup>2</sup>
5. Spermogram partnera u granicama normozoospermije ili oligoasthenoteratozoospermije gr I-III
6. Nepostojanje genitalne infekcije
7. Uredan kariotip oba partnera
8. Uredan ili medikamentozno regulisan hormonski status treći dan ciklusa (FSH, LH, E2, PRL, Test, TsH, T3 i T4)

Kriterijumi za isključivanje iz istraživanja su bili:

1. Drugi uzroci steriliteta (hormonsko-funkcionalni uzrok steriliteta, organska patologija jajnika, imunološki uzrok steriliteta „per se“)
2. Postojanje hronične sistemske bolesti
3. Postojanje hepatitisa C ili HIV infekcije

Kod svih pacijentkinja (ispitivana i kontrolna grupa) su urađeni sledeći dijagnostički postupci ispitivanja bračne neplodnosti, pre ulaska u program vantelesnog oplodjenja, a po protokolu Klinike:

- anamnestički podaci oba partnera
- transvaginalna sonografija (TVS) i/ili histerosalpingografije (HSG)
- ginekološki pregled sa brisevima vagine i grlića materice na postojanje infekcije (stepen čistoće vagine, cerviklani bris na bakteriološki pregled, bris na chlamydiu trachomatis i brisevi na mikoplazmu i ureaplazmu)
- spermogram i spermokultura partnera
- hormonski profil pacijentkinja trećeg dana ciklusa (d3): folikulostimulirajući hormon (FSH), luteinizirajući hormon (LH), estradiol (E2), prolaktin ( PRL), testosteron, hormoni štitne žlezde (TSH, T3, T4).

U toku programa vantelesnog oplodjenja praćeni su sledeći parametri kod svih grupa pacijentkinja:

1. Bazalne vrednosti FSH
2. Starost ispitanica
3. Indeks telesne mase - BMI (kg/m<sup>2</sup>)
4. Dužina steriliteta u godinama
5. Protokol stimulacije (dugi protokol sa agonistima, kratki protokol sa agonistima i kratki protocol sa antagonistima)
6. Broj utrošenih IU za stimulaciju
7. Dužina stimulacije u danima
8. Broj folikula većih od 18 mm
9. Debljina endometrijuma
10. Broj jajnih ćelija dobijenih aspiracijom folikularne tečnosti
11. Broj dobijenih embriona
12. Kvalitet embriona
13. Broj transferiranih embriona
14. Stopa implantacije po ET
15. Stopa biohemijskih trudnoća po ET
16. Stopa kliničkih trudnoća po ET
17. Stopa multiplih trudnoća po ET

U okviru ispitivane grupe posebno su praćeni parametri vezani za nalaz pri histeroskopiji i operativne procedure u toku histeroskopije.

Pacijentkinje su podeljene u dve osnovne grupe:

I grupa sa pacijentkinjama kod kojih je pre VTO rađena histeroskopija (ispitivana ili studijska grupa) i II grupa sa pacijentkinjama bez histeroskopije pre VTO (kontrolna grupa).

Pacijentkinje u studijskoj grupi su podeljene u tri podgrupe:

Prvu podgrupu (Ia) čine pacijentkinje sa patološkim stanjima kavuma uterusa kod kojih je sprovedena neka od operativnih histeroskopskih procedura - polipektomija, resekcija septuma, athezioliza ili miomektomija.

Drugu podgrupu (Ib) čine pacijentkinje kod kojih nema patologije kavuma ali je urađena lokalna endometrijalna povreda tokom histeroskopije.

Treća podgrupa (Ic) obuhvata pacijentkinje kod kojih je histeroskopski nalaz bio uredan.

Svi gore navedeni parametri istraživanja su upoređivani međusobno, kao i u odnosu na kontrolnu grupu, korišćenjem metoda deskriptivne i analitičke statistike.

### **3.4. Histeroskopija**

Histeroskopija je izvođena u toku terapije kontraceptivnim tabletama, 30-50 dana pre sprovedenog ciklusa VTO. Korišćen je fiziološki rastvor kao distenzioni medijum i 5 mm *Bettocchi office* histeroskop (*Karl Storz GmbH and Co, Tuttlingen, Germany*). Pacijentkinje su bile u litotomnom položaju i kod svih je bila primenjena kratkotrajna intravenska anestezija.

Korišćen je vaginoskopski pristup, bez ekartera i bez trakcije cerviksa. Radni kanal od 5 Fr i mehanički instrumenti (forceps, makaze) korišćeni su za endometralne biopsije, polipektomije i resekcije malih septuma kod uterus arkuatusa. *Versapoint* i *Springle* elektroda (*Johnson*) upotrebljavane su kod polipektomija, resekcija septuma i manjih mioma, a samo u jednom slučaju, kod većeg mioma korišćen je bipolarni resektoskop sa dijametrom spoljnog

omotača 9 mm, a uterina šupljina je distendirana fiziološkim rastvorom. Polipi, miomi i sumnjive lezije su histopatološki evaluirani.

Kod određenog broja ispitanica bez patološkog nalaza u kavumu uterusa, rađena je lokalna endometrijalna povreda (*local endometrial injury* – LEI). Korišćena je *springle* bipolarna elektroda a povreda je načinjena fundično u poprečnom smeru, između dva ušća jajovoda, u dužini od 15 mm, kroz celu debljinu endometrijuma.

Dokazani ili suspektni endometritis je tretiran doksiciklin antibiotikom, peroralno, u trajanju od 10 dana uz 2 meseca kontraceptivne terapije.

### **3.5. Vantelesno oplodjenje – VTO**

Procedura VTO izvođena je nakon prethodne terapije kontraceptivima u trajanju od 1 - 2 meseca. Korišćeni su dugi i kratki protokol sa GnRH agonistima, i kratki protokol sa GnRH antagonistima. Serijski ultrazvučni pregledi u toku kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije rađeni su na ultrazvučnom aparatu “Shimatzu” počev od 6. dana stimulacije. Pri nalazu od 2 ili više folikula većih od 18 mm davana je injekcija Pregnyla od 10000 IU a nakon 34-36h rađena je transvaginalna aspiracija folikula radi kolekcije oocita. Embriotransfer je rađen drugog, trećeg ili petog dana od aspiracije vraćanjem najviše tri embriona uz ultrazvučnu kontrolu. Za embriotransfer je korišćen “Cook”-ov kateter. Nakon ET-a pacijentkinje su koristile sledeću terapiju naredne 2 nedelje:

- Tabl Utrogestan 200 mg, 3 x dnevno – vaginalna aplikacija
- Tabl Kardiopirin 100 mg, 1 x dnevno per os
- Tabl Dexason 0,5 mg, 1 x dnevno per os

Posle 10 do 12 dana od ET-a (15 dana od aspiracije), određivan je  $\beta$ HCG iz krvi radi biohemijske verifikacije trudnoće.

Kliničke trudnoće su verifikovane transvaginalnim ultrazvučnim pregledom, vizualizacijom srčane akcije embriona, 4-5 nedelja nakon ET-a.

### 3.6. Statistička obrada

Podaci su obrađeni korišćenjem standardnih deskriptivnih statističkih metoda (srednja vrednost, procentualna zastupljenost). Statistička obrada urađena je između definisanih grupa, a kontinuirane varijable u odnosu na distribuciju podataka upoređivane su Studentovim t-testom, *Pearsonovim*  $\chi^2$  testom ili ANOVA testom. Da bi se uočili parametric od važnosti za ishod VTO, korišćena je i univarijantna logistička regresiona analiza.

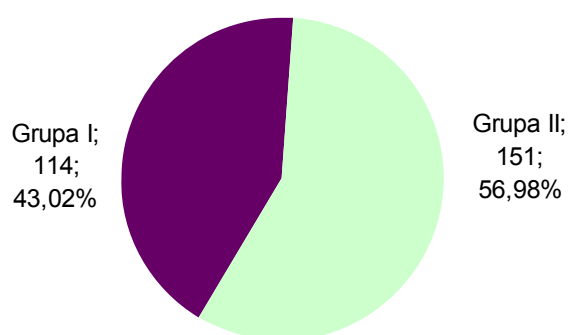


## 4. REZULTATI

---

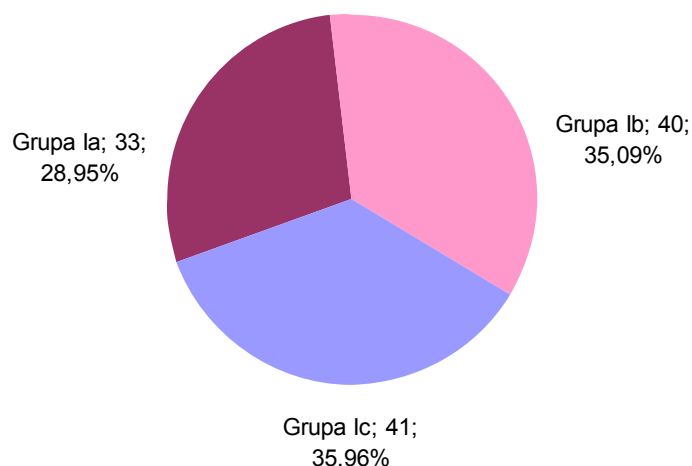
### 4.1. Ispitanici i grupisanje

U istraživanje je uključeno 265 ispitanica koje se nalaze u programu VTO. U ispitivanoj, studijskoj grupi (grupa I) je 114 (43,02%) ispitanica kod kojih je sprovedena dijagnostička ili operativna histeroskopija, a u kontrolnoj grupi (grupa II) je 151 (56,98%) ispitanica bez sprovedene histeroskopije (grafikon 1).



**Grafikon 1.** Zastupljenost ispitanica studijske i kontrolne grupe

Na osnovu rezultata histeroskopskog nalaza studijska grupa je podeljena na tri podgrupe: prvu sa pozitivnim histeroskopskim nalazom, podgrupa Ia, u kojoj je 33 (28,95%), drugu, kod kojih nije bilo pozitivnog histeroskopskog nalaza ali je rađena lokalna endometrijalna povreda (local endometrial injury – LEI) - podgrupa Ib u kojoj je 40 (35,09%) i treću sa negativnim histeroskopskim nalazom, podgrupa Ic, u kojoj je 41 (35,96%) ispitanica studijske grupe (grafikon 2). Studijska grupa je na osnovu ove podele i Pearsonovog  $\chi^2$  testa sa homogenom raspodelom, odnosno nema dominantnih podgrupa (grafikon 2).

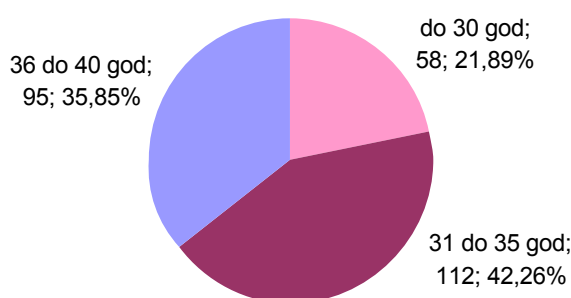


**Grafikon 2.** Zastupljenost ispitanica studijske grupe na osnovu histeroskopskog nalaza

## 4.2. Opšti parametri VTO

Prosečna starost ispitanica je bila  $33,59 \pm 3,62$  godine uz medijanu kao meru centralne tendencije od 34 godine. Nijedna ispitanica nije starija od 40 godina, što je i maksimalna starost, a najmlađa ispitanica je imala 25 godina.

Sve ispitanice su podeljene u tri starosne grupe: do 30, 31 do 35 i 36 do 40 godina. Najviše ispitanica, 112 (42,26%) bilo je starosti između 31 i 35 godina, a najmanje ih je bilo u starosnoj grupi do 30 godina – njih 58 (21,89%) – grafikon 4. Broj ispitanica u najmlađoj starosnoj grupi je statistički značajno manji no u preostale dve ponaosob  $p < 0,001$ .



**Grafikon 3.** Zastupljenost ispitanica po starosnim grupama

Slična je starosna struktura i u studijskoj i kontrolnoj grupi. Na osnovu podataka u narednoj tabeli i Pearsonovog  $\chi^2$  testa nije utvrđena statistički značajna razlika u zastupljenosti starosnih grupa između studijske i kontrolne grupe.

**Tabela 1.** Struktura raspodele ispitanica studijske i kontrolne grupe po starosnim grupama

| Starosna grupa | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|----------------|-----------------|---------|-----------------|---------|
| do 30 god      | 24              | 21,05%  | 34              | 22,52%  |
| 31 do 35 god   | 51              | 44,74%  | 61              | 40,40%  |
| 36 do 40 god   | 39              | 34,21%  | 56              | 37,09%  |
| Ukupno         | 114             | 100,00% | 151             | 100,00% |

U tabeli 2 je data struktura studijskih podgrupa po starosnim grupama. Iz tabele kontigencije 3×3 nije utvrđena statistički značajna razlika u zastupljenosti starosnih grupa između podgrupa.

**Tabela 2.** Struktura raspodele ispitanica studijskih podgrupa po starosnim grupama

| Starosna grupa | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|----------------|----|---------|----|---------|----|---------|
| do 30 god      | 3  | 9,09%   | 14 | 35,00%  | 7  | 17,07%  |
| 31 do 35 god   | 18 | 54,55%  | 14 | 35,00%  | 19 | 46,34%  |
| 36 do 40 god   | 12 | 36,36%  | 12 | 30,00%  | 15 | 36,59%  |
| Ukupno         | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |

Na osnovu deskriptivnih pokazatelja u tabeli 3 (Mann-Whitney test), starost, BMI, dužina steriliteta, FSH i AMH su sličnih vrednosti u studijskoj i kontrolnoj grupi što, uz ranije utvrđenu sličnu dobnu strukturu, rezultate poređenja značajnih parametara između ispitivanih grupa čini validnim odnosno grupe poredivim.

