

SVEUČILIŠTE U SPLITU

MEDICINSKI FAKULTET

Dijana Krišto

**ZAVRŠNO SAZRIJEVANJE JAJNIH STANICA HUMANIM KORIONSKIM
GONADOTROPINOM U USPOREDBI S KOMBINACIJOM HUMANOG
KORIONSKOG GONADOTROPINA I AGONISTA GONADOTROPIN-
OTPUŠTAJUĆEG HORMONA NA USPJEŠNOST POSTUPAKA IZVANTJELESNE
OPLODNJE**

Diplomski rad

Akadska godina

2018./2019.

Mentor:

Doc. dr. sc. Martina Šunj, dr. med.

Split, srpanj 2019.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Neplodnost	2
1.1.1. Definicija, epidemiologija i podjela	2
1.1.2. Uzroci neplodnosti	2
1.1.3. Čimbenici rizika	3
1.1.4. Dijagnostika	4
1.1.5. Liječenje	5
1.2. Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO)	6
1.2.1. Definicija i podjela	6
1.2.2. Vrste medicinski potpomognute oplodnje	6
1.3. In vitro oplodnja	8
1.3.1. Definicija i podjela	8
1.3.2. Indikacije	9
1.3.3. Čimbenici koji pozitivno utječu na uspješnost postupka	9
1.3.4. Čimbenici koji negativno utječu na uspješnost postupka	10
1.3.5. Rizici	10
1.3.6. Metoda	11
1.4. Indukcija ovulacije	14
1.4.1. Vrste indukcije ovulacije	14
1.4.2. Postupak	15
1.5. Kontrolirana hiperstimulacija jajnika	16
1.6. Završno sazrijevanje jajnih stanica	17
1.6.1. Humani korionski gonadotropin	18
1.6.2. Agonist gonadotropin-otpuštajućeg hormona	18
1.6.3. "Dual/double trigger " (hrv. dvostruki okidač)	19
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	21
3. ISPITANICI I METODE	23
3.1. Organizacija studije	24
3.2. Ispitanici	24
3.3. Mjesto studije	24
3.4. Metode prikupljanja i obrade podataka	24

3.4.1. Primarne mjere ishoda	25
3.4.2. Sekundarne mjere ishoda	25
3.4.3. Statistička obrada podataka	25
3.5. Opis istraživanja.....	25
4. REZULTATI	27
5. RASPRAVA.....	33
6. ZAKLJUČCI	37
7. POPIS CITIRANE LITERATURE	39
8. SAŽETAK	47
9. SUMMARY	50
10. ŽIVOTOPIS	53

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Martini Šunj na stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

Hvala mojim prijateljima koji su moje studentske dane učinili predivnim i nezaboravnim dijelom života.

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji. Da nema vas, vaše ljubavi, svakodnevne potpore, razumijevanja i savjeta nebi bilo ni mene, ovdje i sada. Za tatu. Za mamu. Za brata.

1. UVOD

1.1. Neplodnost

1.1.1. Definicija, epidemiologija i podjela

Neplodnost se definira kao stanje smanjenog kapaciteta začeca djeteta. Međutim, treba razlikovati pojmove neplodnost, subfertilitet i sterilitet. Dok neplodnost nije ireverzibilno stanje, sterilitet je trajno i ireverzibilno stanje neplodnosti. Subfertilitet označava bilo koju smanjenu mogućnost začeca djeteta (1). Smjernice Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) definiraju neplodnost kao nemogućnost začeca djeteta nakon 12 mjeseci pokušaja i redovitih spolnih odnosa bez korištenja zaštite (2).

Neplodnost je jedinstveno medicinsko stanje jer uključuje dvije osobe tj., par, a ne individualno pacijenta. U prvoj godini pokušaja začeca 75-90% parova postiže trudnoću, a u drugoj godini zajedništva će trudnoću postići još samo 5% parova. S neplodnošću se bori 8-12% parova u reproduktivnoj dobi širom svijeta tj. jedan od šest parova (3,4).

Neplodnost se može podijeliti na primarnu i sekundarnu. Primarna neplodnost je stanje u kojem ženi nikada nije dijagnosticirana klinička trudnoća. S druge strane sekundarna neplodnost znači stanje u kojem žena generativne dobi nakon prethodne (jedne ili više) spontane trudnoće uz redovite i nezaštićene odnose, s istim partnerom, ne postiže ponovnu kliničku trudnoću (5).

1.1.2. Uzroci neplodnosti

Različita medicinska stanja i faktori utječu na plodnost i posljedično nemogućnost začeca djeteta. Može se raditi o izoliranom problemu, skupini različitih uzroka ili u nekim slučajevima neidentificiranim uzrocima. Smatra se da je polovica uzroka neplodnosti povezana sa smanjenom reproduktivnošću ženskog partnera, gotovo jedna trećina slučajeva su primarno stanja smanjenje plodnosti muškog partnera dok su ostalo udruženi uzroci oba partnera ili nepoznati čimbenici (6).

Jedan od najistaknutijih medicinskih stanja koji izravno djeluju na sposobnost žene da zanese su ovulatorni problemi. Naime, nepostojeće (anovulacija) i neredovite ovulacije (oligoovulacija) mogu biti posljedica raznih hormonalnih poremećaja i bolesti poput policističnog ovarijskog sindroma (PCOS). Disbalans štitnih hormona ili prekomjerno lučenje prolaktina utječu na menstrualni ciklus, redovitu ovulaciju i time na plodnost. Abnormalnosti reproduktivnih organa uzrokovane strukturalnim promjenama, polipima ili benignim tumorima mogu blokirati jajovode i utjecati na implantaciju i na takav način umanjivati mogućnost

trudnoće. Također i brojne infekcije (inflamatorna infekcija zdjelice), bolesti (dijabetes, lupus), adhezije i endometrioza mogu utjecati na funkciju reproduktivnih organa.

Važan uzrok smanjene reprodukcije je i primarna insuficijencija jajnika. Naime, radi se o ranoj menopauzi tj. preuranjenom prestanku rada jajnika prije 40. godine života. Često se ne zna uzrok koji dovodi do ovog stanja, ali se vjeruje da je povezano sa autoimunim i genetskim bolestima te sa kemo- i radio-terapijama (7-9).

Najzastupljeniji uzroci smanjene fertiliteta kod muškarca su abnormalna produkcija, dismorfčnost, smanjeni motilitet ili funkcionalnost spermija. Takva stanja mogu biti posljedica nespuštenih testisa, raznih genetskih defekata, bolesti poput anemije, dijabetesa ili cistične fibroze, infekcija poput klamidije, gonoreje, zaušnjaka ili sindroma stečene imunodeficijencije. Proširene testikularne vene (varikokela) također mogu utjecati na kvalitetu spermija. Jednake poteškoće mogu uzrokovati i razne operacije i kancerозна stanja te kemo- i radio-terapije, ali i hormonalni disbalans poput hipogonadizma. Ukoliko muškarac ima manje od 15 milijuna spermija u ejakulatu smatra se da je njegov kapacitet začeća smanjen. Jednako bitna stanja koja utječu na plodnost muškarca su erektilni problemi poput preuranjene ejakulacije, strukturalni problemi kao što je blokada sjemenovoda te ozljede reproduktivnih organa (7,8,10).

1.1.3. Čimbenici rizika

Postoje mnogi faktori rizika koji utječu na neplodnost žene i muškarca među kojima se kao najvažniji negativni prediktivni faktor plodnosti ističe dob partnera, a posebice žene.

Fekunditet ovisi o dobi žene pa tako prevalencija neplodnosti raste s dobi žene (ali moguće i sa dobi muškarca). Zdravom mlađem paru prosječno je potrebno 8,5 mjeseci da postigne kliničku trudnoću. Najveća plodnost je između 20. i 30. godine života žene i do 40. godine muškarca. Također, dok optimalna plodnost žene traje 15-ak godina, u muškarca ona traje i do 30 godina (11). S obzirom da se ženama plodnost smanjuje iznad 35-e godine, neki kliničari smatraju da bi se dijagnoza neplodnosti trebala prilagoditi godinama. Sukladno tome žene u dobi od 35 do 40 godina se smatraju neplodnima ukoliko nakon šest mjeseci redovitih, nezaštićenih spolnih odnosa nisu postigle trudnoću, dok bi kod žena koje su starije od 40 godina evaluacija neplodnosti trebala biti trenutačna (12). Povezanost godina i mogućnosti začeća ogleda se u tome što svakom godinom života broj i kvaliteta jajnih stanica (oocita) opada. Naime, žene se rađaju sa oko jednim milijunom jajnih stanica čiji se broj smanjuje starenjem te je tako već u vrijeme puberteta i početka menstrualnih ciklusa broj oocita upola manji. S obzirom na to, žene u dvadesetim godinama imaju samo 20% šanse začeća prirodnim putem

dok već u kasnim tridesetim i četrdesetim godinama ta mogućnost pada na 10%. Najčešći razlozi su ovulatorne prirode tj. stanja neredovite ili nepostojeće ovulacije. Međutim ukoliko žena i dalje ima normalne, ovulacijske cikluse razlog neuspješnog začeća se može objasniti smanjenom kvalitetom preostalih jajnih stanica i raznim genetskim abnormalnostima oocita koje su češće što je žena starija (13,14).

Pušenje smanjuje mogućnost začeća, ali i mogućnost uspješnog ishoda tretmana za neplodnost. Također, češće dolazi do erektilne disfunkcije i smanjenog broja spermija u muškaraca koji puše, a naposljetku i pobačaja ukoliko dođe do trudnoće.

Za žene nema sigurne granice koliko mogu konzumirati alkohola za vrijeme pokušaja začeća i trudnoće, a da nema utjecaja na ishod. Muškaraci koji konzumiraju alkohol imaju smanjen broj i pokretljivosti spermija.

Pretilost smanjuje šansu za začećem i smanjuje broj spermija.

Žene koje su pothranjenje ili boluju od bulimije i anoreksije mogu imati ovulacijske probleme i time poteškoće začeća.

Spolno prenosive bolesti mogu također imati utjecaj na plodnost. Klamidija može oštetiti jajovode kod žena i uzrokovati upalu skrotuma u muškaraca te time izravno utjecati na plodnost (3,15,16).

1.1.4. Dijagnostika

Postoji nekoliko dijagnostičkih testova koji bi se trebali napraviti u svih parova koji imaju problema sa začećem djeteta (17,18).

Test ovulacije. Najjeftinija metoda koja može detektirati ovulaciju je mjerenje bazalne tjelesne temperature koja za vrijeme ovulacije poraste za oko pola stupnja. Također, porast serumske razine progesterona, kojeg luči lutealno tijelo, iznad 3 ng/mL je važan dijagnostički pokazatelj ovulacije. Moguće je detektirati razinu luteinizirajućeg hormona (LH) u urinu pomoću imuno esej kitova kod kuće jedan dan prije ovulacije. Pozitivna razina hormona u urinu je znak ovulacije.

Analiza sjemena. Test se izvodi na ejakulatu gdje se gleda volumen sjemena, koncentracija spermija, pokretljivost spermija i mikroskopska evaluacija morfologije spermija.

Histerosalpingografija. Dijagnostičko-terapijska metoda koja se radi kako bi se provjerilo stanje jajovoda i otkrile moguće abnormalnosti.

Test rezerve jajnika. U nekih parova, naročito onih gdje je žena starija od 35 godina, trebala bi se napraviti i procjena ostatne rezerve jajnika koja je prediktivni čimbenik plodnosti i ima izravan utjecaj na sve tretmane liječenja neplodnosti. Procjena obuhvaća biokemijske testove i ultrazvučni pregled. Najčešća metoda za detekciju smanjenog broja oocita je mjerenje serumske koncentracije folikulstimulirajućg hormona (FSH) tijekom 2.,3. ili 4. dana menstrualnog ciklusa. FSH potiče rast i dozrijevanje folikula jajnika što rezultira stvaranjem zrele oocite spremne za oplodnju. Kod iscrpljenih jajnika FSH ne može više potaknuti folikulogenezu pa njegove vrijednosti rastu. Što su razine hormona veće to je manja ostatna rezerva jajnika. Drugi hormon čije su vrijednosti pokazatelj rezerve jajnika je Anti-Mullerov hormon (AMH). AMH je glikoprotein kojeg proizvode granulosa stanice primarnih, preantralnih i antralnih folikula pa njegove vrijednosti izravno ovise o broju preostalih folikula u jajniku. Kako se smanjuje broj folikula, smanjuje se i razina AMH, a time i ostatna rezerva jajnika. Naposljetku, pomoću transvaginalnog ultrazvučnog pregleda moguće je brojati antralne folikule promjera 2-10 mm na oba jajnika. Broj antralnih folikula (*eng. antral follicle count, AFC*) izravno pokazuje rezervu jajnika. AFC se smatra boljim testom za određivanje ovarijskog odgovora u usporedbi sa biokemijskim testovima (14,19).

Laparoskopija. Ima izravan uvid u izgled i funkcionalnost jajovoda, jajnika i maternice. Može otkriti znakove endometrioze, ožiljaka, blokada i raznih deformacija tubula i maternice koje mogu utjecati na uspješnost oplodnje.

