

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Petra Vuković

**UZROCI PONAVLJANOG NEUSPJEHA IMPLANTACIJE
ZAMETKA POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2014.

Ovaj diplomski rad, izrađen je u KBC Zagreb Klinika za ženske bolesti i porode, pod vodstvom prof. dr. sc. Branka Radakovića, i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.

Mentor rada: prof. dr. sc. Branko Radaković

Popis kratica :

E2 - estradiol

ET - embriotransfer

hCG - humani korionski gonadotropin

HSG - histerosalpingografija

ICSI - intracitoplazmatska injekcija spermija

IVF – in vitro fertilizacija

LMWH – niskomolekularni heparin

MR – magnetska rezonancija

PGS – predimplantacijski genetski probir

RIF – ponavljani neuspjeh implantacije

SHG - sonohisterografija

TSH - tireotropni hormon

UZV - ultrazvuk

ZIFT – prijenos zigote u jajovod

SAŽETAK	6
SUMMARY	7
1.UVOD	1
2.ETIOLOGIJA PONAVLJANIH NEUSPJEHA IMPLANTACIJE ZAMETKA POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE	3
2.1. ANATOMSKI UZROCI RIF.....	3
2.1.1. Kongenitalne anomalije maternice	3
2.1.1.1 Uterus septus i subseptus.....	3
2.1.1.3.Uterus arcuatus – sedlasta/srcolika maternica.....	4
2.1.2. Stečena intrakavitarna patološka stanja maternice.....	4
2.1.2.1 Miomi maternice.....	4
2.1.2.1.1 Submukozni miomi.....	4
2.1.2.1.2 Intramuralni miomi.....	5
2.1.2.2 Polipi endometrija	5
2.1.2.3. Intrauterine priraslice.....	5
2.2.SAKTOSALPINKS	6
2.3. ENDOMETRIOZA	6
2.4. ADENOMIOZA	9
2.5. TROMBOFILIJA	9
2.6. ANTIFOSFOLIPIDNI SINDROM.....	11
2.7. ENDOKRINI FAKTORI	11
2.7.1. DISFUNKCIJA ŠTITNE ŽLIJEZDE	11
2.7.2. PRIJEVREMENI PORAST LH	12
2.7.3. PRETILOST.....	13
2.7.3.1. SINDROM POLICISTIČNIH OVARIJA.....	14
2.8. PUŠENJE CIGARETA	14
2.9. STRES.....	15
2.10. EMBRIONALNI FAKTORI.....	16

3. OBRADA PACIJENTICA S PONAVLJANIM IMPLANTACIJSKIM NEUSPJEHOM POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE	18
4. LIJEČENJE UZROKA PONAVLJANOG NEUSPJEHA IMPLANTACIJE ZAMETKA POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE	23
5. ZAKLJUČAK.....	38
6. ZAHVALE.....	40
7. POPIS LITERATURE	41
8. ŽIVOTOPIS.....	54

SAŽETAK

Naslov rada: Uzroci ponavljano g neuspjeha implantacije zametka poslije izvantjelene oplodnje

Ime i prezime : Petra Vuković

Ponavljanim implantacijskim neuspjehom se smatra neuspjeh implantacije u barem tri pokušaja in vitro fertilizacije u kojem su u svakom ciklusu preneseni u maternicu jedan ili dva visokokvalitetna embrija. Procjenjuje se da će oko 10 % žena koje idu u postupak IVF doživjeti ponavljani neuspjeh implantacije. Neuspjela implantacija može biti zbog embrionalnih čimbenika, ali i majčinskih i/ili očinskih čimbenika.

Uzrok neuspjelih implantacija, prema današnjim procjenama, je u 1/3 slučajeva u samom zametku, a u 2/3 slučajeva u slabijoj receptivnosti endometrija.

Potrebno je provesti temeljitu kliničku dijagnostičku obradu kako bi se utvrdio uzrok koji dovodi do ponavljano g neuspjeha implantacije. Potrebno je procijeniti funkciju jajnika mjerenjem ovarijske rezerve, razine FSH i anti- Müllerskog hormona, ali i napraviti spermio gram partnera. Ultrazvukom i histeroskopijom treba isključiti razna patološka stanja maternice uključujući miome, polipe endometrija, prirodene anomalije maternice, intrauterine priraslice, ali i postojanje endometrioze, adenomioze i hidrosalpinksa. Histeroskopija i/ili biopsija endometrija u ciklusu koji prethodi stimulaciji jajnika bi mogla postati standard za pacijentice s ponavljanim neuspjehom implantacije. U prisutnosti normalne anatomije maternice promjene u endokrinom profilu te medicinska stanja majke poput trombofilije i imunoloških poremećaja mogu rezultirati nereceptivnim endometrijem. Stoga pacijentice s ponavljanim implantacijskim neuspjehom treba testirati na nasljedne i stečene trombofilije i imunološke poremećaje. Liječenje ponavljano g neuspjeha implantacije treba biti zasnovano na dokazima, s ciljem poboljšanja kvalitete zametaka, ali i receptivnosti endometrija.

Ključne riječi : neuspjeh, implantacija, IVF, endometrij, trombofilija, embrij

SUMMARY

Title: Causes of repeated implantation failure after in vitro fertilization

Name and surname: Petra Vuković

Repeated implantation failure is considered to be a failure of implantation in at least three attempts of invitro fertilization in which in every cycle one or two high-quality embryos were transferred. It is estimated that approximately 10% of women going through IVF treatment will experience repeated implantation failure. Failed implantation may be due to embryonic factors, and maternal and/or paternal factors. The cause of failed implantation, according to present estimates, in 1/3 of cases is in the embryo, and in 2/3 of cases is decreased endometrial receptivity.

Thorough clinical diagnostic evaluation should be conducted to determine the cause that leads to the repeated failure of implantation. Ovarian function should be evaluated by measurement of ovarian reserve, FSH levels and anti-Müllerian hormone, but spermogram of the partner as well. Various uterine pathology including fibroids, endometrial polyps, congenital anomalies, intrauterine adhesions, hydrosalpinx, endometriosis and adenomyosis should be excluded by ultrasonography and hysteroscopy.

Hysteroscopy and/or endometrial biopsy in the cycle preceding ovarian stimulation could become a standard for patients with recurrent implantation failure. In the presence of normal uterine anatomy, changes in endocrine profile and the medical conditions of the mother such as thrombophilia and abnormal immunological response could result in non receptive endometrium.

Patients with recurrent implantation failures should be tested for inherited and acquired thrombophilias and immune disorders. Treatment of repeated implantation failure should be based on evidence, with the aim of improving the quality of embryos and endometrial receptivity.

Keywords: failure, implantation, IVF, endometrium, thrombophilia, embryo.

1.UVOD

Ponavljanim implantacijskim neuspjehom se smatra neuspjeh implantacije u barem tri pokušaja in vitro fertilizacije u kojem su u svakom ciklusu preneseni u maternicu jedan ili dva visokokvalitetna embrija. (1)

Implantacija je proces učvršćivanja embrija u endometrij za vrijeme specifičnog perioda u ciklusu žene koji se naziva "implantacijski prozor" kada je endometrij receptivan za blastocistu.

Implantacija je kompleksan mehanizam koji uključuje brojne faktore vezane uz embrij, endometrij i imunološki sustav. Bilo koji poremećaj vezan uz taj mehanizam može dovesti do neuspjeha implantacije.

Funkcionalan i receptivan endometrij je ključan za implantaciju embrija. Tijekom menstruacijskog ciklusa endometrij podliježe morfološkim i biološkim promjenama tijekom kojih postaje spreman za interakciju s embrijem vodeći do uspješne implantacije.

Debljina endometrija i sam izgled endometrija koji su vidljivi i mjerljivi ultrazvukom omogućuju procjenu uspjeha implantacije. Minimalna debljina endometrija za uspješnu implantaciju mjerena krajem proliferativne faze iznosi 6-8 mm u prirodnom ciklusu, a u stimuliranim ciklusu 9 mm. Slabija receptivnost endometrija može biti zbog abnormalnosti uterusa, trombofilije, abnormalanog imunološkog odgovora.

Do neuspjeha implantacije zbog embrionalnih uzroka dolazi zbog genetskih abnormalnosti ili drugih intrizičnih faktora embrija koji smanjuju njegovu sposobnost da se razvije u maternici i implantira.

U postupcima in vitro fertilizacije postoje dvije skupine žena koje predstavljaju veći dijagnostički i terapijski izazov. Prva skupina su žene koje slabo ili nikako reagiraju na lijekove za indukciju ovulacije, a drugu skupinu čine žene koje unatoč transferu jednog ili dva kvalitetna embrija ne uspijevaju ostvariti trudnoću zbog ponavljano implantacijskog neuspjeha implantacije.

Uzroke ponavljano implantacije možemo podijeliti i na embrionalne, majčine i očinske uzroke .

Kliničari ginekolozi mogu bitno procijeniti uspješnost IVF kroz kvalitetnu dijagnostičku obradu

pacijentice koja ide u postupak IVF. Tom obradom treba prepoznati sve čimbenike sa strane majke koji mogu negativno utjecati na uspješnost postupka, prvenstveno smanjenom receptivnošću endometrija.

Mogući majčini uzroci su: indeks tjelesne mase viši od 35, pušenje cigareta, psihološki stres, trombofilija i imunološki čimbenici, bolesti štitne žlijezde, anatomske uzroci poput anomalija maternice, polipa maternice, mioma, intrauterinih priraslica, saktosalpinksa. Negativno utječu i endometrioza i/ili adenomioza, ali i poremećaj u razini estrogena, progesterona i luteinizirajućeg hormona u serumu tijekom ciklusa u kojem se izvodi IVF.

2. ETIOLOGIJA PONAVLJANIH NEUSPJEHA IMPLANTACIJE ZAMETKA POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE

2.1. ANATOMSKI UZROCI RIF

Anatomske uzroci ponavljanog neuspjeha implantacije su kongenitalne anomalije maternice, intrauterine priraslice, miomi maternice te polipi maternice.

2.1.1. Kongenitalne anomalije maternice

Kongenitalne anomalije maternice mogu utjecati na receptivnost endometrija manifestirajući se neplodnošću ili opetovanim gubitkom trudnoće. (2) Smatra se da kongenitalne anomalije maternice predisponiraju gubitku trudnoće zbog smanjenog kapaciteta i volumena maternične šupljine koji onemogućuje normalan rast i razvoj fetusa. Većina se anomalija maternice javlja kao posljedica nedostataka u razvoju ili stapanju parnih Müllerovih kanala tijekom embriogeneze.

Danas je poznato da Hox geni igraju ulogu u regulaciji razvoja Müllerovih kanala. (3)

Dva određena HOX gena, HOXA10 i HOXA11, reguliraju endometrijski razvoj i pripremu za implantaciju. Ipak nedavno provedena studija nije pronašla mutacije HOXA10 i HOXA11 gena u žena s malformacijama Müllerovih kanala. (4)

2.1.1.1 *Uterus septus i subseptus*

Uterus septus je najčešća strukturna anomalija maternice koja ujedno ima i najlošiju reproduktivnu prognozu od svih kongenitalnih anomalija maternice. Nastaje zbog nepotpune resorpcije uterovaginalnog septuma nakon što je došlo do kompletne fuzije Müllerovih kanala. Razlikujemo potpuno i djelomično septiranu maternicu ovisno o tome dokle seže septum. Ako septum seže do unutarnjeg ušća riječ je o potpuno septiranoj maternici, a ako je septum djelomičan riječ je o djelomično septiranoj maternici.

Odavno je poznato da su septirane maternice povezane s nepovoljnim reproduktivnim ishodima poput pobačaja u prvom i drugom tromjesečju, ali i s neplodnošću. (5) Ti se loši rezultati ne pripisuju samo ometanju maternične šupljine, nego i neadekvatnoj opskrbi septuma krvlju (6) što se smatra preliminarnim dokazom da septirana maternica može doprinijeti razvoju RIF.

2.1.1.3. Uterus arcuatus – sedlasta/srcolika maternica

Uterus arcuatus nastaje zbog nepotpune resorpcije krajnjeg dijela uterovaginalnog septuma pa se unutar maternične šupljine nalazi septum najčešće kraći od 1 centimetar, na dnu maternice.

Septumi kraći od 1 centimetra nemaju negativan utjecaj na ishod trudnoće.

2.1.2. Stečena intrakavitarna patološka stanja maternice

Brojna stečena intrakavitarna patološka stanja maternice, uključujući submukozne miome, polipe endometrija i intrauterine priraslice, mogu doprinijeti RIF.

Učestalost neprepoznate intrauterine patologije u bolesnica s RIF varira između 25% i 50%. (7)

2.1.2.1 Miomi maternice

Miomi maternice su najčešći benigni tumori ženskog reproduktivnog trakta koji se mogu pronaći u 30% žena. Miomi se smatraju mogućim uzrokom subfertiliteta. Mehanizam kojim miomi uzrokuju subfertilnost je nepoznat, ali se smatra da ulogu imaju veličina i lokacija mioma (intramuralna i submukozna), povećana kontraktilnost maternice, poremećena ekspresija citokina, abnormalna prokrvljenost i kronične upale sluznice maternice. (8)

HOXA10 i HOXA11 su transkripcijski faktori koji su molekularni markeri endometrijske receptivnosti. HOXA10 je transkripcijski faktor koji je potreban za normalan embrionalni razvoj uterusa, pravilan razvoj endometrija tijekom svakog menstruacijskog ciklusa i za endometrijsku receptivnost. Smanjena ekspresija HOXA10 smanjuje endometrijsku receptivnost, a smanjena ekspresija HOXA11 dovodi do oslabljenog razvoja endometrijskih žlijezda.

HOXA10 i HOXA11 su eksprimirani u proliferativnoj fazi menstruacijskog ciklusa. I estrogen i progesteron dovode do up-regulacije ekspresije HOXA10 i HOXA11.

Miomi, polipi endometrija, endometrioza, hidrosalpingi i sindrom policističnih jajnika uzrokuju smanjenu ekspresiju HOXA10.