**Tabela 3.** Vrednosti starosti, BMI, dužine steriliteta (god.), FSH i AMH u studijskoj i kontrolnoj grupi

|                    | Studijska grupa |       |     | Kontrolna grupa |       |     |
|--------------------|-----------------|-------|-----|-----------------|-------|-----|
|                    | X ± SD          | Md    | N   | X ± SD          | Md    | N   |
| Starost            | 33,57 ± 3,61    | 33,50 | 114 | 33,61 ± 3,65    | 34,00 | 151 |
| BMI                | 23,55 ± 2,83    | 23,00 | 114 | 23,50 ± 2,95    | 23,00 | 151 |
| Dužina steriliteta | 6,37 ± 3,15     | 6,00  | 114 | 6,38 ± 3,58     | 6,00  | 151 |
| FSH                | 6,71 ± 2,69     | 6,00  | 62  | 5,93 ± 2,59     | 5,50  | 67  |
| AMH                | 3,26 ± 2,77     | 2,38  | 114 | 3,02 ± 2,47     | 2,18  | 151 |

ANOVOM i Kruskal Wallis testom, na osnovu podataka u tabeli 4, nije utvrđena statistički značajna zavisnost navedenih parametara od pripadnosti ispitanica grupi. Jedino je, poređenjem svake grupe sa svakom ponaosob (Mann-Whitney test) utvrđena statistički značajno niža vrednost FSH u grupi Ia u odnosu Ib.

**Tabela 4.** Vrednost starosti, BMI, dužine steriliteta (god.), FSH I AMH u podgrupama studijske grupe

|                    | Ia                        |       |    | Ib           |       |    | Ic           |       |    |
|--------------------|---------------------------|-------|----|--------------|-------|----|--------------|-------|----|
|                    | X ± SD                    | Md    | N  | X ± SD       | Md    | N  | X ± SD       | Md    | N  |
| Starost            | 34,00 ± 2,97              | 33,00 | 33 | 32,78 ± 4,12 | 35,00 | 40 | 34,00 ± 3,49 | 35,00 | 41 |
| BMI                | 23,85 ± 2,60              | 24,00 | 33 | 23,28 ± 2,91 | 23,00 | 40 | 23,59 ± 2,96 | 23,00 | 41 |
| Dužina steriliteta | 7,12 ± 3,53               | 6,00  | 33 | 6,20 ± 3,08  | 6,00  | 40 | 5,93 ± 2,86  | 6,00  | 41 |
| FSH                | 7,91 ± 3,09 <sup>*b</sup> | 7,43  | 16 | 5,95 ± 2,10  | 6,10  | 29 | 6,88 ± 2,90  | 6,10  | 17 |
| AMH                | 3,31 ± 3,08               | 2,32  | 33 | 3,57 ± 2,39  | 1,84  | 40 | 2,92 ± 2,88  | 1,84  | 41 |

3. b – vs Ib, \* – p<0,05

Vrednosti parametara – broj utošenih IU gonadotropina za KOH, broj folikula, broj oocita, broj embriona kao i broj transferisanih embriona u studijskoj grupi nisu se razlikovale od vrednosti u kontrolnoj (tabela 5), te nije utvrđena statistički značajna razlika između ove dve grupe.

**Tabela 5.** Vrednosti ispitivanih parametara u studijskoj i kontrolnoj grupi

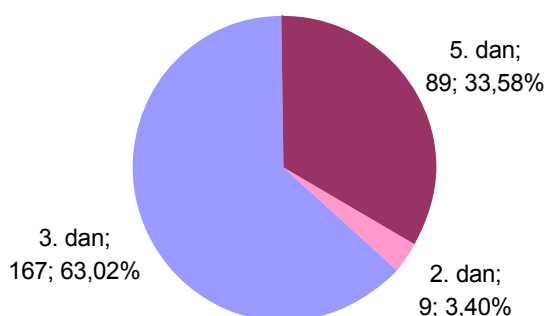
|                                  | Studijska grupa  |         |     | Kontrolna grupa  |         |     |
|----------------------------------|------------------|---------|-----|------------------|---------|-----|
|                                  | X ± SD           | Md      | N   | X ± SD           | Md      | N   |
| Broj utrošenih IU za stimulaciju | 2091,46 ± 760,76 | 1950,00 | 114 | 2019,97 ± 674,64 | 1950,00 | 151 |
| Dužina stimulacije (dani)        | 10,00 ± 1,27     | 10,00   | 114 | 9,77 ± 1,46      | 10,00   | 151 |
| Broj folikula >18mm              | 12,37 ± 7,22     | 11,00   | 114 | 10,68 ± 6,90     | 8,00    | 151 |
| Broj jajnih ćelija               | 11,01 ± 7,66     | 10,50   | 114 | 9,98 ± 6,58      | 8,00    | 151 |
| Broj embriona                    | 6,43 ± 4,00      | 5,50    | 114 | 4,89 ± 3,22      | 4,00    | 151 |
| Kvalitet embriona (gradus)       | 4,32 ± 0,80      | 5,00    | 114 | 4,25 ± 0,82      | 4,00    | 151 |
| Broj transferisanih embriona     | 2,55 ± 0,78      | 3,00    | 114 | 2,52 ± 0,79      | 3,00    | 151 |

Na osnovu vrednosti svih ispitivanih parametara u podgrupama studijske grupe (tabela 6), takođe je utvrđeno da se između podgrupa statistički značajno ne razlikuju vrednosti broja folikula > 18 mm, broja embriona, kao i broj jajnih ćelija.

**Tabela 6.** Vrednosti ispitivanih parametara u podgrupama studijske grupe

|                                     | Ia n=33          |         | Ib n=40          |          | Ic n=41          |         |
|-------------------------------------|------------------|---------|------------------|----------|------------------|---------|
|                                     | X ± SD           | Md      | X ± SD           | Md       | X ± SD           | Md      |
| Broj utrošenih IU<br>za stimulaciju | 2081,24 ± 804,63 | 1850,00 | 2113,00 ± 792,36 | 1975,00  | 2078,66 ± 710,05 | 1975,00 |
| Dužina stimulacije<br>(dani)        | 10,12 ± 1,36     | 10,00   | 9,88 ± 1,18      | 10,00    | 10,02 ± 1,29     | 10,00   |
| Broj folikula<br>>18 mm             | 8,82 ± 5,34      | 7,00    | 13,20 ± 8,18     | 7,00     | 8,85 ± 6,84      | 7,00    |
| Broj<br>jajnih ćelija.              | 9,55 ± 5,08      | 9,00    | 15,35 ± 8,64     | 10,00    | 10,73 ± 7,37     | 10,00   |
| Broj<br>embriona                    | 5,73 ± 3,46      | 5,00    | 7,88 ± 4,50      | ca* 5,00 | 5,59 ± 3,54      | 5,00    |
| Kvalitet embriona<br>(gradus)       | 4,33 ± 0,74      | 4,00    | 4,30 ± 0,88      | 4,00     | 4,32 ± 0,79      | 4,00    |
| Broj transferisanih<br>embriona     | 2,55 ± 0,83      | 3,00    | 2,68 ± 0,66      | 3,00     | 2,44 ± 0,84      | 3,00    |

Kod najvećeg broja ispitanica (167, tj. 63,02%) ET je obavljen 3. dana što je statistički najčešće zastupljen dan ET u odnosu na ostale –  $p < 0,001$ .



**Grafikon 4.** Dan ET-a u celokupnom uzorku

U obe ispitivane grupe najčešće je ET rađen trećeg dana, a najmanje drugog dana, te nema statistički značajne razlike između studijske i kontrolne grupe (tabela 7), kao ni između podgrupa studijske grupe (tabela 8).

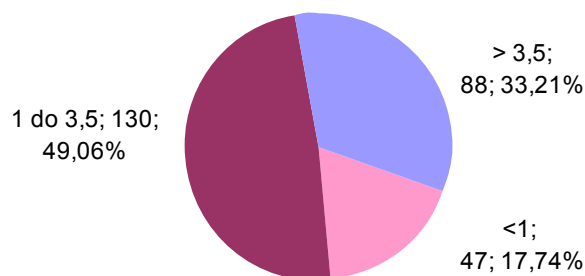
**Tabela 7.** Dan ET-a u studijskoj i kontrolnoj grupi

| Dan ET-a | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|----------|-----------------|---------|-----------------|---------|
| 2. dan   | 5               | 4,39%   | 4               | 2,65%   |
| 3. dan   | 71              | 62,28%  | 96              | 63,58%  |
| 5. dan   | 38              | 33,33%  | 51              | 33,77%  |
| Ukupno   | 114             | 100,00% | 151             | 100,00% |

**Tabela 8.** Struktura raspodele ispitanica studijskih podgrupa po danu ET-a

| Dan ET-a | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|----------|----|---------|----|---------|----|---------|
| 2. dan   | 0  | 0,00%   | 1  | 2,50%   | 4  | 9,76%   |
| 3. dan   | 21 | 63,64%  | 22 | 55,00%  | 28 | 68,29%  |
| 5. dan   | 12 | 36,36%  | 17 | 42,50%  | 9  | 21,95%  |
| Ukupno   | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |

Najveći broj ispitanica je 130 (49,06%) u grupi je gde je vrednost AMH od 1 do 3,5, a najmanji 47 (17,74%) sa vrednostima AMH manjim od 1. Statistički je više ispitanica sa vrednostima AMH od 1 do 3,5 nego što je broj ispitanica u ostale dve podgrupe  $p < 0,001$ .



**Grafikon 5.** Vrednosti AMH u celokupnom uzorku

Kao i u celom uzorku, u obe ispitivane grupe najviše je ispitanica sa nivoom AMH od 1 do 3,5 i nema statistički značajne razlike između studijske i kontrolne grupe (tabela 9), kao ni između podgrupa studijske grupe (tabela 10).

**Tabela 9.** Vrednosti AMH u studijskoj i kontrolnoj grupi

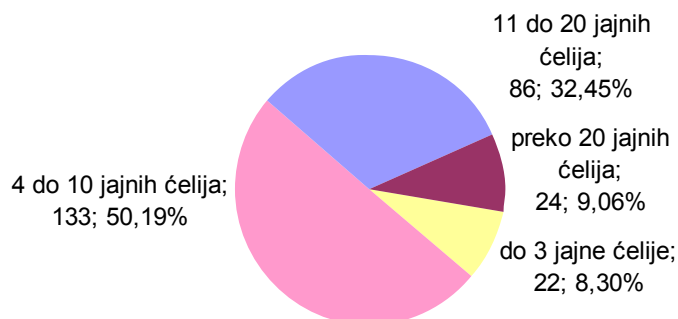
| AMH      | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|----------|-----------------|---------|-----------------|---------|
| <1       | 24              | 21,05%  | 23              | 15,23%  |
| 1 do 3,5 | 49              | 42,98%  | 81              | 53,64%  |
| > 3,5    | 41              | 35,96%  | 47              | 31,13%  |
| Ukupno   | 114             | 100,00% | 151             | 100,00% |

**Tabela 10.** Vrednosti AMH po podgrupama studijske grupe

| AMH      | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|----------|----|---------|----|---------|----|---------|
| <1       | 8  | 24,24%  | 7  | 17,50%  | 9  | 21,95%  |
| 1 do 3,5 | 14 | 42,42%  | 14 | 35,00%  | 21 | 51,22%  |
| > 3,5    | 11 | 33,33%  | 19 | 47,50%  | 11 | 26,83%  |
| Ukupno   | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |



Kod najvećeg broja ispitanica (133, tj. 50,19%) bilo je 4 do 10 jajnih ćelija i broj takvih ispitanica je statistički značajno češći u odnosu na sve ostale podgrupe definisane na osnovu broja jajnih ćelija ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 6.** Broj jajnih ćelija

U obe ispitivane grupe najviše je ispitanica sa 4 do 10 jajnih ćelija, ali ih je nešto manje u studijskoj no u kontrolnoj grupi, međutim, nije utvrđena statistički značajna razlika (tabela 11). Evidentno je da je u studijskoj grupi veći broj ispitanica u podgrupama sa većim brojem jajnih ćelija, ali nema statistički značajne razlike u kategorijama broja jajnih ćelija između podgrupa studijske grupe (tabela 12).

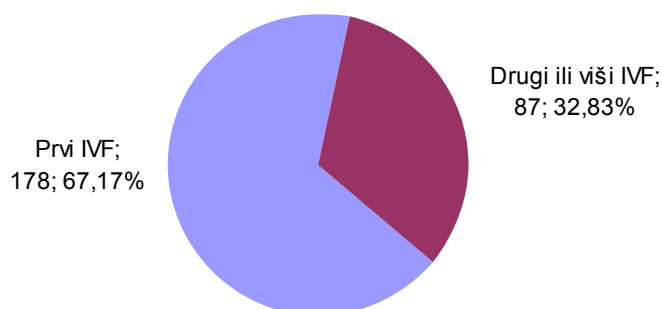
**Tabela 11.** Broj jajnih ćelija u studijskoj i kontrolnoj grupi

| Broj jajnih ćelija | Studijska grupa |                | Kontrolna grupa |                |
|--------------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| do 3               | 12              | 10,53%         | 10              | 6,62%          |
| 4 do 10            | 45              | 39,47%         | 88              | 58,28%         |
| 11 do 20           | 43              | 37,72%         | 43              | 28,48%         |
| preko 20           | 14              | 12,28%         | 10              | 6,62%          |
| <b>Ukupno</b>      | <b>114</b>      | <b>100,00%</b> | <b>151</b>      | <b>100,00%</b> |

**Tabela 12.** Struktura raspodele ispitanica studijskih podgrupa po broju jajnih ćelija

| Broj jajnih ćelija | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|--------------------|----|---------|----|---------|----|---------|
| do 3               | 4  | 12,12%  | 2  | 5,00%   | 6  | 14,63%  |
| 4 do 10            | 16 | 48,48%  | 11 | 27,50%  | 18 | 43,90%  |
| 11 do 20           | 12 | 36,36%  | 18 | 45,00%  | 13 | 31,71%  |
| preko 20           | 1  | 3,03%   | 9  | 22,50%  | 4  | 9,76%   |
| Ukupno             | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |

U celokupnom uzorku statistički je značajno veći broj ispitanica kojima je ovo bio prvi (178, tj. 67,17%) nego drugi ili naredni IVF ( $p < 0,001$ ).