Drugi testovi uključuju preglede ultrazvukom, mjerenje koncentracija ženskih i muških spolnih hormona u krvi, razna genetska testiranja i cervikalne briseve (aerobi, anaerobi, mycoplasma, ureaplasma i klamidija), koje se liječi antibioticima, a izravno mogu utjecati na plodnost.

1.1.5. Liječenje

Nakon što se definira razlog neplodnosti, cilj je da se reverzibilni čimbenici koji utječu na plodnost isprave, a ireverzibilni čimbenici pokušaju premostiti. Prije ikakvog medicinskog postupka bitno je paru napomenuti da svoje životne navike i sve eventualne rizične faktore koje mogu kontrolirati (prestanak pušenja, konzumacije kave i alkohola i praćenje prikladnog trenutka za spolne odnose) uklone i prilagode cilju poboljšanja plodnosti i začecu djeteta.

Terapeutske intervencije za liječenje muške ili ženske neplodnosti mogu uključivati terapiju lijekovima, operacije te procedure medicinski potpomognute oplodnje.

Metode medicinski potpomognute oplodnje najčešći su i najvažniji način liječenja neplodnosti (17,20).

1.2. Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO)

1.2.1. Definicija i podjela

Tehnologija medicinski potpomognute oplodnje (MPO) je medicinski postupak koji se prvenstveno koristi za rješavanje medicinski dokazane neplodnosti. Pripada području reproduktivne endokrinologije i neplodnosti. Njime se liječi 70-80% svih uzroka neplodnosti te se primjenjuje tek kada su sve ostale metode liječenja bezuspješne. Važnost metoda MPO iskazuje činjenica da se pomoću njih rađa 1-5% novorođenčadi godišnje. Međutim neki se oblici MPO koriste i za plodne parove iz genetskih razloga poput preimplantacijske genetske dijagnoze (20,21).

MPO metode se mogu podijeliti na homologne i heterologne. Dok se u homolognim postupcima koriste gamete neplodnog para, u heterolognoj metodi jedna od gameta je donorska. Spermiji se uzimaju ejakulatom, iz urina ili kirurški iz testisa (22).

1.2.2. Vrste medicinski potpomognute oplodnje

MPO pokriva širok spektar postupaka. Ukoliko nema specifičnih indikacija uglavnom se započinje sa jednostavnijim, manje invazivnim i jeftinijim tehnikama dok se naprednije opcije koriste tek ukoliko se jednostavnije nisu pokazale uspješnim.

Jednostavnije metode MPO uključuju indukciju ovulacije, arteficialnu inseminaciju sjemenom supruga i prijenos gameta/zigota u jajovod.

Indukcija ovulacije. Indukciju ovulacije mogu koristiti žene koje ne ovuliraju ili ne ovuliraju redovito ili koje proizvode samo niske razine hormona koje su potrebne da zatrudni. Indukcija ovulacije uključuje uzimanje hormonskog lijeka (oralna tableta ili injekcija) koji stimulira proizvodnju hormona što za cilj ima rast folikula i lakše predviđanje vremena ovulacije čime odnosi s partnerom u to vrijeme imaju veću šansu da rezultiraju trudnoćom.

Arteficialna inseminacija sjemenom supruga (eng. *arteficial insemination by husband*, AIH). Koristi se za liječenje žena koje imaju normalne i zdrave jajovode, ali iz nekog razloga ne mogu postići začće. Radi se inseminacija pripravljenog sjemena uz pomoć katetera transcervikalno u maternicu (intrauterina inseminacija, IUI) ili početni dio jajovoda (intratubarna inseminacija, ITI) u vrijeme ili blizu vremena ovulacije. Preduvjet za AIH su dokazano prohodni jajovodi. Ovaj se postupak može izvesti tijekom prirodnog menstrualnog ciklusa. Indikacije za postupak mogu biti slab cervikalni faktor, stanje nakon operacija cerviksa, subfertilan spermogram, nepovoljan postkoitalni test (PCT), imunološki uzrok neplodnosti,

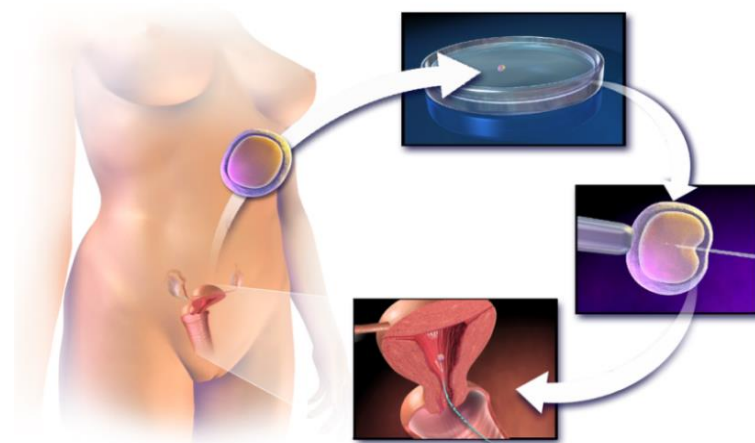
nerazjašnjena (idiopatska) neplodnost, endometrioza (I i II stupanj) ili spolna disfunkcija muškarca.

Prijenos gameta/zigote u jajovod (*eng. zygote/gamete intrafallopian transfer, GIFT/ZIFT*). GIFT je započet kao "prirodnija" inačica izvantjelesne oplodnje. Umjesto oplodnje koja se odvija u posudi za kulturu u laboratoriju, aspirirane oocite se stavljaju između dva sloja sperme u finoj cijevi. Cijev se potom unosi u jedan od jajovoda gdje su jajna stanica i sperma ostavljeni da se prirodno oplode. Iako se GIFT danas vrlo rijetko koristi može biti opcija za parove koji ne žele koristiti IVF zbog vjerskih razloga. Uvjet za postupak su funkcionalni jajovodi

Napredne tehnike MPO obuhvaćaju dva temeljna oblika liječenja: in vitro oplodnju (IVF) i intracitoplazmatsku injekciju sperme (ICSI). Načelno se IVF metoda primjenjuje za liječenje ženske neplodnosti, a ICSI za liječenje teških oblika muške neplodnosti.

Izvantjelesna oplodnja (*eng. In vitro fertilization, IVF*). IVF je najčešća i najučinkovitija metoda MPO.

Intracitoplazmatska mikroinjekcija sperme (*eng. intracytoplasmatic sperm injecton, ICSI*). ICSI se načelno uglavnom koristi za liječenje teških oblika muške neplodnosti tj. kada muškarac ima probleme vezane za spermu kao što je nizak broj ili dismorfičnost spermija. Slijedi isti postupak kao i IVF jedino što uključuje izravno ubrizgavanje jedne sperme u svako jaje kako bi se postigla oplodnja (*Slika 1*) (23-25).



Slika 1. Ilustracija intracitoplazmatske injekcije sperme (ICSI) kao jedan od postupaka medicinski potpomognute oplodnje (26).

1.3. In vitro oplodnja

1.3.1. Definicija i podjela

Izvantjelesna oplodnja (engl. *in-vitro fertilisation-IVF*) jedan je od najpoznatijih postupaka medicinski potpomognute oplodnje koji se upotrebljava kada su sve ostale metode potpomognute oplodnje bezuspješne. Osnovna namjena postupka je premostiti neplodnost te kao izravni cilj intervencije postići trudnoću. Radi na principu da se stimulira ovulacija jajnika kombinacijom lijekova koji poboljšavaju plodnost u cilju da se razvije veći broj folikula i funkcionalnih jajnih stanica koje će se upotrebljavati dalje u postupku oplodnje. Zatim se jedna ili više oocita aspirira iz ovarijskih folikula. Potom se te aspirirane i odabrane oocite oplode u laboratoriju na način da se jajne stanice i spermiji pomiješaju u zajedničkoj posudi i ostave u kultivacijskom mediju. Spermiji mogu spontano oploditi jajnu stanicu ili će oplodnja biti pomognuta postupkom ICSI ako je šansa za spontanom oplodnjom mala. Ukoliko je fertilizacija bila uspješna jedan ili više tako nastalih embrija se prenosi u maternicu nakon čega slijedi implantacija. Svi ovi koraci se odvijaju u vremenskom periodu od dva tjedna što ujedno čini jedan IVF ciklus (27,28).

In vitro naziv postupka označava biološku proceduru koja se odvija izvan organizma što u slučaju IVF postupka znači oplodnju jajne stanice spermijem izvan maternice. Naime taj naziv je potreban kako bi se razlikovalo od *in vivo* procedure, gdje tkivo ostaje unutar živog organizma gdje se normalno nalazi. Prva trudnoća postignuta *in vitro* fertilizacijom i prvo rođenje djeteta začetog tim postupkom su zabilježeni 1976. i 1978. godine, a danas se takvo liječenje primjenjuje u 70% svih uzroka neplodnosti (29-31).

Protokoli za liječenje neplodnosti metodom IVF-a se dijele u dvije glavne grupe, u protokole u prirodnom i stimuliranom ciklusu. Naime, prema klasifikaciji International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction (ISMAAR), osnovni princip postupka IVF-a u prirodnom ciklusu je potpuni izostanak bilo koje vrste stimulacije ovulacije, a vrijeme aspiracije folikula se određuje na osnovi razine luteinizirajućeg hormona. Modificirani prirodni ciklus označuje protokol u kojem je selekcija oocite prirodna, ali njezino završno dozrijevanje i vrijeme aspiracije je potaknuto injiciranjem humanog korionskog gonadotropina. Ujedno se koriste i antagonisti gonadotropin-otpuštajućeg hormona kako bi spriječili prijevremenu ovulaciju. Konačno, ako se primjeni bilo koja vrsta lijekova za stimulaciju ovulacije rano u ciklusu tada se radi o stimuliranom ciklusu (32).

1.3.2. Indikacije

Inicijalno se IVF postupak koristio uglavnom kod žena s tubularnim problemima koji se nisu mogli riješiti operacijski. Kada je postupak postao usavršeniji tako su se i indikacije za njega proširile te je on sad izbor i kod sljedećih stanja koja utječu na smanjenje plodnosti:

- Tubularni faktori (primarna terapija kod potpune opstrukcije tubula, prijašnja sterilizacija ili uklanjanje tubula)
- Ovulatorni problemi (različita anovulacijska ili oligoovulacijska stanja)
- Smanjena ovarijska rezerva
- Prijevremena disfunkcija jajnika (gubitak normalne funkcije jajnika prije 40. godine čime dolazi do neregularnog otpuštanja jajnih stanica i nedovoljne razine hormona)
- Uterini faktori (Ahermanov sy, distorzija maternice, itd.)
- Endometrioza (često uzrokuje disfunkciju jajnika, maternice i tubula)
- Neobjašnjeni uzroci neplodnosti
- Neuspješne sve ostale manje invazivne metode MPO

Također liječenje treba usmjeriti na IVF i kada je riječ o dugotrajnoj neplodnosti, u žena starijih od 35 godina i kod teže muške neplodnosti (slaba pokretnost spermija, dismorfije u veličini i obliku spermija). Onkofertilitetni postupci se isto primarno usmjeruju na MPO odnosno IVF (27,28,33).

1.3.3. Čimbenici koji pozitivno utječu na uspješnost postupka

Postoji niz faktora prije početka samog postupka koji utječu na njegovu uspješnost. Jedan od važnijih čimbenika je dob majke. Iako IVF uglavnom može premostiti većinu razloga neplodnosti kod mlađih žena, njegova uspješnost pomalo pada kod starijih žena, naročito onih starijih od 40 godina (34,35).

Nadalje, odgovarajuća rezerva jajnika tj. koncentracije folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i estradiola u serumu mogu pomoći u predviđanju uspjeha IVF postupka. Naime, povišene koncentracije FSH u serumu u ranoj folikularnoj fazi (treći dan ciklusa) povezane su s lošom prognozom za trudnoću nakon IVF-a. Također i visoke koncentracije serumskog estradiola treći dan ciklusa povezane su s lošim ishodom trudnoće jer se čini da su povezane s brzim propadanjem folikula i smanjenim brojem oocita. U svih žena starijih od 35 godina potrebno je mjeriti serumski FSH i estradiol na treći dan ciklusa te se postupak IVF-a ne

započinje ukoliko su koncentracije FSH u serumu >20 mIU/mL ili koncentracije estradiola u serumu >100 pg/mL (367 pmol/L) (36-38).

Konačno, bitan faktor za određivanje uspješnosti postupka je i Anti-Mullerov hormon (AMH). Naime, njega stvaraju rastući folikuli u jajniku te je zato određivanje njegove koncentracije dobar prediktor ovarijske rezerve i plodnosti žene (39).

1.3.4. Čimbenici koji negativno utječu na uspješnost postupka

Postoje i faktori koji izravno negativno utječu na uspjeh IVF postupka. Najznačajni od njih je hidrosalpinksa. Studije su pokazale da je prisutnost hidrosalpinksa povezana s lošim ishodom IVF-a te da je stopa živorođenih jedna polovica nego u žena bez hidrosalpinksa. Štoviše, randomizirana ispitivanja su pokazala da salpingotomija prije IVF postupka u žena s hidrosalpinksom poboljšava stope trudnoće te ju stoga treba preporučiti (40,41).

Drugi izrazito bitan faktor je pušenje cigareta koje smanjuje stope uspjeha IVF-a te je povezano je s brojnim štetnim učincima na opće zdravlje. Prestanak pušenja je jedna od primarnih preventivnih mjera prije ulaska u procese medicinski potpomognute oplodnje (42).