2.1.2.1.1 Submukozni miomi

Nedavna metaanaliza je pokazala da submukozni miomi značajno smanjuju stope implantacije, trudnoće i živorođene djece te značajno povećavaju stopu pobačaja (9) te se pokazalo da prisutne submukozne miome u žena s RIF, bez obzira na veličinu, treba ukloniti jer njihovo uklanjanje poboljšava stopu trudnoće.

2.1.2.1.2 Intramuralni miomi

Nejasan je mehanizam kojim intramuralni miomi utječu na neplodnost jer za razliku od submukoznih ne remete materničnu šupljinu. Intramuralni miomi veći od 4 cm koji ne remete materničnu šupljinu dovode do gubitka trudnoće.

Neke studije sugeriraju negativan učinak intramuralnih mioma na implantaciju i stopu trudnoće u žena podvrgnutih IVF, pogotovo ako su miomi veći od 4 cm, dok druge studije ne pokazuju takvu povezanost. (10,11)

Metaanaliza je pokazala da su kod žena s intramuralnim miomima smanjena stopa implantacije u usporedbi sa ženama koje nemaju intramuralne miome. (12)

2.1.2.2 Polipi endometrija

Polipi endometrija su ograničena žarišta hiperplazije strome i žljezdanih struktura. Uz endometriju su vezani peteljkom ili širokom bazom, a veličinom variraju od 1 mm do izrazito velikih dimenzija. Mogu biti pojedinačni ili multipli. S obzirom na histološku građu dijele se na hiperplastične, atrofične i funkcionalne. Rijetko maligno alteriraju.

Polipi endometrija također mogu utjecati na implantaciju embrija. (13)

Smatra se da je mehanizam kojim polipi endometrija utječu na implantaciju embrija sličan mehanizmu kojim miomi uzrokuju neuspjeh implantacije. Polipi endometrija dovode do smanjene ekspresije HOXA10 i HOXA11 transkripcijskih faktora promjenama u signalnim putevima endometrija i tako smanjuju receptivnost endometrija.

2.1.2.3. Intrauterine priraslice

Intrauterine priraslice ometaju proces implantacije i negativno utječu na stopu implantacije.

Prisutnost intrauterinih priraslica može ometati implantaciju u ranoj fazi sprječavanjem pričvršćivanja embrija na luminalnu površinu endometrija te smanjenjem funkcionalnog volumena maternice. Do intrauterinih priraslica često dolazi nakon kiretaže, intrauterinih operacija ili intrauterinih infekcija negravidne maternice.

Intrauterine priraslice su prisutne u 8.5% žena s RIF. (14)

2.2.SAKTOSALPINKS

Saktosalpinks je distalno začepljen, dilatiran, tekućinom ispunjen jajovod do koji nastaje kao posljedica salpingitisa, tipično nakon pelvične upalne bolesti. Saktosalpinks može biti ispunjen seroznom tekućinom pa se naziva hidrosalpinks, gnojnim sadržajem pa se naziva piosalpinks ili pak krvlju kao hematosalpinks. Zbog nemogućnosti da ta tekućina izađe u trbušnu šupljinu ona odlazi u matericu i tako sprječava implantaciju embrija. (15)

Istraživanja su pokazala da žene s hidrosalpinksom imaju manju šansu da zatrudne putem IVF, imaju niže stope implantacije i poroda te češće rani spontani pobačaj nego žene s normalnim jajovodima. (16)

Smatra se da do neuspjeha IVF-a kod žena s hidrosalpinksom dolazi zbog toga što se tekućina koja se akumulira u jajovodima vraća u maternicu i remeti implantaciju embrija, a istraživanja su pokazala da je i sama tekućina iz hidrosalpinksa embriotoksična.

Hidrosalpinks se povećava uslijed indukcije ovulacije i tekućina iz hidrosalpinksa se akumulira u uterusu gdje ima učinak i na endometrij i na implantaciju embrija. Tekućina iz hidrosalpinksa sadrži manje kalcija, fosfata, glukoze i proteina i hipoosmolarna je u usporedbi sa serumom.

Takva tekućina je manje nutritivna i ima moguć toksičan učinak na embrio.

Žene s hidrosalpinksom imaju značajno nižu ekspresiju HOXA10, markera endometrijske receptivnosti, u midlutealnoj fazi nego žene iz kontrolne skupine. (17)

Također je dokazana povišena ekspresija HOXA10 u vrijeme implantacije embrija u pacijentica koje su salpingektomirane zbog hidrosalpinksa što sugerira poboljšanje u receptivnosti endometrija. Višak tekućine i povećana koncentracija toksičnih supstanci iz većeg ili bilateralnog hidrosalpinksa doprinosi smanjenju HOXA10 ekspresije.

Smanjena ekspresija HOXA10 nije specifična za hidrosalpinks već se javlja i u drugim kliničkim stanjima povezanim s neuspješnim implantacijama poput endometrioze i policističnih jajnika.

2.3. ENDOMETRIOZA

Endometrioza je bolest karakterizirana razvojem endometrijskog tkiva izvan uterusa koja uzrokuje bol i neplodnost. Normalan endometrij u maternici se tijekom menstruacijskog ciklusa odljušti i izlazi iz tijela. Kod endometrioze, ektopično tkivo reagira na hormonske promjene kao i normalni endometrij. Tako odljuštene stanice i krv obično ne mogu izaći iz tijela i uzrokuju razne promjene kao što su: unutarnje krvarenje, upala, bol, ožiljci ili neki drugi

simptomi na organima koji nisu dio ženskog spolnog sustava (mokraćni sustav, probavni sustav, središnji živčani sustav).

Smatra se da je skoro 10 % žena reproduktivne dobi pogođeno endometriozom i ona se smatra jednim od vodećih uzroka subfertilnosti. (18)

Točan uzrok endometrioze se ne zna, kao ni točan mehanizam kojim ona utječe na neplodnost.

Smatra se da endometrioza može uzrokovati neplodnost uslijed mehaničkih faktora, celularnih i humoralnih alteracija peritonealne tekućine, raznih učinaka na interakciju gameta, prijenos gameta i implantaciju embrija.

Patofiziološki endometrioza utječe na plodnost na tri mjesta;

ZDJELIČNA ŠUPLJINA	MATERNICA	JAJNICI
<p>Upalne promjene peritonealne tekućine:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Proliferacija makrofaga i fagocitna disfunkcija - Oslobođanje proupalnih faktora i faktora angiogeneze 	<p>Aktivacija steroidogenog faktora 1 i aromataze:</p> <ul style="list-style-type: none"> -produkcija estrogena -rezistencija na progesteron 	<p>Reducirana ovarijska rezerva zbog endometrioma ili operacije</p>
<p>Promjene u peritonealnoj tekućini utječu na interakciju sperme i oocite</p>	<p>Promjene samog endometrija i receptivnosti endometrija</p>	<p>Otežan odgovor na kontroliranu ovarijsku hiperstimulaciju</p>

ZDJELIČNA ŠUPLJINA

Prema Sampsonovoj teoriji primarni mehanizam patogeneze endometrioze je retrogradna menstruacija. Endometrijske lezije su povezane s promjenama u peritonealnoj tekućini koja okružuje zdjelične organe. (19)

Ta tekućina normalno sadrži oko 20 mL serozne tekućine, a u žena sadrži i ovarijsku sekreciju, uključujući folikularnu tekućinu koja se oslobađa tijekom ovulacije.

Oplodnja oocite se događa u distalnom dijelu jajovoda, u ampuli koja je blizu ovarija. Sa širokim otvorom u zdjeličnu šupljinu ampula je izložena peritonealnoj tekućini pa zato promjene u

peritonealnoj tekućini mogu narušiti prirodno začeće. (20)

U endometriozu dolazi do upale zdjelice koja onda dalje potiče proliferaciju i rast endometrijskog tkiva.(21) U peritonealnoj tekućini žena s endometriozom dolazi do proliferacije makrofaga te aktivacije citokina. Promjene u peritonealnoj tekućini mogu poremetiti interakciju sperme i oocite. Interleukin 1 i 6 direktno utječu na pokretljivost sperme. TNF α uzrokuje oštećenja DNA sperme preko slobodnih radikala kisika. (22) Pretjerana produkcija embriotoksičnih citokina i prostaglandina utječe na oocite jer dovodi do apoptoze granulosa stanica. (23)

OVARIJI

U endometričnom ovariju se formiraju ciste ili endometriomi koji reduciraju funkcionalni ovarijski prostor, smanjen je broj i kvaliteta preostalih oocita.(24) Veliki endometriomi mogu pritisnuti zdravo tkivo jajnika pa jajnik ne može proizvesti dovoljan broj zdravih jajnih stanica. Prilikom opsežnih operativnih zahvata može se dogoditi da se za vrijeme operacije slučajno odstrani ili ošteti zdravo tkivo jajnika, a može doći i do malih, ali značajnih oštećenja krvotoka jajnika, što na kraju rezultira proizvodnjom nedovoljno kvalitetnih jajnih stanica.

UTERUS

U žena s endometriozom endometrij je promijenjen. Promjene endometrija dovode do abnormalne in-situ produkcije estradiola vezane uz upalu i rezistencije na progesteron.

Normalno u endometriju dolazi do hipermetilacije promotora steroidogeničkog faktora 1 pa ne dolazi do njegove aktivacije, dok je u endometriozu povišen broj makrofaga i i dendritičkih stanica (25) pa uslijed aktivacije makrofaga dolazi do pojačane proizvodnje citokina (interleukina 6,8 i 10, transformirajućeg faktora rasta, TNF α) koji dovode do aktivacije COX2 i proizvodnje prostaglandina E2. Ključni korak je aktivacija steroidogeničkog faktora 1. Ovaj transkripcijski faktor omogućuje prostaglandinu E2 da inicira ekspresiju CYP19A1 koji kodira aromatazu,enzim koji pretvara testosteron u estradiol.(26) Ovaj proces dovodi do in-situ proizvodnje estradiola koji onda remeti peristaltičku aktivnost miometrija.

Zbog povišene razine estradiola dolazi do rezistencije na progesteron.

U menstacijskom ciklusu progesteronski receptori se razvijaju u endometriju tijekom folikularne faze pod utjecajem estradiola i taj je proces potreban da dođe do normalne lutealne faze koja je pod utjecajem progesterona. Moguće je da u endometriozu dolazi do promjena u

izoformni progesteronskog receptora pa on ne veže funkcionalni progesteron. (27)

U žena koje imaju endometriozu češće dolazi do neuspjeha IVF-a u usporedbi sa ženama koje nemaju endometriozu. (28) Multifaktorske analize su pokazale da žene s endometriozom imaju smanjene stope fertilizacije i implantacije te smanjen broj oocita. Smatra se da je za neplodnost u endometriozu više odgovorna lošija kvaliteta oocita nego receptivnost endometrija koja čini se ne igra ulogu u smanjenju stopa trudnoće i implantacije u žena s endometriozom.

U prilog tome ide i istraživanje u kojem su Pellicer i sur.(2001.) pokazali da kada donirana oocita dolazi od žene koja nema endometriozu razvoj embrija i stopa implantacije je slična i u žena sa i bez endometrioze, no ako donirana oocita dolazi od žene s endometriozom jajnika stopa implantacije je značajno smanjena u usporedbi s kontrolnom grupom. (29)

Smatra se da žene s endometriozom imaju niže stope trudnoće i implantacije uslijed lošije kvalitete oocita koje su rezultat alteriranog folikularnog okružja. (30)

2.4. ADENOMIOZA

Adenomioza je bolest u kojoj je endometrijsko tkivo prisutno unutar miometrija. Smatra se da do adenomioze dolazi kada se poremeti normalna granica između bazalnog sloja endometrija i miometrija pa dolazi do invazije endometrijskih žlijezda u miometriju.

Najčešće se manifestira pojačanim i produljenim, nerijetko i bolnim menstruacijskom krvarenjem, ali može biti asimptomatska. Često se javlja uz endometriozu i miome maternice. Adenomioza se obično dijagnosticira u četvrtom i petom desetljeću života, u zadnje vrijeme sve češće zbog napretka slikovnih tehnika poput UZV i MR. Budući da sve više žena odgađa svoju prvu trudnoću do kasnih tridesetih ili ranih četrdesetih, adenomioza je postala relevantna u kontekstu subfertilnosti i često se nađe u pacijentica s RIF. Postoje dokazi koji sugeriraju da adenomioza nepovoljno utječe na implantaciju embrija. (31)

U adenomiozi je promijenjena funkcija i receptivnost endometrija, značajno je snižena ekspresija HOX gena u endometriju u sredini sekrecijske faze. Povišena koncentracija intrauterinih slobodnih radikala u endometriju dovodi do poremećaja razvoja embrija.

2.5. TROMBOFILIJA

Trombofilija je različita skupina nasljednih i stečenih koagulacijskih poremećaja koji su

povezani sa sklonošću trombozi. Trudnoća je samo po sebi stanje u kojem je povećana sklonost zgrušavanju krvi (povećano je stvaranje fibrinogena, povećana je razina brojnih faktora zgrušavanja krvi- FII, FVII, FVIII, FX, FXII, povećana je razina PAI-1, smanjena je fibrinoliza, značajno je smanjena razina proteina S, a javlja se i stečena rezistencija na aktivirani protein C). Komplikacije trudnoće vezane uz trombofiliju su intrauterina smrt ploda, ponavljani pobačaji, intrauterini zastoj u rastu ploda, preeklampsija, abrupcija posteljice i prijevremeni porođaj.