**Grafikon 7.** IVF po redu

U studijskoj grupi je prisutno 44 (38,60%), a u kontrolnoj 43 (28,48%) ispitanica kod kojih se IVF radi drugi ili naredni put. Iako je prisustvo druge, odnosno naredne VTO izraženije u studijskoj grupi, na osnovu Pearsonovog  $\chi^2$  testa između grupa nije utvrđena statistički značajna razlika (tabela 13). U studijskoj grupi je u sve tri podgrupe prvi IVF kod oko 60% ispitanica (tabela 14), te u ovom pogledu nema statistički značajnih razlika ni između podgrupa studijske grupe.

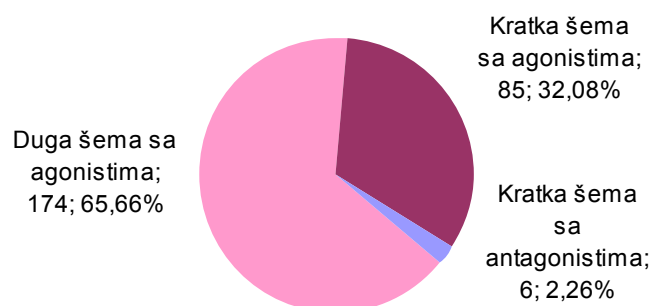
**Tabela 13.** IVF po redu u studijskoj i kontrolnoj grupi

| IVF               | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|-------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|
| Prvi              | 70              | 61,40%  | 108             | 71,52%  |
| Drugi ili naredni | 44              | 38,60%  | 43              | 28,48%  |
| Ukupno            | 114             | 100,00% | 151             | 100,00% |

**Tabela 14.** Struktura raspodele ispitanica studijskih podgrupa po IVF po redosledu

| IVF               | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|-------------------|----|---------|----|---------|----|---------|
| Prvi              | 20 | 60,61%  | 24 | 60,00%  | 26 | 63,41%  |
| Drugi ili naredni | 13 | 39,39%  | 16 | 40,00%  | 15 | 36,59%  |
| Ukupno            | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |

Kod najvećeg broja ispitanica (174, tj. 65,66%) kao protokol stimulacije korišćen je dugi protokol sa agonistima, kod 85 (32,08%) je korišćen kratak protokol sa agonistima, a samo kod 6 (2,26%) ispitanica primenjena kratak protokol sa antagonistima. U periodu istraživanja na klinici nije bilo antagonistima u dovoljnoj količini tako da je broj ciklusa bio mnogo manji nego što bi bio u drugačijim uslovima. Utvrđena je statistički značajna razlika u zastupljenosti primenjenih protokola stimulacije ( $p < 0,001$ ).

**Grafikon 8.** Korišćeni protokoli stimulacije u celokupnom uzorku

Ovakva situacija je preslikana u kontrolnoj i studijskoj grupi, između kojih nema statistički značajne razlike u korišćenim protokolima stimulacije (tabela 15).

**Tabela 15.** Protokol stimulacije u studijskoj i kontrolnoj grupi

| Protokol stimulacije             | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|----------------------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|
|                                  | Broj            | Procent | Broj            | Procent |
| Dugi protokol sa agonistima      | 76              | 66,67%  | 98              | 64,90%  |
| Kratki protokol sa agonistima    | 35              | 30,70%  | 50              | 33,11%  |
| Kratki protokol sa antagonistima | 3               | 2,63%   | 3               | 1,99%   |
| Ukupno                           | 114             | 100,00% | 151             | 100,00% |

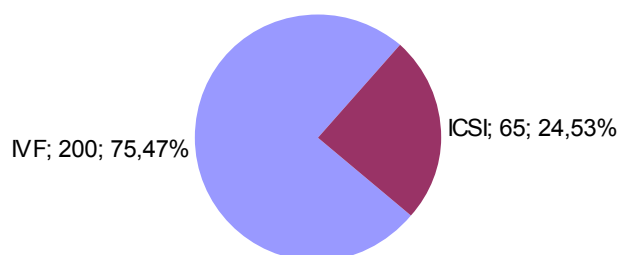
Na osnovu tabele kontigencije 3×3 (tabela 16) utvrđena je statistički značajna razlika u korišćenim protokolima stimulacije između podgrupa studijske grupe ( $p < 0,05$ ). Duga šema sa agonistima se statistički češće koristi u Ib no u Ia podgrupi, a kratka šema sa agonistima češće u Ia no u Ib ( $p < 0,01$ ).

**Tabela 16.** Protokol stimulacije po podgrupama studijske grupe

| Protokol stimulacije         | Ia                |         | Ib |                       | Ic |         |
|------------------------------|-------------------|---------|----|-----------------------|----|---------|
| Duga šema sa agonistima      | 16                | 48,48%  | 33 | 82,50% <sup>a**</sup> | 27 | 65,85%  |
| Kratka šema sa agonistima    | 16 <sup>b**</sup> | 48,48%  | 6  | 15,00%                | 13 | 31,71%  |
| Kratka šema sa antagonistima | 1                 | 3,03%   | 1  | 2,50%                 | 1  | 2,44%   |
| Ukupno                       | 33                | 100,00% | 40 | 100,00%               | 41 | 100,00% |

\*\* –  $p < 0,01$ , a – vs Ia, b – vs Ib

Na našoj klinici se češće koristio konvencionalni način oplodjenja tako da je IVF zastupljen kod 200 (75,47%) ispitanica ili statistički značajno češće nego oplodjenje ICSI metodom koji je primenjen kod 65 (24,53%) ispitanica ( $p < 0,001$ ). Sličan odnos je zastupljen u obe ispitivane grupe, kao i u podgrupama studijske grupe, te nema statistički značajnih razlika u primeni IVF i ICSI ni između studijske i kontrolne grupe, ni između podgrupa studijske grupe (tabela 17 i 18).



**Grafikon 11.** IVF i ICSI

**Tabela 17.** IVF i ICSI u studijskoj i kontrolnoj grupi

|        | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|--------|-----------------|---------|-----------------|---------|
| IVF    | 89              | 78,07%  | 111             | 73,51%  |
| ICSI   | 25              | 21,93%  | 40              | 26,49%  |
| Ukupno | 151             | 100,00% | 114             | 100,00% |

**Tabela 18.** IVF i ICSI po podgrupama studijske grupe

|        | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|--------|----|---------|----|---------|----|---------|
| IVF    | 27 | 81,82%  | 29 | 72,50%  | 33 | 80,49%  |
| ICSI   | 6  | 18,18%  | 11 | 27,50%  | 8  | 19,51%  |
| Ukupno | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |

Debljina endometrijuma nije se statistički značajno razlikovala između ispitanica studijske i kontrolne grupe. Prosečna vrednost debljine endometrijuma bila je u studijskoj grupi 10,36 mm za razliku od 10,02 mm u kontrolnoj grupi.

**Tabela 19.** Debljina endometrijuma (mm) i beta HCG u studijskoj i kontrolnoj grupi

|                             | Studijska grupa |       |     | Kontrolna grupa |       |     |
|-----------------------------|-----------------|-------|-----|-----------------|-------|-----|
|                             | X ± SD          | Md    | N   | X ± SD          | Md    | N   |
| Debljina endometrijuma (mm) | 10,36 ± 1,71    | 10,15 | 114 | 10,02 ± 1,72    | 10,00 | 151 |

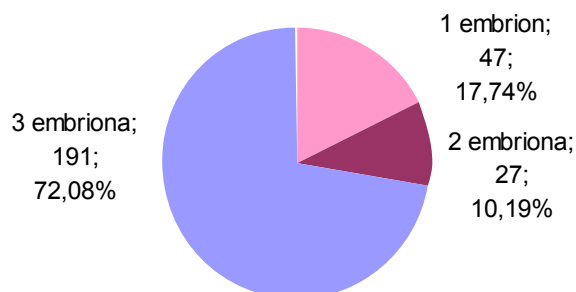
ANOVOM analizom, na osnovu podataka u tabeli 19, nije utvrđena statistički značajna zavisnost debljine endometrijuma od pripadnosti ispitanica grupi. Jedino je, poređenjem svake podgrupe sa svakom ponaosob (Tukey tes u okviru Post Hoc analize) utvrđena statistički značajno viša vrednost debljine endometrijuma u grupi Ib u odnosu Ic ( $p < 0,05$ ) – tabela 20.

**Tabela 20.** Debljina endometrijuma (mm) u podgrupama studijske grupe

|                             | Ia N=33      |       | Ib N=40                    |       | Ic N=41     |       |
|-----------------------------|--------------|-------|----------------------------|-------|-------------|-------|
|                             | X ± SD       | Md    | X ± SD                     | Md    | X ± SD      | Md    |
| Debljina endometrijuma (mm) | 10,23 ± 1,81 | 10,00 | 10,88 ± 1,67 <sup>c*</sup> | 11,00 | 9,98 ± 1,57 | 10,00 |

\* –  $p < 0,05$ , c – vs Ic

Kod najvećeg broja ispitanica vraćena su 3 embrija - 191 (72,08%), statistički više nego broj ispitanica kod kojih je vraćen jedan - 47 (17,74%), i njih 27 (10,19%) kod kojih su vraćena dva embrija ( $p < 0,001$ ) – grafikon 12.



**Grafikon 10.** Broj transferisanih (vraćenih) embrija u celokupnom uzorku

Slična situacija je i u kontrolnoj i studijskoj grupi, kao u svim podgrupama studijske grupe, te nema statistički značajnih razlika (tabele 21 i 22).

**Tabela 21.** Broj transferisanih embrija u studijskoj i kontrolnoj grupi

| Broj transferisanih embrija | Studijska grupa |         | Kontrolna grupa |         |
|-----------------------------|-----------------|---------|-----------------|---------|
| 1 embrija                   | 20              | 17,54%  | 28              | 18,54%  |
| 2 embrija                   | 11              | 9,65%   | 16              | 10,60%  |
| 3 embrija                   | 83              | 72,81%  | 107             | 70,86%  |
| Ukupno                      | 114             | 207,27% | 151             | 100,00% |

**Tabela 22.** Broj transferisanih embrija po podgrupama

| Broj transferisanih embrija | Ia |         | Ib |         | Ic |         |
|-----------------------------|----|---------|----|---------|----|---------|
| 1 embrija                   | 7  | 21,21%  | 4  | 10,00%  | 9  | 21,95%  |
| 2 embrija                   | 1  | 3,03%   | 5  | 12,50%  | 5  | 12,20%  |
| 3 embrija                   | 25 | 75,76%  | 31 | 77,50%  | 27 | 65,85%  |
| Ukupno                      | 33 | 100,00% | 40 | 100,00% | 41 | 100,00% |

### 4.3. Patološka stanja kavuma uterusa i VTO

Patologija kavuma uterusa u studijskoj grupi je nađena kod 33 ispitanice, što čini skoro jednu trećinu svih histeroskopija (28,95%) – tabela 23.

**Tabela 23.** Zastupljenost patoloških nalaza u studijskoj grupi

| Grupa                                    | Broj ispitanica |         |
|--|-----------------|---------|
| Studijska grupa                          | 114             | 100,00% |
| Negativni histeroskopski nalaz (Ib + Ic) | 81              | 71,05%  |
| Patološki histeroskopski nalaz (Ia)      | 33              | 28,95%  |

Ukoliko posmatramo zastupljenost patologije kavuma kod ispitanica koje nisu imale VTO i ispitanica koje su u drugom ili narednom postupku VTO, primećujemo skoro identičnu procentualnu vrednost, 28,57% prema 29,55% (Tab. 24).

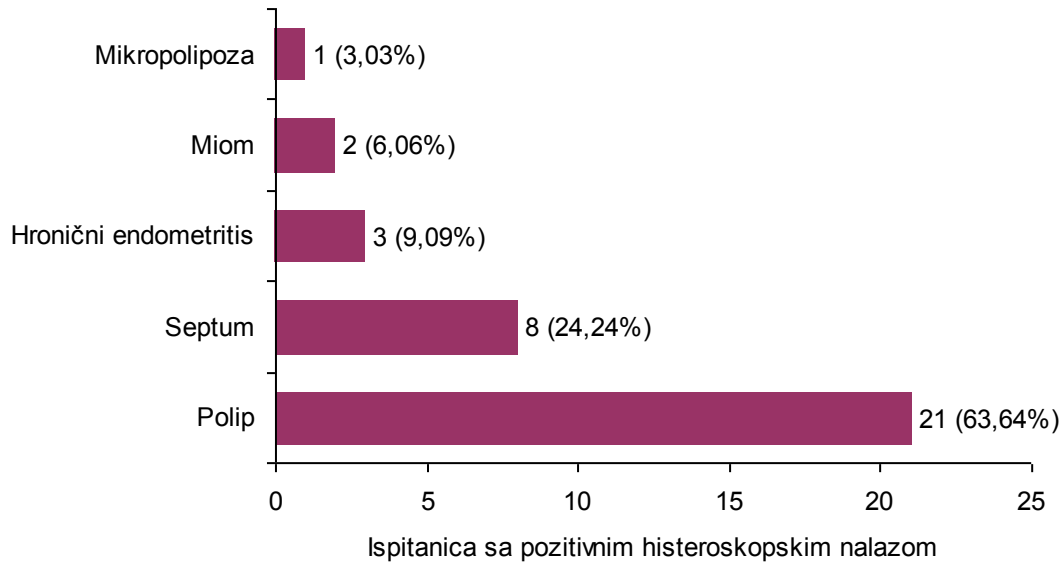
**Tabela 24.** Zastupljenost patoloških nalaza u studijskoj grupi u odnosu na redosled VTO

| VTO         | Negativan histeroskopski nalaz |        | Pozitivan histeroskopski nalaz |        | Ukupno |
|-------------|--------------------------------|--------|--------------------------------|--------|--------|
|             |                                |        |                                |        |        |
| 1           | 50                             | 71,43% | 20                             | 28,57% | 70     |
| 2 i naredna | 31                             | 70,45% | 13                             | 29,55% | 44     |
| Ukupno      | 81                             | 71,05% | 33                             | 28,95% | 114    |

Na grafikonu 11 data je zastupljenost pojedinih histeroskopskih nalaza u grupi ispitanica sa pozitivnim histeroskopskim nalazima (grupa Ia).