Kako bi postupak oplodnje bio što uspješniji potrebno je normalizirati tjelesnu težinu oba partnera te se teži postići optimalni BMI od 20-25 kg/m². Naime, prevalencija neplodnosti u pretilih žena je povećana kao i smanjena stopa IVF postupaka što su pokazale brojne retrospektivne studije (43,44).

Konsumacija alkohola i kofeina izravno smanjuje uspješnost postupka te je potrebno smanjiti njihovu uporabu prije početka postupka IVF-a (45,46).

Naposljetku, studije su pokazale da žene koje boluju od nekih autoimunih bolesti mogu imati utjecaja na smanjenu uspješnost in vitro oplodnje zbog interferiranja bolesti s normalnom implantacijom embrija nakon transfera (47).

1.3.5. Rizici

Specifični koraci IVF postupka sa sobom nose i niz rizika. U prvom redu in vitro način oplodnje povećava šansu višeplođove trudnoće ukoliko se napravi transfer više od jednog embrija. Takve višeplođove trudnoće imaju povećan rizik od prijevremenog poroda te niske porođajne mase djeteta. Međutim, istraživanja su pokazala da i kod jednoplođovih trudnoća postignutim IVF postupkom postoji blagi rizik od prijevremenog poroda (48,49).

Nadalje, način stimulacije ovulacije u postupku IVF-a lijekovima za neplodnost može uzrokovati sindrom hiperstimulacije jajnika (*eng. ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS*) koji dovodi do oticanja i bolnosti jajnika. To je jedna od ozbiljnijih komplikacija postupka

potpomognute oplodnje te ukoliko se radi o težim oblicima, nerijetko zahtijevaju dugotrajniju hospitalizaciju. Simptomi sindroma uključuju nadutost, mučninu, proljev, povraćanje, ubrzano dobivanje na tjelesnoj težine te bolove u trbuhu, dispneju, smanjenu diurezu i prestanak rada bubrega i druge znakove pretjeranog nakupljanja tekućine u tjelesnim šupljinama ukoliko se radi o izraženijim oblicima. Simptomi obično traju 1-2 tjedna, a osim simptomatskog, specifičnog liječenja nema (50,51).

Među značajnim rizicima postupka in vitro oplodnje spada i povećana stopa pobačaja. Naime, kod mlađih žena koje su zatrudnjele postupkom in vitro oplodnje stopa pobačaja se ne razlikuje od stope pobačaja kod žena koje su začele prirodnim putem. Međutim, do primjetne razlike dolazi ukoliko se radi o starijim ženama.

Komplikacije postupka se mogu očitovati i tijekom postupka punkcije folikula i aspiracije jajnih stanica gdje postoji mogućnost krvarenja, infekcije i oštećenja crijeva, mokraćnog mjehura ili krvne žile (27).

1.3.6. Metoda

Proces in vitro oplodnje se odvija u pet ključnih koraka.

- Stimulacija ovulacije (tzv. superovulacija)

U prirodnom menstrualnom ciklusu jajnik proizvede jednu jajnu stanicu mjesečno dok se u postupku in vitro oplodnje koriste razni lijekovi kako bi se stimulirala ovulacija i proizvodnja oocita. Postupak uglavnom počinje treći dan menstrualnog ciklusa. Poželjno je dobiti više jajnih stanica s kojima će se manipulirati dalje u postupku. Kako bi se oocite optimalno razvile njihovo završno sazrijevanje najčešće se stimulira hormonalnim injekcijama. Finalna maturacije se potiče kada su folikuli veličine najmanje 15 mm, a aspiracija folikula se planira 34-36 sati iza toga, neposredno prije očekivane ovulacije.

- Folikularna punkcija

Kada se procjeni da su folikuli dovoljni zreli, pod vodstvom ultrazvuka se iz folikula oba jajnika transvaginalnom tehnikom tankom iglom aspiriraju jajne stanice (*Slika 2*). Oocite se iz folikula aspiriraju jedna po jedna, a prosječan broj aspiriranih jajnih stanica je 10-15 (52,53).

- Oplodnja

U ovom koraku dolazi do spajanja sperme muškarca i najkvalitetnijih aspiriranih jajnih stanica. U laboratoriju se spremi i jajna stanica čiste od okolnih neaktivnih stanica te se stavljaju zajedno u omjeru od oko 75 000:1 u kultivacijski medij. Sperma najčešće spontano oplodi jajnu stanicu nakon nekoliko sati kultivacije. Ukoliko je šansa za spontanom oplodnjom

(klasični IVF) mala radi se ICSI u kojoj se spermij direktno injicira u jajnu stanicu. Oplođene jajne stanice se prate i ukoliko je oplodnja bila uspješna razvija se embrij (52,54).

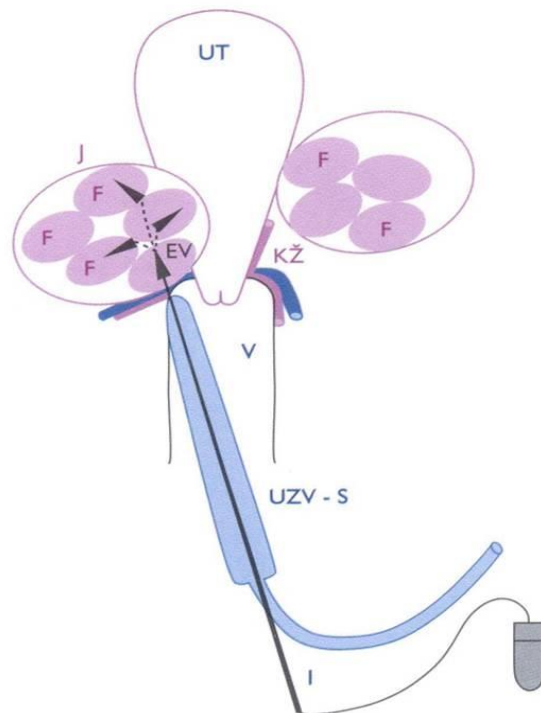
- Kultura embrija

Prati se razvoj embrija te bi kroz pet dana normalni embrij trebao imati nekoliko stanica koje će se aktivno dijeliti. Laboratoriji su razvili metode ocjenjivanja kvalitete jajne stanice i zametka te dalje u postupak idu morfološki kvalitetni embriji s najvećim implantacijskim potencijalom. Obično se zametci koji su razvili 6-8 stanica vraćaju 3 dana nakon punkcije. U nekim programima, zametci se dalje kultiviraju i transfer se radi u stadiju blastociste petog dana nakon punkcije. Studije su pokazale da se transferom zametaka u stadiju blastociste postiže veća stopa trudnoće (52,55,56). U zemljama u kojima je to dopušteno, prije transfera može se izvršiti predimplantacijska genetska dijagnostika (PGD) koja daje informacije o genetičkom statusu embrija i omogućuje odabir embrija prije implantacije (57).

- Prijenos zametka

Embriji se uglavnom vraćaju u ženinu maternicu tri do pet dana nakon postupka aspiracije i oplodnje. Ukoliko je ovaj korak uspješan do implantacije će doći šest do deset dana nakon punkcije folikula. Nekoliko zametaka se može vratiti da se poboljšaju šanse za implantaciju i trudnoću. Broj zametaka koji će se transferirati ovisi o broju dostupnih zametaka, dobi žene i drugim medicinskim i dijagnostičkim faktorima, a najčešće se prenosi 1 do 3 zametka. Međutim, zbog minimiziranja rizika višeplođnih trudnoća, Europsko udruženje za humanu reprodukciju i embriologiju (*engl. European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE*) preporuča prijenos jednog zametka (*engl. single embryo transfer, SET*), a višak kvalitetnih embrija se može zamrznuti (58,59)

Nakon svih navedenih koraka posljednja stvar koja se primjenjuje kako bi IVF postupak bio što uspješniji je tzv. lutealna potpora. Naime, tijekom lutealne faze ciklusa koriste se lijekovi, najčešće progesteron, progestini, hCG ili GnRH agonisti, kako bi se povećala šansa za uspješnu implantaciju. Često se daju zajedno s estradiolom kako bi se spriječilo kasno lutealno vaginalno krvarenje. Tzv. lutealna potpora, uglavnom u obliku preparata progesterona, se daje poslije ovulacije na dan aspiracije oocita kako bi se osigurala potrebna razina progesterona i nastavlja se do dana određivanja vrijednosti β hCG (60,61).



Slika 2. UZV aspiracija folikula (UT-uterus, J-jajnik, V-vagina, I-igla, F-folikul, UZV-S-sonda, KŽ-moguće krvne žile, EV-ehogeni vrh) (62).

1.4. Indukcija ovulacije

Indukcija ovulacije (IO) se odnosi na stimulaciju jajnika pomoću lijekova s namjerom stvaranja bar jedne dominantne jajne stanice. Uglavnom se koristi kod žena s različitim ginekološkim bolestima koje dovode do anovulacije ili oligoovulacije, a uobičajeni simptomi koji ukazuju na takva stanja su izostanak menstruacije ili nepravilan menstrualni ciklus (9).

Međutim, IO može biti i sastavni dio liječenja neplodnosti. Suprotno prirodnom ciklusu u kojem se odabire, raste i sazrijeva do ovulacije samo jedan folikul, stimulirani su ciklusi dizajnirani tako da se primjenom egzogenih hormona nastoji povisiti broj folikula koji će biti odabrani za daljni rast i razvoj. Također bitno obilježje stimuliranih ciklusa jest da završno sazrijevanje oocita ovisi o primjeni egzogenih hormona, HCG- a ili GnRH agonista (62).

Budući da se osjetljivost jajnika na stimulaciju lijekovima razlikuje među pojedinim ženama, potrebni su specifični i individualizirani protokoli liječenja i praćenja kako bi se postigao razvoj jednog folikula u procesu indukcije ovulacije (63).

1.4.1. Vrste indukcije ovulacije

U ciklusima za IVF razlikujemo blagu stimulaciju ovulacije te standardnu tj. konvencionalnu stimulaciju ovulacije u kojoj se lijekovi za IO koriste agresivnije. Pod terminom blaga stimulacija se podrazumijeva pristup u kojem se koriste različiti protokoli minimalne stimulacije, niže doze lijekova kroz kraće vrijeme i u kojima je svrha stvaranje 3-5 folikula po jednom ciklusu IVF postupka (64). Također takav pristup smanjuje stopu sindroma hiperstimulacije jajnika, multiple trudnoće i troškove liječenja dok stopa trudnoća ostaje ista.

Najčešći lijekovi koji se koriste za IO su antiestrogeni koji uzrokuju inhibiciju negativne povratne sprege estrogena na hipofizu što rezultira porastom lučenja folikul stimulirajućeg hormona. Lijekovi koji se uglavnom rabe su selektivni modulatori estrogenskih receptora, klomifen citrat (CC) i tamoxifen ili letrozol koji je inhibitor aromataze (IA). IO ovim lijekovima podrazumijeva blagi protokol stimulacije. Drugi uspješni lijekovi koji se koriste za IO te spadaju u konvencionalni protokol IO su humani menopauzalni gonadotropin (hMG) i folikul stimulirajući hormon (FSH) koji se daju u visokim dozama. Njihova primjena počinje najčešće od drugog dana ciklusa te direktno stimuliraju jajnike sa svrhom stvaranja desetak zrelih folikula. U žena s anovulacijom standardni protokol se koristi tek nakon 7-12 pokušanih ciklusa antiestrogenske terapije jer je ona jeftinija i lakša za kontrolirati (65). Također postoji protokol tzv. blaže stimulacije u kojima se koriste niže doze hMG ili FSH za stimulaciju ovulacije. ISMAAR sugerira da bi maksimalna dnevna doza od 150 i.j. hMG ili FSH trebala biti granica koja razlikuje blaži od konvencionalnog postupka IVF-a (62,66,67).

Važno je započeti s najmanje invazivnom, najjednostavnijom i najefektivnijom opcijom liječenja, a svaka sljedeća opcija treba ovisiti o odgovoru jajnika tj. ovulaciji i broju nastalih folikula.

1.4.2. Postupak

Postupak IO se sastoji od tri koraka. Prvi korak je stimulacija lijekovima i to najčešće koristeći CC ili FSH. CC je oralni lijek koji se uzima pet dana na početku menstrualnog ciklusa. Ciklus se tada monitorira ultrazvučnim pregledima i nalazima krvi kako bi se procijenila ovulacija i odgovor na lijek. FSH se daje u formi dnevnih injekcija. Niske doze FSH se davaju svaki dan od petog dana menstrualnog ciklusa. Odgovor jajnika na injekcije se također monitorira ultrazvučnim pregledima i nalazima krvi.

U drugom koraku dolazi do ovulacije te je u tom periodu najveća šansa za trudnoću.

Treći korak označuje lutealnu fazu do koje dolazi stimulacijom ovulacije egzogenim gonadotropinima. Naime, stvaraju se mnogobrojna žuta tijela koja održavaju suprafizilošku razinu steroida u serumu. Abnormalno niska razina LH tijekom luteinske faze može biti nedostatna da stimulira i održi razinu lutealne funkcije koja je potrebna za maturaciju endometrija pa se zato daje tzv. lutealna potpora u obliku preparata progesterona kako bi se održala njegova dostatna koncentracija (60,66,67).

