

## Optimalan IVF/ICSI danas

*prof. dr. sci. Velimir Šimunić*

Ovaj prikaz temelji se na kritičkom predavanju prof. Šimunića na 10. Hrvatskom i međunarodnom kongresu o humanoj reprodukciji (Brijuni, 10.-13.09.2015.), te predavanjima i raspravama svjetski poznatih stručnjaka iz tog područja. Analizirana je sva moderna literatura, kontroverze i preporuke stručnih udruga. Također su analizirani i uvršteni zaključci s 18. Svjetskog kongresa o in vitro fertilizaciji (Kopenhagen, 27.-30.09.2015.).

Istaknuto je ono liječenje za koje postoji konsenzus o poboljšanju rezultata IVF-a, kao i nekonzistentna mišljenja za koja nema medicinskih dokaza. Uspoređeni su i upitnici koje su ispunili elitni, ranije navedeni gosti kongresa. Tekst pišem tako da je razumljiv i pacijentima, a na kraju ističem pojmove i kratice.

### Uvod

Učestalost neplodnosti je u neprestanom porastu i danas je u većini zemalja **16-18% parova** neplodno ili je plodnost značajno umanjena. Uzroci neplodnosti jesu:

ženski (30%)	muški (30%)	udruženi (40%)
<ul style="list-style-type: none"><li>• anovulacije</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• neplodno sjeme</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• obostrani</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• oštećenje tuba</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• opstrukcija</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• upale</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• endometrioza</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• hipogonadizam</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• nerazjašnjeni</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• miom</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• kromosomske abnormalnosti</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• dob &gt; 42 g.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• upale</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• upale</li></ul>	
<ul style="list-style-type: none"><li>• abnormalan uterus</li></ul>		
<ul style="list-style-type: none"><li>• operacije</li></ul>		

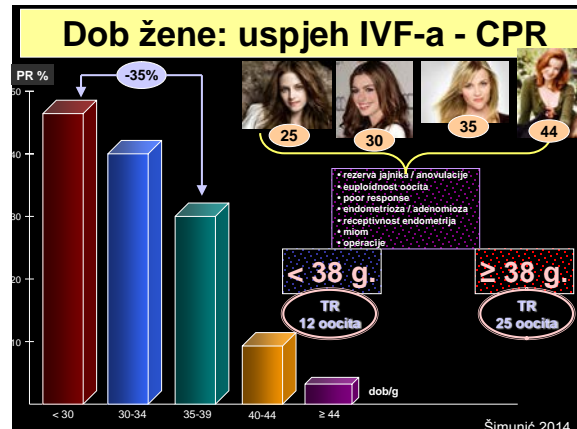
Neplodnost se liječi prema uzrocima, trajanju steriliteta i dobi pacijenata – indukcijom ovulacije, mikrokirurškim i endoskopskim operacijama, liječenjem upale. Oko 70% svih uzroka liječi se izvantjelesnom oplodnjom – in vitro fertilizacija (IVF) i intracitoplazmatska spermalna injekcija (ICSI). Smatralo se da je IVF liječenje za žensku, a ICSI za mušku neplodnost, međutim danas su indikacije za ICSI proširene. U početku, prije 35 godina, uspješnost IVF-a bila je 1-2%, dok je ona danas zahvaljujući naprednim tehnologijama i principima, 40-50% za žene mlađe od 35 godina (za jedan svježi embrio transfer – ET).

## Stanja koja umanjuju plodnost i uspjeh IVF-a

Kao u mnogim zemljama zapada, i u Hrvatskoj žene odgađaju rađanje prvog djeteta na 29 godina u prosjeku. Više od trećine se odlučuje za prvu trudnoću nakon 30-te, zato se i kasni s dijagnozom neplodnosti, te se liječenje IVF-om započinje s prosječno 34,8 godina. U slikama 1 i 2 prikazujemo najčešća stanja koja za 30-50% umanjuju rezultate IVF-a, i utjecaj dobi žene na uspjeh.

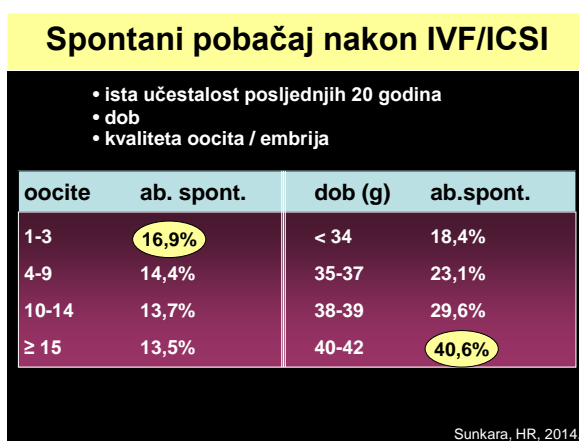


Slika 1.  
Dob

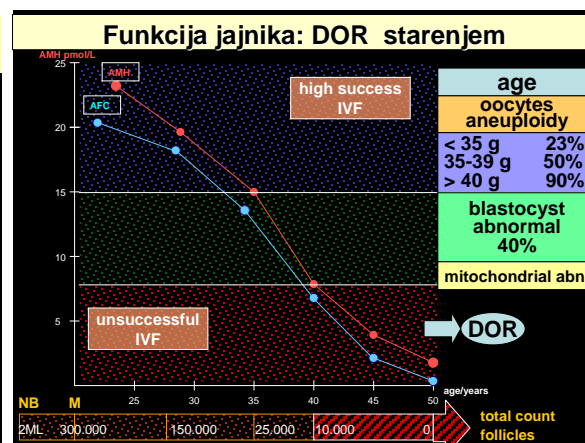


Slika 2.

**Dob žena** naj snažnije je udružena s padom uspjeha IVF/ICSI-a, što pokazuje učestalost kliničkih trudnoća i stopa živorođenosti (clinical pregnancy rate – CPR i live birth rate - LBR), te učestalost spontanih abortusa – pobačaja (SAB). Razlike prema dobi prikazane su slikama 2 i 3.



Slika 3.



Slika 4. DOR – diminished ovarian reserve

Razlozi su poznati. Žena se rađa s konačnim brojem jajnih stanica (oocita) koje se neprestano probiru i troše (slika 4). Ukupan im se broj drastično umanjuje nakon 35., a istovremeno su preostale oocite sve češće kromosomski nekompetentne (aneuploidne).

Poslije 40. godine života 80-90% oocita je aneuploidno, uz učestale abnormalnosti mitohondrija. Na dobni pad kvantitete i kvalitete oocita vrlo precizno ukazuju biljezi (markeri) pričuve jajnika. Markeri rezerve jajnika jesu:

- **antral follicular count – AFC**
- **antiMüllerov hormon – AMH.**

Oni su danas i glavni putokaz kliničaru za odabir protokola i doze lijekova za stimulaciju ovulacije. Kada oba partnera imaju više od 41 godine, trudnoća se postiže 5 puta teže.

## **Debljina**

**Debljina i pretjerana mršavost** umanjuju uspješnost IVF-a za 30-50%. U populaciji žena koje liječe neplodnost 20-25% su debele (BMI  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>), a 6-7% su pretjerano mršave (BMI  $\leq$  18 kg/m<sup>2</sup>). U takvih osoba otežana je stimulacija ovulacije, slabija je kvaliteta IVF postupka i češći su spontani pobačaji. Muška debljina rezultira subfertilnim sjemenom. Brojne su preporuke da se IVF-om liječe parovi tek kada se korigira i optimizira tjelesna težina. Redukcijom 10% tjelesne težine značajno se povisuje uspješnost IVF-a. Navedeni pokazatelji još su izraženiji kada je debljina udružena sa sindromom policističnih jajnika (PCOS).