Polip je najzastupljeniji histeroskopski nalaz, nađen je kod 21 pacijentkinje što čini 63% svih patoloških stanja kavuma uterusa. Najmanja incidenca je uočena kod mikropo-

lipoze (3,03%), i pored hroničnog endometritisa to su jedine minor lezije nađene pri histeroskopiji. Na osnovu Pearsonovog  $\chi^2$  testa statistički je najzastupljeniji polip u odnosu na septum ( $p < 0,01$ ) i sve ostale tipove nalaza ponaosob ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 11.** Procentualna zastupljenost patoloških stanja u podgrupi ispitanica sa pozitivnim histeroskopskim nalazom (podgrupa Ia)

Ako posmatramo incidencu patoloških stanja u grupi Ia u odnosu na prvu ili narednu VTO, vidimo da je prisutna razlika kod polipa i hroničnog endometritisa, ali ona nije statistički značajna (Tab. 25).

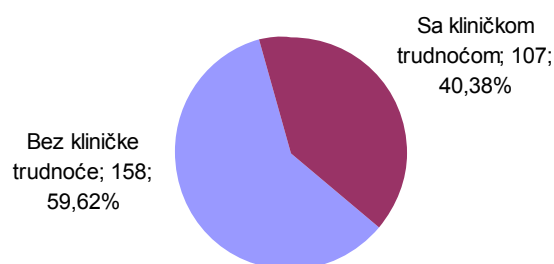
**Tabela 25.** Zastupljenost patoloških nalaza u grupi sa pozitivnim patološkim nalazom u odnosu na prvu ili drugu ili narednu VTO

|                       | Prva VTO |        | 2 ili naredna VTO |        |
|-----------------------|----------|--------|-------------------|--------|
|                       | n=20     |        | n=13              |        |
| Polip                 | 14       | 70,00% | 7                 | 53,85% |
| Septum                | 5        | 25,00% | 3                 | 23,08% |
| Hronični endometritis | 1        | 5,00%  | 2                 | 15,38% |
| Miom                  | 1        | 5,00%  | 1                 | 7,69%  |
| Mikropolipoza         | 0        | 0,00%  | 1                 | 7,69%  |



#### 4.4. Ishod VTO

Vrednost  $\beta$ HCG-a je određivana 15. dana od aspiracije a 10-12 dana nakon ET. U slučaju pozitivne vrednosti  $\beta$ HCG-a, nakon 2-3 nedelje ultrasonografskim pregledom se potvrđuje klinička trudnoća verifikovanjem srčane akcije ploda. U celom uzorku evidentirano je 107 (40,38%) ispitanica sa pozitivnim ishodom VTO (grafikon 12).



**Grafikon 12.** Ishod VTO u celom uzorku

Stopa implantacije predstavlja odnos broja implantiranih embriona i ukupnog broja transferisanih embriona. Stopa implantacije u celom uzorku, u studijskoj i kontrolnoj grupi data je u tabeli 26, a u podgrupama studijske grupe, data je u tabeli 27.

Na osnovu podataka u tabelama je evidentno da je stopa implantacije veća za 6,53% u studijskoj (25,43%) nego u kontrolnoj grupi (18,90%), i to je na nivou statističke značajnosti od  $p < 0,05$ .

**Tabela 26.** Stopa implantacije u studijskoj i kontrolnoj grupi

| Grupa     | Transferisano embriona | GS   | Stopa implantacije |
|-----------|------------------------|------|--------------------|
| Studijska | 291                    | 74 * | 25,43%             |
| Kontrolna | 381                    | 72   | 18,90%             |
| Ukupno    | 672                    | 146  | 21,73%             |

\* –  $p < 0,05$

Stopa implantacije u podgrupama studijske grupe, prikazana je u tabeli 27. U studijskoj grupi je najveća stopa implantacije kod negativnog histeroskopskog nalaza (27,00%), nešto je manja kod lokalne endometrijalne povrede (25,23%), a najmanja kod

prisutnih patoloških stanja kavuma (23,81%), ali nema statistički značajnih razlika između dobijenih stopa implantacije.

**Tabela 27.** Stopa implantacije po podgrupama studijske grupe

| Grupa | Transferisano<br>embriona | GS | Stopa<br>implantacije |
|-------|---------------------------|----|-----------------------|
| Ia    | 84                        | 20 | 23,81%                |
| Ib    | 107                       | 27 | 25,23%                |
| Ic    | 100                       | 27 | 27,00%                |

Procentualna zastupljenost ispitanica kod kojih je ostvarena trudnoća veća je u studijskoj grupi za 13,81% u odnosu na kontrolnu, odnosno prisutna je kod 55 (48,25%) ispitanica u studijskoj, što je statistički značajno više nego u kontrolnoj grupi kod koje je bilo 52 (34,44%) trudnoće –  $p < 0,05$  (tabela 28).

**Tabela 28.** Stopa trudnoća u ispitivanim grupama

| Grupa ispitanica | Br. trudnoća/ Br. ispitanica | % trudnoća |
|------------------|------------------------------|------------|
| Studijska grupa  | 55 / 114 *                   | 48,25%     |
| Kontrolna grupa  | 52 / 151                     | 34,44%     |

\* –  $p < 0,05$

Stopa trudnoća je najviša u Ib podgrupi, gde je rađena lokalna endometrijalna povreda - 52,50%, a nešto je niža u podgrupi Ic (46,34%) i Ia (45,45%), međutim, nema statistički značajne razlike između podgrupa (tabela 29).

**Tabela 29.** Stopa trudnoća po podgrupama studijske grupe

| Grupa ispitanica | Br. trudnoća/ Br. ispitanica | % trudnoća |
|------------------|------------------------------|------------|
| Ia               | 15 / 33                      | 45,45%     |
| Ib               | 21 / 40                      | 52,50%     |
| Ic               | 19 / 41                      | 46,34%     |

I u studijskoj i u kontrolnoj grupi stopa trudnoće veća je kod ispitanica u prvom ciklusu VTO u odnosu na drugi ili naredni ciklus VTO, ali bez statistički značajne razlike (tabela 30).

**Tabela 30.** Stopa trudnoća u ispitivanim grupama u odnosu na prvu i drugu ili narednu VTO

| Grupa     | Prva VTO      |                |            | Druga ili naredna VTO |                |            |
|-----------|---------------|----------------|------------|-----------------------|----------------|------------|
|           | Br. trudnoća/ | Br. ispitanica | % trudnoća | Br. trudnoća/         | Br. ispitanica | % trudnoća |
| Studijska | 70            | 37             | 52,86%     | 44                    | 18             | 40,91%     |
| Kontrolna | 108           | 40             | 37,04%     | 43                    | 12             | 27,91%     |
| Ukupno    | 178           | 77             | 43,26%     | 87                    | 30             | 34,48%     |

Stopa trudnoća je veća i u Ia i Ic grupi kod ispitanica u prvom ciklusu VTO, dok je u podgrupi Ib stopa trudnoća nešto viša kod ispitanica u drugom ili narednom ciklusu VTO ali bez statistički značajne razlike (tabela 31). Statističku značajnost smo dobili jedino u Ia grupi, upoređujući rezultate nakon prve VTO i druge ili naredne VTO ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 31.** Stopa trudnoća po podgrupama studijske grupe u odnosu na prvu i drugu ili narednu VTO

| Grupa | Prva VTO      |                |            | Druga ili naredna VTO |                |            |
|-------|---------------|----------------|------------|-----------------------|----------------|------------|
|       | Br. trudnoća/ | Br. ispitanica | % trudnoća | Br. trudnoća/         | Br. ispitanica | % trudnoća |
| Ia    | 20            | 12             | 60,00%*    | 13                    | 3              | 23,08%     |
| Ib    | 24            | 12             | 50,00%     | 16                    | 9              | 56,25%     |
| Ic    | 26            | 13             | 50,00%     | 15                    | 6              | 40,00%     |

\* –  $p < 0,05$

U podgrupi Ia, u odnosu na patološka stanja kavuma uterusa, utvrđeno je da je najveći procenat trudnoća kod pacijentkinja sa nalazom polipa (57,14%), nešto manji kod septuma (37,50%) i hroničnog endometritisa (33,33%), dok kod dva slučaja mioma i jednog mikropolipoze nije bilo trudnoća (tabela 32). Kako je broj pacijentkinja sa patologijom kavuma mali nije utvrđena statistički značajna razlika u zastupljenosti stopi trudnoća u odnosu na patološko stanje kavuma uterusa.

**Tabela 32.** Stopa trudnoća u odnosu na patološki nalaz

| Histeroskopski nalaz  | Br. trudnih/ | Br. ispitanica | % trudnoća |
|-----------------------|--------------|----------------|------------|
| Polip                 | 12 /         | 21             | 57,14%     |
| Septum                | 3 /          | 8              | 37,50%     |
| Miom                  | 0 /          | 2              | 0,00%      |
| Hronični endometritis | 1 /          | 3              | 33,33%     |
| Mikropolipoza         | 0 /          | 1              | 0,00%      |

U studijskoj grupi je evidentirano 13 biohemijskih trudnoća (11,40%), a u kontrolnoj, procentuano gledano gotovo duplo manje 10 (6,62%), ali zbog generalno malog broja biohemijskih trudnoća nije utvrđena statistički značajna razlika (tabela 33). U studijskoj grupi je u sve tri podgrupe procenat biohemijskih trudnoća veoma sličan i kreće se od 10,10% u Ib do 12,20% u Ic podgrupi (tabela 34).

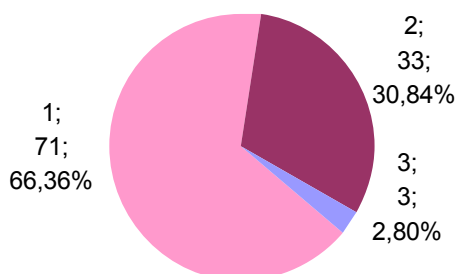
**Tabela 33.** Zastupljenost biohemijskih trudnoća u studijskoj i kontrolnoj grupi

|                      | Studijska grupa |        | Kontrolna grupa |       | Ukupno |       |
|----------------------|-----------------|--------|-----------------|-------|--------|-------|
| Biohemijske trudnoće | 13/114          | 11,40% | 10/151          | 6,62% | 23     | 8,68% |

**Tabela 34.** Zastupljenost biohemijskih trudnoća u studijskim podgrupama

| IVF                  | Ia   |        | Ib   |        | Ic   |        |
|----------------------|------|--------|------|--------|------|--------|
| Biohemijske trudnoće | 4/33 | 12,12% | 4/40 | 10,00% | 5/41 | 12,20% |

Kod 71 (66,36%) ispitanice radilo se o jedноплодним, a kod 36 (33,64%) o вишеплодним трудноћама, односно 33 (30,84%) је гемељарних, а тригемина је било само 3 (2,80%) (графикон 14). Моноплодне трудноће су статистички заступљеније од дво и триплодних понаособ ( $p < 0,001$ ).



**Grafikon 13.** Frekvencija jedноплодних i вишеплодних трудноћа

Zastupljenost вишеплодних трудноћа nešto је већа kod ispitanica kontrolne grupe, ali bez статистички značajne razlike (tabela 35). Nema razlike u incidenci вишеплодних трудноћа ni između podgrupa studijske grupe, gde је zastupljenost вишеплодних трудноћа najveća u grupi Ic a najmanja u Ib (tabela 36).

**Tabela 35.** Вишеплодне трудноће u studijskoj i kontrolnoj grupi

|                            | Studijska grupa |          | Kontrolna grupa |          |
|----------------------------|-----------------|----------|-----------------|----------|
|                            | Broj            | Postotak | Broj            | Postotak |
| 1 plod                     | 38              | 69,09%   | 33              | 63,46%   |
| 2 ploda                    | 15              | 27,27%   | 18              | 34,62%   |
| 3 ploda                    | 2               | 3,64%    | 1               | 1,92%    |
| Ukupno                     | 55              | 100,00%  | 52              | 100,00%  |
| Stopa вишеплодних трудноћа | 30,91%          |          | 36,54%          |          |

**Tabela 36.** Вишеплодне трудноће по подгрупамa studijske grupe

| Broj plodova               | Ia     |          | Ib     |          | Ic     |          |
|----------------------------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|
|                            | Broj   | Postotak | Broj   | Postotak | Broj   | Postotak |
| 1                          | 10     | 66,67%   | 16     | 76,19%   | 12     | 63,16%   |
| 2                          | 5      | 33,33%   | 4      | 19,05%   | 6      | 31,58%   |
| 3                          | 0      | 0,00%    | 1      | 4,76%    | 1      | 5,26%    |
| Ukupno                     | 15     | 100,00%  | 21     | 100,00%  | 19     | 100,00%  |
| Stopa вишеплодних трудноћа | 33,33% |          | 23,81% |          | 37,14% |          |

Radi ispitivanja izolovanih uticaja kontrolnih varijabli na ishod VTO, rađena je univarijantna logistička regresiona analiza. Rezultati su dati u tabeli 37.

Univarijantna logistička regresiona analiza je kao statistički značajne prediktore za ishod trudnoće potvrdila: godine starosti, starost ispitanica od 36 do 40 godina, broj folikula većih od 18mm (ili 15mm), broj dobijenih jajnih ćelija aspiracijom folikularne tečnosti (oocita), oocite kategorije 3 (11–20), broj dobijenih embriona, kvalitet (gradus) embriona, histeroskopiju, negativan histeroskopski nalaz, kao i nalaz LEI podgrupe (u odnosu na kontrolnu grupu), debljinu endometrijuma i IVF u odnosu na ICSI.

Porast starosti za 1 godinu statistički značajno umanjuje šanse za nastanak trudnoće za 8% (OR=0,92; 95% IP: 0,86-0,97;  $p<0,05$ ). Kod starosti kao kategorijsku varijable, podelom na starosne grupe, utvrđeno je da ispitanice starosti od 36 do 40 godina imaju 50% manje šansi da ostvare trudnoću nego ispitanice do 30 godina (OR=0,50; 95% IP: 0,26-0,99;  $p<0,05$ ).