Istraživanja su pokazala da se i nasljedna i stečena trombofilija povezuje s tromboembolijom, ponavljanim gubitkom trudnoće i komplikacijama trudnoće te s ponavljanim neuspjehom implantacije nakon IVF. (32)

Mutacije gena za faktor V Leiden i protrombinske gene dovodi do povećanog rizika za spontani pobačaj i problem neplodnosti. Bare i sur. su pokazali da je rizik za spontani pobačaj kod žena s mutacijom faktor V Leidena 1.5 puta veći, a rizik za probleme s plodnošću i ponavljanim spontanim pobačajima 2.5 puta veći. (33) Hipofibrinoliza i nedostatak proteina S se također povezuje s ponavljanim implantacijskim neuspjesima.(34)

Metaanaliza o učinku trombofilije na ishod potpomognute oplodnje pokazala je da žene s ponavljanim neuspjesima implantacije nakon IVF-a imaju veću prevalenciju mutacija V Leiden faktora i češće su pozitivne na antifosfolipidna protutijela, dok povezanost između ponavljanih neuspjeha implantacije nakon IVF i protrombinskih mutacija, mutacije metilenetetrahidrofolat reduktaze, manjka proteina S, proteina C ili antitrombina nije utvrđena. (35)

Sam mehanizam na koji trombofilija utječe na neuspjeh implantacije je nepoznat.

Provedene su studije kojima se pokazala povezanost između nasljedne trombofilije i komplikacija trudnoće poput teške preeklampsije, restrikcije rasta fetusa, abrupcije posteljice i poroda mrtvorodenčeta. (36).

Smatra se da te komplikacije nastaju zbog tromboze maternalnih krvnih žila koja uzrokuje smanjene perfuzije interviloznog prostora i dovodi do neuspjeha implantacije zbog izostanka invazije sinciotrofoblasta u maternalne krvne žile. (37)

Druga istraživanja pokazuju da trombofilija može utjecati na razne funkcije trofoblasta; invaziju, diferencijaciju, proliferaciju i hormonsku funkciju pa čak i decidualizaciju vodeći do neuspjeha implantacije. (32)

Smatra se da je mogući mehanizam trombofilije koji dovodi do čestih ponavljanih neuspjeha

implantacije poslije IVF poremećen imunološki odgovor jer je ekspresija intracelularnih Th1 citokina veća od ekspresije Th2 citokina. Th1 citokini potiču trombozu i upalni proces materničnih uteroplacentarnih krvnih žila aktivacijom vaskularnih endotelnih prokoagulantnih stanica što rezultira neuspješnom implantacijom i ranim gubitkom trudnoće.

Kod nasljednih trombofilija moguće je da sama trombofilija fetusa dovodi do ponavljanih neuspjeha implantacije nakon IVF. Fetalna trombofilija može uzrokovati placente u kasnijim stadijima trudnoće.

2.6. ANTIFOSFOLIPIDNI SINDROM

Antifosfolipidni sindrom je neupalna autoimuna bolest obilježena trombozom ili komplikacijama u trudnoći u prisutnosti autoimune trombocitopenije i antifosfolipidnih protutijela (lupus antikoagulans-LAC, antikardiolipinska antitijela-ACL, antitijela na beta-2 glikoprotein).

On je najčešći uzrok stečene trombofilije i to jedina trombofilija za koju je sigurno utvrđeno da izravno utječe na gubitak trudnoće, a kada se liječi prognoza trudnoće je dobra.

Antifosfolipidni sindrom u sklopu sistemnog eritematoznog lupusa je sekundaran, dok je primarni antifosfolipidni sindrom kod onih žena koje nemaju autoimune bolesti već samo pozitivna antifosfolipidna protutijela. Antifosfolipidni sindrom često dovodi do gubitka trudnoće i povećava rizik od rekurentnih pobačaja. (38)

Antifosfolipidna protutijela su autoprotutijela koja mogu djelovati prokoagulantno i tako dovesti do tromboze maternalnih krvnih žila i omesti invaziju trofoblasta.

2.7. ENDOKRINI FAKTORI

2.7.1. DISFUNKCIJA ŠTITNE ŽLIJEZDE

Stimulacija ovarija, koja je sastavni dio mnogih IVF, može dovesti do poremećaja rada štitne žlijezde. Ona dovodi do subkliničkog hipotireoidizma u žena koje su eutiroidne ili su na zamjenskoj terapiji tiroidnog hormona. (39)

Serumska koncentracija TSH može biti povišena mjesec dana nakon stimulacije ovarija.

Primijećeno je da je kod žena koje zatrudne putem IVF gestacijska dob pri porodu i težina djeteta niža te je češća pojava spontanih pobačaja ako je vrijednost TSH bila veća od 2.5 mIU/L. (40)

Zbog brzog porasta koncentracije E2 u serumu dolazi do povećane sinteze tiroksin vežućeg

globulina (TBG) zbog čega je povećan broj cirkulirajućih tiroksin-vežućih mjesta pa se smanjuje koncentracija slobodnog tiroksina (T4) što onda dovodi do povećane sinteze TSH iz hipofize. (41)

Visoke koncentracije E2 mogu suprimirati odgovor T pomoćničkih stanica u tipu Th1 i stimulirati odgovor T pomoćničkih stanica u tipu Th2. Kako je autoimuna bolest štitnjače proces posredovan Th1 tipom imunosti očekuje se da će se autoimunost pogoršati nakon stimulacije ovarija. (42)

Također je poznato da su TSH i hCG slični po strukturi kao i njihovi receptori što rezultira time da endogeni hCG ima tireotropne učinke.

Receptori za TSH se nalazi na epitelu ovarija i u oocitima primordijalnog, primarnog i sekundarnog folikula što sugerira da TSH sudjeluje u regulaciji funkcije ovarija.

2.7.2. PRIJEVREMENI PORAST LH

Tijekom kontrolirane stimulacije ovarija razina progesterona rapidno raste nakon davanja humanog korionskog gonadotropina (hCG) koji se daje za indukciju završnog sazrijevanja oocite. (43) Međutim prijevremeni porast LH uslijed povišenih razina estradiola inducirano gonadotropinima može dovesti do prijevremene luteinizacije i neuspjeha IVF ciklusa.

Zbog toga se u postupku IVF koriste GnRH agonisti i antagonisti koji inhibiraju oslobađanje endogenih gonadotropina iz hipofize i tako smanjuju incidenciju prijevremenog LH porasta.

Usprkos korištenju GnRH analoga, suptilno povišenje razine progesterona je primijećeno na kraju folikularne faze, prije davanja hCG. Taj porast koncentracije progesterona u literaturi je opisan kao prematurna luteinizacija. (44)

Taj izraz je varljiv jer sugerira da granulosa stanice proizvode višak progesterona uslijed porasta LH do čega ne bi trebalo dolaziti pri upotrebi GnRH analoga koji inhibiraju LH porast.

Moguće je da do prematurne luteinizacije u ciklusima s GnRH analogima dođe zbog pogrešaka u njihovoj primjeni (promašene injekcije ili aplikacija nazalnim sprejem).

Ipak je vjerojatnije da do povišene razine progesterona u ciklusima u kojima se koriste GnRH agonisti dolazi uslijed povećanog broja folikula od kojih svaki od njih proizvodi normalnu količinu progesterona za kasnu lutealnu fazu. (45)

Povišena razina progesterona u serumu na dan primjene hCG povezana je sa smanjenim stopama trudnoće. Podaci pokazuju da je koncentracija od 1,5 ng/ml kritična razina iznad koje razina

progesterona ima negativan efekt na stopu trudnoće neovisno koji su GnRH analozi korišteni za down regulaciju hipofize.(46)

Mehanizam kojim neznatno povišena razina progesterona utječe na trudnoću je nejasan.

Smatra se da neznatno povišen progesteron može poremetiti endometrijsku receptivnost i tako onemogućiti implantaciju embrija, (47) dok štetan učinak na kvalitetu oocite i embrija nije dokazan. (48)

2.7.3. PRETILOST

Pretilost je kronična bolest koja nastaje prekomjernim nakupljanjem masti u organizmu i povećanjem tjelesne težine. Najčešće je posljedica prekomjernog unosa hrane odnosno energije te nedovoljne fizičke aktivnosti.

Definirana je kao indeks tjelesne težine jednak ili veći od 30 kg/m². Epidemija ove bolesti je u porastu te se ubraja u vodeće bolesti suvremene civilizacije.

I povećan (BMI > 30 kg/m²) i snižen (BMI < 18.5 kg/m²) indeks tjelesne težine povezani su s povećanim rizikom spontanog pobačaja. (49)

Smatra se da je u mehanizmu pretilosti bitna uloga leptina, hormona koji se dominantno proizvodi u masnom tkivu. Razine leptina u plazmi koleriraju s BMI.

Receptori leptina se nalaze na sekretornom endometriju i smatra se da možda reguliraju angiogenezu uterusa i implantaciju embrija. (50) Niske razine leptina u plazmi kod žena s niskim BMI povezane su s ranim spontanom pobačajem i s rekurentnim spontanom pobačajima.

Istraživanje je pokazalo da je visoki BMI povezan s povećanim rizikom neuspjeha intrauterine gestacije no samo ako pacijentice koriste autologne oocite i njegov je učinak veći za pretile žene mlađe od 35 godina. U mlađih pacijentica koje idu na IVF povećan BMI ima značajnije negativan učinak na plodnost. Primijećeno je da povećan BMI utječe na smanjen broj uzetih oocita, smanjen broj zrelih oocita, smanjen broj oplođenih oocita, neuspješnu implantaciju, smanjen broj trudnoća, smanjene stope živorođenčadi. Taj učinak slabi kako se pacijentice približavaju srednjim tridesetima jer nakon 36.godine BMI ima minimalan učinak na plodnost.(51)

Na neuspjeh IVF značajno utječe dob, pogotovo ako se u postupku IVF u žena starijih od 35 godina koriste njihove vlastite oocite. Korištenje donorskih oocita smanjuje učinak starije dobi,

ali povećan BMI je povezan sa značajno većom šansom za neuspjeh trudnoće nakon IVF. (52)

Kod pretilih žena je potrebna viša doza gonadotropina u indukciji ovulacije i IVF ciklusima. (53)

Također je primijećena češća neuspješnost ciklusa IVF zbog insuficijencije razvoja folikula.

Pretila žene poslije IVF imaju značajno povišen rizik od opstetričkih komplikacija poput preeklampsije, gestacijskog dijabetesa te je kod njih češće potrebno izvoditi carski rez. (54)

2.7.3. SINDROM POLICISTIČNIH OVARIJA

Mnoga istraživanja su pokazala da žene sa sindromom policističnih ovarija imaju povišenu stopu pobačaja i sniženu stopu implantacije. Međutim većina žena s PCOS su pretila, a sama pretilost je povezana s poremećajem implantacije embrija.

Pretila žene s policističnim jajnicima imaju povišenu ekspresiju proupalnih faktora i smanjenu ekspresiju protuupalnih faktora, smanjena je endometrijska proizvodnja adhezijskih faktora, insulin-like growth factor-binding protein-1 i $\alpha_v\beta_3$ integrina. (55)

Razina leptina je visoka, prisutna je leptinska i inzulinska rezistencija te promjene u imunološkom sustavu.

2.8. PUŠENJE CIGARETA

Pušenje cigareta negativno utječe na ishod trudnoće nakon IVF-a.

Pacijentice koje puše imaju značajno manje poroda živorođenčadi po ciklusu od nepušačica, nižu stopu trudnoće po ciklusu, značajan rizik za spontani pobačaj i ektopičnu trudnoću. (56) Točan mehanizam kako cigarete utječu na neuspjeh implantacije je nepoznat. Pušenje može poremetiti folikulogenezu i uzrokovati disbalans između oksidansa i antioksidansa rezultirajući oksidativnim stresom u Grafovom folikulu i tako smanjiti ovarijsku rezervu. (57)

Oštećenje oocite može nastati uslijed mutageneze zbog kadmija, policističnih aromatskih ugljikovodika, kotinina koji se nalaze u cigaretnom dimu i mogu se izolirati iz folikularne tekućine pušačica. (58) Također se pokazalo da cigaretni dim smanjuje broj zrelih oocita poslije indukcije ovulacije u postupku IVF zbog povećane koncentracije antagonista vaskularnog endotelnog faktora rasta koji remete angiogenezu oocite.

Kod pušačica je zamijećeno zadebljanje zone pellucide i smanjena receptivnost endometrija. (59)

Studije su pokazale i antiestrogeni učinak pušenja cigareta koji povećava šansu za pobačaj inhibicijom aromataze granulosa stanica što dovodi do insuficijencije žutog tijela. (60)

Također je utvrđeno da pasivno pušenje također povećava rizik od neuspjeha implantacije nakon IVF. (61)

2.9. STRES

Liječenje neplodnosti IVF snažno emotivno utječe na žene.

Neke su žene čvrsto uvjerenе u uspjeh postupka, ponekad i nerealno, usprkos relativno maloj vjerojatnosti za trudnoću. Često i nakon uspješnog liječenja ističu kako je postupak bio fizički i psihički naporan i bolan. Stoga ne čudi da su žene tijekom liječenja IVF anksiozne, s više psiholoških simptoma.

Psihosocijalni stres nedvojbeno umanjuje uspjeh liječenja neplodnosti, posebno složenog i zahtjevnog tretmana IVF-om. Žene s izraženim negativnim psihičkim stanjem (bijes, depresija, neizvjesnost i anksioznost) prije liječenja imaju manju vjerojatnost uspjeha IVF-a.

Da je distress važan kofaktor u dugotrajnoj neplodnosti ukazuje činjenica da neplodni par nakon IVF uspjeha ili usvajanja djeteta često postigne spontanu trudnoću. (62)

To dovodi do zaključaka da se radi o zatvorenom krugu, neplodnost dovodi do distresa, a stres ima negativan učinak na uspjeh liječenja.

Stres i slabiji rezultati IVF-a tumače se utjecajem stresnih hormona i imunoloških mehanizama. Neizravnim negativnim učincima stresa smatraju se nezdrava prehrana, pušenje i alkohol.

Danas se ističu i objektivne mjere za štetan učinak stresa na liječenje neplodnosti i uspjeh IVF-a. Određuju se biomarkeri:

- alfa-amilaza u slini (iz parotide)
- kortizol
- adrenalin i noradrenalin (u urinu)
- noradrenalin (u folikularnoj tekućini)

Visoka razina nekih od biomarkera u stresu, uz slabiju stopu trudnoća, tumači se postojanjem receptora za katekolamine u reproduktivnom sustavu žene. Promijenjena aktivnost može mijenjati prokrvljenost zdjeličnih organa. Biomarkeri stresa odgovaraju na simpatički poticaj, što može povisiti vrijednosti kateholamina u krvi, sekreciji sline.