## **Ostali vanjski čimbenici**

Brojni vanjski čimbenici i štetne navike mogu umanjiti plodnost žena i muškaraca, te umanjiti uspješnost IVF-a. Te epigenetske čimbenike (epimutacije) samo ćemo nabrojiti, uz napomenu da su često višestruko zastupljeni u neplodnog para. Takav sinergizam je razlog da za živorođeno IVF dijete trebamo 2-3 puta više postupaka. Uz već spomenute epimutatore – pušenje duhana, kofein, tein, droge, anabolici – to dodatno jesu:

- okolinski
    - kemikalije
    - insekticidi
    - pesticidi
    - toluen
    - etilen oksid
    - bisfenol
  - kadmij, olovo, živa
- \* fitoestrogeni
  - \* kozmetika
  - \* UV zračenje
  - \* mobitel
  - \* visoka i niska temperatura
  - \* pogrešna hrana.

Gore navedeni disruptori i toksini imaju snažniji negativni učinak na spermiogenezu. Dugotrajni kontakt s okolinskim štetnim čimbenicima može umanjiti plodnost za 30-50%.

## Nedostatak vitamina D

Postoje dokazi da deficit vitamina D umanjuje uspjeh IVF-a, umanjuje rezervu jajnika, povisuje učestalost spontanih pobačaja i pogoduje nastanku i rastu mioma. Prema vrijednostima metabolita 25 hidroksi (OH) vitamina D definira se:

- deficit vit D → 25 OH vit D < 20 ng/ml (50 nmol/L)
- insuficijencija vit D → 25 OH vit D 20-30 ng/ml
- normala → 50-125 nmol/L

Prema Polyzosu (HR 2014.) deficit vit D umanjuje CPR za 40-50%:

**OR 0,61 (0,39-0,95).**

Liječenje je 800-1000 IU/dnevno vit D pa i viša doza ne škodi. Ovi nalazi nisu konzistentni i nedavno su objavljenja istraživanja u kojima deficit vit D ne umanjuje rezultate IVF-a. (*Fabris, Fatemi – FS, 2015., Franasiak – AJOG, 2015.*) Ipak savjetuje se selektivni probir.

## Subklinički hipotiroidizam (SHT)

U današnjoj reprodukcijskoj medicini nedvojben je značaj kliničke i subkliničke hipotireoze. Postoje dokazi o povezanosti SHT sa stanjima:

- neplodnost (anovulacije i nerazjašnjena)
- rani SAB
- IVF – niži LBR
- poremećaji u trudnoći
- poremećaj neurorazvoja fetusa
- ne utječe na rezervu jajnika.

Općenito je prihvaćena gornja granica za TSH od 4,2 mIU/L, a subklinički hipotiroidizam se definira:

TSH > 4,5 mIU/L uz normalan FT4.

Tada je incidencija 6-8%

Doprinos SHT-u daju i povišena protutijela – **anti-TPO autoimunitet** (učestalost 10-12% populacije).

Predložene su i maksimalno dopustive vrijednosti TSH u serumu u pojedinim etapama trudnoće:

- I. trimestar 2,5 mIU/L
- II. trimestar 3,0 mIU/L
- III. trimestar 3,5 mIU/L

Prema tim kriterijima učestalost gestacijskog SHT je 20%. Ugledne svjetske stručne udruge (PC-ASRM) preporučuju primjenu **Levothyroxina** u sljedećim okolnostima:

- TSH > 4,0 mIU/L
- TSH > 2,5 mIU/L uz
  - ranu trudnoću
  - liječenje neplodnosti IVF/ICSI
  - povišena anti-TPO.

Ipak zbog nekonzistentnih nalaza nema konsenzusa o generalnom probiru za subklinički hipotiroidizam, niti za liječenje pacijentica s TSH 2,5-4,0 mIU/L.

## **Natural killer cells**

Interes za NK stanice (uterine, krvne) nastao je zbog pretpostavke da te vrste limfocita sudjeluju u implantaciji i imunoj kontroli rane trudnoće.

Za sada ne postoje dokazi o ulozi NK-cells u reprodukciji, niti o ikakvoj koristi imunoterapije (IVIG) za poboljšanje IVF rezultata i smanjenje nerazjašnjivih gubitaka trudnoća. Pojam o preaktivnom imunom sustavu koji se može prikazati visokim NK-stanicama ostaje opsolentan. Stoga se i dalje analiza NK-sustava i IVIG smatraju eksperimentalnim.

## **Trombofilije**

Skлонost pojačanom zgrušavanju krvi (trombofilije) ima opći zdravstveni rizik (venske i arterijske tromboze), te mogući negativni učinak na reprodukciju i trudnoću. Trombofilije mogu biti genske, nasljedne i stečene. Tradicionalno je mišljenje da koagulacijski defekti mogu biti uzrok periimplantacijski pogrešaka i ponavljanih spontanih pobačaja.

## **Antifosfolipidni sindrom (APS – stečene trombofilije)**

Povišena protutijela – antiphospholipid antibodies (APA) mogu biti udružena s reprodukcijom poremećajima što se manifestira:

### **klinički kriteriji**

- tromboza
- 3 spontana pobačaja < 10 tj. TR
- smrt fetusa > 10 tj. TR
- eclampsija / insufic. Placente

### **laboratorijski kriteriji**

- \* lupus anticoagulant - LAC
- \* anticardiolipin antibodies – ACA
- \* anti- $\beta_2$  glycoprotein I

---

2 pozitivna nalaza / razmak 12 tj.

Svjetske stručne udruge i relevantna dosadašnja istraživanja nisu dokazali da APA utječe na rezultate IVF-a:

**LBR OR 1,07 (0,66-1,75)**

Današnji je konsenzus da nije potreban, ni indiciran generalni screening (probir) za antifosfolipidni sindrom, već samo uz pozitivne kliničke kriterije.

## Urođene, genske trombofilije

Nasljedne, inherentne trombofilije povisuju rizik za tromboze (venske tromboembolije – VTE i arterijske tromboembolije – ATE). Takvi defekti koagulacije učestaliji su u ponavljanih poremećaja implantacije (RIF – recurrent implantation failure) i u IVF populaciji.

Na njih mogu ukazivati:

- 3 visokokvalitetna ET – bez trudnoće
- više od 10 embrija – u više ET – bez trudnoće
- $\geq 3$  spontana/ponavljana pobačaja
- patološka stanja u kasnoj trudnoći.

Probir za trombofilije potreban je uz kliničke kriterije (PC-ASRM). Također je utvrđeno da liječenje IVF-om značajno povisuje rizik za venske tromboze (VTE) u stanjima:

- |                             |                     |
|-----------------------------|---------------------|
| • IVF trudnoća              | OR 4,3 (2,0-9,4)    |
| • IVF trudnoća I. trimestar | OR 9,8 (6,7-14,3)   |
| • hiperstimulacija – OHSS   | OR 5,4 (2,1-13,7)   |
| • OHSS i IVF trudnoća       | OR 14,5 (6,8-16,1). |

Navedene činjenice stvorile su u struci veliki entuzijazam za često nekritičnu primjenu **niskomolekularnog heparina (NHM)** (samog ili uz aspirin).