Povećanje broja folikula većih od 18 mm za 1, povećava šanse za nastanak trudnoće za 5% (OR=1,05; 95% IP: 1,01-1,08;  $p<0,05$ ).

Porast broja dobijenih jajnih ćelija aspiracijom folikularne tečnosti za 1, povećava šanse za nastanak trudnoće za 4% (OR=1,04; 95% IP: 1,01-1,08;  $p<0,05$ ). Ukoliko broj dobijenih jajnih ćelija aspiracijom folikularne tečnosti razmatramo kao kategorijsku varijablu, podelom ispitanica na grupe, onda su šanse za nastanak trudnoće 2,96 puta veće (OR=2,96; 95% IP: 1,00-8,74;  $p<0,05$ ) ukoliko ispitanica pripada grupi kod koje je broj dobijenih jajnih ćelija 11 do 20 u odnosu na ispitanice kod kojih je broj jajnih ćelija bio do 3.

Rast broja dobijenih embriona za 1, povećava šanse za nastanak trudnoće za 11% (OR=1,11; 95% IP: 1,03-1,19;  $p<0,01$ ).

Porast kvaliteta ili gradusa embriona za 1, povećava šanse za nastanak trudnoće 2,13 puta (OR=2,13; 95% IP: 1,51-3,01;  $p<0,001$ ).

Poređenjem studijske sa kontrolnom grupom, utvrđeno je da primena histeroskopije kod ispitanica povećava verovatnoću za nastanak trudnoće za 78% (OR=1,78; 95% IP: 1,08-2,92;  $p<0,05$ ). Negativan histeroskopski nalaz u studijskoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu povećava verovatnoću za trudnoću za 86% (OR=1,86; 95% IP: 1,07-3,22;  $p<0,05$ ), a lokalna endometrijalna povreda za 2,1 puta (OR=2,10; 95% IP: 1,04-4,26;  $p<0,05$ ).

Porast debljine endometrijuma za 1 mm, povećava šanse za nastanak trudnoće za 24% (OR=1,24; 95% IP: 1,07-1,44;  $p<0,01$ ).

ICSI u odnosu na IVF smanjuje šanse za nastanak trudnoće za 61% (OR=0,39; 95% IP: 0,59-1,11;  $p<0,01$ ).

**Tabela 37.** Procena uticaja faktora od interesa na nastanak trudnoće – statistički značajni rezultati univarijantne logističke regresione analize

| Faktor                         | p      | OR   | Granice 95% IP za OR |        |
|--------------------------------|--------|------|----------------------|--------|
|                                |        |      | Donja                | Gornja |
| Starost (god)                  | 0,0172 | 0,92 | 0,86                 | 0,98   |
| Starosna grupa 36-40 godina    | 0,0468 | 0,50 | 0,26                 | 0,99   |
| Broj folikula > 18mm           | 0,0151 | 1,05 | 1,01                 | 1,08   |
| Broj oocita                    | 0,0182 | 1,04 | 1,01                 | 1,08   |
| Broj oocita 11-20              | 0,0499 | 2,96 | 1,00                 | 8,74   |
| Broj embriona                  | 0,0041 | 1,11 | 1,03                 | 1,19   |
| Kvalitet embriona              | 0,0000 | 2,13 | 1,51                 | 3,01   |
| Histeroskopija                 | 0,0239 | 1,78 | 1,08                 | 2,92   |
| Negativan histeroskopski nalaz | 0,0273 | 1,86 | 1,07                 | 3,22   |
| Lokalna endometrijalna povreda | 0,0388 | 2,10 | 1,04                 | 4,26   |
| Debljina endometrijuma (mm)    | 0,0048 | 1,24 | 1,07                 | 1,44   |
| IVF/ICSI                       | 0,0035 | 0,39 | 0,21                 | 0,73   |

## 5. DISKUSIJA

---

Infertilitet je stanje kada ne dolazi do ostvarivanja trudnoće nakon godinu dana urednih seksualnih odnosa sa istim partnerom bez upotrebe kontraceptivnih sredstava<sup>[9]</sup>. Prema Svetskoj Zdravstvenoj Organizaciji (SZO) infertilitet predstavlja bolest a njegovo lečenje je jedno od osnovnih prava čoveka. Suočavamo se sa sve većim porastom steriliteta kako u starijoj populaciji tako i u mlađem reproduktivnom dobu. Razlozi su mnogobrojni, počev od odlaganja rađanja, brojnih polutanata u okolini do epigenetskih uzroka. Svaki naš pokušaj da unapredimo dijagnostiku i poboljšamo uspeh lečenja steriliteta ima za cilj ogromnu korist za porodicu i društvo u celini.

Grupe i podgrupe u našem istraživanju su pokazale homogenost imajući u vidu godine starosti, BMI, dužinu steriliteta, AMH, i FSH. Takođe, nije bilo statistički značajne razlike u dužini stimulacije, količini lekova potrebnih za stimulaciju, broju folikula, jajnih ćelija, embriona, broju transferisanih embriona kao ni u kvalitetu embriona, kako po grupama, tako i po podgrupama.

Prosečna starost naših ispitanica bila je 33,59 godine, a najviše ispitanica je bilo starosti između 31. i 35. godina (42,26%). Interesantno je da je više od trećine ispitanica bilo u starosnoj grupi preko 36. godina (35,85%), što može da se objasni odlaganjem rađanja, kasnim stupanjem u brak i brojnim socio-ekonomskim problemima.

U jednoj kineskoj studiji<sup>[26]</sup>, navodi se porast učestalosti infertiliteta tokom zadnje 3 decenije, tako da među parovima gde je ženski partner rođen 50-ih godina infertilitet je 1,3%, dok je kod žena rođenih 80-ih godina učestalost 11,4%. Ukupna prevalenca steriliteta je 4,2%, uključujući i ruralno i urbano stanovništvo. Jedini približan procenat infertiliteta je u Iranu – 4,6%<sup>[27]</sup>, dok je u Holandiji 10,7%<sup>[28]</sup>, u Engleskoj 17,3%<sup>[29]</sup> a najviši je u Australiji i iznosi 20%<sup>[30]</sup>. U Srbiji se učestalost infertiliteta po različitim studijama kreće od 15 do 18%, što spada među najviše stope u svetu.

Prosečno vreme lečenja steriliteta u našem istraživanju do ulaska u program VTO bilo je nešto više od 6 godina, više nego što se navodi u drugim studijama<sup>[31,32]</sup>, što dovodi do toga da je skoro 36% ispitanica već u drugoj polovini četvrte decenije. Prosečna dužina steriliteta u obe grupe bila je skoro istovetna, 6,37 i 6,38 godina. Ovako veliki broj godina trajanja



infertiliteta verovatno je i odraz još uvek uvreženog shvatanja da se u braku čeka najmanje 2 godine da bi se javili prvi put lekaru radi lečenja, ali i komplikovanih postupaka u dijagnostici steriliteta i specifičnih terapijskih metoda, što sa svoje strane produžava vreme potrebno za lečenje i ostvarivanje trudnoće. Naravno, ako pođemo od toga da je inicijalni broj godina žene već visok, kao i da je u kasnijim godinama teže ostvariti trudnoću, dolazimo do sve učestalijeg uključivanja parova u postupak VTO, kao metode koja se po stopi trudnoće meri sa stopom u prirodnom začeću, čak je i prevazilazi ukoliko se računa kumulativna stopa trudnoća iz *fresh* ciklusa VTO i ciklusa VTO sa zamrznutim embrionima.

Najmanje korišćen protokol stimulacije u našem istraživanju bio je kratki protokol sa antagonistima, kod svega 2,26% ispitanica, što može da se objasni nedostatkom odgovarajućih lekova u tom periodu na klinici. Ovaj vid protokola sve se više koristi kod pacijentkinja sa PCOS, gde značajno smanjuje mogućnost hiperstimulacije u postupku VTO, kao i kod pacijentkinja sa smanjenom ovarijalnom rezervom. Prednosti ovog protokola su u manjem broju injekcija za vreme stimulacije, a samim tim se i smanjuje nelagodnost kod pacijentkinja što dovodi do manjeg otkazivanja ciklusa. Kod pacijentkinja sa normalnom ovarijalnom rezervom dobija se manje oocita, ali stopa trudnoća i stopa živorođene dece kod protokola sa antagonistima značajno se ne razlikuje od dugog protokola sa agonistima<sup>[33,34]</sup>.

Dužina perioda od izvođenja histeroskopije do ciklusa VTO igra važnu ulogu. U više studija dokazano je da ukoliko se histeroskopija izvodi u manje od 50 dana pre VTO, stope trudnoće i stope živorođene dece su više (Karajalcin 2012,<sup>[35,36]</sup>. Autori nisu došli do boljih rezultata ukoliko je od histeroskopije do VTO prošlo više od 6 meseci. Rukovodeći se time, kod svih naših pacijentkinja uključenih u program VTO, histeroskopija je rađena u ciklusu pre početka kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije.

U našem istraživanju našli smo incidencu patoloških stanja kavuma uterusa u 28,95% svih ispitanica. U brojnim studijama prisustvo uterusne patologije je nađeno kod 10-62% žena sa infertilitetom, kod 10-60% žena koje su u pripremi za lečenje metodom vantelesnog oplođenja i kod 19-50% žena sa neuspešnim ciklusom vantelesnog oplođenja<sup>[31,37,38]</sup>. Karajalcin<sup>[39]</sup> je na 2500 *office* histeroskopija pre IVF-a našla 22,9% endometrijalne patologije, 7,68% endometrijalnih polipa, 3,84% submukoznih mioma i 2,92% uterinih septuma.

Neočekivan patološki nalaz u uterusu dijagnostikovao je u 28,95% naših pacijentkinja sa normalnim HSG-om i/ili TVS-om. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima brojnih

studija, u kojima je patološki histeroskopski nalaz bio 30-45%<sup>[17,35]</sup>. Na osnovu ovoga, kod jedne trećine pacijentkinja sa urednim HSG i TVS nalazom, možemo da očekujemo nalaz nekog od patoloških stanja koji može da nam da lažnu sigurnost u uspeh lečenja, a ustvari vodi ka neuspehoj koncepciji i implantaciji. S druge strane Fatemi i Karayalcin su našli da je u njihovoj studijskoj populaciji učestalost patoloških stanja uterusa bila niska – 11% za prvi IVF i 22,9% za drugi IVF, dok je Gaviño-Gaviño našao u svom istraživanju incidencu uterine patologije kod ponovljenih neuspešnih IVF-a od 64%.

HSG ili TVS se preporučuju kao prvi dijagnostički test stanja kavuma uterusa, ali aktuelna istraživanja i mnoge druge studije su jasno prikazale da ove dijagnostičke metode imaju nižu specifičnost i senzitivnost od histeroskopije. Rezultat pri HSG-u može da zavisi od brojnih faktora, ukoliko se procedura izvodi za vreme različitih faza menstrualnih ciklusa, od promena u rastu endometrijuma, tako da lažno pozitivni nalaz može da bude izazvan mehurićima vazduha, mukusom, menstrualnim debrisom, što sve može da dovede do punjenja defekata u endometrijumu, a ekscesivna količina kontrasta u uterusu da izbriše senke izazvane malim endometrijalnim lezijama. Takođe ovi rezultati u ogromnoj meri zavise od kvaliteta rentgen aparata i načina čitanja rentgentskog snimka. Kao rezultat ovoga, oko 10-35% pacijentkinja koje leče sterilitet i kod kojih je pri HSG-u uočen normalan nalaz u kavumu, imaju prisutno neko od patoloških stanja kavuma uterusa. TVS s druge strane ne može da da pravu dijagnozu submukoznih mioma kod prisustva multiplih mioma, ne razlikuje polipe od hiperplastičnog endometrijuma i ne razlikuje septiran uterus od uterus arcuatusa. Bez obzira na sve navedeno, veliki broj IVF klinika nerado koristi histeroskopiju za evaluaciju kavuma uterusa. U prošlosti histeroskopija je zahtevala opštu anesteziju, pažljivo praćenje statusa fluida da bi smanjila komplikacije hiponatremije i preopterećenja organizma tečnošću i iskustvo lekara koje je zahtevalo krivu učenja. Danas, *office* histeroskopija sa malim dijametrom endoskopa (3-5 mm), koristi vaginoskopsku tehniku bez dilatacije cerviksa, zbog čega nije potrebna anestezija. Za distenziju, kao medijum se koristi fiziološki rastvor, čime se olakšava rad, doprinosi sigurnosti metode, pri čemu nema potrebe za monitoringom opterećenja tečnošću.

Nismo našli statistički značajnu razliku u učestalosti ovih patoloških stanja kod pacijentkinja koje su već imale jedan ili više ciklusa VTO i pacijentkinja pre prve VTO. Vrednosti su skoro identične, 29,55% prema 28,57%. Ovi podaci odudaraju od nekih istraživanja kod kojih je nađena veća učestalost patoloških stanja kavuma kod ispitanica sa rekurentim implantacionim neuspehom<sup>[38]</sup>. Kako savremeni stav govori o obaveznoj

histeroskopiji nakon jedne ili više neuspešnih ciklusa VTO, u cilju ispitivanja uzroka neuspešne implantacije kvalitetnih embriona, histeroskopska dijagnostika pre prvog ciklusa VTO nije implementirana u protokol pripreme pacijentkinja za VTO, zbog svoje, iako minimalne, invazivnosti. Podatak da su patološka stanja kavuma uterusa uočena kod skoro trećine pacijentkinja pre prvog ciklusa VTO, daje nam osnovu za razmišljanje o opravdanosti histeroskopije pre prve VTO, kao dijagnostičke i operativne metode u istom aktu. *Office* histeroskopija sa brojnim prednostima koje ima, omogućava sprovođenje efikasnijeg lečenja infertiliteta, smanjujući prosečan broj ciklusa VTO potrebnih za ostvarivanje trudnoće kod infertilnog para.