2.10. EMBRIONALNI FAKTORI

Iako se po definiciji RIF događa prvenstveno zbog uterinih faktora uzevši u obzir da su trenutne metode koje se koriste u manipulaciji embrijima subjektivne i nisu uvijek točne, neizbježno je da će se određeni dio RIF dogoditi uslijed embrionalnih faktora.

2.10.1. Kvaliteta jajne stanice

Na kompromitiranu kvalitetu jajne stanice kao uzroka RIF se često sumnja kada postoji loš odgovor na stimulaciju jajnika pa je smanjen broj oocita, visok udio nezrelih jajnih stanica, smanjena stopa oplodnje i niska stopa embrijske utilizacije. (63)

Ako uz to postoji i smanjen broj antralnih folikula, visok FSH i nizak anti-Müllerski hormon može se pretpostaviti da se temeljni uzrok RIF odnosi na lošu kvalitetu jajne stanice.

Pad u kvaliteti jajnih stanica zbog starenja povezan je s kromosomskim promjenama koje rezultiraju aneuploidnim embrijima, smanjenim potencijalom mitohondrijske membrane i oštećenjima mitohondrijske DNA. (64)

Agresivni protokoli stimulacije jajnika mogu dovesti do proizvodnje jajnih stanica lošije kvalitete i za posljedicu imati višu stopu neuspješne oplodnje. (65)

2.10.2. Kvaliteta sperme

Baš kao što i loša kvaliteta jajne stanice dovodi do proizvodnje embrija loše kvalitete tako i loša kvaliteta spermija može dovesti do proizvodnje embrija loše kvalitete.

Nekoliko faktora doprinosi oštećenju DNA spermija; pušenje, infekcije genitalnog trakta, prethodne kemoterapije ili radioterapije. (66)

Oštećenje DNA sperme je povezano s lošim razvojem embrija. (67)

Nedavno provedena metaanaliza sugerira da oštećenja DNA sperme ima skroman učinak na stopu trudnoće sljedećeg IVF postupka. (68)

2.10.3. Kromosomske abnormalnosti roditelja

Osobe s balansiranim translokacijama često proizvode gamete s kromosomskim aberacijama što dovodi do reproduktivnog neuspjeha. (69)

Kod parova s poviješću neuspješnih IVF primijećena je veća prevalencija translokacija, a za parove s neobjašnjenim RIF pokazalo se da imaju 2.5% veću šansu da su nositelji balansirane kromosomske translokacije. (70)

3. OBRADA PACIJENTICA S PONAVLJANIM IMPLANTACIJSKIM NEUSPJEHOM POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE

U obradi pacijentice s ponavljanim implantacijskim neuspjehom poslije izvantjelesne oplodnje potrebno je uzeti detaljnu anamnezu, napraviti kompletnu laboratorijsku obradu da se isključi postojanje trombofilije, imunoloških bolesti i hipotireoze.

Kliničkom obradom treba provjeriti postojanje anomalija uterusa, mioma, intrauterinih adhezija, polipa i saktosalpinksa, endometrioze i adenomioze.

Bitno je odrediti hormonski status i indeks tjelesne težine.

Određuje se i kariotip jer parovi s RIF imaju veću prevalenciju kromosomskih translokacija.

Popis pretraga u obradi pacijentica sa ponavljanim neuspjehom implantacije poslije IVF:

- predimplantacijska genetička dijagnoza i probir na aneuploidiju
- opće pretrage (KKS, SE..)
- kariogram oba supružnika
- spermogram partnera
- anatomske pretrage
 - ultrazvuk
 - histerosalpingografija
 - sonohisterografija
 - histeroskopija

- testiranje na trombofiliju nasljednu i stečenu (protein C, S, faktor V Leiden..)
- testiranje na antifosfolipidna protutijela
- hormonalne pretrage
 - FSH, LH, E2, P4
 - TSH, T3, T4, antitireoidna protutijela

3.1. Pretrage vezane uz embrio/gamete:

3.1.1. Funkcionalni ovarijski testovi

Kod žena s RIF potrebno je testirati ovarijsku rezervu testovima poput mjerenja bazalnog FSH, anti-Müllerskog hormona te broja antralnih folikula da se isključe poremećaji ovarijske funkcije povezani s RIF.

3.1.2. Ispitivanje DNA sperme

3.1.3. Kariotip

Iako samo mali dio parova, 2,5% njih, s RIF-om imaju abnormalne kariotipove stopa prevalencije je viša od one u općoj populaciji, što ukazuje na povezanost između ova dva stanja tako da bi kariotipizaciju trebalo uzeti u obzir u dijagnostici parova s RIF.e.

3.2. Pretrage maternice

U žena s RIF temeljitim pregledom potrebno je isključiti svako patološko stanje maternice koje doprinosi ovom kliničkom problemu .

3.2.1. Ultrazvuk

Zdjelčni ultrazvuk je sastavni dio postupka IVF-a kao sredstvo za praćenje rasta folikula i razvoja endometrija. Smatra se da se tijekom postupka IVF-a tako otkrije značajan broj patoloških procesa maternice (npr.intramuralni miomi)

Transvaginalni ultrazvuk može otkriti neke slučajeve hidrosalpinksa, priraslice, Müllerske anomalije i intrakavitane lezije.

Kad se transvaginalni ultrazvuk izvodi u preovulatornoj fazi ciklusa intrakavitane lezije se bolje vide te se može evaluirati i debljina i ehogenost endometrija.

U žena s intrauterinim adhezijama preovulatorni endometrij je obično tanak .

Trodimenzionalni ultrazvuk je koristan za opisivanje kontura uterusa te se pomoću njega može izmjeriti dubljina uterinog septuma. Od velikog značaja je da ultrazvuk izvodi iskusni ultrasonografer.

3.2.2. Histerosalpingografija (HSG)

Histerosalpingografija (HSG) je rendgenska dijagnostička metoda kojom se ispituje kakvoća i prohodnost puta od ulaza u rodnicu do abdominalnog ušća jajovoda. Korisna je u obradi pacijentica s RIF, uglavnom zbog detekcije hidrosalpinksa, ali je njena vrijednost u otkrivanju intrauterine patologije ograničena.

Povećanim tlakom pri primjeni kontrasta se pri slabije izraženim priraslicama katkada postiže i učinak poboljšanja i uspostave prohodnosti jajovoda.

HSG se zbog rengenškog zračenja rijetko koristi. Metoda je bolna i može izazvati upalnu bolest zdjelice. HSG nije osobito osjetljiv test pa može propustiti detektirati neke suptilnije lezije poput priraslica, a ima visoku stopu lažno pozitivnih rezultata jer mjehurići zraka, sluz i debris mogu oponašati punjenje defekta.

3.2.3. Sonohisterografija (SHG)

Sonohisterografija uključuje upotrebu kontrastnog sredstva zajedno s transvaginalnim ultrazvukom i smatra se da se poboljšava vizualizaciju šupljine maternice. SHG ima jasne prednosti u odnosu na korištenje HSG jer se izbjegava korištenje zračenja i jodnog kontrasta te je manje agresivna od histeroskopija.

Nedavno objavljeno istraživanje provedeno na 64 pacijentice u kojem se istraživalo korištenje SHG kao prvog izbora za ocjenjivanje abnormalnosti maternice u žena s Rif-om. (71)

Međutim, kao i u slučaju ultrazvuka, HSG ne detektira male suptilne intrauterine lezije.

3.2.4. Histeroskopija

Histeroskopija je jedna od najvažnijih pretraga u žena s RIF koja omogućuje pouzdanu vizualnu procjenu cervikalnog kanala i maternične šupljine. Smatra se zlatnim standardom za dijagnozu intrauterine patologije i ima minimalan intraoperacijski i postoperativni morbiditet.

Histeroskopija u žena s RIF značajno povećava stopu trudnoće. (72)

Ženama s RIF-om, čak i u slučaju normalnog HSG, treba ponuditi histeroskopsku procjenu. Trenutni dokazi upućuju na to da učestalost abnormalnih histeroskopskih nalaza u žena s RIF varira između 25 i 50 %. (73)

Ponavljanje histeroskopije se predlaže ako je histeroskopska procjena bila provedena prije više od 2 godine ili ako je pacijentica u međuvremenu imala intrauterinu operaciju.

Histeroskopija nije samo dijagnostički alat već omogućava i terapijske postupke koji se obavljaju za vrijeme dijagnosticiranja. Korisno je napraviti histeroskopiju u vrijeme lutealne faze ciklusa koji prethodi IVF postupku jer histeroskopska biopsija može poboljšati stope implantacije. (74)

S druge strane, izvođenje histeroskopije u folikularnoj fazi u kojoj je endometrij tanji ima prednost bolje vizualizacije.

3.2.5. Kombinirana laparoskopija i histeroskopija

Kod žena za koje se sumnja da imaju prirođene anomalije maternice na temelju ultrazvuka ili HSG, potrebne su daljnje pretrage za potvrdu dijagnoze. Te pretrage su trodimenzionalni ultrazvuk, MR ili kombinacija histeroskopije i laparoskopije. Kombinacija histeroskopije i laparoskopije se smatra zlatnim standardom jer omogućuje izravnu vizualizaciju unutarnje i vanjske konture maternice i omogućuje kliničarima istovremeno dijagnosticiranje i liječenje.

3.3. Razine hormona :

U ranoj folikularnoj fazi određuju se hormoni (bazalno):

- FSH – normalno 3-9 IU/L
- estradiol (E2) – normalno < 70 pg/mL
- inhibin B – normalno > 45 pg/mL

3.4. Klasifikacijski kriteriji za antifosfolipidni sindrom .

KLINIČKI KRITERIJI (jedan ili više)

1. Vaskularna tromboza – jedna ili više klinički objektivno potvrđena epizoda tromboze arterija, vena ili malih krvnih žila nastala u bilo kojem tkivu ili organu. Za histopatološku potvrdu tromboza mora biti prisutna bez značajne upale stijenke žile.
2. Morbiditet trudnoće:
 - A) Jedna ili više nerazjašnjenih smrti morfološki normalnog fetusa sa ili više od 10. tjedna gestacije dokumentirano ultrazvukom ili direktnim pregledom fetusa; ili
 - B) Jedan ili više prijevremenih porođaja morfološki normalnog novorođenčeta prije 34. tjedna gestacije zbog preeklampsije, eklampsije ili insuficijencije placente; ili
 - C) Tri ili više nerazjašnjenih uzastopnih spontanih pobačaja prije 10. tjedna gestacije s tim da su kromosomske anomalijama roditelja, anatomske i hormonske abnormalnosti majke isključene

LABORATORIJSKI KRITERIJI (jedan ili više, prisutan u 2 ili više navrata s razmakom od najmanje 12 tjedana koristeći preporučene postupke)

1. Lupus antikoagulant (LA) u plazmi detektiran prema smjernicama International Society on Thrombosis and Haemostasis
2. Antikardiolipinsko protutijelo (aCL), IgG i/ili IgM klase, prisutno u srednjem ili visokom titru (i.e >40 GPL or MPL, ili >99. Percentile) mjereno sa standardiziranim ELISA testom
3. Anti-β2-glikoprotein-1 protutijelo IgG i /ili IgM klase u serumu ili plazmi u titru većem od 99.percentile, mjereno sa standardiziranim ELISA testom

Modificiano prema: Miyakis i sur. 2006.

4. LIJEČENJE UZROKA PONAVLJANOG NEUSPJEHA IMPLANTACIJE ZAMETKA POSLIJE IZVANTJELESNE OPLODNJE

Terapijske opcije za pacijentice s ponavljanim neuspjehom implantacije nakon IVF-a su:

Poboljšanje endometrijske receptivnosti
Histeroskopska korekcija bolesti maternične šupljine
Terapija anatomskih anomalija maternice (miomektomija, polipektomija, operacije prirođenih anomalija materice)
Terapija tankog endometrija
Endometrijska stimulacija biopsijom
Imunoterapija (heparin, aspirin, intravenski imunoglobulini i steroidi)

Terapija embrija
Predimplantacijski genski probir
Potpomognuti hatching
Prijenos zigote u jajovod (ZIFT)
Ko-kulture
Prijenos blastociste
Poboljšanje tehnika embriotransfera (ET)

Multifaktorske terapijske mogućnosti
Terapija endometrioze i adenomioze
Terapija saktosalpinksa
Promjena stila života
Terapija poremećaja štitne žlijezde
Psihološka pomoć

4.1. POBOLJŠANJE ENDOMETRIJSKE RECEPTIVNOSTI

4.1.1. Histeroskopska korekcija bolesti maternične šupljine

Postoje uvjerljivi dokazi da histeroskopija poboljšava ishod žena s RIF-om. (75)

Ona se može provesti kao ambulantni postupak i male ozljede se mogu istovremeno ukloniti, ali značajnija patologija se treba rješavati kasnije pod općom anestezijom.

4.1.2. Terapija anatomskih anomalija maternice

4.1.2.1. Miomektomija

U literaturi je zabilježeno da je ishod IVF-a poboljšán nakon miomektomije. Općeprihvaćeno je da miome koji deformiraju i ulaze u endometrijsku šupljinu treba odstraniti jer se oni ponašaju kao lezije koje zaokupljaju prostor u materničnoj šupljini gdje se embrij treba implantirati. (76) U slučaju ponavljánog neuspjeha implantacije nakon IVF miomektomija je također razuman izbor. Ali kao i svaka druga operacija miomektomija nosi određene rizike, moguće su uterine fistule i ruptуре, abdominalne i pelvične adhezije.

Prije operacije bi trebalo pažljivo procijeniti veličinu, broj mioma i dubinu intramuralnog proširenja. Resekcija solitarnih submukoznih fibroida manjih od 5 cm u promjeru s malim intramuralnim proširenjem ne bi trebala predstavljati značajnu poteškoću .