Nalazi brojnih istraživanja o koristi primjene heparina u IVF postupcima, različiti su i konroverzni.

**Opservacijske studije** na gore navedenim populacijama, IVF pacijenticama sa genskim i stečenim trombofilijama, ukazuju na značajno poboljšanje rezultata uz primjenu heparina (LBR OR 2,64 (1,84-3,80)). Nasuprot tome **randomizirana** klinička istraživanja (RCT – randomised clinical trials) i više Cochrane-analiza dokazale su da heparin ne poboljšava IVF rezultate, niti ne umanjuje učestalost spontanih pobačaja (LBR OR 1,27 (0,89-1,81)).

Zbog proturječnosti za primjenu NMH ne postoji konsenzus, a indikacije za heparin jesu:

- obiteljska i (ili) osobna anamneza o VTE/ATE
- dokazana trombofilija za
  - deficit antitrombina
  - protrombin mutacije
  - mutacije FV Leiden
- IVF liječenje
  - OHSS s ascitesom
  - OHSS i trudnoća
  - Višeploidne trudnoće, PCOS.

Zanimljivo, sve značajnije (opservacijske i RCT) studije su dokazale da je heparin neučinkovit u redukciji spontanih pobačaja nakon IVF liječenja (tablica)

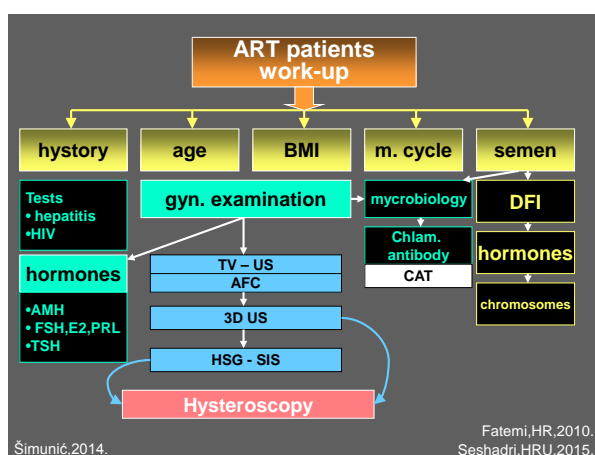
	Opsevacijske studije	RCT
LBR	RR 2,64 (1,84 – 3,80)	RR 1,27 (0,89 – 1,81)
SAB	RR 0,84 (0,49 – 1,43)	RR 0,77 (0,24 – 2,42)

LBR – live birth rate; SAB – spontani abortusi

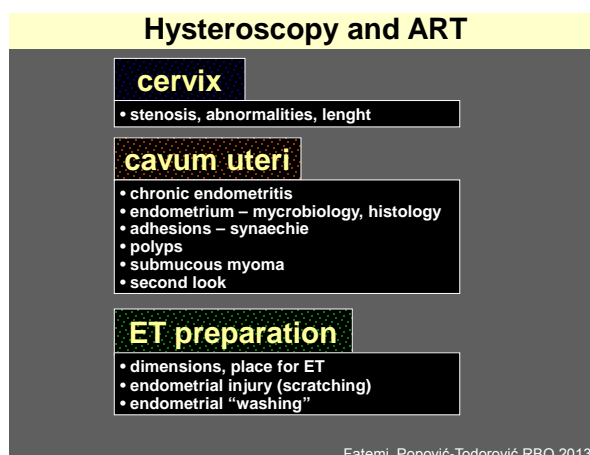
Tablica 1. Heparin i rezultati IVF-a

## Kada kirurški zahvati poboljšavaju uspjeh IVF-a

Danas se željena trudnoća i prvi porođaj odgađaju na 29.-30. godinu. Zato se i neplodnost utvrđuje kasnije, a liječenje IVF/ICSI-em počinje prosječno s 34 godine. U četvrtoj dekadi života sve su učestalije bolesti spolnog sustava žene koje umanjuje plodnost i uspjeh liječenja. To su: oštećenja jajovoda, miomi, endometriozna i adenomioza. Posebno je visoka prevalencija abnormalnosti uterusa – polipi endometrija, endouterine adhezije (priraslice), septum i submukozni miom. Zato struka sve češće preporučuje **histeroskopiju** u prvu crtu obrade neplodnosti i pripremu za IVF. Nesuspektne abnormalnosti otkrivamo u 11-30% žena koje se liječe IVF-om. Probirna ili terapijska histeroskopija obavlja se danas u 60 do 70% pacijentica (slika 5 i 6).



Slika 5. Obrada neplodnosti za IVF  
ART – assisted reproductive technologies



Slika 6. Značaj histeroskopije

Dokazano poboljšanje uspjeha IVF-a donose sljedeći kirurški zahvati:

- **salpingektomija – hidrosalpingosa**  
OR 2,31 (1,48 – 3,62)
- **polipektomija**  
RR 2,10 (1,5 – 2,9)
- **resekcija septuma uterusa**  
OR 2,67 (1,2 – 3,6)
- **enukleacija sumukoznog mioma**  
OR 2,03 (1,1 – 2,8)
- **ablacija endometrioma (>4 cm)**  
OR 1,76 (1,1 – 2,8).

Nije konzistentno dokazano da operacija mioma na svim lokacijama poboljšava rezultate (**OR 1,67 (0,75 – 3,72)**). Oprečni su nalazi o kirurgiji intramuralnih mioma (IM) koji ne kompromitiraju šupljinu uterusa, odnosno endometrij. Današnje je mišljenje da IM miome manje od 3/5 cm ne treba odstraniti ukoliko ne hendikepiraju endometrij.

Donnez i sur. su predložili medikamentno liječenje mioma (intermitentno 6-12 mjeseci) ulipristal acetatom (UPA 5-10 mg). Takvo liječenje može biti za odgodu operacije ili priprema za IVF odnosno spontanu trudnoću, jer dugotrajno reducira veličinu svih mioma za 50% volumena.

## Endometrioza

Učestalost endometrioze u neplodnih pacijentica je 30-40%, a u populaciji koja se liječi IVF-om prevalencija endometrioze je 10-18%. Kako se endometrioza pojavljuje sve ranije, smatra se da će se polovica tih pacijentica liječiti na kraju IVF-om.

Posljednje desetljeće brojne su rasprave i kontroverzna mišljenja o učinku endometrioze na plodnost, na rezultate liječenja, kao i o mjestu kirurgije u liječenju neplodnih žena s endometriozom. Prikazujemo razlike u nalazima istraživanja (tablica 2).

<b>Endometrioza – negativan učinak na plodnost i IVF</b>	
• plodnost 2 do 3 puta niža	<i>Hughes, 1993.</i>
• slabiji uspjeh IVF-a za 50%	<i>Omland, 2005.</i>
- CPR – OR 0,46 (0,28 – 0,74)	<i>Vercellini, 2005.</i>
- SAB – OR 1,7 (1,1 – 2,6)	<i>Simon, 1994.</i>
• kirurgija poboljšava rezultate	<i>Barnhart, 2002.</i>
<b>Endometrioza – isti uspjeh IVF-a; kirurgija ne poboljšava IVF</b>	
• endometrioza vs. kontrola	<i>Jacobson, Cochrane, 2010.</i>
- ista rezerva jajnika/AMH	<i>PC-ASRM, 2012.</i>
- isti broj oocita, odgovor na SO	<i>Donnez, 2015.</i>
- isti FR, EQ, CPR	<i>Garcia – Velasco, 2009.</i>
- isti receptivitet endometrija	<i>ESHRE, 2014.</i>
• kirurgija endometrioma ≤ 4 cm	<i>Somigliana, 2015.</i>
- ne poboljšava IVF	

Tablica 2. Endometrioza i IVF

AMH – antiMüllerov hormon; SO – stimulacija ovulacije; FR – fertilization rate; EQ – embryo quality

Očit je zaključak novih studija i metaanaliza da kirurški zahvat prije IVF-a ne poboljšava uspjeh.