Naša studija je pokazala da je endometrijalni polip najzastupljeniji histeroskopski nalaz, nađen kod 21 pacijentkinje (18,42%), što čini čak 63,64% svih patoloških stanja kavuma uterusa. Iza polipa sledi septum uterusa (24,24%), a zatim i hronični endometritis (9,09%). Interesantno je da nismo ni kod jedne pacijentkinje našli prisustvo intrauterusnih sinehija, a što se navodi kao čest patološki nalaz u većini studija. Miom smo našli samo kod 2 pacijentkinje i zbog ovako malog broja nije moguće izvesti bilo kakve zaključke.

Endometrijalni polipi su obično asimptomatski slučajni nalaz u ciklusima ART-a. Termin polip je više klinički nego patološki termin i označava promenu na endometrijumu bez ikakvih histoloških naznaka. Polipi mogu da nastanu od nezrelog endometrijuma kada trpe uticaj estrogena bez progesteronskog dejstva ili od funkcionalnog endometrijuma kada odgovaraju na nivo ovarijalnih hormona slično kao i endometrijum. Incidenca endometrijalnih polipa.

Endometrijalni polipi utiču na fertilitet bilo da je reč o prirodnoj koncepciji, intrauterinoj inseminaciji ili postupku VTO, što je dokazano brojnim studijama<sup>[40]</sup>. Njihovo prisustvo ili njihova pojava pre ili tokom IVF/ICSI ciklusa predstavljaju izazov za sve kliničare. Moguć tretman polipa je otkazivanje ciklusa i polipektomija, polipektomija i zamrzavanje embriona sa ET posle nekoliko meseci, ignorisanje polipa i nastavljanje tretmana i na kraju histeroskopska polipektomija tokom IVF/ICSI ciklusa pre aspiracije oocita bez otkazivanja ciklusa. U istraživanju Isikoglu-a<sup>[41]</sup>, kod endometrijalnih polipa < 1,5 cm, otkrivenih pre ili tokom ciklusa, nije uočen uticaj na implantaciju i na stopu trudnoće<sup>[42]</sup>. Lass<sup>[43]</sup> tvrdi da polipi < 2 cm ne smanjuju stopu trudnoće, ali povećavaju stopu spontanih pobačaja. Takođe predlaže histeroskopsku polipektomiju odmah nakon aspiracije oocita, zamrzavanje embriona i ET nakon dva do tri meseca, za bolju *take-home baby* stopu.

Tačan mehanizam kojim endometrijalni polipi utiču na smanjenu uterinu receptivnost i pojavu infertiliteta nije poznat. Među mogućim mehanizmima najverovatniji je inflamatorni proces uzrokovan polipom, koji deluje na isti način kao intrauterini uložak. Anatomska distorzija kavuma je druga mogućnost i fokusira se na smanjeni volumen kavuma uterusa. Spiewankiewicz<sup>[44]</sup> je našao stopu trudnoća od 76% u prvoj godini nakon histeroskopske polipektomije. Varasteh<sup>[45]</sup> nalazi sličnu kumulativnu stopu trudnoće – 78% nakon histeroskopske polipektomije. Perez-Medina<sup>[46]</sup> je našao 65% trudnoća nakon polipektomije i 29% spontanih trudnoća nakon polipektomije u odnosu na 3% trudnoća u kontrolnoj grupi.

Zadnjih godina dve studije su objavile da je moguća histeroskopska polipektomija tokom stimulacije, a pre aspiracije oocita, bez otkazivanja ciklusa<sup>[47,48]</sup>. Zbog male serije nije moguće da se dobiju definitivni zaključci i autori predlažu da ova invazivna procedura pre ET mora biti detaljno evaluirana. U ovom istraživanju je nađeno da endometrijalni polipi < 1,4 cm ne utiču na stopu trudnoće, stopu pobačaja i stopu novorođenih u ICSI ciklusu, takođe ne zahtevaju nikakvu intervenciju i otkazivanje ET. Pacijentkinje sa uočenim polipom i histeroskopskom resekcijom tokom ciklusa imaju sličnu stopu trudnoće u odnosu na pacijentkinje bez endometrijalnih polipa.

Kako je endometrijalni polip najčešći nalaz, dovodimo ga u vezu sa različitim faktorima. Naime, polip predstavlja lokalizovano, fokalno bujanje endometrijuma, nedovoljno razjašnjene etiopatogeneze. Potvrđeno je da se kod pacijentkinja sa ponavljanom terapijom gestagenima, polipi značajno češće javljaju i dovode se u vezu sa gubitkom senzitivnosti progesteronskih receptora u endometrijumu<sup>[49]</sup>. U našoj sredini je značajan udeo pacijentkinja sa sindromom policističnih ovarijuma (PCOS) koje zahtevaju tretman gestagenima u okviru dugogodišnjeg lečenja amenoreje/oligomenoreje. Moguće je pretpostaviti da u osnovi lečenja polipa endometrijuma, osim same polipektomije pre planiranog IVF, pravi tretman ostaje enigma, jer bi bilo potrebno izmeniti ceo hormonski milje i dati vremena medikamentoznoj terapiji PCOS-a (Metformin) ili prolongirati terapiju kontraceptivima da bi se izgubila rezistencija receptora endometrijuma.

Septum uterusa je drugi najčešći patološki nalaz u našem istraživanju (7,02%), i u skladu je sa brojnim studijama koje su ispitivale incidencu patoloških stanja kavuma histeroskopskom metodom<sup>[50,51]</sup>. Karayalcin<sup>[39]</sup> na 2500 urađenih histeroskopija, bez suspektne patologije, nalazi septum uterusa u 5,2% ispitanica. U prospektivnoj studiji<sup>[31]</sup> na 678 pacijentkinja bez suspektne uterusne patologije, iznešena je incidenca uterusnih septuma

uočenih pri histeroskopskom pregledu od 2%, dok Hinkley<sup>[51]</sup> kod 1000 pacijentkinja dobija incidencu septuma od 0,5%. Interesantna je studija<sup>[52]</sup> koja je pokazala da nema razlike u stopi implantacije i stopi trudnoća ukoliko se odmah nakon histeroskopske resekcije septuma radi ciklus VTO od ispitanica gde je prošlo 10 nedelja i više do vantelesnog oplodjenja. U našoj studiji ostala patološka stanja zajedno imaju manje od 5% svih patoloških promena. Incidencija endometritisa varira 1-16%<sup>[53]</sup> kod infertilnih žena i crvenkasti endometrijum sa beličastim tačkastim otvorima žlezda produkuje tipičnu sliku "jagodičaste" sluznice (*strawberry like* endometrijum). Opšti stav je da histološka i mikrobiološka ispitivanja nisu značajna, jer retko uspevaju, u rutinskom radu, da dokažu uzročnike. Ponovnom histeroskopijom, nakon hormonske terapije (gestagena ili kontraceptivna) uz terapiju antibioticima gotovo uvek se uočava uredan nalaz.

Značaj endometrijalne mikropolipoze je nejasan, ali je ginekolozi svakako uklanjaju iz kavuma uterusa ukoliko naiđu na ovakav nalaz prilikom histeroskopije. Cicinelli i saradnici<sup>[53]</sup> su posumnjali na vezu mikropolipoze i hroničnog endometritisa i pri incidenci ovog nalaza od 9,5% svih histeroskopija, našli su u biopsiranom materijalu potvrdu postojanja plazma-ćelija, ističući vezu malih polipa sa inflamacijom.

Bez obzira na brojna dostignuća na polju vantelesnog oplodjenja, stopa implantacija po embriotransferu je manja od 30%. Čak i kada se kolekcija oocita i fertilizacija uspešno obave u procesu VTO, šta se dešava u periodu između uspešnog ET i pojave trudnoće, i dalje je nepoznanica.

Implantacija embriona predstavlja kritičnu tačku u reproduktivnom procesu i sastoji se od jedinstvenih bioloških događaja. Uspešna implantacija zahteva receptivni endometrijum, funkcionalni embrion u stadijumu blastociste i sinhronizovani dijalog između maternalnog i embrionalnog tkiva. Humani endometrijum prolazi kroz kompleksnu seriju proliferativnih i sekretornih promena u svakom menstrualnom ciklusu i ispoljava kratak period receptivnosti, poznat kao „implantacioni prozor“ (20-24. dan ciklusa).

Patološka stanja kavuma uterusa, u prvom redu endometrijalni polip, intrauterusne sinehije, septum uterusa i submukozni miom mogu da negativno utiču na endometrijalnu receptivnost. Od minor lezija pominje se mikropolipoza, hronični endometritis i hiperplazija endometrijuma.

Bez obzira na sav napredak, stopa implantacije je i dalje relativno niska i u zadnjoj dekadi nije došlo do dovoljnog povećanja stope koje bi dozvolilo globalno protokolarno prihvatanje transfera samo jednog embriona (single embryo transfer - SET).

U našem istraživanju stopa implantacije je statistički značajno viša u ispitivanoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu (25,43% prema 18,90%), i ovaj rezultat ide ruku pod ruku sa tvrdnjom da dijagnostikovanje patoloških stanja i njihova korekcija uvek dovodi do povećanja stopa kliničkih trudnoća, ali ne postoji objašnjenje za povećanu stopu implantacije u grupi gde histeroskopski nije nađena patologija endometrijuma. Po mišljenju različitih autora<sup>[14,54]</sup>, postoji više različitih mehanizama kao što je stimulacija cerviksa, zatim manipulacija na endometrijumu koja stimuliše molekularni dijalog i dešavanje između embriona i endometrijuma sa ćelijsko-ekstraćelijskim matriksom, što je praćeno uticajem velikog broja adhezivnih molekula, faktora rasta, citokina, hemokina, određenih modulatornih proteina, matriks enzima, hormona i prostaglandina koji stvaraju promene u plazma membrani luminalnog epitela u okviru fenomena nazvanog transformacija plazma membrane, što je slično efektu koji je primećen prilikom ubacivanja katetera u cerviks pred embriotransfer.

Irigacija kavuma fiziološkim rastvorom može da ima povoljan efekat na implantaciju i stopu trudnoća kod pacijentkinja sa tubarnim ili uterinim uzrokom steriliteta, takođe fiziološki rastvor može da mehanički skloni štetne molekule anti-adhezivnog glikoproteina sa površine endometrijuma, uključenog u receptivnost endometrijuma, kao što su COX-2, MUC-1, integrin- $\alpha$ V $\beta$ 3.

Lokalna povreda endometrijuma može da provocira zarastanje povrede, inicira inflamatorni odgovor u endometrijumu i niz procesa vezanih za masivnu sekreciju različitih citokina i faktora rasta uključujući leukemija inhibitorni faktor, interleukin-11 i heparin-binding EGF-like growth faktor, koji mogu da indukuju brz rast endometrijalnih ćelija (decidualizacija) i da povećaju sposobnost za implantaciju.

ART su dovele do shvatanja mnogih procesa u humanoј reprodukciji. Ipak, niža stopa implantacije po ET od one u prirodnom ciklusu ostaje veliki problem. Limitirajući faktor kod mnogih parova za ostvarivanje trudnoće predstavlja implantacija koja je i dalje nedovoljno razjasnjena. Uspešna implantacija zahteva receptivni endometrijum, normalan i funkcionalni embrion u stadijumu blastociste i sinhronizaciju majčinog i embrionalnog tkiva.

Izvođenje histeroskopije pre prvog IVF postupka, kao što smo našli, a u skladu sa nalazima drugih autora, otkriva velik broj patoloških nalaza. Nešto manje od trećine pacijentkinja (28,57%), imalo je histeroskopski patološki nalaz, gotovo istovetan nalazu u grupi pacijentkinja sa jednim ili više neuspešnih ciklusa VTO, što je nešto manje nego što navode Mooney i Hinckley (38%)<sup>[51]</sup>. Nalazi kao što su *strawberry-like* endometrijum i hronični endometritis, mikropolipoza nisu opisivani kod ovih autora. Utvrđeno je da "fine" patološke promene koje mogu da se detektuju histeroskopski, ultrazvučno ne mogu da se uoče.

Stopa kliničkih trudnoća u našoj studijskoj i kontrolnoj grupi je 48,25% i 34,44%. Po podgrupama, najveća stopa trudnoća je u Ib, podgrupi gde je rađena LEI (52,50%), najmanja u podgrupi Ia (45,45%), podgrupi sa patološkim histeroskopskim nalazom. Našli smo statistički značajnu razliku u stopi trudnoća između studijske i kontrolne grupe, takođe i između kontrolne grupe i podgrupa studijske grupe ponaosob, ali poređenjem stopa trudnoća između podgrupa statistički značajna razlika nije verifikovana. Naime, Demirel i sar.<sup>[55]</sup> navode da stopa trudnoća može značajno da se poboljša nakon tretmana intrauterine patologije i patologije cervikalnog kanala, ali oni registruju u grupi lečenih, statistički značajno nižu stopu trudnoća u odnosu na grupu sa verifikovanim urednim nalazom. Doldi i saradnici<sup>[56]</sup> navode značajno višu stopu trudnoća u grupi žena sa predhodnom histeroskopijom (38%), u odnosu na grupu bez histeroskopije pre IVF (18%), čime se podvlači značaj lečenja intrauterine patologije pre započinjanja postupka IVF.

Ono što se zapaža prema našim rezultatima je da se najbolje stope trudnoća ostvaruju u grupi sa histeroskopski verifikovano urednim nalazom kavuma gde je načinjena lokalna endometrijalna povreda, ali i da se lečenjem patologije kavuma, stopa trudnoće održava značajno višom u odnosu na kontrolnu grupu. Podgrupa Ia je raznovrsna po vrsti patologije, a uzorak nije dovoljno veliki da bismo mogli da analiziramo pojedine činioce i njihov udeo u perzistiranju nepovoljne uterusne sredine, a samim tim i da utvrdimo najodgovornije za stope trudnoća u ovoj grupi. Dobijen rezultat od 57,14% trudnoća nakon histeroskopske polipektomije u našoj studiji jeste najviši ako se posmatra izolovan parametar, ali zbog broja ispitanica nije dokazana statistička značajnost.