Međutim, submukozni miomi veći od 5 cm promjera ili oni koji zahvaćaju više od 50 % intramuralnog dijela maternice mogu zahtijevati uklanjanje u dvije faze.

U slučaju multiplih submukoznih mioma postoji povećán rizik od formiranja intrauterinih priraslica nakon operacije . Neki liječnici zagovaraju zasebno uklanjanje prednjeg zida i zasebno uklanjanje stražnjeg zida mioma kako bi se smanjio rizik od intrauterinih priraslica.

Ne postoji konsenzus o tome treba li ukloniti intramuralne miome u žena s RIF.

Mnogi liječnici preporučuju uklanjanje intramuralnih mioma ako su veći od 4 cm u promjeru.

Postoji i niži prag za uklanjanje intramuralnih mioma ako se nalaze u prednjem donjem dijelu maternice jer mogu raditi probleme pri porodu.

Parovi bi trebali biti obaviješteni o mogućim komplikacijama miomektomije, uključujući moguću transfuziju krvi, mali rizik (1%) od histerektomije i relativno visok rizik formiranja priraslica te mali, ali ozbiljan rizik od ruptуре maternice tijekom trudnoće.

S druge strane, parovi bi trebali biti svjesni da miomi uz neuspjeh implantacije mogu uzrokovati

niz drugih problema; pobačaj, prijevremeni porođaj, abrupciju placente, zastoj fetalnog rasta, malprezentacije fetusa, poteškoće poroda te intrapartalno i postpartalno krvarenje.

Nedavna studija je pokazala da je magnetskom rezonancijom vođena fokusirana ultrazvučna kirurgija moguća neinvazivna terapija za intramuralne miome s ohrabrujućim rezultatima.(77)

4.1.2.2. Polipektomija

Polipe endometrija u žena s RIF treba ukloniti. Uklanjanje endometrijskih polipa u žena koje su podvrgnute IVF rezultira udvostručenjem stope kliničke trudnoće. (78)

U žena s multiplim endometrijskim polipima, kao u slučaju multiplih submukoznih mioma, treba imati na umu mogućnost komplikacija u vidu intrauterinih priraslica.

4.1.2.3. Terapija kongenitalnih anomalija

U studiji koja je uključivala žene sa septiranim maternicama podvrgnutim IVF tretmanu neliječene žene sa septiranim uterusima imale su slabiji ishod nakon postupka IVF u odnosu na žene koje su liječene histeroskopskom metroplastikom prije IVF. (79)

Studija koju su proveli Ban-Frangez i sur.(2009.) o ishodu jednoplodne trudnoće nakon IVF/ICSI pokazala je da je prisutnost septuma, bez obzira na veličinu, povezana sa stopom pobačaja od oko 80 %, a nakon kirurškog uklanjanja septuma ta se stopa smanjila na 30%. (80)

4.1.2.4. Adhezioliza

Intrauterine priraslice ometaju proces implantacije i negativno utječu na stopu pa ih treba ukloniti. (81) Ipak, još nema čvrstih dokaza u literaturi koji bi potvrdili da uklanjanje intrauterinih priraslica poboljšava stopu implantacije.

Intrauterine priraslice se često javljaju ponovno nakon kirurškog uklanjanja i česte su komplikacije (10 % ili više) u slučajevima teških intrauterinih priraslica što rezultira djelomičnom ili potpunom obliteracijom maternične šupljine.

Adheziolizu treba provoditi iskusni reproduktivni kirurg pod vodstvom ultrazvuka s ciljem umanjenja komplikacija.

4.1.3. Terapija tankog endometrija

RIF može biti povezan s tankim endometrijem koji se može zamjetiti za vrijeme ultrazvučnog pregleda na dan aplikacije HCG-a ili embrio transfera.

Tanak endometrij sugerira da endometrij ne reagira optimalno na estrogensku stimulaciju.

Uzrok tankog endometrija može biti prirođena (Turnerov sindrom) ili stečena anomalija maternice (posljedica prethodnog zračenja zdjelice ili iatrogenog oštećenja endometrija nakon operacije ili intrauterine infekcije) ili je idiopatski .

U dijagnostici se preporuča histeroskopski pregled šupljine maternice kako bi se isključile intrauterine priraslice ili Ashermanov sindrom.

Sve intrauterine priraslice treba pažljivo odstraniti iskusni reproduktivni kirurg pod vodstvom ultrazvuka s minimalnom toplinskom ozljedom. Glavni izazov intrauterine adhezioze je prevencija recidiva priraslica

U terapiji tankog endometrija se koriste:

- **Modificirana duža primjena egzogenih estrogena u protokolu**

Kada uzrok RIF nije neko kirurški korektabilno patološko stanje trebalo bi poboljšati endometrijski rast duljom primjenom estrogena.

- **Sildenafil**

Sildenafil citrat je predložen u liječenju pacijentica s RIF-om koji je povezan s tankim endometrijem. Sildenafil, inhibitor fosfodiesteraze-5, povećava vazodilatacijske učinke dušičnog oksida.

Smatra se da sildenafil povećava protok krvi kroz maternicu i dovodi do poboljšanja funkcionalnosti endometrija. (82)

- **Luteinska podrška GnRHa**

U nedavnom provedenoj case-control studiji koja je uključila 120 žena s tankim endometrijem u žena koje su primile GnRH agoniste na dan uzimanja oocita, na dan embriotransfera i tri dana

nakon njega primijećena je značajno veća koncentracija estradiola i progesterona, deblji endometrij i više stope implantacije i trudnoće u usporedbi sa ženama koje su primale placebo. (83)

- **Aspirin**

Za poboljšanje krvotoka maternice koji može poboljšati razvoj endometrija se koriste niske doze aspirina (84)

4.1.4. Endometrijska stimulacija

Mehanička endometrijska ozljeda ili stimulacija izaziva se endometrijskom biopsijom ili histeroskopijom u ciklusu koji prethodi stimulaciji ovarija za IVF poboljšava stopu implantacije u žena s neobjašnjenim RIF-om.

Smatra se da mehaničkom manipulacijom endometrija dolazi do promjena u samom endometriju, u imunološkom sustavu i genskoj ekspresiji faktora potrebnih za implantaciju što vodi poboljšanoj receptivnosti endometrija. (85)

Nerazjašnjena pitanja su treba li se endometrijska stimulacija raditi za sve žene koje idu na IVF ili treba biti ograničena samo na žene s RIF, je li bolje koristiti histeroskopiju ili endometrijsku biopsiju, postoji li benefit multiplih u odnosu na pojedinačnu biopsiju i u kojoj fazi menstruacijskog ciklusa treba izvesti stimulaciju endometrija.

4.1.5. Imunoterapija

Imunoterapija se empirijski koristi u terapiji parova s ponavljanim neuspjehom implantacije pod pretpostavkom da imunološki faktori mogu biti odgovorni za neuspjeh začeća.

Iako su neka istraživanja pokazala korisnost takve terapije, druga istraživanja ne pokazuju tako.

4.1.5.1. Intravenski imunoglobulini

Imunoterapija s intravenskim imunoglobulinima je uvedena empirijski u IVF programe i njena učinkovitost je još uvijek nepoznata.

Prema nedavno provedenoj prospektivnoj randomiziranoj studiji primjena intravenskih imunoglobulina ne poboljšava stope živorođene djece u parova s ponavljanim neobjašnjenim IVF neuspjesima (86)

4.1.5.2. Heparin

Heparin je antikoagulans koji uzrokuje modulacije osnovnih fizioloških procesa vezanih uz adherenciju blastociste, implantaciju, invaziju i diferencijaciju trofoblata i tako može povoljno utjecati na ishod trudnoće. (87)

Na implantaciju embrija utječe putem interakcije s adhezijskim molekulama, faktorima rasta, citokinima i enzimima poput matriksnih metaloproteinaza.

Fluhr i sur. (2010.) su pokazali da heparin povećava produkciju prolaktin i inzulin-like faktora rasta i inhibira proizvodnju receptora za inzulin-like faktor rasta. Ekspresija ovih proteina ima važnu ulogu u endometrijskom razvoju i receptivnosti tijekom „implantacijskog prozora“. (88)

Heparin regulira heparin-vežući epidermalni faktor rasta (EGF) koji je maksimalno ekspimiran u vrijeme implantacije pa tako promovira implantaciju, invaziju trofoblata i razvoj ranog embrija. (89)

Za heparin je dokazano da značajno povećava stope živorođene djece u žena sa stečenom trombofilijom (90) pa se razmatra mogućnost terapije heparinom kao potencijalne terapije za sve žene koje idu na IVF. Empirijska terapija heparinom se pogotovo predlaže za žene s neobjašnjenim RIF-om koje nemaju nikakve anatomske, endokrine, imunološke ili genetičke abnormalnosti te se smatra da je kod njih ključni faktor koji nepovoljno utječe na implantaciju suboptimalna endometrijska receptivnost koja bi mogla biti poboljšana primjenom heparina.

Značajno viša stopa trudnoća kod bolesnica s RIF je uočena s primjenom LMWH. (91)

Tromboprotivna terapija s LMWH je sigurna i učinkovita za žene s trombofilijom i ponavljanim IVF-ET neuspjesima. Stope implantacije, trudnoće i živorođene djece značajno su povećane s takvom terapijom. (92)

LMWH prevenira formiranje tromba i sprječava vezanje fosfolipida s protutijelima i tako štiti trofoblast od ozljeda i promovira uspješnu implantaciju i trudnoću. (93)

Prednosti LMWH u usporedbi s nefrakcioniranim heparinom su smanjen rizik od osteoporotičnih fraktura tokom trudnoće, bolja bioraspoloživost i dulji poluživot. (94)

Nedavno provedena metaanaliza o učinku heparina na ishod IVF tretmana pokazala je oprječne rezultate. (95) S jedne strane metaanaliza randomiziranih studija pokazala je da nema razlike u kliničkoj stopi trudnoća (RR 1,23, 95% CI 0,97-1,57), stopi živorođene djece (RR 1,27, 95% CI 0,89-1,81) stopi implantacije (RR 1,39, 95% CI 0,96-2,01) i stopi spontanog pobačaja (RR 0,77, 95% CI 0,24-2,42) u žena koje su uzimale heparin u usporedbi s placeboom tijekom postupka IVF-a. Međutim, metaanaliza opservacijskih studija pokazala je značajan porast u kliničkoj stopi trudnoće (RR 1,83, 95% CI 1,04-3,23, P = 0,04) i stopi živorođene djece (RR 2,64, 95% CI 1,84-3,80, P <0,0001).

Uloga heparina kao dodatne terapije tijekom postupka IVF-a zahtijeva daljnju procjenu.

4.1.5.3. Aspirin

Aspirin je inhibitor ciklooksigenaze, dovodi do inhibicije sinteze prostaglandina i tako koči agregaciju trombocita i potiče vazodilataciju i poboljšanu prokrvljenost.

Sam ili uz heparin poboljšava uterini krvotok ,a samim time i receptivnost endometrija te dovodi do povećanja stopa implantacije i živorođene djece.

Rezultat zadnje provedene metaanalize pokazuje da aspirin ne poboljšava stopu trudnoće nakon IVF. (96) Korištenje aspirina može biti povezano s povećanim rizikom od pobačaja, oštećenjem gastrointestinalne sluznice, gastrointestinalnim krvarenjem te antenatalnim, intrapartalnim i postpartalnim krvarenjem. (97) Zbog tih nuspojava aspirin se ne bi trebao rutinski davati ženama koje idu u postupak IVF.

4.1.5.4. Kombinirana terapija

U pacijentica s dokazanim antifosfolipidnim sindromom ili ponavljanim neuspjehom IVF-a, heparin i aspirin započeti od ovulacije, poboljšavaju uspjeh liječenja. (98)

Kombinirana terapija prednizolona za imunosupresiju i aspirina kao antitroboičnog sredstva dana prije indukcije ovulacije može poboljšati stope trudnoće u žena sa seropozitivnim

protutijelima (antikardiolipinska protutijela, antinuklearna protutijela, protutijela na dvolančanu DNA, reumatoidni factor). (99)

4.2. TERAPIJA EMBRIJA

Iako se prema definiciji RIF odnosi na one žene koji se ne postignu kliničku trudnoću unatoč prijenosu kvalitetnih embrija, embrijski faktori i dalje igraju važnu ulogu jer metode selekcije embrija koje se trenutno koriste nisu uvijek pouzdane.

Ti faktori uključuju dob žene, broj antralnih folikula, bazalnu koncentraciju FSH i anti-Müllerskog hormona, broj folikula proizvedenih kao odgovor na stimulaciju ovarija, broj izvučenih oocita, udio nezrelih jajnih stanica, udio kvalitetnih embrija i ukupni broj prenesenih kvalitetnih embrija.

4.2.1. Predimplantacijski genski probir (PGS)

Kod pacijentica s RIF češće se razvijaju kromosomski abnormalni embriji koji se ne implantiraju. Korištenje predimplantacijskog genskog probira (PGS) i odabir kromosomski normalnih zametaka značajno povećava broj implantacija u žena s RIF kad su analizirani 3-8 kromosomi. (100)

Taranissi i sur. (2005.) su pokazali da je PGS za kromosome 13 , 16 , 18 , 21 i 22, bio povezan s poboljšanim rezultatom u mladih žena s RIF. (101)

Međutim, Caglar i sur. (2005.) su zaključili da podatci u literaturi ne pružaju čvrste dokaze da će pacijentice s RIF imati koristi od PGS. Oni smatraju da PGS može biti korisan za razjašnjavanje uzroka učestalih neuspjeha implantacije.(102)

4.2.2. Potpomognuti hatching zametka

Potpomognuti hatching je mikromanipulacija zametka kojom se kreira otvor na zoni pellucidi mehaničkim (djelomična disekcija zone pellucide), kemijskim (drilling zone pellucide s tiroidnom kiseline) ili laserskim putem, prije ET.