Kirurgija endometrioze (uglavnom endometrioma) više oštećuje jajnik od same endometrioze i dokazane posljedice jesu:

- niža rezerva jajnika (pad AMH za 10 pmol/L)
- slabiji odgovor na SO (za 40-50%)
- rizik istrošenosti jajnika – 15%



- rizik recidiva – za 2 g je 20% / za 5 g je 40-50%
- značajan je pad uspješnosti IVF-a kada se obavlja
  - operacija obostranih endometrioma  
CPR OR 0,34 (0,1-0,9)
  - ponovna operacija endometrioma (recidiva)  
CPR OR 0,29 (0,15 – 0,86)

Rezultati kasnijeg IVF-a niži za 70%.

Iz navedenog proizlazi da operacija uznapredovale endometrioze, odnosno obostranih endometrioma, umanjuje uspjeh kasnijeg liječenja IVF-om za 50-60%. Prihvaćen je konsenzus da je uputno mlađim ženama s endometriozom koje nisu još spremne za rađanje, preporučiti elektivno **očuvanje vlastite plodnosti**, ili tzv. „self donation“ oocita.

Konsenzus za primjenu kirurgije je prema sljedećim kriterijima:

- **simptomatska – dokazana endometrioza**
  - bol i izraženi simptomi
  - nalaz endometrioze kod dijagnostičke laparoskopije
- **endometriomi veći od 4 cm**
- **nakon uspješnog liječenja IVF-om ili inseminacijom**
- **nakon samo-donacije**
  - krioprezervirano 8-10 kvalitetnih oocita.

Karakteristike IVF liječenja kod endometrioze jesu:

- odgovor na SO je isti u oba jajnika (sa i bez endometrioze)
- dobivene oocite su kompetentne uz istu stopu oplodnje, kvalitetu embrija, IR i CPR
- rizici zahvata su 2 do 4 %
  - endometriom otežava aspiraciju
  - ozljede i upala
  - ruptura ciste uz kemijski peritonitis
  - kontaminacija folikularne tekućine.

Nije dokazano zbog vrlo niskog rizika da IVF uz endometriozu može dovesti do progresije endometrioze, komplikacija u trudnoći ili potaknuti okultnu malignost. **Adenomioza** ima učestalost 10-15% i umanjuje uspjeh IVF-a za 30%. Postoje preporuke za potpunu eksciziju adenomioze. Takva složena operacija obavlja se samo u tercijarnim Klinikama.

## Endometrijski polipi

Učestalost polipa endometrija je ovisno o dobi žene 15-30%. U žena koje neplodnost liječe IVF-om polipe nalazimo u 6-10% pacijentica bez simptoma. (Fatemi, 2010.)

Polipi manji od 10 mm imaju 70-80% vjerojatnosti za spontanu regresiju, dok je za to značajno manja šansa ako su veći od 15 mm. Postoje dokazi da polipi endometrija manji od 20 mm ne utječu na implantaciju i CPR uz IVF.

Nema konsenzusa o postupku prema veličini polipa. Preporučuje se do 3 mjeseca pasivnog postupka prije polipektomije, freeze all postupak uz polipe u svježem IVF ciklusu, ali neki preporučuju polipektomiju i u IVF ciklusu i nekompromitirani embrio transfer (ET).

### **Intrauterine adhezije – sinehije**

Na intrauterine priraslice nailazimo najčešće poslije kirurških zahvata i kiretaža (20-30% pacijentica). Učestalost priraslica u žena bez simptoma koje se liječe IVF-om je 2-16% (Galliano, 2015.). Kada su priraslice opsežne menstruacije su oskudnije ili dolazi do uterine amenoreje (Ashermanov sindrom).

Uzroci priraslica unutar kavuma uterusa jesu: dublja ozljeda endometrija elektrokirurškim zahvatima, zahvatima kod abortusa ili carskog reza, ili upala – endometritis.

Kako se priraslice ne vide UZV, preporučuje se histeroskopija i rješavanje priraslica, te privremeno postavljanje uterinog uloška (IUD) uz antisinehijski gel. Poslije takvog zahvata povisuje se vjerojatnost IVF trudnoće – CPR OR 1,57 (0,98 – 2,11).

Navedene činjenice govore u prilog sve češćeg korištenja **histeroskopije** u prvoj crti obrade i pripreme pacijentica za što uspješniji IVF. Uterine abnormalnosti su česte (20-25%) i u pacijentica bez simptoma, pa i bez znakova na UZV pretragama (UZV, 3D, sono HSG).

### **Kronični endometritis**

Postoje dokazi da kronična upala endometrija može kompromitirati rezultate IVF-a. Istraživanja o učestalosti kroničnog endometritisa nisu konzistentna, te je **objavljena** incidencija od 30 do 40% (Cicinelli, 2015.), ali i beznačajna pojavnost od 2,8% (Kasius, Fatemi, 2011.). dijagnoza se postavlja patohistološkim pregledom uzorka endometrija (EB – endometrijska biopsija, histeroskopija) i (ili) mikrobiološkom analizom. Nekonzistentna su mišljenja o značaju i liječenju najčešćih uzročnika: enterokok (30%), mikoplazma/ureaplazma (30%), E. coli (20%) i klamidija (8%). Postoje mišljenja da većinu koloniziranih uzročnika, osim klamidije, i nije potrebno liječiti (ako su oni u CB ili endometriju).

Cicinelli i sur. dokazuju značajno poboljšanje rezultata IVF-a nakon liječenja endometritisa – CPR 65,2% vs. 33%, a SAB 4% vs. 20%.

Pinto (FS, 2015.) je utvrdio da endometritis remeti kontrakcije uterusa i peristaltiku endometrija.

Današnji konsenzus temeljen na znanstvenim kontroverzama ustvrđuje da liječenje kroničnog endometritisa ne povisuje značajno plodnost niti CPR u IVF-u – OR 1,45 (0,77 – 2,75).

### **Endometrijska ozljeda – poboljšanje receptiviteta**

Receptivitet endometrija danas je najvažniji čimbenik uspjeha IVF-a. Smatra se da postupci s endometrijem u ciklusu koji prethodi IVF-u,

potiče ekspresiju citokina i čimbenika implantacije i time se poboljšava receptivitet i CPR. Postupci su nježna površna ozljeda endometrija (scratching) ili histeroskopsko ispiranje kavuma uterusa (50% IVF centara).

Cochrane – sistematska metaanaliza (El Toukhy, 2012.) utvrdila je poboljšani IR, CPR i LBR nakon takvog postupka. Iste je godine druga metaanaliza (Potdar) ukazala na poboljšanje rezultata, ali bez značajnosti OR 1,70 (0,89 – 2,11) za LBR.

Iako do danas nije postignut konsenzus o koristi postupaka s endometrijem, danas je sve više autoritativnih preporuka za njega. Korist je i od kombinacije s ERA-om (endometrial receptivity assay).

### Debljina receptivnog endometrija

Normalan, receptivan endometrij pravilno zrije te prije ovulacije ima slijedeće osobine:

- debljina 9-14 mm
- trolinijski izgled (triple line)
- volumen  $\geq 2$  ml.