Rezultati našeg istraživanja su u saglasnosti sa mnogim drugim sličnim istraživanjima<sup>[16,57-59]</sup>, što dokazuje da prethodna dijagnoza naizgled normalnog kavuma uterusa, zamenjena nekim od patoloških stanja kod velikog broja pacijentkinja, dovodi do

poboljšanja u procentu kliničkih trudnoća kod pacijentkinja kod kojih je rađena *office* histeroskopija pre IVF ciklusa, naročito sa nalazom endometrijalne patologije koja je u istom aktu korigovana. S druge strane više autora iako stoje pri tome da je histeroskopija najbolji način za korekciju uterine šupljine kod prisutstva patoloških stanja, nisu našli signifikantnu vrednost histeroskopije u povećanju stopa kliničkih trudnoća pre prvog ciklusa vantelesnog oplodjenja<sup>[18,60,61]</sup>.

Pundir i El-Toukhy<sup>[35,58]</sup> u svojim meta-analizama nalaze dokaz za benefit histeroskopije pre prvog ciklusa IVF-a, potvrđujući višu stopu trudnoća kod žena koje su bile podvrgnute histeroskopiji. Rezultati ovih studija ukazuju na nižu stopu trudnoća kod prisustva patoloških stanja kavuma uterusa, a njihova korekcija je udružena sa većom stopom trudnoća. Takođe još jedna studija na 480 pacijentkinja potvrđuje više stope trudnoća ukoliko se histeroskopija radi pre prvog ciklusa VTO<sup>[62]</sup>.

Ponovljen implantacioni neuspeh (RIF) predstavlja izazov i ekstremni razočaravajući problem kod lekara i parova uprkos kliničkim i naučnim dostignućima u reproduktivnoj medicini.

RIF se definiše kao nemogućnost ostvarivanja trudnoće posle tri uzastopna transfera jednog ili više embriona dobrog kvaliteta. Generalnim konsenzusom većina lekara kao definiciju RIF-a navodi neuspeh dva do šest IVF ciklusa od kojih su tri ciklusa sa svežim embrionima.

Procenjujući ishod VTO kod pacijentkinja u prvom ciklusu VTO i kod pacijentkinja sa 2 ili više neuspešnih VTO, naša studija je pokazala da se nakon histeroskopije ostvaruju više stope trudnoća, bez obzira patološka stanja kavuma uterusa i načinjenu lokalnu endometrijalnu povredu, ali bez signifikantne značajnosti..

Fadhlaoui<sup>[60]</sup> u svom istraživanju nije utvrdio korisnost histeroskopije pre prve VTO, osim kod pacijentkinja preko 40 godina kod kojih su jedino našli statistički značajnu razliku u stopi trudnoća i stopi rođenja, bez obzira na visok nalaz patologije kavuma uterusa.

Među studijama koje takođe nisu našle povećanu stopu trudnoća nakon histeroskopije pre prvog ciklusa VTO je i studija Yu<sup>[63]</sup>. Grupa od 215 ispitanica kojima je urađena histeroskopija pre kontrolisane ovarijalne hiperstimulacije nije imala veću stopu trudnoća od kontrolne grupe (284 pacijentkinje), međutim, dobili su značajno niže stope trudnoća jedino u slučajevima kada je debljina endometrijuma na dan hCG-a bila manja od 8 mm.



Gaviño-Gaviño<sup>[61]</sup> nije našao statistički značajnu razliku među grupama sa i bez histeroskopije a pre prvog ili narednog postupka VTO. Uočeno je povećanje stope trudnoća kod grupe kod koje je rađena histeroskopija ali studijski uzorak nije dozvolio da se dostigne statističku značajnost.

Mehanička lokalna povreda endometrijuma (biopsija/scratch ili histeroskopska endometrijalna povreda) u ciklusu pre ili tokom ovarijalne stimulacije za IVF predložena je da bi se poboljšali uslovi za implantaciju kod žena sa neobjašnjivim RIF-om<sup>[64]</sup>. Pokazano je da mehanička manipulacija na endometrijumu može da poboljša receptivnost na taj način što moduliše ekspresiju gena faktora neophodnih za implantaciju, kao što su glikodelin A, laminin alfa 4, integrin alfa 6 i matriks metaloproteinaza 1<sup>[65]</sup>. Mehanička manipulacija ili lokalna povreda endometrijuma može da bude izazvana endometrijalnom biopsijom ili može biti načinjena u toku histeroskopije. Pretpostavlja se da zbog povrede endometrijuma dolazi do promena u njemu, u imunom sistemu i ekspresiji gena, što sve vodi ka povećanoj receptivnosti i stvaranju odgovarajućeg miljea za implantaciju.

U našem istraživanju lokalna endometrijalna povreda (LEI) je načinjena u toku histeroskopije, bipolarnom springle elektrodom, fundično u poprečnoj liniji, u dužini od 15-20 mm. Nismo naišli u literaturi na podatak da je na takav način urađena LEI. U podgrupi Ib, gde je načinjena LEI, stopa implantacije je bila 25,23%, što ne predstavlja najveći procenat po podrupama, ali je stopa trudnoća bila najviša i iznosila je 52,50%. Bez obzira na višu stopu trudnoća od ostalih podgrupa, od 6% odn. 7%, nema statistički značajne razlike između podgrupa.

Brojne studije su ispitivale stopu trudnoća nakon endometrijalne povrede i većina studija je vršila ispitivanja na pacijentkinjama sa normalnim histeroskopskim nalazom<sup>[66-68]</sup>.

U svojoj studiji Gnainsky sa saradnicima<sup>[13]</sup> su dokazali da endometrijalna biopsija izaziva inflamatorni odgovor koji se karakteriše influksom makrofaga i DCs ćelija kao i povećanjem proinflamatornih citokina. Proinflamatorni citokini, proizvedeni u povređenom endometrijumu stimulišu sekreciju chemokina i citokina koji regrutuju makrofage/DCs na mesto implantacije. Ove imune ćelije pojačavaju inflamatornu reakciju i izazivaju sintezu molekula u endometrijumu, koji sa svoje strane reaguju sa blastocistom, omogućavajući njenu apoziciju i priljublivanje uz uterini zid. Takođe su predložili da se kao biomarker koristi medijator za sintezu i sekreciju osteoponina – MIP-1B, za predviđanje implantacione sposobnosti i za procenu tretmana biopsijom u ciklusu VTO. U sledećem svom radu, isti

autori su potvrdili vezu povećanja stopa trudnoća kao rezultat inflamatornog odgovora na mehaničku povredu endometrijuma biopsijom. Uočili su da proinflamatorni TNF- $\alpha$  primarno stimuliše endometrijalne stromalne ćelije za ekspresiju citokina, koji privlače monocite i indukuju njihovu dalju diferencijaciju u DCs<sup>[54]</sup>.

U retrospektivnoj studiji Kara Mustafe<sup>[69]</sup>, gde je endometrijalna povreda načinjena kateterom za biopsiju 21.dana ciklusa koji prethodi postupku VTO, dobijena je statistički značajno viša stopa trudnoća u studijskoj u odnosu na kontrolnu grupu – 43,9% prema 21,4%.

Za razliku od navedenog istraživanja, druga studija nije dokazala korisnost endometrijalne lokalne povrede u postupku VTO. Stopa implantacije, biohemijskih i kliničkih trudnoća u eksperimentalnoj grupi bila je 4,9%, 18,2% i 12,1% a u kontrolnoj grupi 6,7%, 19,5% i 17,1%, bez statistički značajne razlike<sup>[70]</sup>. Takođe i studija koja je ispitala uticaj LEI na 737 ciklusa sa doniranim oocitama nije dokazala veće stope trudnoća<sup>[71]</sup>. Baum<sup>[72]</sup> na 36 pacijentkinja u randomiziranom istraživanju dobija daleko manju stopu implantacije(2,08% vs 11,11%) i stopu kliničkih trudnoća od 0%.

Još jedno istraživanje je pokazalo statistički značajno veću stopu implantacije, kliničkih trudnoća i stopu živorođene dece kod pacijentkinja sa prethodno urađenom lokalnom endometrijalnom povredom u ciklusu pre ciklusa VTO<sup>[67]</sup>. Studijska grupa je imala stope od 13,07%, 32,7% i 22,4% nasuprot 7,1%, 13,7% i 9,8% u kontrolnoj grupi.

Pilot studija na 30 pacijentkinja<sup>[63]</sup>, gde je histeroskopski načinjena povreda endometrijuma zupčastim forcepsom na zadnjem zidu kavuma u srednjoj liniji, 10-15 mm od fundusa, pokazala je stopu trudnoća od 100 % u grupi sa LEI i stopu od 46% u grupi bez endometrijalne povrede.

Karimzade i sar<sup>[7]</sup> su našli da LEI na dan aspiracije i kolekcije oocita u ciklusu VTO, ima negativan uticaj na receptivnost endometrijuma, dobivši trostruko niže stope implantacije i stope trudnoća u eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolnu.

Bez obzira na sva istraživanja do sad, nije postignut konsenzus oko upotrebe histeroskopije ili endometrijalne biopsije, oko načina nastanka povrede histeroskopijom, u vezi jedne ili multiplih biopsija, takođe i vremena intervencije u zavisnosti od faze ciklusa.

Postavlja se pitanje da li endometrijalna povreda treba da bude limitirana samo na žene sa RIF-om ili može da se primeni na sve žene koje su u postupku IVF-a. S obzirom na učestalost neočekivanih patoloških nalaza kavuma, kako pre prve VTO tako i nakon svakog neuspešnog postupka VTO, histeroskopija bi trebalo da ima prednost nad kateterom za biopsiju, imajući u vidu i mogućnost da se pri dijagnostičkoj histeroskopiji uradi operativni tretman uočenih promena.

Postoji urgentna potreba za ogromnom multicentričnom randomiziranom studijom o istraživanju lokalne endometrijalne povrede i ishoda VTO kod nerazjašnjenih RIF-a, kao i kod pacijentkinja sa neobjašnjenim infertilitetom koje su u pripremi za prvi VTO ciklus.

Statističkom obradom i upotrebom univarijantne logističke regresije na našem materijalu, dobili smo podatak da je kod pacijentkinja nakon histeroskopije verovatnoća da dođe do trudnoće u postupku VTO povećana za 78%, dok je verovatnoća za pozitivan ishod VTO kod pacijentkinja sa LEI povećana za 2,1 puta.

Sabirajući rezultate iz drugih studija, kao i iz ovog istraživanja, dolazi se do zaključka da histeroskopija predstavlja zlatni standard za ispitivanje uterusne šupljine. To je sigurna metoda za direktnu i tačnu dijagnozu intrauterinih anomalija. Ona dozvoljava direktnu vizualizaciju kavuma uterusa otkrivajući prirodu, lokalizaciju, oblik, veličinu i vaskularni obrazac svakog patološkog stanja kavuma. Ona takođe omogućava u isto vreme direktnu biopsiju i terapijsku intervenciju kao tretman patološkog stanja.

Jednaka zastupljenost patoloških promena u studijskoj i kontrolnoj grupi, kod ispitanica koje su prvi put u programu VTO, i ispitanica kojima je ovaj ciklus VTO drugi ili naredni, kao i veće stope trudnoća nakon histeroskopije u sve tri podrupe, idu u prilog potrebe za histeroskopijom i pre prvog VTO postupka, s obzirom da je dokazano da sva patološka stanja kavuma utiču na smanjenje stope trudnoće u VTO postupku. Takođe smo mišljenja, na osnovu naših rezultata, da ukoliko se histeroskopski ne uočava patološki supstrat u kavumu uterusa, da je poželjno da se načini lokalna endometrijalna povreda, čime bi se u endometrijumu izazvao proinflamatorni odgovor i na taj način povećala receptivnost endometrijuma, a time i povećala verovatnoća za pozitivan ishod vantelesnog oplodjenja.



## 6. ZAKLJUČAK

---

Na osnovu rezultata našeg istraživanja može se zaključiti:

1. Patološka stanja kavuma uterusa prisutna su kod 28,95% ispitanica studijske grupe.
2. Prisutna je skoro identična procentualna zastupljenost patologije kavuma kod ispitanica pre prve VTO i nakon rekurentnih implantacionih neuspeha (28,57% - 29,55%).
3. Najzastupljeniji patološki nalaz je endometrijalni polip, nađen kod 18,42% pacijentkinja kod kojih je urađena histeroskopija i predstavlja skoro dve trećine svih uočenih patoloških stanja kavuma uterusa (63,64%).
4. Debljina endometrijuma u ciklusu vantelesnog oplođenja statistički je značajno veća u podgrupi sa lokalnom endometrijalnom povredom u odnosu na podgrupu sa urednim histeroskopskim nalazom.
5. Lokalna endometrijalna povreda pri histeroskopiji je načinjena fundično, u poprečnom smeru, i u dostupnoj literaturi nema opisa endometrijalne povrede nastale na takav način.
6. Prisutna je statistički značajno viša stopa implantacije kod pacijentkinja kod kojih je urađena histeroskopija u odnosu na kontrolnu grupu (25,43% - 18,90%).
7. Stopa trudnoća u studijskoj grupi sa histeroskopijom, statistički je značajno viša nego u kontrolnoj grupi (48,25% - 34,44%).
8. Stopa trudnoća nakon prvog ciklusa VTO, u odnosu na drugi i svaki sledeći ciklus VTO, viša je i u studijskoj i u kontrolnoj grupi ali smo statističku značajnost dobili samo u podgrupi sa patologijom kavuma.
9. U podgrupi sa lokalnom endometrijalnom povredom prisutna je najviša stopa trudnoća u odnosu na ostale podgrupe (52,50%), međutim, veličina uzorka nam nije dozvolila statističku verifikaciju.
10. Ukoliko se posmatra izolovan parametar, najviša stopa trudnoća je kod pacijentkinja nakon histeroskopske polipektomije i iznosi 57,14%, ali bez statističke značajnosti.