Potpomognuti hatching je prihvaćena tehnika za poboljšanje implantacije i stope trudnoće nakon IVF. (103)

Sam potpomognuti hatching proces nije bez komplikacija koje uključuju oštećenje pojedinih blastomera ili embrija. Istraživanja su pokazala da je umjetna manipulacija zone pellucide povezana s povećanim rizikom od monozigotnih blizanaca. (104)

Američko društvo za reproduktivnu medicinu je 2008. godine objavilo preporuke za potpomognuti hatching. Rutinska primjena potpomognutog hatching se ne preporučuje u svim IVF ciklusima. On se predlaže za pacijentice s lošom prognozom, uključujući one s poviješću dva ili više neuspjelih IVF ciklusa, pacijentice s lošom kvalitetom embrija i žene starije od 38 godina. (105)

4.2.3. ZIFT

Za razliku od standardne IVF - ET, prijenos zigote u jajovod (ZIFT) omogućuje rani embrionalni rast u prirodnom okruženju jajovoda i transport embrija u materničnu šupljinu prirodnim, fiziološkim putem. Ova tehnika također sprječava razlijevanje zametaka nakon transcervikalnog ET i rješava tehničke poteškoće ET zbog cervikalne stenozе.

Početna istraživanja su pokazala korist ZIFT u slučajevima RIF u odnosu na standardni IVF-ET postupak, (106) no kasnija istraživanja nisu pokazala nikakvu prednost ZIFT. (107)

4.2.4. Ko-kulture

Jedna od predloženih metoda za poboljšanje uvjeta kultura je razvoj ko-kultura u kojima se koriste razne stanice. Korisni učinci ko-kulture uključuju sekreciju embriotropnih faktora, kao što su hranjive tvari, faktori rasta, citokini, ali i detoksikaciju slobodnih radikala i potencijalno štetnih tvari. (108)

Najviše obećava metoda ko-kultura koju čine homologne stanice endometrija, (109) ali većina IVF jedinica nema potrebne sadržaje i iskustvo za primjenu ko-kultura.

4.2.5. Prijenos blastociste

Od uvođenja IVF embriji su se rutinski prenosili u maternicu u stadiju od 2-8 stanica (2-3 dana), u vrijeme kada bi prirodno bili u jajovodu. Prijenos embrija u fazi blastociste je više fiziološki pristup jer će embriji ući u šupljinu maternice samo 5 dana nakon oplodnje, na morula-blastocista stadiju. Aktivacija embrionalnog genoma događa u stadiju of 8-10 stanica. Do ove faze, embrionalni razvoj ovisi samo o jajnoj stanici.

Prijenos u fazi blastociste kod pacijentica s RIF dovodi do znatno viših stopa implantacije i živorođene djece. (110)

Transfer blastociste poboljšava stope implantacije omogućujući bolji odabir embrija i bolji sinkronicitet između embrija i endometrija.

4.2.6. Poboljšanje u tehnici embriotransfera

Metaanaliza randomiziranih istraživanja je pokazala da dolazi do značajno više stope trudnoće kada je embriotransfer vođen atraumatskim ultrazvukom i kad su embriji deponirani u središnjem dijelu maternične šupljine. (111)

4.3. MULTIFAKTORSKE TERAPIJSKE OPCIJE

4.3.1. Terapija endometrioze i adenomioze

4.3.1.1. Terapija endometrioze

Razni kirurški i medikamentozni pristupi se koriste kako bi se poboljšao rezultat IVF u žena s endometriozaom.

KIRURŠKI PRISTUPI;

- Laparoskopna cistektomija endometrioma
- Laserska vaporizacija (kauterizacija) unutrašnjeg zida endometrioma
- Ultrazvučna aspiracija endometrijskih cista

MEDIKAMENTOZNI PRISTUPI ;

- Imunoterapija s kortikosteroidima
- Danazol
- GnRH analozi

Predtretman žena s endometriozom analogizma GnRH u trajanju minimalno tri mjeseca do šest mjeseci prije IVF povećava šansu za trudnoću četiri puta. (112)

Učinak se pripisuje s jedne strane poboljšanju kvalitete oocita, dok s druge strane dolazi do poboljšanja receptivnosti maternice što vodi boljoj implantaciji i smanjuje šansu za rani spontani pobačaj. (113)

Nije poznato je li ova terapija jednako uspješna i za blagi i teški oblik endometrioze te je li jedan tip GnRH agonista superiorniji drugom. Također je primjećeno da dolazi do povećanog broja izvučenih oocita što vodi većem broju kvalitetnih embrija.

Većina istraživača se slaže da nema koristi od odstranjivanja endometrioma prije IVF.

Preporučuje se ići izravno u postupak IVF i tako izbjeći moguće kirurške komplikacije i ograničiti troškove pacijenata. Operacija bi se trebala izvoditi samo u prisutnosti velikih cista, za liječenje pelvične boli, pogotovo one koja se povećava pri kontroliranoj stimulaciji ovarija ili kada se zloćudna bolest ne može pouzdano isključiti. (114)

4.3.1.2. Terapija adenomioze

Kirurška intervencija u slučaju adenomioze je tehnički zahtjevnija od miomektomije jer ne postoji definirana kapsula i izrezivanje adenomioze često zahtijeva uklanjanje dijela zida maternice. Tremellen Russell i sur. (2011.) su izvijestili o četiri slučaja adenomioze povezane s RIF koja su uspješno liječena s iznimno dugim protokolom down-regulacije hipofize.(115)

4.3.2. Terapija saktosalpinksa

U terapiji saktosalpinksa se koriste:

- **salpingektomija**

- **salpingostomija**
- **aspiracija tekućine hidrosalpinksa pod kontrolom UZV**
- **okluzija početnog dijela jajovoda**

4.3.2.1. Salpingektomija

Dokazano je da laparoskopsko uklanjanje hidrosalpinksa poboljšava stope implantacije i poroda živorođene djece u žena koje su podvrgnute IVF. (116)

Salpingektomija također smanjuje šansu za pojavom izvanmaternične trudnoće prilikom IVF-a.

Međutim, kako je salpingektomija kirurški zahvat koji stvara dodatne troškove otvorena je rasprava o tome treba li rutinski ukloniti sve hidrosalpinkse prije IVF. Strandell i sur. (2005.) su zaključili da je isplativije rutinski ukloniti hidrosalpinkse prije postupka IVF. (117)

Postoje izvještaji o tome kako salpingektomija dovodi do promjena u funkciji jajnika i kompromitira odgovor jajnika na stimulaciju za vrijeme sljedećeg postupka IVF,a postoji i mogućnost od komplikacija u vidu infekcija i krvarenja.

4.3.2.2. Salpingostomija

Preporučuje se da se u žena s hidrosalpinsom koji minimalno oštećuje jajovod u obzir uzme salpingostomija, dok se kod opsežno oštećenih jajovoda, pogotovo ako su prisutne intraluminalne priraslice, treba napraviti salpingektomija. (118)

Nedostatak salpingostomije je mogući recidiv hidrosalpinksa koji onda zahtijeva salpingektomiju i dodatno odgađa liječenje i stvara dodatne troškove.

4.3.2.3. Aspiracija tekućine hidrosalpinksa pod kontrolom UZV

Aspiracija tekućine hidrosalpinksa pod kontrolom UZV je metoda terapije koja se može primijeniti i za vrijeme vađenja oocita. Utvrđeno je da ultrazvukom vođena kirurška drenaža hidrosalpinksa povećava biokemijsku ali ne i kliničku stopu trudnoće. (119)

Transvaginalna aspiracija hidrosalpinksa se ne preporučuje zbog niza razloga; njena učinkovitost nije dokazana, postoji rizik od infekcije nakon provedenog postupka te se tekućina može naglo reakumulirati.

4.3.2.4. Okluzija proksimalnog dijela jajovoda

Dodatna metoda terapije hidrosalpinksa koja se predlaže je okluzija proksimalnog dijela jajovoda u svrhu spriječavanja pražnjenja tekućine hidrosalpinksa u šupljinu maternice. Prednosti ove metode su jednostavnost izvedbe i manja vjerojatnost ometanja prokrvljenosti jajnika.

Nedavno provedeno ispitivanje je pokazalo da okluzija proksimalnog dijela jajovoda i salpingektomija imaju sličan rezultat što se tiče poboljšanja ishoda IVF u pacijentica s hidrosalpinksom. (120)

Daljnja istraživanja su pokazala da je laparoskopna okluzija jajovoda alternativa laparoskopnoj salpingektomiji u poboljšanju stope trudnoće nakon IVF za žene s hidrosalpinksom. (121)

Međutim, okluzija proksimalnog dijela jajovoda ostavlja jajovod blokiran na proksimalnom i distalnom kraju, sa zarobljenom tekućinom između, čime se povećava rizik od infekcije, trajne boli i vjerojatnost za potrebom daljnjeg kirurškog postupka uklanjanja oboljelog jajovoda.

Kod pacijentica s teškim zdjeličnim priraslicama za koje se očekuje da će operacija imati povećan rizik, poput ozljede crijeva, treba uzeti u obzir histeroskopsko začepljenje jajovoda jer se tako izbjegava potreba za laparoskopskom ili otvorenom operacijom. (122)

Zaključno, liječenje hidrosalpinksa u žena s RIF treba biti bilo salpingektomijom ili salpingostomijom, a proksimalnu okluziju jajovoda treba rezervirati samo za slučajeve teških tuboovarijskih priraslica kada je morbiditet od operacije značajno povišen.

4.3.3. Promjena stila života

4.3.3.1. Prestanak pušenja cigareta

Žene koje puše cigarete treba savjetovati da prestanu jer postoje dokazi da je pušenje povezano s povećanom potrebom gonadotropina za stimulaciju jajnika, smanjenim brojem izvučenih oocita, većim brojem otkazanih ciklusa, nižim stopama implantacije i ponavljanim neuspjesima implantacije poslije IVF.

Muške partnere žena s RIF također treba savjetovati da se suzdrže od pušenja zbog štetnog učinka na broj i pokretljivost sperme, porasta broja abnormalno građenih spermija i oštećenja DNA sperme. (123)

4.3.3.2. Postizanje normalnog indeksa tjelesne težine

Pothranjene žene (indeks tjelesne težine $< 19 \text{ kg/m}^2$) treba poticati da se udebljaju, a pretile žene (indeks tjelesne težine $> 29 \text{ kg/m}^2$) treba savjetovati da izgube na težini prije daljnjih pokušaja IVF.

4.3.3.3. Prestanak konzumacije alkohola

Konzumacija alkohola u trudnoći povezana je s povećanim rizikom od spontanog pobačaja, prijevremenog poroda i niske porođajne težine djeteta. (124)

Žene s RIF treba savjetovati da se smanje konzumaciju alkohola na jednu ili dvije čaše jednom ili dva puta tjedno kada pokušavaju zatrudnjeti (125) ili da se u potpunosti suzdrže od alkohola.

4.3.4. Terapija poremećaja štitne žlijezde

Trudnice sa subkličkom hipotireozom imaju povećani rizik od nepovoljnog ishoda trudnoće.

Rezultat metaanalize je pokazao da se terapija levotiroksinom (LT4) treba preporučiti ženama sa subkličkom hipotireozom i/ili autoimunom bolesti štitnjače koje idu u postupak IVF jer ona poboljšava klinički ishod trudnoće. (126)

4.3.5. Psihološka pomoć

Psihološka pomoć se preporučuje prije i za vrijeme postupka IVF jer stres može interferirati s postupkom IVF. Iako nema čvrstih dokaza o korisnosti psihološke terapije na ishod IVF-a nedavno provedena metaanaliza je pokazala pozitivan učinak savjetovanja na IVF uspjeh. Psihoterapija (grupna i individualna) smanjuje anksioznost i depresiju i tako povećava šansu za uspjeh IVF. (127)

5. ZAKLJUČAK

Za uspješnu implantaciju embrija su bitna dva faktora, receptivan endometrij i kvalitetan embrij. Do neuspješne implantacije može doći zbog patoloških stanja majke, kao što su anatomske abnormalnosti maternice, nereceptivan endometrij, trombofilija i abnormalni imunološki odgovor. Također, implantacija će biti neuspješna ako su prisutni poremećaji embrija, bilo zbog faktora iz očeve sperme ili iz jajne stanice. U skladu s tim, u obradi i liječenju pacijentica s RIF treba se usredotočiti i na muške i ženske faktora rizika koje treba liječiti na odgovarajući način kada se identificiraju.

Poznati su brojni uzroci koji nepovoljno utječu na implantaciju, a ipak se za najveći dio ponavljanih implantacijskih neuspjeha najčešće ne zna točan uzrok. Posljedica toga je velika raznolikost u postupcima rješavanja ovog problema.

Svaka pacijentica koja ide u postupak izvantjelesne oplodnje trebala bi promijeniti štetne navike (pušenje cigareta, alkohol), regulirati tjelesnu težinu, ali se i psihički pripremiti.

Nakon tri neuspjela pokušaja IVF preporučuje se ponoviti histeroskopku procjenu maternice. Prema potrebi mogu se napraviti i druge anatomske pretrage.

Ako se pronađe anatomska abnormalnost koja se povezuje s neuspješnom implantacijom terapijske opcije su septektomija, adhezioliza, polipektomija, miomektomija, salpingektomija/salpingostomija/okluzija proksimalnog dijela jajovoda.

Posebno je važno isključiti postojanje endometrioze i adenomioze. U terapiji endometrioze korisna se pokazala terapija GnRH agonistima, dok se operacija izvodi samo u prisutnosti velikih cista, za liječenje pelvične boli, pogotovo one koja se povećava pri kontroliranoj stimulaciji ovarija ili kada se zloćudna bolest ne može pouzdano isključiti.

Važna je hormonska procjena kvalitete ciklusa u kojem se radi IVF/ICSI, kao i debljina endometrija. Tanak, nereceptivan endometrij koji se može detektirati za vrijeme ultrazvučnog pregleda na dan aplikacije HCG ili ET često ne reagira na dostupnu terapiju (duža primjena estrogena, primjena sildenafil, aspirina i analoga GnRH).