Nema konsenzusa o najtanjem ili najdebljem endometriju koji priječi implantaciju i trudnoću. Najčešće se ističu vrijednosti manje od 7 mm odnosno  $\geq 15$  mm, iako se trudnoće postižu s endometrijem tanjim od 6 mm, ali i debljim od 19-20 mm. Nepovoljnu debljinu endometrija nalazimo u 10-20% pacijentica.

Također su proturječni nalazi o efikasnosti lijekova za poboljšanje kvalitete endometrija – aspirin, viagra, pentoksifilin, vit E i G-CSF (granulocyte colony stimulating factor).

Okolnosti u kojima je ponekad teško postići optimalan endometrij su:

- sindrom policističnih jajnika (PCOS)
- kronični endometritis.

### Peristaltički valovi endometrija

Česti antegradni i retrogradni peristaltički valovi endometrija umanjuju vjerojatnost trudnoće poslije ET. Uzroci pojačane kontraktilnosti su stimulacija ovulacije (SO), visok estradiol (E2) i porast oksitocina. Peristaltika je ubrzana uz endometriozu, miome, kronični endometritis i težak ET.

Franchin i sur. (RBO 2009) su utvrdili značajnu razliku u stopi trudnoća – OPR (ongoing pregnancy rate):

peristaltički valovi u min	
$\leq 3$	$> 5$
OPR 53%	14%

Poboljšanje se postiže nježnim ET, transferom 5./6. dan (blastocista), primjenom atosibana i NSAID-a. Kako ne postoji dovoljno kontroliranih studija (RCT) za navedene tvrdnje ne postoji konsenzus.

## **Neplodnost muškaraca**

### **DNK fragmentacija spermija**

Oksidativni stres odnosno neravnoteža reactive oxygen species (ROS) mogu oštetiti DNK spermija. DNK fragmentacijski indeks – DFI >30% udružen je s nižom plodnošću i pratilac je muškog i nerazjašnjenog steriliteta.

Postoje dokazi o slabijem uspjehu MPO uz povišen DFI (Wright 2014., Levois 2015.).

<b>CPR</b>	<b>DFI &gt;30%</b>	<b>kontrola</b>
IUI	1,3%	12,5%
IVF	17%	36%
ICSI	32%	35%
SAB	35%	18%

Osman i EL-Toukhy (2015.) su utvrdili da ICSI ne umanjuje neuspjeh kod povišenog DFI-a. Danas se smatra da DFI testiranje nije za rutinsku uporabu, već da se provodi samo uz indikacije (PC-ASRM, 2013.).

### **Kirurgija varikokele (varicocele)**

Odnos struke prema značaju i operacijama varikokele često se mijenjao u posljednjih 30-tak godina. Od ranijeg entuzijazma za učinkovitost kirurgije ili embolizacije izražene varikokele, do nepovjerenja u rezultat i ponovne postupne reafirmacije te jednostavne metode liječenja muške neplodnosti. Također je različit stav urologa i ginekologa.

Najčešće se danas preporučuje operacija u sljedećim okolnostima:

- neplodno sjeme (2-3 analize)
- samo palpabilna varikokela
- smetnje – bol, povećan testis, deficit androgena
- mlađa dob
- postojanje partnerice.

Više je istraživanja pokazalo pozitivan učinak operacije.:

- poboljšanje plodnosti – Abdel, 2011.
- povišenje broja i pokretljivosti spermija – Nork, 2014.
- kod neopstruktivne azoospermije (NOA)
  - obnova spermatogeneze u 35% pacijenata
  - OPR nakon jedne godine 33% vs. 16% - Schlegel, 2011.

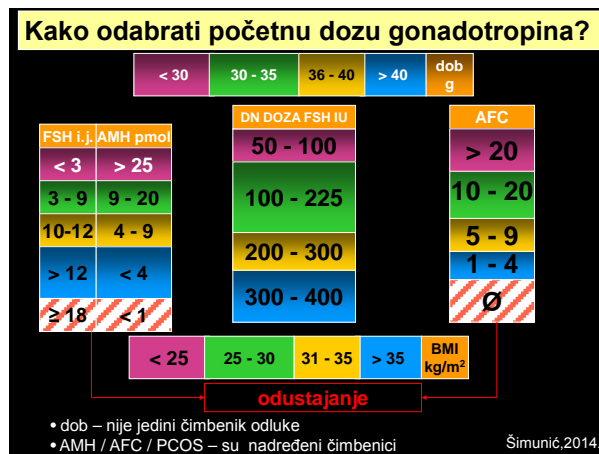
Nekoliko Cochrane-ovih metaanaliza (2004./2006.) utvrdilo je da operacije varikokele nema efekta, dok zadnja preporuka PC-ASRM tvrdi da operacija ipak može poboljšati CPR (FS 2014.).

Za konsenzus se i dalje očekuju konzistentni nalazi u RCT.

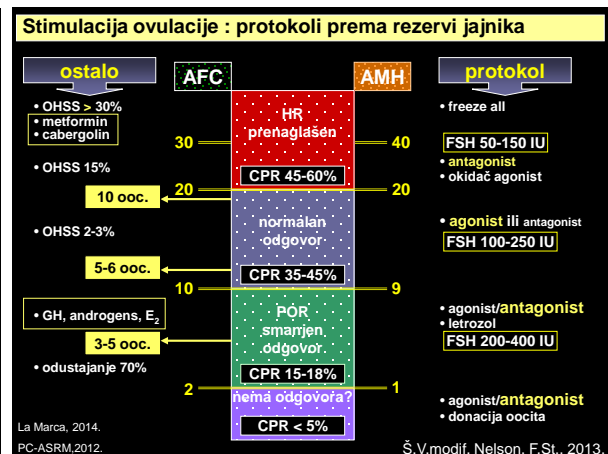
Nedvojbena je uporaba ICSI-a kada je varikokela udružena sa ženskom neplodnošću. Kod kombiniranog steriliteta nepotrebna je operacije.

## Stimulacija ovulacije

Stimulacija ovulacije (SO) može biti blaga i standardna. Optimalni ciljevi su 5-7 odnosno 8-15 oocita dobivenih za oplodnju. Od ključne su važnosti odrediti početnu i ukupnu dozu lijekova, gonadotropina, postići željenu kvantitetu i kvalitetu oocita i izbjeći rizike. Kod primjene SO personalizacija dolazi do punog izražaja jer se treba temeljiti na dobi, BMI-u, rezervi jajnika, ali i iskustvu ginekologa. Naše preporuke za početnu dozu FSH slične su prihvaćenim modelima u svijetu (slika 7 i 8).

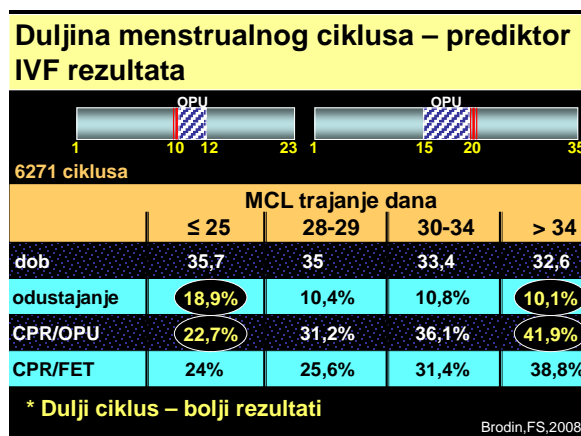


Slika 7.