Stimulaciju ovulacije treba razlikovati od stimulacije razvoja višestrukih folikula kod ovulacijskih žena u postupcima MPO jer su populacija bolesnika, ciljevi liječenja i klinički ishod različiti. Takav postupak se naziva kontrolirana hiperstimulacija jajnika.

1.5. Kontrolirana hiperstimulacija jajnika

Kontrolirana ovarijska hiperstimulacija je stimulacija razvoja multiplih folikula u jajniku u jednom ciklusu. Uglavnom je dio MPO postupka i za cilj ima razvoj većeg broja folikula (optimalno 11-14 antralnih folikula promjera 2-8 mm) iza čega slijedi transvaginalna aspiracija oocita, inkubacija te transfer embrija od maksimalno dva embrija po postupku (68).

Kontrolirana ovarijska stimulacija ujedinjuje tri elementa. Prvo je stimulacija razvoja većeg broja folikula egzogenim gonadotropinom. Zatim slijedi kotretman s agonistom ili antagonistom gonadotropin-otpuštajućeg hormona te finalno poticanje završne maturacije jajne stanice 34-36 sati prije aspiracije oocita za daljni postupak MPO. Pripravci gonadotropina koji su dostupni za korištenje su humani menopauzalni gonadotropin (hMG), urinarni produkt sa folikulostimulirajućim hormonom (FSH) i luteinizirajući hormon (LH), pročišćeni FSH (p-FSH) i visoko pročišćeni FSH (hp-FSH) te različiti rekombinirani FSH (rFSH) i LH (rLH) pripravci (69-71).

GnRH agonisti i antagonisti se koriste u brojnim protokolima u postupcima medicinski potpomognute oplodnje. U tzv. "dugim protokolima", primjena GnRH agonista počinje najmanje dva tjedna prije stimulacije i nastavlja se dok se ne postigne maturacija jajnih stanica. Alternativni "kratki protokol" koristi GnRH agoniste simultano sa stimulacijom i nastavlja se njihova primjena do dana indukcije završne maturacije oocita. Složen spoj endokrinih promjena se događa u ženi koja prolazi kroz postupak ovarijske stimulacije kao dio in vitro postupka. Dva glavna cilja kontrolirane ovarijske hiperstimulacije su stvoriti dovoljan broj dobro razvijenih folikula te spriječiti spontanu ovulaciju. GnRH agonisti se primjenjuju intramuskularno, subkutano ili intranazalno. U "dugom protokolu" inicijalni efekt GnRH agonista je praćen desenzibilizacijom hipofize. Ovaj protokol je povezan sa nastankom većeg broja oocita i stopom kliničke trudnoće međutim postoje dokazi da ovaj postupak zahtijeva puno više gonadotropina u usporedbi s kratkim protokolima te zbog toga postoji i poveznica sa značajno povećanom stopom višestrukih trudnoća i to do 36%, a sindrom hiperstimulacije jajnika se javlja u 14% ciklusa liječenja (63,72).

Također, postoji i opcija u kojoj se koriste GnRH antagonisti čija primjena počinje nekoliko dana poslije stimulacije ovulacije i traje do trenutka kada se primjenjuju lijekovi za poticanje završne maturacije jajnih stanica. GnRH antagonisti djeluju na način da se vežu na GnRH receptore i sprječavaju endogeno otpuštanje GnRH iz hipofize. GnRH antagonistički protokoli su povezani s trenutnom supresijom LH i smanjenom uporabom gonadotropina. Kao

rezultat toga antagonistički protokoli su povezani sa značajnom redukcijom OHSS-a bez redukcije stope živorođene djece (62,72,73).

Glavni ciljevi indukcije ovulacije kod žena s anovulacijskom neplodnošću su postići monofolikularni razvoj i kasniju ovulaciju te konačno jedноплодову trudnoću i rođenje zdravog novorođenčeta. Bitno je minimalizirati stopu višeplođovih trudnoća te smanjiti rizik OHSS-a kod žena koje se liječe gonadotropinom, osobito onih sa sindromom PCOS koje su pod većim rizikom. Ukoliko se sindrom razvije to bi moglo značiti otkazivanje ciklusa (51).

Na kraju stimulirajuće faze in vitro postupka, posljednji korak je poticanje završne maturacije jajnih stanice.

1.6. Završno sazrijevanje jajnih stanica

Posljednji korak u postupku in vitro potpomognute oplodnje je poticanje oocita na konačno dozrijevanje i njihovo otpuštanje tijekom folikularne faze. Jajne stanice moraju dovršiti rast i razvoj kako bi se mogle koristiti dalje u postupku. Zapravo se radi o zamjeni za luteinizacijski hormon (LH) čija uloga uključuje završnu maturaciju jajnih stanica u prirodnom menstrualnom ciklusu. Ključno je vrijeme završne maturacije. Ukoliko se završna maturacija potakne prerano, jajne stanice neće sazrijeti dovoljno, a ukoliko se potakne prekasno postoji mogućnost da jajne stanice već budu prestare te se neće moći primjereno oploditi (27,74,75). Svakodnevni pregledi ultrazvukom tijekom posljednje etape postupka MPO omogućuju da se prati stanje jajnih stanica te da se njihova završna maturacija potakne u pravo vrijeme. Uobičajeno se daje samo jedna injekcija lijeka, a smatra se da je najbolji trenutak za njegovu primjenu kada su četiri ili više ovarijska folikula veličine najmanje 15 mm i kada je razina serumskog estradiola 0,49 nmol/L (76,77).

Lijekovi koji se trenutno koriste su hCG, koji je najčešće korišten lijek, GnRH agonist u antagonističkim protokolima te rekombinantni LH (rLH).

1.6.1. Humani korionski gonadotropin

Humani korionski gonadotropin (hCG) je glikoprotein koji se sastoji od dva lanca. Alfa lanac je identičan kao i kod tiroidnog stimulirajućeg hormona (TSH), luteinizirajućeg hormona (LH) i folikulostimulirajućeg hormona (FSH), dok je beta lanac specifičan samo za hCG. hCG je hormon kojeg prirodno proizvodi posteljica tj. sinciotrofoblast poslije implantacije. Njegovi produkti se luče urinom te je, uz hormone dobivene rekombinantnom DNA tehnologijom, važna i njihova ekstrakcija iz urina trudnih žena kako bi se mogli koristiti u različite svrhe liječenja (78).

hCG se veže na receptore koji se nalaze na jajniku i podržava postojanje korpusa luteuma na početku trudnoće omogućujući time korpusu da luči progesteron tijekom prvog tromjesječja što je izuzetno važno za rast fetusa. Kako je građom sličan LH-u kojeg proizvodi hipofiza, hCG se može koristiti za indukciju ovulacije tijekom postupaka MPO. Naime, tijekom IVF postupka hCG se uobičajeno koristi kao zamjenski LH kako bi potaknuo luteinizaciju granulosa stanica, završnu maturaciju oocita i mejozu stanica te održavao suprafiziološke razine proesterona i estradiola (79). U standardnim protokolima finalna maturacija oocite je uglavnom potaknuta bolusnom injekcijom hCG-a (5000-10 000 jedinica), te se administrira što bliže ovulaciji. S obzirom da se zna da će do ovulacije doći 38-40 sati nakon primjene injekcije bitno je točno odrediti vrijeme apliciranja kako bi se ostali procesi MPO poput intrauterine inseminacije mogli uskladiti s ovulacijom i time povećati šanse za trudnoćom. Isto vrijedi za pacijentice koje prolaze kroz IVF postupak. Naime, one primaju injekciju hCG-a te im se nakon 34-36 sati radi aspiracija jajnih stanica, par sati prije nego bi se oocite zapravo otpustile iz jajnika (80-82).

Međutim, iako se širom svijeta hCG već desetljećima koristi u navedene svrhe, neke studije su pokazale njegov negativni utjecaj na prijemljivost endometrija i kvalitetu nastalih embrija. Također, njegov neprekidan luteotrofičan efekt može pospješiti razvoj OHSS-a (50,81). Iz tih razloga su predložene druge metode indukcije ovulacije, u cilju sprječavanja ozbiljnih nuspojava, a uz održavanje razumnih ishoda IVF postupka.

1.6.2. Agonist gonadotropin-otpuštajućeg hormona

Agonist gonadotropin-otpuštajućeg hormona (GnRH agonist) je lijek koji ima izravan utjecaj na djelovanje gonadotropnih i spolnih hormona. S obzirom da je agonist, veže se na GnRH receptore i na takav način pojačava ili smanjuje otpuštanje gonadotropina i proizvodnju

spolnih hormona u gonadama. Kada se koristi u svrhu supresije otpuštanja gonadotropina ima mogućnost da reducira lučenje spolnih hormona do čak 95% (83).

GnRH agonist se koristi kao dio MPO postupka kod kontrolirane ovarijske hiperstimulacije kako bi doveli do stanja hipoestrogenizma kada se lakše može kontrolirati stimulacija rasta folikula i konačno otpuštanje jajnih stanica potaknuto hCG-om. Međutim, i sam GnRH agonist je postao neizostavni dio završnog sazrijevanja jajnih stanica u antagonističkim protokolima IVF postupka (81). Naime, Itskovitz-Eldor je 2000. godine opisao prvu skupinu pacijentica koje su bile pod rizikom razvoja OHSS-a, a čija je završna maturacija folikula bila potaknuta GnRH agonistima. Polovica tih pacijentica je zatrudnijela, međutim nijedna od njih nije razvila simptome OHSS-a (84). Također, poticanje maturacije GnRH agonistom uzrokuje otpuštanje endogenog LH-a i FSH-a oponašajući tako prirodni fiziološki ciklus. Od tada je primjena GnRH agonista u antagonističkim protokolima za završnu maturaciju jajnih stanica postala uobičajena u svrhu supresije ovulacije tijekom hiperstimulacije jajnika, a ujedno i smanjene pojavnosti težih komplikacija (85).

Ipak, s druge strane njihova primjena je također dovela i do smanjenje stope kliničkih trudnoća i povećanog broja pobačaja u prvom tromjesječju u usporedbi s hCG-om. Dok je ustaljeni luteotrofični efekt kojeg stvara primjena GnRH agonista kod završne maturacije folikula razlog rjeđem javljanju OHSS-a u pacijentica, smatra se da je razlog smanjene stope trudnoće i živorođenih defekt lutealne faze (81).

1.6.3. "Dual/double trigger" (hrv. dvostruki okidač)

Koncept "dual trigger" označuje konkomitantnu primjenu jedne doze GnRH agonista (4 mg) sa reduciranom ili standardnom dozom hCG-a u antagonističkim protokolima IVF-a s ciljem manipuliranja lutealne faza u svrhu poboljšanja reprodukcije. Do njegovog nastanka došlo je u težnji da se minimaliziraju negativni učinci pojedino danih hormona za završnu maturaciju jajnih stanica, iskoriste njihove prednosti dok su nastale jajne stanice iste ili veće kvalitete.

Kada najmanje tri folikula narastu do 18 mm potiče se finalna maturacije oocita u točno određenom vremenskom periodu, 35 sati prije aspiracije folikula. Kod žena sa povećanim rizikom od nastanka OHSS-a primjena GnRH agonista sa smanjenom dozom hCG-a (1000-2500 IU) smatra se kao dobra modifikacija lutealne faze rezultirajući poboljšanim stopama trudnoće u usporedbi s primjenom samog GnRH agonista za završnu maturaciju folikula.

Dapače, stope trudnoće bi trebale biti slične kao kod primjene samog hCG-a za završno sazrijevanje jajnih stanica, ali sa smanjenim rizikom od razvoja OHSS-a. Primjena kombinacije GnRH agonista sa standardnom dozom hCG-a (5 000-10 000 IU) kod pacijentica bez specifičnih rizika smatra se kao značajno bolja opcija od do tada izolirano korištenih hormona za indukciju ovulacije sa idejom da povećava stope implantacije, kliničke trudnoće i živorođenosti i broj nastalih embrija izvrsne kvalitete.

Modifikacija završnog sazrijevanja jajnih stanica potaknuto "dual trigger" injekcijom se naziva "double trigger". U tom obliku finalna maturacija se potiče kombinacijom GnRH agonista i standardne doze hCG 40 i 34 sata prije aspiracije jajnih stanica čime se dodatno prolongira vrijeme između poticanja konačnog dozrijevanja oocita i aspiracije folikula čime se povećava mogućnost nastanka zrelije i kvalitetnije jajne stanice, a time i šansa za njenom implantacijom. Ova metoda se smatra primjerenijom i uspješnijom kod liječenja sindroma praznog folikula (*eng. empty follicle syndrome*) i kod pacijentica koje su u prethodnim postupcima imale slab odgovor jajnika na hormonalni poticaj ili aspirirane nezrele folikule (80,86,87).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj našeg istraživanja je usporediti uspješnost postupaka medicinski potpomognute oplodnje u kojima se za završnu maturaciju jajne stanice koristi kombinacija humanog korionskog gonadotropina i agonista gonadotropin-otpuštajućeg hormona s postupcima koji za završnu maturaciju jajne stanice koriste samo humani korionski gonadotropin

Hipoteza istraživanja:

Završna maturacija jajnih stanica potaknuta kombinacijom humanog korionskog gonadotropina i agonista gonadotropin-otpuštajućeg hormona je uspješnija na krajnji ishod postupka medicinski potpomognute oplodnje od završne maturacije samo humanim korionskim gonadotropinom.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Organizacija studije

Provedena je retrospektivna studija. Istraživanje je prema ustroju kvalitativno, dok je po intervenciji i obradi podataka deskriptivnog tipa.