Potrebno je napraviti kompletnu laboratorijsku obradu da se isključi postojanje trombofilije, imunoloških bolesti i hipotireoze.

U terapiji trombofilije se predlaže terapija s niskomolekularnim heparinom (LMWH), dok je u terapiji antifosfolipidnog sindroma korisna kombinirana terapija aspirina i kortikosteroida.

Empirijska terapija s LMWH, aspirinom ili kortikosteroidima se nije pokazala učinkovitom i ne preporučuje se za pacijentice s RIF koje su negativne na trombofiliju.

Terapija levotiroksinom poboljšava ishod trudnoće u žena sa subkliničkom hipotireozom i/ili autoimunom bolesti štitnjače koje idu u postupak IVF.

Potrebno je odrediti kariotip para s RIF i u slučaju abnormalnog nalaza se može ponuditi predimplantacijski genski probir. U terapiji embrija se koristi potpomognuti hatching, ZIFT, prijenos blastociste i ko-kulture.

6. ZAHVALE

Veliko hvala mome mentoru, prof.dr.sc. Branku Radakoviću na pruženoj prilici izrade ovog diplomskog rada u KBC Zagreb – Klinika za ženske bolesti i porode.

Zahvaljujem se na vodstvu, velikoj pomoći i svim savjetima tokom izrade i pisanja ovog rada.

Zahvaljujem se obitelji, rodbini i prijateljima na podršci, razumijevanju i potpori tijekom cijelog studija.

7. POPIS LITERATURE

1. Radunović i suradnici, Novine u humanoј reprodukciji, gde smo danas? 2013; B. Radaković, Ponavljani implantacijski neuspjeh poslije IVF/ICSI: Klinički pristup,143-145
2. Taylor E, Gomel V. The uterus and fertility. *Fertil Steril.* 2008 Jan;89(1):1-16.
3. DU H, Taylor HS. Molecular regulation of mullerian development by Hox genes. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Dec;1034:152-65.
4. Daftary GS, Taylor HS. Implantation in the human: the role of HOX genes. *Semin Reprod Med.* 2000;18(3):311-20.
5. Raga F, Bauset C, Remohi J, Bonilla-Musoles F, Simón C, Pellicer A. Reproductive impact of congenital Müllerian anomalies. *Hum Reprod.* 1997 Oct;12(10):2277-81.
6. Fedele L, Bianchi S, Marchini M, Franchi D, Tozzi L, Dorta M. Ultrastructural aspects of endometrium in infertile women with septate uterus. *Fertil Steril.* 1996 Apr;65(4):750-2.
7. E. Makrakis, K. Pantos. The outcomes of hysteroscopy in women with implantation failures after in-vitro fertilization: findings and effect on subsequent pregnancy rates. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2010;22:339-343.
8. V.C. Buttram Jr., R. Reiter. Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology, and management. *Fertil. Steril.* 1981;36:433-445.
9. E.A. Pritts, W.H. Parker, D.L. Olive. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil. Steril.* 2009;91:1215-1223.
10. T. Eldar-Geva, S. Meagher, D.L. Healy, V. MacLachlan, S. Breheny, C. Wood. Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment. *Fertil. Steril.* 1998;70:687-691.
11. R. Hart, Y. Khalaf, C.T. Yeong, P. Seed, A. Taylor, P. Braude. A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum. Reprod.* 2001;16:2411-2417.
12. S.K. Sunkara, M. Khairy, T. El-Toukhy, Y. Khalaf, A. Coomarasamy. The effect of intramural fibroids without uterine cavity involvement on the outcome of IVF treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod.* 2010;25:418-429.
13. Rackow BW, Jorgensen E, Taylor HS. Endometrial polyps affect uterine receptivity. *Fertil Steril.* 2011 Jun 30;95(8):2690-2.

14. A. Demiroglu, T. Gurgan. Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod. Biomed. Online*. 2004;8:590-594.
15. M. Bloechle. What is a hydrosalpinx? A plea for the use of a proper terminology in scientific discussion. *Hum. Reprod.* 1999;14:578.
16. Strandell A, Waldenstrom U, Nilsson L, Hamberger L. Hydrosalpinx reduces in-vitro fertilization/embryo transfer pregnancy rates. *Hum Reprod* 1994;9:861-3)
17. Daftary GS, Taylor HS. Hydrosalpinx fluid diminishes endometrial cell HOXA10 expression. *Fertil Steril*. 2002 Sep;78(3):577-80.
18. Wheeler JM. Epidemiology of endometriosis-associated infertility. *J Reprod Med*. 1989 Jan;34(1):41-6.
19. Kyama CM, Overbergh L, Mihalyi A, Meuleman C, Mwenda JM, Mathieu C, D'Hooghe TM. Endometrial and peritoneal expression of aromatase, cytokines, and adhesion factors in women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2008 Feb;89(2):301-10.
20. Hunter RH, Cicinelli E, Einer-Jensen N. Peritoneal fluid as an unrecognised vector between female reproductive tissues. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2007;86(3):260-5.
21. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet* 2004; 364:1789-99.
22. Perdichizzi A, Nicoletti F, La Vignera S, Barone N, D'Agata R, Vicari E, Calogero AE. Effects of tumour necrosis factor-alpha on human sperm motility and apoptosis. *J Clin Immunol*. 2007 Mar;27(2):152-62.
23. Akoum A, Al-Akoum M, Lemay A, Maheux R, Leboeuf M. Imbalance in the peritoneal levels of interleukin 1 and its decoy inhibitory receptor type II in endometriosis women with infertility and pelvic pain. *Fertil Steril*. 2008 Jun;89(6):1618-24.
24. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev*. 2009 Aug;30(5):465-93.
25. Xue Q, Lin Z, Yin P, Milad MP, Cheng YH, Confino E, Reierstad S, Bulun SE. Transcriptional activation of steroidogenic factor-1 by hypomethylation of the 5' CpG island in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Aug;92(8):3261-7.
26. Noël JC, Borghese B, Vaiman D, Fayt I, Anaf V, Chapron C. Steroidogenic factor-1 expression in ovarian endometriosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010

- May;18(3):258-61.
27. Mendelson CR. Minireview: fetal-maternal hormonal signaling in pregnancy and labor. *Mol Endocrinol.* 2009 Jul;23(7):947-54.
 28. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2002 Jun;77(6):1148-55.
 29. Pellicer A, Navarro J, Bosch E, Garrido N, Garcia-Velasco JA, Remohí J, Simón C. Ann N Y. Endometrial quality in infertile women with endometriosis *Acad Sci.* 2001 Sep;943:122-30.
 30. Garrido N, Navarro J, Remohí J, Simón C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2000 Jan-Feb;6(1):67-74.
 31. A. Maheshwari, S. Gurunath, F. Fatima, S. Bhattacharya. Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes. *Hum. Reprod. Update.* 2012;18:374-392
 32. Qublan HS, Eid SS, Ababneh HA, Amarin ZO, Smadi AZ, Al-Khafaji FF, Khader YS. Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure. *Hum Reprod.* 2006 Oct;21(10):2694-8.
 33. Baré SN, Póka R, Balogh I, Ajzner E. Factor V Leiden as a risk factor for miscarriage and reduced fertility. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2000 May;40(2):186-90.
 34. Glueck CJ, Kupfermanc MJ, Fontaine RN, Wang P, Weksler BB, Eldor A. Genetic hypofibrinolysis in complicated pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2001 Jan;97(1):44-8.
 35. Di Nisio M, Rutjes AW, Ferrante N, Tiboni GM, Cuccurullo F, Porreca E. Blood. Thrombophilia and outcomes of assisted reproduction technologies: a systematic review and meta-analysis. 2011 Sep 8;118(10):2670-8.
 36. Kupfermanc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Fait G, Lessing JB. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999 Jan 7;340(1):9-13.
 37. E. Grandone, D. Colaizzo, A. Lo Bue, M.G. Checola, E. Cittadini, M. Margaglione. Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure. *Fertil.*

- Steril. 2001;76:201-202.
38. Silver RM, Branch DW. Recurrent miscarriage: autoimmune considerations. *Clin Obstet Gynecol.* 1994 Sep;37(3):745-60.
 39. Poppe K, Glinoeer D, Tournaye H, Schiettecatte J, Devroey P, van Steirteghem A, Haentjens P, Velkeniers B. Impact of ovarian hyperstimulation on thyroid function in women with and without thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Aug;89(8):3808-12.
 40. Mintziori G, Goulis DG, Toulis KA, Venetis CA, Kolibianakis EM, Tarlatzis BC. Thyroid function during ovarian stimulation: a systematic review. *Fertil Steril.* 2011 Sep;96(3):780-5.
 41. Krassas GE, Poppe K, Glinoeer D. Thyroid function and human reproductive health. *Endocr Rev.* 2010 Oct;31(5):702-55.
 42. Kim NY, Cho HJ, Kim HY, Yang KM, Ahn HK, Thornton S, Park JC, Beaman K, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Thyroid autoimmunity and its association with cellular and humoral immunity in women with reproductive failures. *Am J Reprod Immunol.* 2011 Jan;65(1):78-87.
 43. Huang KE, Muechler EK, Schwarz KR, Goggin M, Graham MC. Serum progesterone levels in women treated with human menopausal gonadotropin and human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1986 Nov;46(5):903-6.
 44. Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2003 Dec;80(6):1444-9.
 45. Venetis CA, Kolibianakis EM, Papanikolaou E, Bontis J, Devroey P, Tarlatzis BC. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2007 Jul-Aug;13(4):343-55.
 46. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Jenkins J, Pellicer A. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Hum Reprod.* 2010

Aug;25(8):2092-100.

47. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update*. 2006 Nov-Dec;12(6):731-46.
48. Hofmann GE, Bentzien F, Bergh PA, Garrisi GJ, Williams MC, Guzman I, Navot D. Premature luteinization in controlled ovarian hyperstimulation has no adverse effect on oocyte and embryo quality. *Fertil Steril*. 1993 Oct;60(4):675-9.
49. Veleva Z, Tiitinen A, Vilska S, Hydén-Granskog C, Tomás C, Martikainen H, Tapanainen JS. High and low BMI increase the risk of miscarriage after IVF/ICSI and FET , *Hum Reprod*. 2008 Apr;23(4):878-84.
50. González RR, Caballero-Campo P, Jasper M, Mercader A, Devoto L, Pellicer A, Simon C. Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Dec;85(12):4883-8.
51. Sneed ML, Uhler ML, Grotjan HE, Rapisarda JJ, Lederer KJ, Beltsos AN. Body mass index: impact on IVF success appears age-related . *Hum. Reprod.* (2008) 23 (8):1835-1839.
52. Luke B, Brown MB, Stern JE, Missmer SA, Fujimoto VY, Leach R; SART Writing Group. Female obesity adversely affects assisted reproductive technology (ART) pregnancy and live birth rates. *Hum Reprod*. 2011 Jan;26(1):245-52.
53. Fedorcsák P, Dale PO, Storeng R, Ertzeid G, Bjercke S, Oldereid N, Omland AK, Abyholm T, Tanbo T. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod*. 2004 Nov;19(11):2523-8.
54. Dokras A, Baredziak L, Blaine J, Syrop C, VanVoorhis BJ, Sparks A. Obstetric outcomes after in vitro fertilization in obese and morbidly obese women. *Obstet Gynecol*. 2006 Jul;108(1):61-9.
55. Giudice LC. Endometrium in PCOS: Implantation and predisposition to endocrine CA. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jun;20(2):235-44.
56. Waylen AL, Metwally M, Jones GL, Wilkinson AJ, Ledger WL. Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. *Hum Reprod*

- Update. 2009 Jan-Feb;15(1):31-44.
57. Sharara FI, Beatse SN, Leonardi MR, Navot D, Scott RT Jr. Cigarette smoking accelerates the development of diminished ovarian reserve as evidenced by the clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril*. 1994 Aug;62(2):257-62.
 58. Zenzes MT. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Hum Reprod Update*. 2000 Mar-Apr;6(2):122-31.
 59. Shiloh H, Lahav-Baratz S, Koifman M, Ishai D, Bidder D, Weiner-Meganzi Z, Dirnfeld M. The impact of cigarette smoking on zona pellucida thickness of oocytes and embryos prior to transfer into the uterine cavity. *Hum Reprod*. 2004 Jan;19(1):157-9.
 60. Shiverick KT, Salafia C. Cigarette smoking and pregnancy I: ovarian, uterine and placental effects. *Placenta*. 1999 May;20(4):265-72.
 61. Benedict MD, Missmer SA, Vahratian A, Berry KF, Vitonis AF, Cramer DW, Meeker JD. Secondhand tobacco smoke exposure is associated with increased risk of failed implantation and reduced IVF success. *Hum Reprod*. 2011 Sep;26(9):2525-31.
 62. Boivin J., Griffiths E., Venetis C.A. Emotional distress in infertile women and failure of assisted reproductive technologies: meta-analysis of prospective psychosocial studies. *BMJ* 2011;342:d223.
 63. A.P. Ferraretti, A. La Marca, B.C. Fauser, B. Tarlatzis, G. Nargund, L. Gianaroli. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum. Reprod.* 2011;26:1616-1624.
 64. L.Y. Wang, D.H. Wang, X.Y. Zou, C.M. Xu. Mitochondrial functions on oocytes and preimplantation embryos. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2009;10:483-492.
 65. M.F. Verberg, M.J. Eijkemans, N.S. Macklon, E.M. Heijnen, E.B. Baart, F.P. Hohmann, B.C. Fauser, F.J. Broekmans. The clinical significance of the retrieval of a low number of oocytes following mild ovarian stimulation for IVF: a meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*. 2009;15:5-12.
 66. I.D. Morris. Sperm DNA damage and cancer treatment. *Int. J. Androl.* 2002;25:255-261
 67. R. Fernandez-Gonzalez, P.N. Moreira, M. Perez-Crespo, M. Sanchez-Martin, M.A. Ramirez, E. Pericuesta, A. Bilbao, P. Bermejo-Alvarez, J. de Dios Hourcade, F.R. de