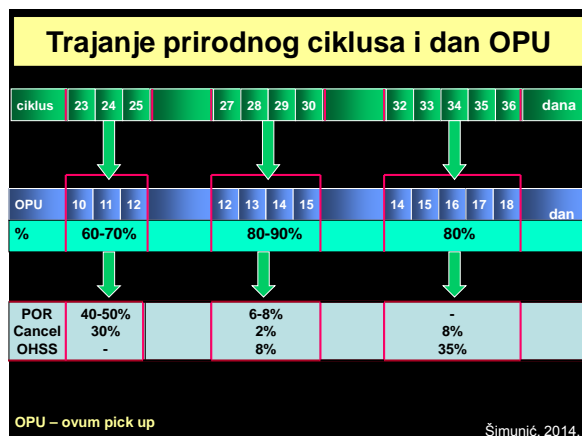


Slika 8.

Temelj odluke je utvrđena rezerva jajnika s razinom AMH-a (antiMüllerov hormon) i AFC-a (antral follicular count), uz poznavanje osobina prirodnog ciklusa i prethodnih IVF postupaka pacijentice (slika 9 i 10).

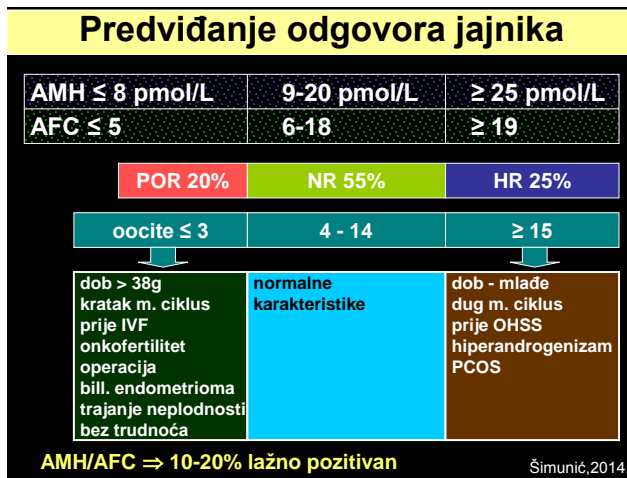


Slika 9.



Slika 10. OPU – ovum pick up

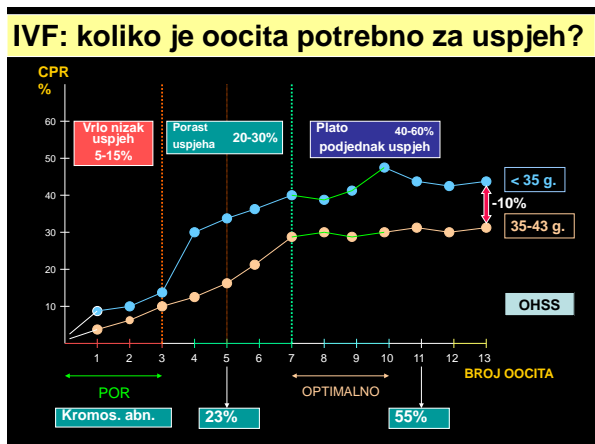
Prema vrijednostima AMH i AFC pacijentice svrstavamo u one slabog, normalnog i prenaplašenog visokog odgovora na SO (POR – poor ovarian response; HR – high response).



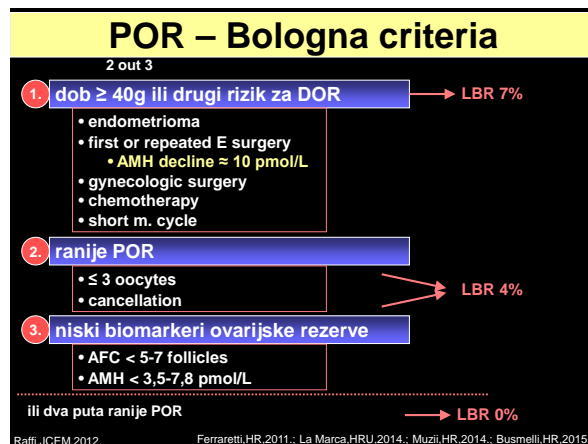
Slika 11.

Dokazano je da AMH i AFC ukazuju na kvantitetu oocita, a ne i na kvalitetu. Imaju odličnu predikciju za POR i HR, dok je za IVF trudnoće najbolji prediktor dob žene (Broer, 2013.)

Kod SO za izvantjelesnu oplodnju valja povezati broj oocita i vjerojatnost uspjeha. Optimalan broj je 7-15 oocita, a veći broj čini se ne povisuje rezultate. S brojem oocita povisuje se udio imaturnih i aneuploidnih (slika 12).



Slika 12.



Slika 13.

Mali broj oocita (<4) ukazuje na POR, kao i prikazani Bologna kriteriji (slika 13). Navedeni su i okvirni rezultati iskazani kao LBR (live birth rate) u toj skupini pacijentica.

Valja podsjetiti da je brojnim istraživanjima, metaanalizama i Cochrane SR, dokazano da su rezultati i sigurnost svih preparata za SO podjednaki:

- gonadotropini – FSH

- Menopur, Gonal F, Puregon
- Merional, Fostimon
- Elonva
- agonisti GnRH – Decapeptyl
- antagonisti GnRH – Cetrotide, Orgalutran.

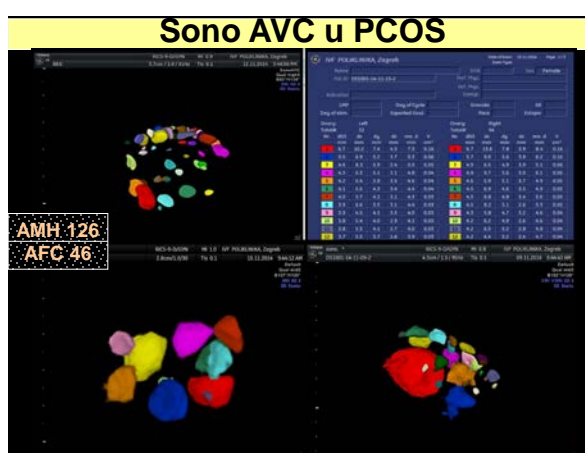
Nema konsenzusa o najboljem postupku za POR. Posebno su zahtjevne pacijentice s prenaplašenim odgovorom na SO (high- ili hiperresponse – HR). Visoka rezerva jajnika svojstvena je pacijenticama s PCOM (polycystic ovary morphology) i PCOS (polycystic ovary syndrome) kojih u nas ima 20-30% IVF populacije (slika 14).

AMH u dijagnozi PCOS / HR	
Populacija	AMH pmol/L
Normalne/ opća p.	15 - 20
<b>PCOM</b>	50 - 60
<b>P</b> - normalan c.	50 - 60
<b>C</b> - oligomenoreje	≈ 80
<b>O</b> - amenoreje	≈ 120

• 15% PCOS → AMH < 30 pmol/L  
 • viši AMH → teži poremećaj ovulacija  
 • FSH → najniži u PCOS  
 • AFC ≥ 25 po ovariju

Pigny,HR,2006.  
Homburg,HR,2013.