3.2. Ispitanici

Obradom je obuhvaćeno 188 ispitanica koje se liječe od neplodnosti u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 1. siječnja 2019. godine.

Kriteriji uključenja u studiju:

1. Životna dob 25-42 godina
2. BMI <30 kg/m²

Kriteriji isključenja iz studije:

1. Endometrioza
2. Bolesti štitnjače
3. Chusingova bolest
4. Hiperprolaktinemija
5. Povišeni androgeni-tumori

3.3. Mjesto studije

Istraživanje je provedeno na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode KBC Split.

3.4. Metode prikupljanja i obrade podataka

Podaci su prikupljeni iz medicinske dokumentacije žena koje se liječe od neplodnosti i koje su ispunjavale kriterije za ulazak u istraživanje. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split.

3.4.1. Primarne mjere ishoda

Primarna mjera ishoda je bilo ispitati hipotezu da je indukcija završne maturacije jajnih stanica kombinacijom humanog korionskog gonadotropina i agonista gonadotropin-otpustajućeg hormona uspješnija za krajnji ishod postupka izvantjelesne oplodnje u smislu implantacije nego indukcija završne maturacije samo humanim korionskim gonadotropinom. U studiji su ispitanicama analizirane vrijednosti beta humanog korionskog gonadotropina (β hCG) kao izravni pokazatelj uspješne implantacije.

3.4.2. Sekundarne mjere ishoda

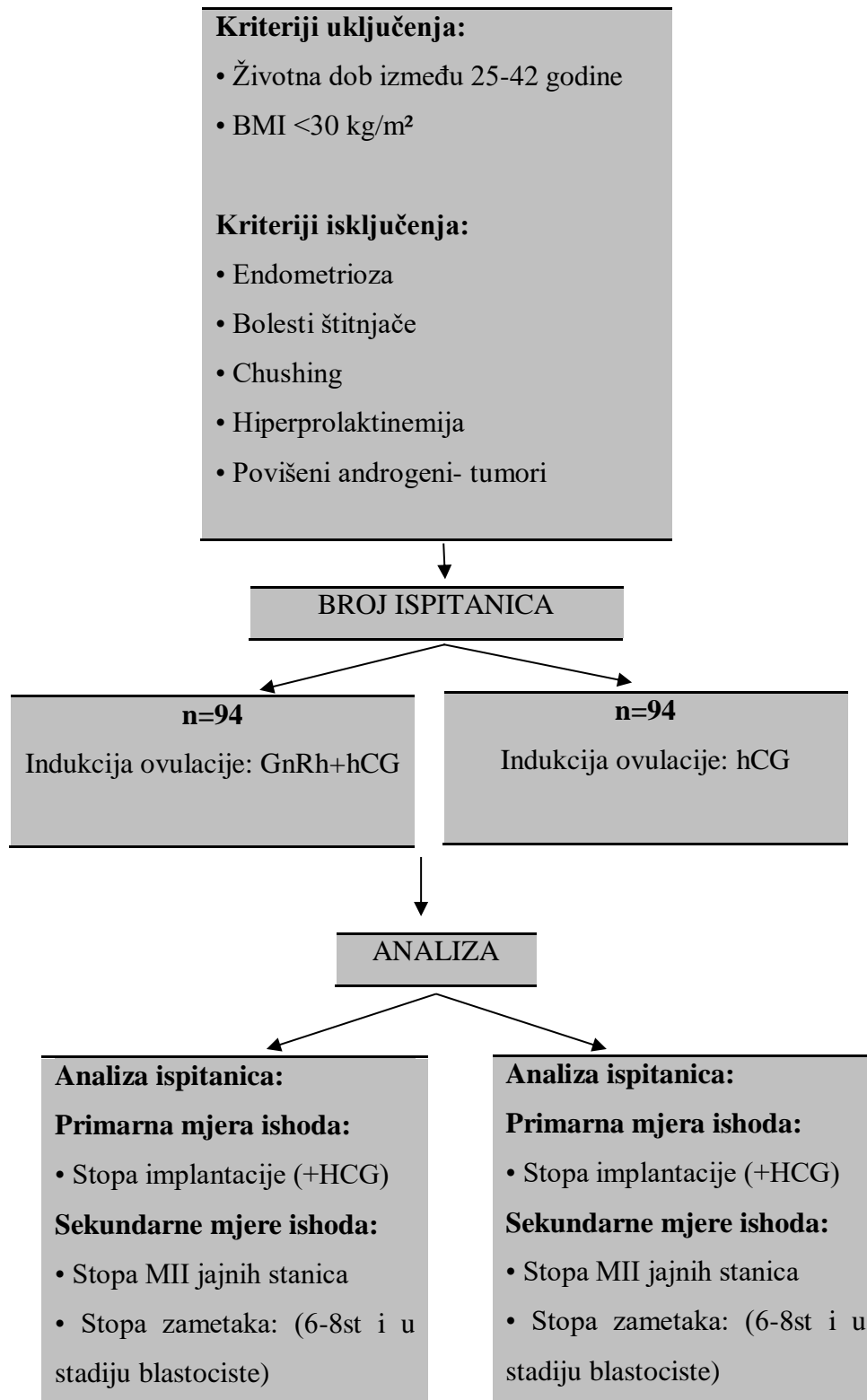
Sekundarne mjere ishoda uključivale su broj jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa (M2 faza), broj šestostaničnih i osmostaničnih zametaka te zametaka u stadiju blastociste.

3.4.3. Statistička obrada podataka

Svi podaci su statistički obrađeni te su prikazani pomoću tablica i grafova. Statistička obrada podataka napravljena je u Med Calcu. Kvalitativne podatke smo prikazivali uz pomoć tablica kontigencije i uspoređivali χ^2 testom. Kvantitativne podatke koji u našoj analizi ne slijede normalnu razdiobu smo prikazali uz pomoć medijana (min-max) i interkvartilnog raspona. Mann-Whitney U test smo koristili za usporedbu kvantitativnih podataka između dviju skupina, a Kruskal-Wallis test smo koristili za usporedbu kvantitativnih podataka za tri skupine. Rezultate smo interpretirali na razini značajnosti $P < 0,05$.

3.5. Opis istraživanja

Izvodom iz pisanih protokola liječenja neplodnosti ispitanice su podijeljene u dvije skupine, ovisno o terapiji liječenja: 94 ispitanice u kojih se za stimulaciju ovulacije koristila kombinacija GnRH agonista i hCG-a te 94 ispitanice kod kojih se za stimulaciju ovulacije koristio hCG. Također, ispitanice su podijeljene u tri grupe po dobnim skupinama. Prva skupina su ispitanice do 35 godina, druga skupina obuhvaća ispitanice od 35 do 40 godina i treća skupina su ispitanice iznad 40 godina.



Slika 3. Dizajn tijeka studije (eng. flow diagram)

4. REZULTATI

Istraživanjem je obuhvaćeno 188 žena od kojih je u 94 (50%) za indukciju ovulacije korištena kombinacija hCG-a i GnRH agonista, a u 94 (50%) se za indukciju ovulacije koristio hCG. Medijan životne dobi svih ispitanica je 35 godina (min-max; 26-42).

U daljnjem radu istraživat ćemo povezanost ishodne varijable implantacije (pozitivan ili negativan β hCG) s primjenjenom vrstom indukcije ovulacije s dobnim skupinama. Ispitanice smo podjelili u tri dobne skupine: <35, 35-40 i >40 godina.

U Tablici 1. prikazana je razdioba ispitanica prema dobnim skupinama u odnosu na primjenjenu vrstu indukcije ovulacije.

Tablica 1. Prikaz broja (%) ispitanica prema dobnim skupinama u odnosu na primjenjenu vrstu indukciju ovulacije.

Indukcija ovulacije			
Dob (godina); n(%)	hCG+GnRH agonist (n=94)	hCG (n=94)	P*
<35	57 (60,6)	44 (46,8)	0,150
35-40	26 (27,7)	33 (35,1)	
>40	11 (11,7)	17 (18,1)	

* χ^2 test. Terapijske skupine su usklađene prema dobnim skupinama ($\chi^2=3,8$; P=0,150).

U Tablici 2. prikazana je povezanost broja jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa i broja šestostaničnih i osmostaničnih zametaka i zametaka u stadiju blastociste u odnosu na vrstu indukcije ovulacije.

Tablica 2. Prikaz medijana (min-max; interkvartilni raspon) broja stanica u metafazi dva staničnog ciklusa (M2 faza) i broja šestostaničnih i osmostaničnih zametaka i zametaka u stadiju blastociste u odnosu na primjenjenu indukciju ovulacije (kombinacija hCG+GnRH agonist i hCG).

Indukcija ovulacije		hCG+GnRH agonist	hCG	P*
		(n=94)	(n=94)	
M2 faza	medijan (min-max)	4,5 (0-21)	2 (0-18)	0,022
	interkvartilni raspon	2-8	1-5	
Broj zametaka	medijan(min-max)	2 (0-33)	0 (0-14)	<0,001
	interkvartilni raspon	0-4	0-1	

*Mann-Whitney test

Medijan broja jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa (M2 faza) je za 2,5 veći kod ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hCG+GnRH agonista nego u ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristio hCG (P=0,022).

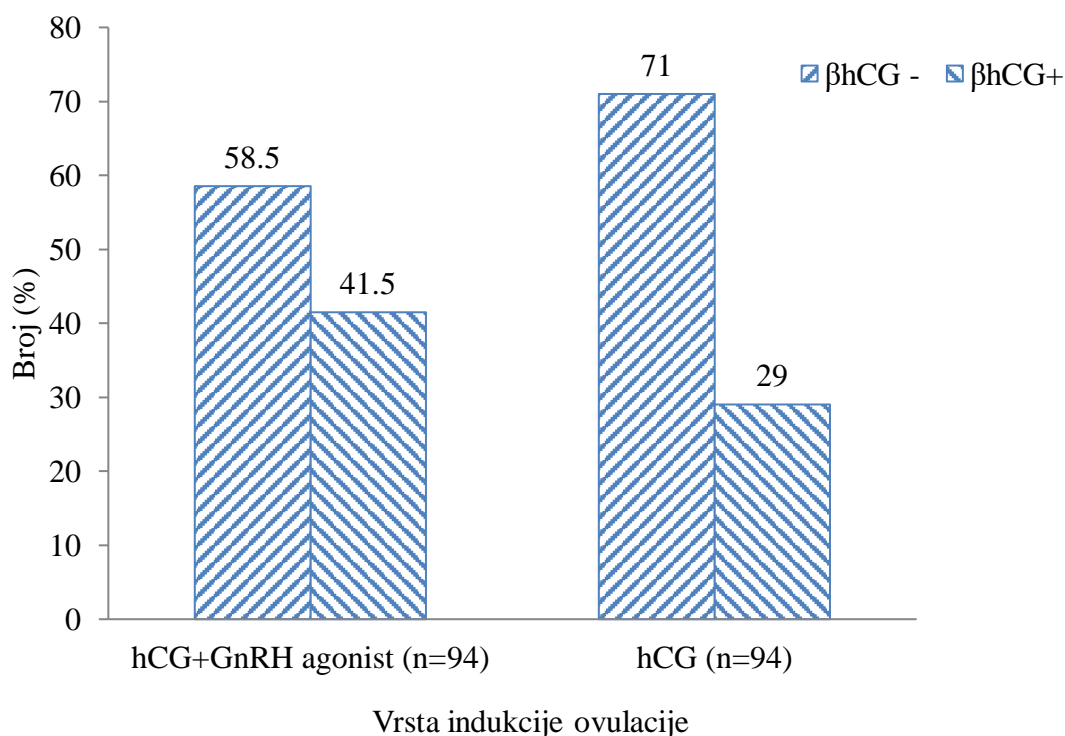
Medijan broja šestostaničnih i osmostaničnih zametaka i blastocista je za 2 veći u ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hCG+GnRH agonista nego u ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristio hCG (P<0,001).

U Tablici 3. prikazana je povezanost implantacije s vrstom indukcije ovulacije.

Tablica 3. Prikaz broja (%) ispitanica prema implantaciji (β hCG pozitivan ili negativan) u odnosu na primjenjenu indukciju ovulacije (hCG+GnRH agonist i hCG).

Indukcija ovulacije	hCG+GnRH agonist (n=94)	hCG (n=94)	P*
β hCG; n(%) negativno	55 (58,5)	67 (71)	0,067
pozitivno	39 (41,5)	27 (29)	

* χ^2 test



Slika 4. Prikaz broja (%) ispitanica prema implantaciji (β hCG pozitivan ili negativan) u odnosu na primjenjenu indukciju ovulacije (hCG+GnRH agonist u usporedbi s hCG-om).