- Fonseca, A. Gutierrez-Adan. Long-term effects of mouse intracytoplasmic sperm injection with DNA-fragmented sperm on health and behavior of adult offspring. *Biol. Reprod.* 2008;78:761-772.
68. J.A. Collins, K. Barnhart, P.N. Schlegel. Do sperm DNA integrity tests predict pregnancy with in vitro fertilization?. *Fertil. Steril.* 2008;89:823-831.
69. M. Campana, A. Serra, G. Neri. Role of chromosome aberrations in recurrent abortion: a study of 269 balanced translocations. *Am. J. Med. Genet.* 1986;24:341-356.
70. C. Stern, M. Pertile, H. Norris, L. Hale, H.W. Baker. Chromosome translocations in couples with in-vitro fertilization implantation failure. *Hum. Reprod.* 1999;14:2097-2101.
71. T. Shokeir, M. Abdelshaheed. Sonohysterography as a first-line evaluation for uterine abnormalities in women with recurrent failed in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil. Steril.* 2009;91:1321-1322.
72. Demiroglu, T. Gurgan. Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod. Biomed. Online.* 2004;:590-594.
73. E. Makrakis, K. Pantos. The outcomes of hysteroscopy in women with implantation failures after in-vitro fertilization: findings and effect on subsequent pregnancy rates. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2010;22:339-343.
74. Coughlan, C., Yuan, Xi, Demiroglu, A., Ledger, W., Li, T.C. Factors affecting the outcome of 'Endometrial Scratch' in women with recurrent implantation failure. *J. Reprod. Med.*, in press.
75. Demiroglu, T. Gurgan. Effect of treatment of intrauterine pathologies with office hysteroscopy in patients with recurrent IVF failure. *Reprod. Biomed. Online.* 2004;:590-594).
76. E.A. Pritts, W.H. Parker, D.L. Olive. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil. Steril.* 2009;91:1215-1223.
77. J. Rabinovici, M. David, H. Fukunishi, Y. Morita, B.S. Gostout, E.A. Stewart, MRgFUS Study Group. Pregnancy outcome after magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery (MRgFUS) for conservative treatment of uterine fibroids. *Fertil.*

Steril.2010;93:199-209.

78. J. Bosteels, S. Weyers, P. Puttemans, C. Panayotidis, B. Van Herendael, V. Gomel, B.W. Mol, C. Mathieu, T. D'Hooghe. The effectiveness of hysteroscopy in improving pregnancy rates in subfertile women without other gynaecological symptoms: a systematic review. *Hum. Reprod. Update.* 2010;16:1-11.
79. Lavergne N, Aristizabal J, Zarka V, Erny R, Hedon B. Uterine anomalies and in vitro fertilization: what are the results? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996 Sep;68(1-2):29-34.
80. H. Ban-Frangez, T. Tomazevic, I. Virant-Klun, I. Verdenik, M. Ribic-Pucelj, E.V. Bokal. 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;146:184-187.
81. C.M. March. Management of Asherman's syndrome. *Reprod. Biomed. Online.* 2011;23:63-76.
82. G. Sher, J.D. Fisch. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil. Steril.* 2002;78:1073-1076.
83. H. Qublan, Z. Amarin, M. Al-Qudah, F. Diab, M. Nawasreh, S. Malkawi, M. Balawneh. Luteal phase support with GnRH-a improves implantation and pregnancy rates in IVF cycles with endometrium of $< \text{or} = 7$ mm on day of egg retrieval. *Hum. Fertil. (Camb.)*. 2008;11:43-47.
84. Weckstein LN, Jacobson A, Galen D, Hampton K, Hammel J. Low-dose aspirin for oocyte donation recipients with a thin endometrium: prospective, randomized study. *Fertil Steril.* 1997 Nov;68(5):927-30.
85. A. Barash, N. Dekel, S. Fieldust, I. Segal, E. Schechtman, I. Granot. Local injury to the endometrium doubles the incidence of successful pregnancies in patients undergoing in vitro fertilisation. *Fertil. Steril.* 2003;79:1317-1322.
86. Stephenson MD, Fluker MR. Treatment of repeated unexplained in vitro fertilization failure with intravenous immunoglobulin: a randomized, placebo-controlled Canadian

- trial. *Fertil Steril*. 2000 Dec;74(6):1108-13.
87. Scott M.Nelson, Ian A.Greer, 2008. The potential role of heparin in assisted conception. *Human Reproduction Update*, Vol.14, No.6 pp.623-645.
 88. Fluhr H, Spratte J, Ehrhardt J, Steinmüller F, Licht P, Zygmunt M. Heparin and low-molecular-weight heparins modulate the decidualization of human endometrial stromal cells. *Fertil Steril*. 2010 May 15;93(8):2581-7.
 89. Tamada H, Higashiyama C, Takano H, Kawate N, Inaba T, Sawada T. The effects of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor on preimplantation-embryo development and implantation in the rat. *Life Sci*. 1999;64(22):1967-73.
 90. Fiedler K, Würfel W. Effectivity of heparin in assisted reproduction. *Eur J Med Res*. 2004 Apr 30;9(4):207-14.
 91. Lodigiani C, Di Micco P, Ferrazzi P, Librè L, Arfuso V, Polatti F, Benigna M, Rossini R, Morengi E, Rota L, Brenner B. Low-molecular-weight heparin in women with repeated implantation failure. *Womens Health (Lond Engl)*. 2011 Jul;7(4):425-31.
 92. Qublan H, Amarin Z, Dabbas M, Farraj AE, Beni-Merei Z, Al-Akash H, Bdoor AN, Nawasreh M, Malkawi S, Diab F, Al-Ahmad N, Balawneh M, Abu-Salim A . Low-molecular-weight heparin in the treatment of recurrent IVF-ET failure and thrombophilia: a prospective randomized placebo-controlled trial. *Hum Fertil (Camb)*. 2008 Dec;11(4):246-53.
 93. Ermel LD, Marshburn PB, Kutteh WH. Interaction of heparin with antiphospholipid antibodies (APA) from the sera of women with recurrent pregnancy loss (RPL). *Am J Reprod Immunol*. 1995 Jan;33(1):14-20.
 94. Sanson BJ, Lensing AW, Prins MH, Ginsberg JS, Barkagan ZS, Lavenne-Pardonge E, Brenner B, Dulitzky M, Nielsen JD, Boda Z, Turi S, Mac Gillavry MR, Hamulyák K, Theunissen IM, Hunt BJ, Büller HR. Safety of low-molecular-weight heparin in pregnancy: a systematic review. *Thromb Haemost*. 1999 May;81(5):668-72.
 95. Seshadri S, Sunkara SK, Khalaf Y, El-Toukhy T, Hamoda H. Effect of heparin on the outcome of IVF treatment: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2012 Dec;25(6):572-84.

96. Groeneveld E, Broeze KA, Lambers MJ, Haapsamo M, Dirckx K, Schoot BC, Salle B, Duvan CI, Schats R, Mol BW, Hompes PG; IPD MARIA study group. Is aspirin effective in women undergoing in vitro fertilization (IVF)? Results from an individual patient data meta-analysis (IPD MA). *Hum Reprod Update*. 2011 Jul-Aug;17(4):501-9.
97. Daya S. Recurrent spontaneous early pregnancy loss and low dose aspirin. *Minerva Ginecol*. 2003 Oct;55(5):441-9.
98. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 May;174(5):1584-9.
99. Geva E, Amit A, Lerner-Geva L, Yaron Y, Daniel Y, Schwartz T, Azem F, Yovel I, Lessing JB. Prednisone and aspirin improve pregnancy rate in patients with reproductive failure and autoimmune antibodies: a prospective study. *Am J Reprod Immunol*. 2000 Jan;43(1):36-40.
100. S. Munne. Preimplantation Genetic Diagnosis and Human Implantation—A Review. *Placenta* (2003), 24, S70–S76.
101. Taranissi M, El-Toukhy T, Gorgy A, Verlinsky Y. Influence of maternal age on the outcome of PGD for aneuploidy screening in patients with recurrent implantation failure. *Reprod Biomed Online*. 2005 May;10(5):628-32.
102. Caglar GS, Asimakopoulos B, Nikolettos N, Diedrich K, Al-Hasani S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in repeated implantation failure. *Reprod Biomed Online*. 2005 Mar;10(3):381-8.
103. American Society Reproductive Medicine. The role of assisted hatching in in vitro fertilization: a review of the literature. *Fertil. Steril.* 2008;90.
104. A. Hershlag, T. Paine, G.W. Cooper, G.M. Scholl, K. Rawlinson, G. Kvapil. Monozygotic twinning associated with mechanical assisted hatching. *Fertil. Steril.* 1999;71:144-146.
105. R.T. Mansour, C.A. Rhodes, M.A. Aboulghar, G.I. Serour, A. Kamal. Transfer of zona-free embryos improves outcome in poor prognosis patients: a prospective randomized controlled study. *Hum. Reprod.* 2000;15:1061-1064.

- 106.D. Levrán, S. Mashiach, J. Dor, J. Levron, J. Farhi. Zygote intrafallopian transfer may improve pregnancy rate in patients with repeated failure of implantation. *Fertil. Steril.* 1998;69:30.
- 107.A. Habana, S.F. Palter. Is tubal embryo transfer of any value? A meta analysis and comparison with the society for assisted reproductive technology database. *Fertil. Steril.* 2001;76:293.
- 108.Simón C, Mercader A, Garcia-Velasco J, Nikas G, Moreno C, Remohí J, Pellicer A. Coculture of human embryos with autologous human endometrial epithelial cells in patients with implantation failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Aug;84(8):2638-46.
- 109.Jayot S, Parneix I, Verdaguer S, Discamps G, Audebert A, Emperaire JC. Coculture of embryos on homologous endometrial cells in patients with repeated failures of implantation. *Fertil Steril.* 1995 Jan;63(1):109-14.
- 110.F.Guerif, R.Bidault, O.Gasnier, M.L.Couet, O.Gervereau, J.Lansac, D.Royere. Efficacy of blastocyst transfer after implantation failure. *Reprod. Biomed. Online.* 2004;9:630-636.
- 111.Sallam HN. Embryo transfer: factors involved in optimizing the success. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2005 Jun;17(3):289-98.
- 112.Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Jan 25;(1).
- 113.Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, Schoolcraft WB. Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 2002 Oct;78(4):699-704.
- 114.Garcia-Velasco JA, Somigliana E. Management of endometriomas in women requiring IVF: to touch or not to touch. *Hum Reprod.* 2009 Mar;24(3):496-501.
- 115.Tremellen K, Russell P. Adenomyosis is a potential cause of recurrent implantation failure during IVF treatment. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2011 Jun;51(3):280-3.
- 116.Strandell A, Lindhard A, Waldenstorm U, Thorburn J. Hydrosalpinx and IVF outcome: cumulative results after salpingectomy in a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2001;16:2403-10.

117. A. Strandell, A. Lindhard, I. Eckerlund. Cost – effectiveness analysis of salpingectomy prior to IVF, based on a randomized controlled trial. *Hum. Reprod.* 2005;20:3284-3292
118. J.B. Dubuisson, C. Chapron, P. Morice, F.X. Aubriot, H. Foulot, J. Bouquet de Joliniere. Laparoscopic salpingostomy: fertility results according to the tubal mucosal appearance. *Hum. Reprod.* 1994;9:334-339.
119. N. Hammadieh, A. Coomarasamy, B. Ola, S. Papaioannou, M. Afnan, K. Sharif. Ultrasound-guided hydrosalpinx aspiration during oocyte collection improves pregnancy outcome in IVF: a randomized controlled trial. *Hum. Reprod.* 2008;23:1113-1117.
120. A. Kontoravdis, E. Makrakis, K. Pantos, D. Botsis, E. Deligeoroglou, G. Creatsas. Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx. *Fertil. Steril.* 2006;86:1642-1649.
121. N. Johnson, S. van Voorst, M.C. Sowter, A. Strandell, B.W. Mol. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;20:CD002125.
122. V. Mijatovic, S. Veersema, Mh. Emanuel, R. Schats, P.G. Hompes. Essure hysteroscopic tubal occlusion device for the treatment of hydrosalpinx prior to in-vitro fertilization - embryo transfer in patients with a contraindication for laparoscopy. *Fertil. Steril.* 2010;93:1338-1342.
123. R.J. Potts, C.J. Newbury, G. Smith, L.J. Notarianni, T.M. Jefferies. Sperm chromatin damage associated with male smoking. *Mutat. Res.* 1999;423:103-111.
124. R.A. Mukherjee, S. Hollins, M.T. Abou-Saleh, J. Turk. Low level alcohol consumption and the fetus. *BMJ.* 2005;330:375-376.
125. National Institute for Health and Care Excellence, 2013. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. Clinical Guidelines CG156.
126. Velkeniers B, Van Meerhaeghe A, Poppe K, Unuane D, Tournaye H, Haentjens P. Levothyroxine treatment and pregnancy outcome in women with subclinical hypothyroidism undergoing assisted reproduction technologies: systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update.* 2013 May-Jun;19(3):251-8.

127.de Liz TM, Strauss B. Differential efficacy of group and individual/couple psychotherapy with infertile patients. *Hum Reprod.* 2005 May;20(5):1324-32.

8. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODATCI

Ime i prezime: Petra Vuković

Adresa: Draškovićeva 42, 10000 Zagreb

Kontakt: e-mail: petravukovic13@gmail.com; mobitel: 0959034465

Datum i mjesto rođenja: 12.11.1989., Imotski

Državljanstvo: hrvatsko

OBRAZOVANJE

Medicinski fakultet u Zagrebu, smjer doktor medicine; 2008. –

Gimnazija Dr. Mate Ujevića *Imotski*, opća gimnazija; 2004. – 2008.

Glazbena škola Dr. Fra. Ivan Glibotić u Imotskom

POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE

Znanje svjetskih jezika: engleski (aktivno), talijanski (pasivno)

Poznavanje rada na računalu: Word, Excel, Power Point, Internet