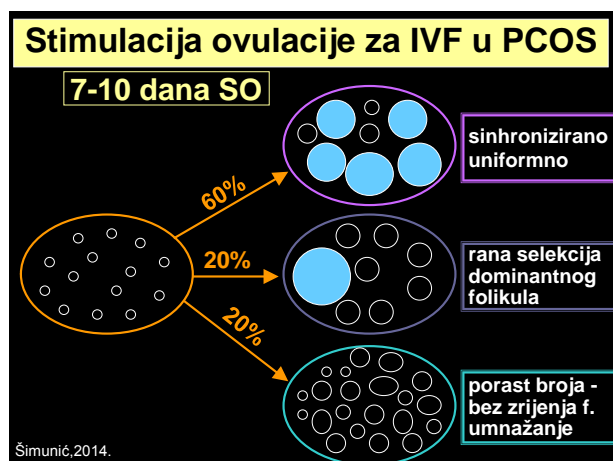
Dewailly,HR,2014.



Slika 14.

Slika 15.

Za ocjenu SO u tih pacijentica idealna je primjena poluautomatizirane sono AVC metode, dostupne na naprednim UZV strojevima (slika 15).



Slika 16.

Stimulacija ovulacije u PCOS (PCOM) pacijentica često je zahtjevna i neuspješna. Moguća je rana selekcija jednog dominantnog folikula koji inhibira preostalu kohortu, ili nagli porast broja folikula odnosno umnažanje bez pravilnog zrenja (rasta) folikula. Obje abnormalnosti često



završavaju otkazivanjem (cancellation) postupka u takvom ciklusu. U 20% PCOS pacijentica endometrij je uporno tanak, stanjuje se i mijenja strukturu, ostaje dakle nereceptivan (Slika 16).

Novo tehnologije kao što su izbjegavanje sindroma ovarijske hiperstimulacije (OHSS) i freeze all postupak promijenile su pristup HR i PCOS pacijenticama. Rizik OHSS je mali, a veći broj jajnih stanica (i više od 15) značajno povisuje uspjeh IVF-a u LBR, stopi zamrzavanja i kumulativnom rezultatu.

Sunkara (2011.), Fatemi (2011.) i drugi su dokazali da se s 15 i više oocita postiže maksimalan uspjeh.

Broj oocita i LBR			
1999-2007. (N=400135)			
eggs	≤ 34 y	35-37y	≥ 40 y
1-3	15,3%	13%	4%
4-6	29,3%	24,3%	9,7%
7-10	35%	30,7%	12,7%
11-14	38,7%	34,7%	15,7%
15	40%	41%	17%

> 15 → plato  
> 20 → pad

Sunkara,HR,2011.

Slika 17.

High ovarian response – ne umanjuje TR					
Oocytes					
success	1 - 5	6 - 13	≥ 18		
L B R	Fatemi 2013.	25%	34,9%	40,4%	
	Jayaprakasan 2012.	23%	35,2%	44%	
	Briggs 2015.	1-3	15,1%	28,6%	33,6%
	Sunkara 2011.	15,3%	35%	40%	

HR →

- prediction → AMH > 26 / AFC > 16
- immature oocytes ≈ 22%
- progesteron elevation 20-25%
- younger patients / longer cycles
- preterm births / IUGR

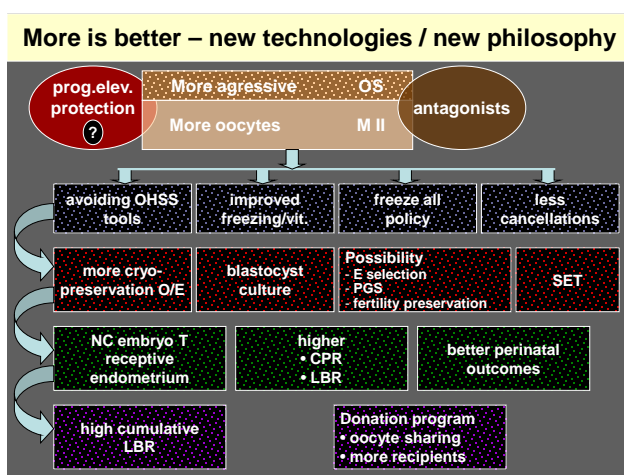
La Marca,HRU,2014.  
Sunkara,HR,2015.  
Baker,FS,2015.  
Fatemi,HR,2013.

cum PR 33% vs 60,8% TR- trudnoće

Slika 18.

Sigala (2015.) je pokazala podjednak udio kvalitetnih oocita i vrhunskih zametaka u općoj populaciji i u pacijentica s PCOM/PCOS (37,3% / 38,6% / 34,5%).

Primjenom antagonista GnRH, agresivnije OS i novih tehnologija, ostvaruje se nova filozofija IVF-a – „više oocita je bolje“ (Slika 19).



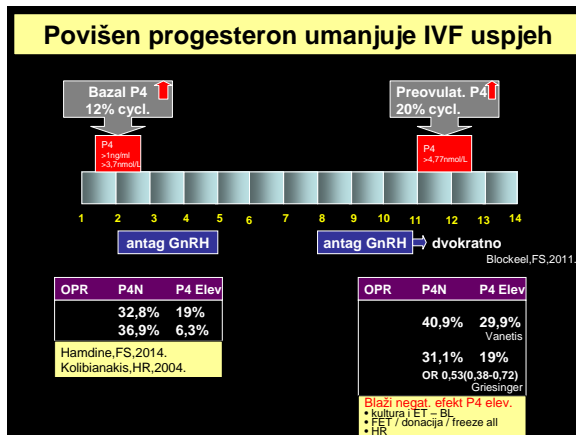
Slika 19.

Ona je omogućena izbjegavanjem rizika, poboljšanom kriopohranom i odličnim rezultatima odmrznutog ET u kasnijem prirodnom ciklusu.



## Povišen progesteron umanjuje IVF uspjeh

Razina serumskog progesterona (P4) u folikularnoj fazi stimuliranog ciklusa treba biti niža od 1,5 ng/ml, odnosno 4,77 nmol/L. Povišenje bazalnog P4 nalazimo u 12% IVF ciklusa, a preovulacijski P4 (Ø2. dan / dan HCG-a) dva dana pred ovulaciju otkrivamo u čak 20% ciklusa.



Slika 20.

Povišen progesteron udružen je s višim E2, većim brojem oocita. Prema Venetisu (HR, 2013.) uz povišen P4 niži je CPR za 10% (OR 0,64 CI 0,54 – 0,76). Čini se da je lošiji učinak na ET 3. dan nego na ET blastociste.

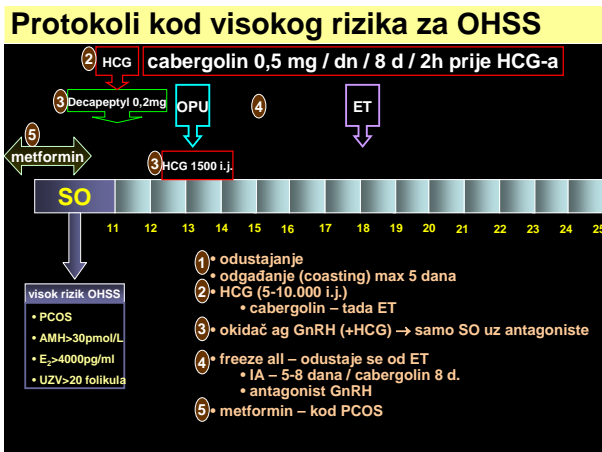
Bazalni P4 povišen je kao rezidualni (od prethodnog ciklusa) poremećaj steroidogeneze, a preovulacijska elevacija P4 izraz je preuranjene luteinizacije. Obje pojave mogu prepoloviti uspjeh IVF-a (OR 0,53 CI 0,38 – 0,72). Nisu potvrđena mišljenja da kultura i ET blastociste, te high response, ublažavaju negativni efekt P4 elevacije. Na visoki bazalni P4 interveniramo antag GnRH i odgodom SO, a u slučaju visokog preovulacijskog P4 postupak usmjeravamo na freeze all strategiju.