Razdioba ispitanica prema implantaciji u odnosu na primjenjenu indukciju ovulacije (hCG+GnRH agonist u usporedbi s hCG-om) nije se statistički značajno razlikovala na razini značajnosti od 95% već na razini značajnosti od 93% ($P=0,067$). Proporcija pozitivne implantacije gdje se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hCG+GnRH agonista iznosi 0,41, a kod indukcije ovulacije gdje se koristio hCG iznosi 0,29.

Da ne bismo propustili razliku ovih dviju proporcija χ^2 testom uz $\alpha =0,005$ i snagu istraživanju od 70% bilo bi potrebno imati 195 ispitanica u svakoj terapijskoj skupini. Kako je naš uzorak manji od navedenog, ne možemo sa sigurnošću tvrditi da nema razlike između promatranih skupina s obzirom na pozitivan ishod.

U Tablici 2. razvidno je da je indukcija ovulacije kombinacijom hCG+GnRH agonist utjecala na nastanak većeg broja jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa (M2 faza) i na veći broj prikladnih zametaka nego indukcija hCG-om. Budući da znamo da gamete u navedenim stadijima utječu direktno na veću uspješnost implantacije (Tablica 4) moglo bi se zaključiti da je indukcija ovulacije kombinacijom hCG+GnRH agonist ipak uspješnija od indukcije ovulacije samo hCG-om.

U Tablici 4. prikazana je povezanost broja jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa i broja šestostaničnih i osmostaničnih zametaka i zametaka u stadiju blastociste s ishodom implantacije (pozitivan ili negativan β hCG).

Tablica 4. Prikaz povezanosti implantacije s brojem jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa i broja zametaka (šestostaničnih, osmostaničnih i blastociste).

βhCG		negativan	pozitivan	P*
M2 faza	medijan (min-max)	2 (0-21)	6 (0-18)	<0,001
	interkvartilni raspon	1-5	2,8-9	
Broj zametaka	medijan (min-max)	0 (0-13)	2 (0-33)	<0,001
	interkvartilni raspon	0-2	0-4	

*Mann-Whitney test

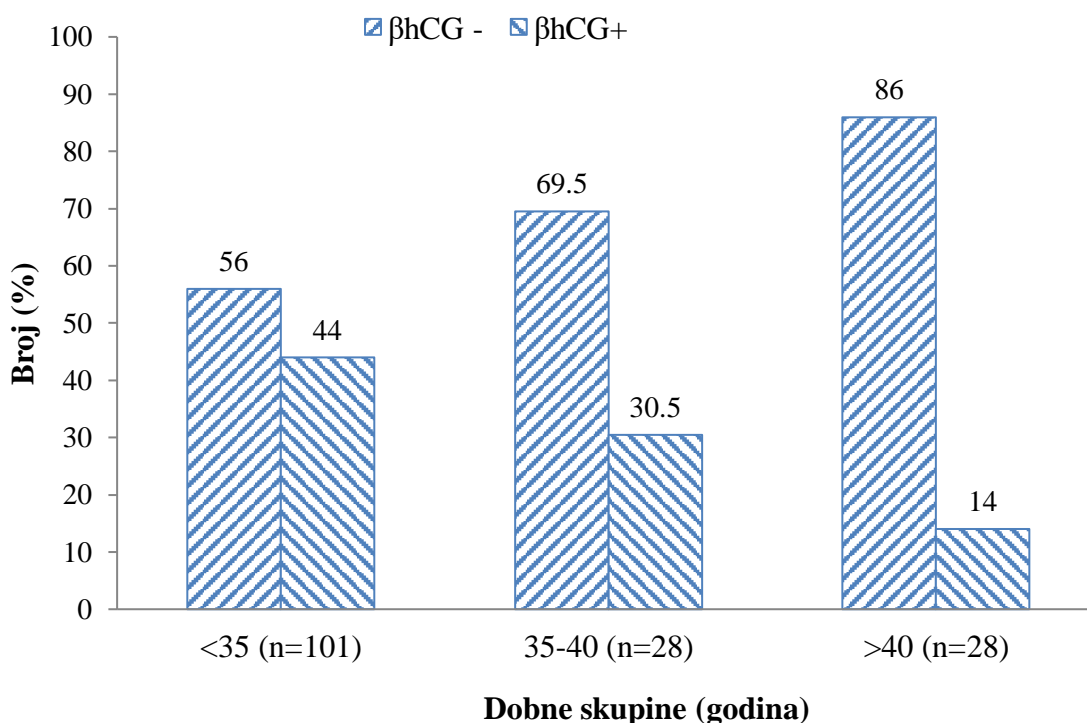
Medijan jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa kod pozitivne implantacije je za 6 veći nego kod negativne ($P<0,001$). Medijan broja zametaka (šestostaničnih, osmostaničnih, blastocista) kod pozitivne implantacije je za 2 veći nego kod negativne ($P<0,001$).

U Tablici 5. prikazana je povezanost implantacije i dobnih skupina ispitanica.

Tablica 5. Prikaz broja (%) ispitanica prema uspješnosti implantacije (pozitivan ili negativan β hCG) u odnosu na dobne skupine.

Dobna skupina (godina)	<35 (n=101)	35-40 (n=59)	>40 (n=28)	P*
β hCG; n(%)				0,011
negativno	57 (56)	41 (69,5)	24 (86)	
pozitivno	44 (44)	18 (30,5)	4 (14)	

* χ^2 test



Slika 5. Prikaz broja (%) ispitanica prema uspješnosti implantacije (pozitivan ili negativan β hCG) u odnosu na dobne skupine.

Postoji statistički značajna povezanost razdiobe ispitanica prema uspješnosti implantacije i dobnih skupina ($P=0,011$). Udio ispitanica kod kojih je implantacija negativnog ishoda u skupini >40 godina za 1,5 puta je veći nego u ispitanica životne dobi <35 godina. Udio ispitanica s pozitivnim ishodom implantacije je za 3 puta veći u skupini ispitanica <35 godina u odnosu na skupinu ispitanica >40 godina. Izgled za pozitivan ishod u odnosu na negativan pada s porastom dobnih skupina za 2 puta manji ($P=0,003$).

U Tablici 6. prikazana je povezanost broja jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa i broja zametaka (šestostaničnih, osmostaničnih i u stadiju blastociste) s dobnim skupinama ispitanica.

Tablica 6. Prikaz medijana (min-max; interkvartilni raspon) jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) i broja zametaka (šestostaničnih, osmostaničnih i u stadiju blastociste) u odnosu na dobne skupine.

Dobna skupina (godina)		<35	35-40	>40	P*
M2 faza	medijan (min-max)	4 (0-21)	3 (0-13)	2 (0-6)	0,017
	interkvartilni raspon	1-8	1-6	1-4	
Broj zametaka	medijan (min-max)	1 (0-33)	0 (0-10)	0 (0-6)	0,006
	interkvartilni raspon	0-4	0-3	0-1	

*Kruskal-Wallis test

Postoji statistički značajna povezanost broja jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa sa dobnim skupinama ($P=0,016$). Razliku čini skupina ispitanica >40 godina u odnosu na skupinu ispitanica <35 godina ($P=0,017$). U skupini ispitanica >40 godina medijan jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa za 2 je manji nego u skupini ispitanica <35 godina. Spearman koeficijent korelacije Rho između godina života i broja jajnih stanica u metafazi dva (M2 faza) staničnog ciklusa je negativan i iznosi -0,244 ($P=0,001$).

Postoji statistički značajna povezanost broja šestostaničnih, osmostaničnih i zametaka u stadiju blastociste s životnom dobi ispitanica ($P=0,004$). Razliku čini broj zametaka između skupine ispitanica >40 godina u odnosu na skupinu ispitanica <35 godina ($P=0,006$). U skupini ispitanica >40 godina medijan broja zametaka za 1 je manji nego u skupini ispitanica <35 godina. Spearman koeficijent korelacije Rho između godina života i broja zametaka je negativan i iznosi -0,249 ($P=0,001$).

5. RASPRAVA

Cilj našeg istraživanja je bilo ispitati je li finalna maturacija folikula potaknuta kombinacijom humanog korionskog gonadotropina i agonista gonadotropin-otpustajućeg hormona ("*double trigger*") bolja za uspješan ishod postupaka izvantjelesne oplodnje od korištenja samo humanog korionskog gonadotropina u smislu veće stope implantacije i nastanka većeg broja gameta prikladnih za implantaciju te utječe li međuodnos ta dva parametra na pozitivan ishod.

Rezultati našeg istraživanja pokazali su da nema statistički značajne razlike između dviju vrsta indukcija ovulacije na uspješan ishod implantacije. S rezultatima našeg istraživanja slaže se i istraživanje Esera i suradnika iz 2015. godine (87). Rezultati te studije pokazali su da nema značajne statističke razlike između dvije skupine ispitanica u smislu pozitivnog ishoda implantacije. Nedostatak te studije je bio što su ispitanice u obje grupe bile isključivo pacijentice sa slabom ovarijskom rezervom. Jednake rezultate dijeli i studija iz 2013. godine koju su vodili Decler i suradnici (88). Štoviše, u studiji se pokazalo da je stopa trudnoće bila još i manja kod ispitanica u kojih se za finalnu maturaciju jajnih stanica koristio hCG zajedno s GnRH agonistom, nego kod skupine ispitanica gdje se za indukciju ovulacije koristio samo hCG. Suprotno ovim rezultatima svjedoče druge dvije studije koje su proveli Lin 2011. i Zilberberg 2014. godine sa svojim suradnicima (82,86). Njihova istraživanja su pokazala da postoji statistički značajna razlika u stopi implantacije u skupini ispitanica koje su za završnu maturaciju jajnih stanica koristile GnRH agonist i hCG. No ipak, i te rezultate je potrebno tumačiti s oprezom jer je i Lin, autor prve studije, naveo da je njezino ograničenje nedovoljan uzorak ispitanica u promatranim skupinama. Također, iz istraživanja su bile isključene žene iznad 40 godina što čini značajnu razliku od našeg istraživanja u kojem su one bile uključene, jer veća životna dob izravno utječe na ishod implantacije i time na sveukupan rezultat studije.

Ograničenje našeg istraživanja je što je uzorak ispitanica manji od potrebnog kako bi snaga istraživanja iznosila 70%. Stoga ne možemo sa sigurnošću tvrditi da nema razlike između promatranih skupina u smislu pozitivnog ishoda, ali je svakako s obzirom i na druga istraživanja vidljiv pozitivan trend u korist korištene kombinacije hormona za indukciju ovulacije, te su s obzirom na to potrebna daljnja istraživanja.

Kao sekundarne mjere ishoda naše istraživanje je pratilo stopu nastanka jajnih stanica (oocita) u metafazi dva staničnog ciklusa i stadij zametka (šestostanične i osmostanične zametke i zametke u stadiju blastociste). Statistička obrada podataka pokazala je kako ima razlike između dvije skupine ispitanica u korist protokola u kojem su se koristili GnRH agonist

i hCG. Naime, pacijentice koje su za finalnu maturaciju folikula koristile kombinaciju hormonskih lijekova imaju veći broj oocita u metafazi dva staničnog ciklusa i veći broj dobrih zametaka. Dobiveni rezultat za jajne stanice u metafazi dva potvrđuju i istraživanja Lina i Zilberberga koja pokazuju statistički značajnu vezu između dvojne hormonske terapije i povećanog broja oocita u metafazi dva staničnog ciklusa. Međutim, dok studija Zilberga prati naše rezultate i za broj zametaka, Linovo istraživanje je pokazalo da je broj zametaka bio sličan u obje ispitivane skupine. S druge strane Decler je sa svojim suradnicima dobio rezultate koji pokazuju da nema statistički značajne razlike između dvije ispitivane grupe u broju jajnih stanica u metafazi dva i u broju zametaka. No ipak, razlika njegovog istraživanja od našeg je u tome što je Decler isključio žene iznad 38 godina starosti čime bi se dali objasniti i različiti rezultati. Također, ni Eserovo istraživanje nije pokazalo statističku razliku u broju stanica u metafazi dva staničnog ciklusa i broju zametaka između dvije ispitivane skupine, no za objašnjenje tog rezultata u obzir treba uzeti već ranije napisani mogući nedostatak studije.

Naše istraživanje je prikazalo i korelaciju životne dobi ispitanica s ishodom implantacije, nastankom broja oocita u metafazi dva staničnog ciklusa i broja zametaka uzimajući u obzir vrstu protokola koji se koristio za finalnu maturaciju jajnih stanica. Ispitanice bile podijeljene u tri dobne skupine: <35, 35-40 i >40 godina te su ujednačene u obje prikazane grupe. Pokazalo se kako ranija dob žene djeluje na uspješnost implantacije bez obzira na korištene protokole u in vitro postupku potpomognute oplodnje. Također, rezultati su pokazali kako se sa svakim prelaskom u stariju dobnu skupinu smanjivala šansa za pozitivnim ishodom implantacije. Prikazani rezultat čini jasnu uzročno posljedičnu vezu jer je poznato da plodnost žene progresivno pada s rastom životne dobi. Naime, svakom godinom se smanjuje ovarijska rezerva kao i kvaliteta nastalih jajnih stanica. Istraživanje koje je 2009. proveo Hourwitz sa suradnicima pratilo je uspješnost postupaka potpomognute oplodnje kod žena iznad 40 godina i uspoređivalo sa ishodom postupaka kod žena mlađih od 35 godina (89). Rad je pokazao izraziti pad uspješnosti postupka, implantacije i živorođenosti kod žena koje su u tretman liječenja neplodnosti ušle nakon napunjene 40. godine. Dakle, svakom godinom života ispitanica uspješnost implantacije pada za 2-3,5%, što se slaže s našim rezultatima koji su pokazali da je stopa implantacije za tri puta veća kod žena mlađih od 35 godina, dok žene starije od 40 godina imaju 1,5 puta veću šansu za negativni ishod postupka od ispitanica mlađih životnih skupina. Također, broj oocita u metafazi dva i broj zametaka je bio statistički značajno manji u skupini ispitanica starije životne dobi. Međutim dok je naše istraživanje pokazalo značajnu razliku u broju jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa i u broju zametaka, rad koji je 2017.

prezentirala Grøndahl je zabilježio konstantan broj oocita u metafazi dva staničnog ciklusa bez obzira na životnu dob žena (90).