11. Univarijantnom logističkom regresionom analizom utvrđeno je, da verovatnoća za pozitivan ishod VTO nakon histeroskopije raste za 78%, a nakon načinjene lokalne endometrijalne povrede za 2,1 puta.
12. Na osnovu učestalosti patoloških stanja kavuma i statistički značajnog povećanja stopa implantacije i trudnoća u VTO nakon histeroskopije, naročito nakon načinjene lokalne endometrijalne povrede, naš predlog bi mogao da bude da se protokol pripreme pacijentkinja za VTO dopuni, i da se histeroskopija postavi kao standard u pripremi svakog para za metodu VTO, čime bi se smanjio broj pokušaja VTO u ostvarivanju trudnoća, štedeći kako vreme lečenja tako i brojne finansijske probleme koje nosi neuspešno lečenje.

## 7. LITERATURA

---

1. Bozdag 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.
2. Taşkın EA, Berker B, Ozmen B, Sönmezer M, Atabekoğlu C. Comparison of hysterosalpingography and hysteroscopy in the evaluation of the uterine cavity in patients undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2011;96(2):349–352.e2.
3. Bingol B, Gunenc Z, Gedikbasi A, Guner H, Tasdemir S, Tiras B. Comparison of diagnostic accuracy of saline infusion sonohysterography, transvaginal sonography and hysteroscopy. *J Obstet Gynaecol* 2011;31(1):54–8.
4. Brown SE, Coddington CC, Schnorr J, Toner JP, Gibbons W, Oehninger S. Evaluation of outpatient hysteroscopy, saline infusion hysterosonography, and hysterosalpingography in infertile women: a prospective, randomized study. *Fertil Steril* 2000;74(5):1029–34.
5. Hinckley MD, Milki AA. 1000 office-based hysteroscopies prior to in vitro fertilization: feasibility and findings. *JSLs* 8(2):103–7.
6. Pundir J, El Toukhy T. Uterine cavity assessment prior to IVF. *Womens Health (Lond Engl)* 2010;6(6):841-7-8.
7. 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.
8. Koskas M, Mergui J-L, Yazbeck C, Uzan S, Nizard J. Office hysteroscopy for infertility: a series of 557 consecutive cases. *Obstet Gynecol Int* 2010;2010:168096.
9. Zegers-Hochschild F, Nygren K-G, Adamson GD, de Mouzon J, Lancaster P, Mansour R, et al. The ICMART glossary on ART terminology. *Hum Reprod* 2006;21(8):1968–70.
10. Mansour R, Ishihara O, Adamson GD, Dyer S, de Mouzon J, Nygren KG, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world

- report: Assisted Reproductive Technology 2006. *Hum Reprod* 2014;29(7):1536–51.
11. Brown J, Buckingham K, Abou-Setta AM, Buckett W. Ultrasound versus “clinical touch” for catheter guidance during embryo transfer in women. *Cochrane database Syst Rev* 2010;(1):CD006107.
  12. Almog B, Levin I, Wagman I, Kapustiansky R, Schwartz T, Mey-Raz N, et al. Interval double transfer improves treatment success in patients with repeated IVF/ET failures. *J Assist Reprod Genet* 2008;25(8):353–7.
  13. 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.
  14. Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, Racicot K, Mor G. The role of inflammation for a successful implantation. *Am J Reprod Immunol* 2014;72(2):141–7.
  15. Almog B, Shalom-Paz E, Dufort D, Tulandi T. Promoting implantation by local injury to the endometrium. *Fertil Steril* 2010;94(6):2026–9.
  16. Bosteels J, Kasius J, Weyers S, Broekmans FJ, Mol BWJ, D’Hooghe TM. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. *Cochrane database Syst Rev* 2015;2:CD009461.
  17. Bakas P, Hassiakos D, Grigoriadis C, Vlahos N, Liapis A, Gregoriou O. Role of hysteroscopy prior to assisted reproduction techniques. *J Minim Invasive Gynecol* 21(2):233–7.
  18. Lorusso F, Ceci O, Bettocchi S, Lamanna G, Costantino A, Serrati G, et al. Office hysteroscopy in an in vitro fertilization program. *Gynecol Endocrinol* 2008;24(8):465–9.
  19. Di Spiezio Sardo A, Bettocchi S, Spinelli M, Guida M, Nappi L, Angioni S, et al. Review of new office-based hysteroscopic procedures 2003–2009. *J Minim Invasive Gynecol* 2010;17(4):436–48.
  20. 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.
  21. El-Mazny A, Abou-Salem N, El-Sherbiny W, Saber W. Outpatient hysteroscopy: a routine investigation before assisted reproductive techniques? *Fertil Steril*



- 2011;95(1):272–6.
22. 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.
  23. Acién P, Acién MI. The history of female genital tract malformation classifications and proposal of an updated system. *Hum Reprod Update* 2011;17(5):693–705.
  24. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, Colafiglio G, Saliani N, Resta L, et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril* 2008;89(3):677–84.
  25. Crosignani PG, Rubin BL. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod* 2000;15(3):723–32.
  26. Zhang H, Wang S, Zhang S, Wang T, Deng X. Increasing trend of prevalence of infertility in Beijing. *Chin Med J (Engl)* 2014;127(4):691–5.
  27. Safarinejad MR. Infertility among couples in a population-based study in Iran: prevalence and associated risk factors. *Int J Androl* 2008;31(3):303–14.
  28. van Balen F, Verdurmen J, Ketting E. Choices and motivations of infertile couples. *Patient Educ Couns* 1997;31(1):19–27.
  29. Buckett W, Bentick B. The epidemiology of infertility in a rural population. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76(3):233–7.
  30. Dick M-LB, Bain CJ, Purdie DM, Siskind V, Molloy D, Green AC. Self-reported difficulty in conceiving as a measure of infertility. *Hum Reprod* 2003;18(12):2711–7.
  31. 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.
  32. Devroey P, Fauser BCJM, Diedrich K. Approaches to improve the diagnosis and management of infertility. *Hum Reprod Update* 2009;15(4):391–408.
  33. Orvieto R. A simplified universal approach to COH protocol for IVF: ultrashort flare GnRH-agonist/GnRH-antagonist protocol with tailored mode and timing of final follicular maturation. *J Ovarian Res* 2015;8(1):69.

34. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, et al. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst Rev* 2011;(5):CD001750.
35. 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.
36. Karayalçin R, Ozyer S, Ozcan S, Uzunlar O, Gürlek B, Moraloğlu O, et al. Office hysteroscopy improves pregnancy rates following IVF. *Reprod Biomed Online* 2012;25(3):261–6.
37. Doldi N, Persico P, Sebastiano F Di, Marsiglio E, Santis L De, Rabellotti E, et al. Pathologic findings in hysteroscopy before in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). Taylor & Francis; 2009.
38. 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.
39. 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.
40. Kodaman PH. Hysteroscopic polypectomy for women undergoing IVF treatment: when is it necessary? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2016;
41. 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.
42. Tiras B, Korucuoglu U, Polat M, Zeyneloglu HB, Saltik A, Yarali H. Management of endometrial polyps diagnosed before or during ICSI cycles. *Reprod Biomed Online* 2012;24(1):123–8.
43. 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.
44. Spiewankiewicz B, Stelmachów J, Sawicki W, Cendrowski K, Wypych P, Swiderska K. The effectiveness of hysteroscopic polypectomy in cases of female infertility. *Clin*

- Exp Obstet Gynecol 2003;30(1):23–5.
45. Varasteh NN, Neuwirth RS, Levin B, Keltz MD. Pregnancy rates after hysteroscopic polypectomy and myomectomy in infertile women. *Obstet Gynecol* 1999;94(2):168–71.
  46. Pérez-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.
  47. Batioglu S, Kaymak O. Does hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation affect IVF? *Reprod Biomed Online* 2005;10(6):767–9.
  48. Madani T, Ghaffari F, Kiani K, Hosseini F. Hysteroscopic polypectomy without cycle cancellation in IVF cycles. *Reprod Biomed Online* 2009;18(3):412–5.
  49. Afifi K, Anand S, Nallapeta S, Gelbaya TA. Management of endometrial polyps in subfertile women: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;151(2):117–21.
  50. Ban-Frangez H, Tomazevic T, Virant-Klun I, Verdenik I, Ribic-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.
  51. Ozgur K, Isikoglu M, Donmez L, Oehninger S. Is hysteroscopic correction of an incomplete uterine septum justified prior to IVF? *Reprod Biomed Online* 2007;14(3):335–40.
  52. Berkkanoglu M, Isikoglu M, Arici F, Ozgur K. What is the best time to perform intracytoplasmic sperm injection/embryo transfer cycle after hysteroscopic surgery for an incomplete uterine septum? *Fertil Steril* 2008;90(6):2112–5.
  53. 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.
  54. Gnainsky Y, Granot I, Aldo P, Barash A, Or Y, Mor G, et al. Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: the mechanism of action. *Reproduction* 2015;149(1):75–85.

55. Demirool 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.
56. Doldi N, Persico P, Di Sebastiano F, Marsiglio E, De Santis L, Rabbellotti E, et al. Pathologic findings in hysteroscopy before in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). *Gynecol Endocrinol* 2005;21(4):235–7.
57. 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.
58. 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.
59. El-Mazny A, Abou-Salem N, El-Sherbiny W, Saber W. Outpatient hysteroscopy: a routine investigation before assisted reproductive techniques? *Fertil Steril* 2011;95(1):272–6.
60. Fadhlou A, Khediri Z, Khrouf M, Chaker A, Zhioua F. [Diagnostic hysteroscopy before the first in vitro fertilization. For whom?]. *Tunis Med* 2013;91(5):310–6.
61. Gaviño-Gaviño F, Guzmán-González E, Reyes-Muñoz E, Villalpando-Bravo J de J, Jáuregui-Meléndez RA. [Impact of office hysteroscopy in patients with a history of two or more failed cycles of IVF-ET and pre-ICSI in assisted an reproduction center]. *Ginecol Obstet Mex* 2010;78(1):9–14.
62. Trninić-Pjević A, Kopitović V, Pop-Trajković 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.
63. Huang SY, Wang C-J, Soong Y-K, Wang H-S, Wang ML, Lin CY, et al. Site-specific endometrial injury improves implantation and pregnancy in patients with repeated implantation failures. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9:140.
64. 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.
65. Karimzadeh MA, Ayazi Rozbahani M, Tabibnejad N. Endometrial local injury improves the pregnancy rate among recurrent implantation failure patients undergoing in vitro fertilisation/intra cytoplasmic sperm injection: a randomised clinical trial. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2009;49(6):677–80.
  66. 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.
  67. Narvekar SA, Gupta N, Shetty N, Kottur A, Srinivas M, Rao KA. Does local endometrial injury in the nontransfer cycle improve the IVF-ET outcome in the subsequent cycle in patients with previous unsuccessful IVF? A randomized controlled pilot study. *J Hum Reprod Sci* 2010;3(1):15–9.
  68. Bonavita M, Mattila M, Ferreira F, Maia-Filho V, Roha A, Serafini P ME. Local endometrial injury/healing increases embryo implantation and pregnancy rates of in vitro fertilization treatments. No Title. *Hum Reprod* 2011;26(supp.1):i205–i206, P–212.
  69. Kara M, Aydin T, Turktekin N, S K. Efficacy of the local endometrial injury in patients who had previous failed IVF-ICSI outcome. *Iran J Reprod Med* 2012;10(6):567–70.
  70. Safdarian L, Movahedi S, Aleyasine A, Aghahosaini M, Fallah P, Rezaiian Z. Local injury to the endometrium does not improve the implantation rate in good responder patients undergoing in-vitro fertilization. *Iran J Reprod Med* 2011;9(4):285–8.
  71. 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.
  72. 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.

## Biografija kandidata

Kandidat je osnovnu i srednju školu završio u Nišu sa odličnim uspehom i nosilac je Vukove diplome i diplome sa republičkog takmičenja iz hemije. Na medicinski odsek Medicinskog fakulteta u Nišu upisao se 1985. godine a diplomirao je u roku 1991. godine sa prosečnom ocenom 9,31. U toku studija bio je demonstrator na predmetu Fiziologija 1987/88. godine i demonstrator na predmetu Patološka anatomija 1988/89. godine. Od 1988-1990. godine član je redakcionog odbora Medicinske sveske časopisa "Naučni podmladak". Položio je stručni ispit 1991. godine i završio obavezan lekarski staž 1992. godine. Poslediplomske studije iz Ginekologije sa akušerstvom upisuje 1991. godine i 2000. godine brani magistarsku tezu pod nazivom: "Uticaj varikokele na morfofunkcionalne parametre spermograma". Januara 1993. godine počinje specijalizaciju iz ginekologije i akušerstva i polaže specijalistički ispit sa odličnim uspehom aprila 1997. godine. Subspecijalizaciju iz fertiliteta i infertiliteta završava oktobra 2010. godine u Novom Sadu. Kandidat završava Jugoslovensku školu ultrazvuka 1995. godine, a 1996. godine i 1998. godine stručno se usavršava iz oblasti steriliteta, vantelesne oplodnje i ultrazvuka na Univerzitetnoj bolnici "Virgen del Rocio" i 2005. godine na Klinici "Ginemed" u Sevilji, u Španiji. 2007. godine se stručno usavršava iz oblasti vantelesnog oplodjenja na Klinici "Medimall" u Atini.

Novembra 1994. godine zasniva radni odnos na Ginokološko-akušerskoj Klinici Kliničkog centra u Nišu i trenutno je na mestu šefa odseka za vantelesno oplodjenje. Januara 2001. godine zasniva radni odnos na Medicinskom fakultetu u Nišu, na radnom mestu asistenta za užu naučnu oblast Ginekologija sa akušerstvom. Od 1996-2000. godine bio je član predsedništva Ginekološko-akušerske sekcije Srpskog lekarskog društva. Od 2011. godine do danas član je Republičke stručne komisije za vantelesno oplodjenje. Član je više domaćih i evropskih udruženja. Autor je i koautor više radova objavljenih u domaćim i stranim stručnim časopisima. Jedan je od autora u udžbeniku Embriologija čoveka, urednika prof.dr Ivana Nikolića, koji je štampan u 6 izdanja.