Nadalje, naš rad je pratio i međuodnos implantacije i broja jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa i broja zametaka. Prikazani rezultati interakcije oocita u metafazi dva staničnog ciklusa i uspješne implantacije jednoznačno govore za činjenicu da je broj jajnih stanica u metafazi dva povezan s pozitivnim ishodom. Također, statistički dobivena značajnost je prikazana i kod stadija zametka gdje je povećan broj zametaka izravno bio povezan s poželjnim ishodom implantacije. Rezultat kojeg smo dobili se slaže i sa zaključkom velike studije koju je vodio dr. Venetis u Australiji 2017. godine (91). U njoj je zaključeno da veći broj dobivenih zametaka po jednom ciklusu postupka potpomognute oplodnje zasigurno znači veću šansu za uspjeh postupka u vidu uspješne implantacije i trudnoće. Dakako, navedene tvrdnje treba promatrati samo u okviru novijih protokola za indukciju ovarijske ovulacije kao što je "*double trigger*" protokol kojeg smo prikazali u našoj studiji, a koji za cilj imaju nastanak što većeg broja funkcionalnih folikula, ali uz minimalne šanse opasnih nuspojava tretmana poput sindroma hiperstimulacije jajnika (OHSS).

Konačno, razvidno je kako je indukcija ovulacije korištenjem GnRH agonista i hCG-a utjecala na nastanak većeg broja jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa i većeg broja zametaka nego samo hCG-om.

Također, s obzirom na činjenicu da gamete u gore navedenim stadijima utječu direktno na veću uspješnost implantacije da se zaključiti da bi indukcija ovulacije kombinacijom GnRH agonista i hCG-a trebala biti uspješnija od indukcije ovulacije samo hCG-om u smislu pozitivnog ishoda.

6. ZAKLJUČCI

1. Nema statistički značajne povezanosti između uspješnijeg ishoda implantacije gdje se za indukcije ovulacije koristila kombinacija hormona GnRH agonista i hCG-a u usporedbi s protokolima gdje se za indukciju ovulacije koristio samo hCG.
2. Broj nastalih jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa i broj nastalih zametaka je veći kod ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hormona hCG+ GnRH agonista.
3. Uspješnost implantacije raste s većim brojem nastalih jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa i brojem zametaka.
4. Postoji statistički značajna povezanost razdiobe ispitanica prema uspješnosti implantacije i dobnih skupina ispitanica te je implantacija uspješnija što je pacijentica mlađa.
5. Postoji statistički značajna povezanost nastanka broja jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa i broja zametaka s dobnim skupinama te je veći broj nastalih gameta što je pacijentica mlađa.

Konačno, budući da navedene gamete utječu direktno na veću uspješnost implantacije moglo bi se zaključiti da je indukcija ovulacije kombinacijom hormona hCG+ GnRH agonistom ipak uspješnija od indukcije ovulacije samo hCG-om.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Gnoth C, Godehardt E, Herrmann PF, Friol K, Tigges J, Freundl G. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod.* 2005;20(5):1144-7.
2. Datta J, Palmer MJ, Tanton C, Gibson LJ, Jones KG, Macdowall W, i sur. Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. *Hum Reprod.* 2016;31(9):2108-18.
3. Taylor A. Extent of the problem. *BMJ.* 2003;23;327(7412):434-6.
4. Olmedo SB, Chillik C, Kopelman S. Definition and causes of infertility. *Reprod Biomed Online.* 2001;2(1):41-53.
5. Benksim A, Elkhoudri N, Addi RA, Baali A, Cherkaoui M. Difference between primary and secondary infertility in Morocco: frequencies and associated factors. *Int J Fertil Steril.* 2018;12(2):142-6.
6. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015;13:37.
7. Infertility-Symptoms and causes [Internet]. Mayo Clinic. 2019. Dostupno na: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/infertility/symptoms-causes/syc-20354317>
8. Debra R, Wilson C. Infertility: Causes, diagnosis, risks, and treatments [Internet]. Medical News Today. 2019. Dostupno na: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/165748.php>
9. Bhattacharya S, Johnson N, Tijani HA, Hart R, Pandey S, Gibreel AF. Female infertility. *BMJ Clin Evid.* 2010;2010:819.
10. Leaver RB. Male infertility: an overview of causes and treatment options. *Br J Nurs.* 2016;25(18):35-40.
11. Šimunić V, i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost-Medicinski pomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str 121-3.
12. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril.* 2014;101(3):633-4.
13. Female Age-Related Fertility Decline-ACOG [Internet]. Acog.org. 2019. Dostupno na: <https://www.acog.org/Clinical-Guidance-and-Publications/Committee-Opinions/Committee-on-Gynecologic-Practice/Female-Age-Related-Fertility-Decline?IsMobileSet=false>
14. Korula G, Mohan SK. Fertility and age. *J Hum Reprod Sci.* 2010;3(3):121-3.
15. Brooke VR, Abusief M, Missmer SA. Modifiable risk factors and infertility-what are the connections? *Am J Lifestyle Med.* 2016;10(4):220-31.
16. Tsevat DG, Wiesenfeld HC, Parks C, Peipert JF. Sexually transmitted diseases and infertility. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(1):1-9.

17. Lindsay TJ, Vitrikas KR. Evaluation and treatment of infertility. *Am Fam Physician*. 2015;91(5):308-14.
18. Reece AE, Barbieri RL. *Obstetrics and gynecology: the essentials of clinical care*. New York: Thieme; 2010. str. 404-7.
19. Jirge PR. Ovarian reserve tests. *J Hum Reprod Sci*. 2011;4(3):108-113.
20. Šimunić V, i sur. *Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost-Medicinski pomognuta oplodnja, IVF*. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str 471-3.
21. Geraedts JP, De Wert GM. Preimplantation genetic diagnosis. *Clin Genet*. 2009; 76(4):315-25.
22. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji-Zakon.hr [Internet]. Zakon.hr. 2019. Dostupno na: <https://www.zakon.hr/z/248/Zakon-o-medicinski-pomognutoj-oplodnji>
23. Šimunić V, i sur. *Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost-Medicinski pomognuta oplodnja, IVF*. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 472-82.
24. Zygote Intrafallopian Transfer (ZIFT) [Internet]. American Pregnancy Association. 2019. Dostupno na: <https://americanpregnancy.org/infertility/zygote-intrafallopian-transfer>
25. Types of assisted reproductive treatment [Internet]. VARTA. 2019. Dostupno na: <https://www.varta.org.au/information-support/assisted-reproductive-treatment/types-assisted-reproductive-treatment>
26. WikiJournal of Medicine/Medical gallery of Blausen Medical 2014 - Wikiversity [Internet]. En.wikiversity.org. 2019. Dostupno na: https://en.wikiversity.org/wiki/WikiJournal_of_Medicine/Medical_gallery_of_Blausen_Medical_2014
27. In vitro fertilization (IVF)-Mayo Clinic [Internet]. MayoClinic.org. 2019 Dostupno na: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/in-vitro-fertilization/about/pac-20384716>
28. Paulson R. UpToDate [Internet]. Uptodate.com. 2019. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/in-vitro-fertilization>
29. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet*. 1976;1:880.
30. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978;2:366.
31. Šimunić V, i sur. *Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost-Medicinski pomognuta oplodnja, IVF*. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str 484-5.
32. Nargund G, Fauser BC, Macklon NS, Ombelet W, Nygren K, Frydman R; Rotterdam ISMAAR consensus group on terminology for ovarian stimulation for IVF. The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod*. 2007;22(11):2801-4.

33. Campana A, Balerna M, Pescia G, Van Kooj R, Gatti MY. Indications for in vitro fertilization and embryo transfer. *J Genet Hum.* 1984;32(3):235-41.
34. Baker VL, Luke B, Brown MB, Alvero R, Frattarelli JL, Usadi R, i sur. Multivariate analysis of factors affecting probability of pregnancy and live birth with in vitro fertilization: an analysis of the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertil Steril.* 2010;94:1410.
35. Malizia BA, Hacker MR, Penzias AS. Cumulative live-birth rates after in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 2009;360:236.
36. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril.* 1991;55:784.
37. Roberts JE, Spandorfer S, Fasouliotis SJ, Kashyap S, Rosenwaks Z. Taking a basal follicle-stimulating hormone history is essential before initiating in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2005;83:37.
38. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1995;64:991.
39. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, i sur. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2007;22:766.
40. Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 1998;70:492.
41. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society of Reproductive Surgeons. Salpingectomy for hydrosalpinx prior to in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2008;90:66.
42. Younglai EV, Holloway AC, Foster WG. Environmental and occupational factors affecting fertility and IVF success. *Hum Reprod Update.* 2005;11:43.
43. Kawwass JF, Kulkarni AD, Hipp HS, Crawford S, Kissin DM, Jamieson DJ. Extremities of body mass index and their association with pregnancy outcomes in women undergoing in vitro fertilization in the United States. *Fertil Steril* 2016;106:1742.
44. Kasim K, Roshdy A. Body Mass Index and Pregnancy Outcome after Assisted Reproduction Treatment. *Int J Reprod Med.* 2014;2014:257974.
45. Ross BV, Berry KF, Hornstein MD, Cramer DW, Ehrlich S, Missmer SA. Effect of Alcohol Consumption on In Vitro Fertilization. *Obstet Gynecol.* 2011;117(1):136-42.

46. Ricci E, Noli S, Cipriani S, La Vecchia I, Chiaffarino F, Ferrari S, i sur. Maternal and paternal caffeine intake and ART outcomes in couples referring to an Italian fertility clinic: A Prospective Cohort. *Nutrients*. 2018;10(8):1116.
47. Gleicher N, Weghofer A, Lee IH, Barad DH. FMR1 genotype with autoimmunity-associated polycystic ovary-like phenotype and decreased pregnancy chance. *PLoS One*. 2010;5(12):1-6.
48. Medical Advisory Secretariat. In vitro fertilization and multiple pregnancies-An evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2006;6(18):1-63.
49. Cavoretto P, Candiani M, Giorgione V, Inversetti A, Abu-Saba MM, Tiberio F, i sur. Risk of spontaneous preterm birth in singleton pregnancies conceived after IVF/ICSI treatment: meta-analysis of cohort studies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018;51(1):43-53.
50. Kumar P, Sait SF, Sharma, Kumar M. Ovarian hyperstimulation syndrome. *J Hum Reprod Sci*. 2011;4(2):70-5.
51. Abbara A, Islam R, Clarke SA, Jeffers L, Christopoulos G, Comminos AN, i sur. Clinical parameters of ovarian hyperstimulation syndrome following different hormonal triggers of oocyte maturation in IVF treatment. *Clin Endocrinol*. 2018;88(6):920-7.
52. In vitro fertilization (IVF): MedlinePlus Medical Encyclopedia [Internet]. *Medlineplus.gov*. 2019. Dostupno na: <https://medlineplus.gov/ency/article/007279.htm>
53. Chanda A. The miracle of IVF. *J Adv Pharm Technol Res*. 2010;1(3):365.
54. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340:17.
55. Hatırnaz S, Pektaş MK. Day 3 embryo transfer versus day 5 blastocyst transfers: A prospective randomized controlled trial. *Turk J Obstet Gynecol*. 2017;14(2):82-8.
56. de los Santos MJ, Mercader A, Galán A, Albert C, Romero JL, Pellicer A. Implantation rates after two, three, or five days of embryo culture. *Placenta*. 2003;24:13-9.
57. Harvey J. Stern. Preimplantation genetic diagnosis: prenatal testing for embryos finally achieving its potential. *J Clin Med*. 2014;3(1):280-309.
58. Penzias A, Bendikson K, Butts S, Coutifaris C, Falcone T, Fossom G, i sur. ASRM standard embryo transfer protocol template: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2017;107:897.
59. Policy of transferring fewer embryos [Internet]. *Eshre.eu*. 2019. Dostupno na: <https://www.eshre.eu/Press-Room/Press-releases-2013/Policy-of-transferring-fewer-embryos>
60. Pados G, Devroey P. Luteal phase support. *Assist Reprod Rev*. 1992;2:148.

61. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Progesterone supplementation during the luteal phase and in early pregnancy in the treatment of infertility: an educational bulletin. *Fertil Steril*. 2008;89:789.
62. Šimunić V, i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost-Medicinski pomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 443-98.
63. Fauser B. UpToDate [Internet]. Uptodate.com. 2019. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-ovulation-induction>
64. Siristatidis C, Salamalekis G, Dafopoulos K, Basios G, Vogiatzi P, Papantoniou N. Mild versus conventional ovarian stimulation for poor responders undergoing IVF/ICSI. *In Vivo*. 2017;31(2): 231-8.
65. Weiss NS, Braam S, König TE, Hendriks ML, Hamilton CJ, Smeenk JM, i sur. How long should we continue clomiphene citrate in anovulatory women? *Hum Reprod*. 2014; 29(11):2482-6.
66. Blacker CM. Ovulation stimulation and induction. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1992;21(1):57-84.
67. Katsikis I, Kita M, Karkanaki A, Prapas N, Panidis D. Anovulation and ovulation induction. *Hippokratia*. 2006;10(3):120-7.
68. Huang FJ, Chang SY, Tsai MY, Kung FT, Wu JF, Chang HW. Clinical assisted reproduction: Determination of the efficiency of controlled ovarian hyperstimulation in the gonadotropin-releasing hormone agonist-suppression cycle using the initial follicle count during gonadotropin stimulation. *J Assist Reprod Genet*. 2001;18(2):91-6.
69. Howie R, Kay V. Controlled ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Br J Hosp Med*. 2018;79(4):194-9.
70. Ata B, Seli E. Strategies for controlled ovarian stimulation in the setting of ovarian aging. *Semin Reprod Med*. 2015;33(6):436-48.
71. Nardo LG, Bosch E, Lambalk CB, Gelbaya TA. Controlled ovarian hyperstimulation regimens: a review of the available evidence for clinical practice. Produced on behalf of the BFS Policy and Practice Committee. *Hum Fertil*. 2013;16(3):144-50.
72. Pacchiarotti A, Selman H, Valeri C, Napoletano S, Sbracia M, Antonini G, i sur. Ovarian stimulation protocol in IVF: An Up-to-Date Review of the Literature. *Curr Pharm Biotechnol*. 2016;17(4):303-15.
73. Shrestha D, La X, Feng HL. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Ann Transl Med*. 2015;3(10):137.

74. de Oliveira SA, Calsavara VF, Cortés GC. Final oocyte maturation in assisted reproduction with human chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone agonist (dual trigger). *JBRA Assist Reprod.* 2016;20(4):246-50.
75. Kovacs P. HCG injection after ovulation induction with clomiphene citrate [Internet]. *Medscape.* 2019. Dostupno na: <https://www.medscape.com/viewarticle/473515>
76. Kemeter P, Feichtinger W. Ultrasound monitoring of follicle growth in IVF. *Wien Med Wochenschr.* 1991;141(1-2):9-13.
77. Jha P. Follicular monitoring. *Radiology Reference Article.* Radiopaedia.org [Internet]. Radiopaedia.org. 2019. Dostupno na: <https://radiopaedia.org/articles/follicular-monitoring>
78. Cole LA. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010;8:102.
79. Choi J, Smitz J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: distinguishing unique physiologic roles. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(3):174-81.
80. Kasum M, Kurdija K, Orešković S, Čehić E, Pavičić-Baldani D, Škratić L. Combined ovulation triggering with GnRH agonist and hCG in IVF patients. *Gynecol Endocrinol.* 2016;32(11):861-5.
81. Humaidan P, Bredkjaer HE, Bungum L, Bungum M, Grøndahl ML, Westergaard L, i sur. GnRH agonist (buserelin) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 2005;20(5):1213-20.
82. Zilberberg E, Haas J, Dar S, Kedem A, Machtinger R, Orvieto R. Co-administration of GnRH-agonist and hCG, for final oocyte maturation (double trigger), in patients with low proportion of mature oocytes. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31(2):145-7.
83. Kumar P, Sharma A. Gonadotropin-releasing hormone analogs: Understanding advantages and limitations. *J Hum Reprod Sci.* 2014;7(3):170-4.
84. Orvieto R. Triggering final follicular maturation-hCG, GnRH-agonist or both, when and to whom? *J Ovarian Res.* 2015;8:60.
85. Humaidan P, Kol S, Papanikolaou EG. GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice? *Hum Reprod Update.* 2011;17(4):510-24.
86. Lin MH, Wu FS, Lee RK, Li SH, Lin SY, Hwu YM. Dual trigger with combination of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves the live-birth rate for normal responders in GnRH-antagonist cycles. *Fertil Steril.* 2013;100(5):1296-302.

87. Eser A, Devranoğlu B, Bostancı Ergen E, Yayla Abide Ç. Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin for poor responders. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2018;19(2):98-103.
88. Decler W, Osmanagaoglum K, Seynhave B, Kolibianakis S, Tarlatzis B, Devroey P. Comparison of hCG triggering versus hCG in combination with a GnRH agonist: a prospective randomized controlled trial. *Facts Views Vis Obgyn.* 2014;6(4):203-9.
89. Hourvitz A, Machtiger R, Maman E, Baum M, Dor J, Levron J. Assisted reproduction in women over 40 years of age: how old is too old? *Reprod Biomed Online.* 2009;19(4):599-603.
90. Grøndahl ML, Lindgren SL, Kesmodel US, Agerholm IE, Lemmen JG, Lundstrøm P, i sur. Effect of women's age on embryo morphology, cleavage rate and competence-A multicenter cohort study. *PLoS One.* 2017;12(4):1-12.
91. Venetis CA, Tilia L, Panlilio E, Kan A. Is more better? A higher oocyte yield is independently associated with more day-3 euploid embryos after ICSI. *Hum Reprod.* 2019;1;34(1):79-83.

8. SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj našeg istraživanja je usporediti stimulaciju završne maturacije jajnih stanica na krajnji ishod postupka medicinski potpomognute oplodnje (MPO) protokola u kojem se za stimulaciju ovulacije koristi kombinacija humanog korionskog gonadotropina i agonista gonadotropin-otpuštajućeg hormona (hCG+GnRH agonist) s protokolom u kojem se koristi samo humani korionski gonadotropin (hCG).

ISPITANICI I METODE: Ovo retrospektivno istraživanje provedeno je na Zavodu za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju, Klinike za ženske bolesti i porode KBC Split u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 1. siječnja 2019. godine. Podaci su prikupljeni iz medicinske dokumentacije žena koje se liječe od neplodnosti i koje su ispunjavale kriterije za ulazak u istraživanje. Obradom je obuhvaćeno 188 ispitanica: 94 ispitanice u kojih se za stimulaciju ovulacije koristila kombinacija hCG+GnRH agonista te 94 ispitanice kod kojih se za stimulaciju ovulacije koristio hCG. Također ispitanice su podijeljene po dobnim skupinama. Prva skupina su ispitanice do 35 godina, druga skupina obuhvaća ispitanice od 35 do 40 godina i treća skupina ispitanice iznad 40 godina. U studiji su ispitanicama obje skupine analizirane vrijednosti beta humanog korionskog gonadotropina (β hCG) kao pokazatelj uspješne implantacije, broj jajnih stanica u metafazi dva staničnog ciklusa (M2 faza) te broj zametaka u šestostaničnoj i osmostaničnoj fazi te blastociste.

REZULTATI: Razdioba ispitanica prema implantaciji u odnosu na primjenjenu indukciju ovulacije (hCG+GnRH agonista u usporedbi s hCG) nije se statistički značajno razlikovala na razini značajnosti od 95% već na razini značajnosti od 93% ($P=0,067$). Medijan broja jajnih stanica u M2 fazi je za 2,5 veći kod ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hormona nego u ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristio hCG ($P=0,022$), dok je medijan broja zametaka za 2 veći u ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hormona ($P<0,001$). Medijan jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa kod pozitivne implantacije je za 6 veći nego kod negativne ($P<0,001$). Medijan broja zametaka kod pozitivne implantacije je za 2 veći nego kod negativne ($P<0,001$). Postoji statistički značajna povezanost razdiobe ispitanica prema uspješnosti implantacije i dobnih skupina ($P=0,011$). Postoji statistički značajna povezanost broja jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa sa dobnim skupinama ($P=0,016$). Razliku čini skupina ispitanica >40 godina u odnosu na skupinu ispitanica <35 godina ($P=0,017$). Postoji statistički značajna povezanost broja zametaka s životnom dobi ispitanica ($P=0,004$). Razliku čini broj zametaka između skupine ispitanica >40 godina u odnosu na skupinu ispitanica <35 godina ($P=0,006$).

ZAKLJUČCI: Nema statistički značajne povezanosti između uspješnijeg ishoda implantacije gdje se za indukcije ovulacije koristila kombinacija hormona GnRH agonista i hCG-a u usporedbi s protokolima gdje se za indukciju ovulacije koristio hCG. Međutim, broj nastalih jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa i broj nastalih zametaka je veći kod ispitanica kod kojih se za indukciju ovulacije koristila kombinacija hormona. Također, uspješnost implantacije raste s većim brojem nastalih jajnih stanica u M2 fazi staničnog ciklusa i brojem zametaka. Konačno, postoji statistički značajna povezanost dobnih skupina ispitanica i uspješnog ishoda implantacije kao i nastanka većeg broja prikladnih gameta u korist mlađih ispitanica.

9. SUMMARY

DIPLOMA THESIS TITLE: Standard human chorionic gonadotropin versus double trigger for final oocyte maturation in improving clinical outcome of IVF

OBJECTIVES: The aim of our study was to compare final maturation induction to the outcome of in vitro fertilization (IVF) process using different drugs. Ovulation was induced with combination of human chorionic gonadotropin and gonadotropin releasing agonist (hCG + GnRH agonist) in one group and human chorionic gonadotropin in another (hCG).

MATERIALS AND METHODS: This retrospective study was conducted in Reproductive Health Centre, University Hospital of Split, from January 1st 2017 to January 1st 2019. The data were collected from the medical records of patients undergoing treatments for infertility and met the criteria for entering the research. The study included totally 188 patients: 94 to ovulation induction with combination of hCG+GnRH agonist and 94 to ovulation induction with hCG. Patients were divided in groups by age. First group were women aged 35 and younger, the second group included age 35 to 40 and the third group were patients over 40 years. In the study, both groups analyzed the values of beta human chorionic gonadotropin (β hCG) as an indicator of successful implantation, the number of metaphase II (MII) oocytes and the number of embryos.

RESULTS: The distribution of implantation did not differ statistically significantly at 95% but at 93% significance level ($P=0.067$) between the two groups (hCG+GnRH agonist compared to hCG). The median of MII oocytes was for 2.5 higher in those using hormone combination for ovulation induction than in those using hCG ($P=0.022$) for ovulation induction, while median of embryos was for 2 higher in patients using hormone combinations ($P<0.001$). Median of MII oocytes in positive implantation was for 6 higher than in negative ($P<0.001$). The median of embryos in positive implantation was for 2 higher than in the negative ($P<0.001$). There was a statistically significance between females age and implantation ($P=0.011$). Also, there was a statistically significance between females age and MII oocytes number ($P=0.016$). The difference was made by a group of patients aged 40 years and older in correlation with participants aged 35 and younger ($P=0.017$). There was a statistically significance between the females age and number of embryos ($P=0.004$). The difference was the number of embryos among the respondents aged 40 years and older compared to the group of patients aged 35 years and younger ($P=0.006$).

CONCLUSIONS: There was no statistically significance between two drugs used for ovulation induction (hCG+GnRH agonist and hCG) and better outcome of implantation. However, the number of MII oocytes and the number of embryos was greater where ovulation was induced by combination of hormones. Also, the success of implantation grew with a larger number of MII oocytes and embryos. Finally, there was a statistically significance between females age and positive outcome of implantation as well as the greater number of gametes in favour of younger patients.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI

Ime i prezima: Dijana Krišto

Datum rođenja: 12.9.1994.

Mjesto rođenja: Split, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Petra Krešimira IV 48, Solin 21210, Hrvatska

E-mail adresa: dijanakristo1@gmail.com

OBRAZOVANJE

2001.-2007. Osnovna škola "Don Frane Bulića", Solin

2007.-2009. Osnovna škola "Kraljice Jelene", Solin

2009.-2013. IV. Gimnazija "Marko Marulić", Split

2013.-2019. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studijski program medicina

ZNANJA I VJEŠTINE

Aktivno služenje engleskim jezikom i poznavanje talijanskog jezika

Posjedovanje organizacijskih, administrativnih i socijalnih vještina

Posjedovanje vozačke dozvole B kategorije

OSTALE AKTIVNOSTI

2015.-2019. Članica Udruge CroMSIC (Hrvatska udruga studenata medicine)

2018.-2019. Nacionalna dužnosnica za medicinsku edukaciju (NOME)

2018. Članica organizacijskog odbora PMKS-"Pharmaceutical and medical knowledge showdown", Split 2018.

2018. Članica organizacijskog odbora PZS 2018-"Praktična znanja za studente", Split 2018.

NAGRADE I POSTIGNUĆA

2009.-2013. Dobitnica stipendije Grada Solina u kategoriji izvrsnih učenika srednjih škola

2013.-2019. Dobitnica stipendije Grada Solina u kategoriji izvrsnih studenata

STRUČNA PRAKSA

2017. Profesionalna razmjena u Španjolskoj (Barcelona) na odjelu hitne medicine

2019. Profesionalna razmjena na Tajlandu (Bangkok) na odjelu hitne medicine