Postoje mišljenja da povišen progesteron pred ovulaciju treba izraziti kao vrijednost u odnosu na broj folikula. Martinez (FS, 2015.) nije utvrdila utjecaj povišenja P4 (dan HCG-a) na CPR/LBR.

Današnji je konsenzus da progesteron treba mjeriti i izbjegavati njegov prijevremeni porast.

## Protokoli kod visokog rizika za hiperstimulaciju ovarija

Hiperstimulacija jajnika – OHSS (ovarian hyperstimulation syndrome) pojavljuje se u ozbiljnom obliku u 1-5% IVF postupaka sa standardnom SO. Povezuje se s HR u rizičnih pacijentica i primjenom HCG-a (Ovitrelle, Pregnyl, Brevactide...) kao ovulacijskog okidača (trigger), koji poremeti permeabilitet krvnih žila neravnotežom VEGF-a (vascular endothelial growth factor) i njegovih receptora. HCG u ranoj trudnoći uzrok je kasnog OHSS-a.



Slika 21.

Kada se utvrdi visoki rizik OHSS-a u aktualnom postupku postoji pet mogućnosti intervencija koje su označene na slici 21. Najučinkovitija je intervencija zamjena HCG triggera sa 0,2 mg Decapeptyla (agon GnRH), što je moguće samo u ciklusima sa SO **uz antagoniste**. Tim postupkom značajno umanjujemo rizik ranog OHSS-a (60-80%/ali ne potpuno), a slijede dvije mogućnosti:

- planirani svježiji ET uz pojačanu potporu CL
- odustajanje od ET i freeze all strategija.

Zbog disfunkcije žutog tijela agonist trigger zahtijeva mali bolus 1500 IU HCG-a (dual trigger) na dan aspiracije (OPU) i eventualno 5 dana kasnije (luteal rescue). Opcija iz SAD-a je snažnija potpora CL (estrogeni + progesteron) nego što je uobičajeno. Značajna redukcija OHSS-a uz mogućnost svježeg ET može se postići davanjem **Cabergolina (Dostinex)** 0,5 mg/dn od 02. dana (2 sata prije HCG okidača) kroz 8 dana. Redukcija srednjih/teških OHSS-a je RR 0,38 (0,29 – 0,51) znači za 60%, uz održan odličan LBR.

Ove dvije strategije ostavljaju manju mogućnost težih i kasnih OHSS-a.

**Metformin** se započinje prije IVF ciklusa i učinkovito reducira OHSS samo u PCOS/PCOM pacijentica.

Cochrane-metaanaliza (Youssef, 2014.) je zaključila da su uz ag GnRH trigger IVF rezultati slabiji – OPR/LBR niži. Ta je analiza doživjela kritike zbog nevjerodostojnosti i neujednačenosti promatranih studija, posebno u pogledu podcijenjene potpore žutom tijelu.

## ICSI za sve?

U mnogim centrima ICSI se primjenjuje za 80-100% postupaka. Iako su indikacije za ICSI proširene izvan muške neplodnosti, brojna su istraživanja pokazala da ta metoda ne poboljšava rezultate u odnosu na IVF oplodnju, i da ICSI nije opravdana za:

- **sve pacijentice** (IVF vs. ICSI OPR RR 1,27 (0,95 - 1,72))
- **nerazjašnjeni sterilitet** (CPR OR 0,83 (0,48 – 1,45))
- **POR pacijentice** (CPR beznačajne razlike)

- **starije žene.**

Uprkos konzistentnim nalazima još nema općeg konsenzusa o uporabi ICSI-a za nemušku neplodnost. Najčešća je preporuka da se u oko 70% parova koristi ICSI.

Svakako u prilog takve odluke idu nalazi o povišenom riziku za kongenitalne abnormalnosti djece začete s ICSI metodom. Iako nekonzistentno u literaturi se referira OR 1,11 do OR 1,57 za povišen rizik uz ICSI.

### **IMSI ili ICSI za tešku mušku neplodnost?**

Do prije tri godine postojao je velik entuzijazam za korištenje nove metode odabira spermija za ICSI. Koristeći Nomarski optiku i povećanje 6000x izdvojeni su vakualizirani, morfološki nepovoljni spermiji koji su navodno bili kromosomski nekompetentni.

Opservacijske studije su navodile bolju kvalitetu zametaka (samo blastocista) i bolji CPR. Nasuprot tome RCT nisu potvrdila ta poboljšanja, već su konzistentni nalazi da IMSI nema učinka na uspjeh ICSI-a i one nalaze da:

- vakuole spermija ne mogu diferencirati spermije
- isti su – stopa oplodnje, kvaliteta zametaka
- isti je CPR/LBR i stopa pobačaja.

Ti su nalazi i konsenzus novih istraživanja (Balaban, 2011., Palermo, 2014., Gatimel, 2014.), mišljenja autoriteta, a i svi anketirani stručnjaci (navedena 2 kongresa) odustali su od korištenja IMSI-a.

### **Uspjeh izvantjelesne oplodnje – implantacija**

U normalnom prirodnom ciklusu do implantacije može doći samo 6-10 dana nakon ovulacije (20. - 24. dana ciklusa), što se naziva implantacijski prozor. U stimuliranom IVF ciklusu pravilno dozrijevanje receptivnog endometrija može biti poremećeno visokim estradiolom, preranim porastom progesterona, poremećenom ekspresijom steroidnih receptora i disbalansom biosignala.

Neke bolesti dodatno mogu umanjiti IR (implantation rate).

Intervencije za poboljšanje receptiviteta endometrija su ograničene, te nema konzistentnih preporuka – od ispiranja (scratching), primjena G-CSF, rekombinantni LIF (leukemia inhibiting factor) do neproverene primjene lijekova. U mnogim okolnostima gdje sumnjamo u endometriju današnja je najplauzibilnija preporuka – freeze all postupak.

### **Napredni probir zdravih zametaka**

Sve su šire i povoljnije mogućnosti za utvrđivanje zdravih, kompetentnih zametaka metodama analize svih 24 kromosoma ( na pr. CGH – comparative genomic hybridization). Postupak uključuje biopsiju blastociste i freeze all postupak, ili ET 6. dana po oplodnji.

Tradicionalno utvrđivanje aneuploidije – **preimplantation genetic screening – PGS –om** ima slijedeće indikacije:

- dob žene
- ponavljani IVF neuspjeh
- ponavljani pobačaji
- ozbiljan muški faktor neplodnosti.

Danas se indikacije proširuju te se sugerira mišljenje o značajnijoj uporabi PGS-a. Takvim pristupom eliminiraju se aneuploidni zameci, umanjuje učinak dobi na neuspjeh, ali i češće izostaje ET. Samo 2% aneuploidnih zametaka se može implantirati. PGS je odlična priprema za visoko uspješan single ET. Istovremeno se treba usvojiti da je PGS metoda selekcije zdravog zametka, ali ona ne može popraviti zadanu situaciju, već se odustaje od ET bez perspektive. Nedostatak te metode može biti prisutnost mozaicizma koji je puno rjeđi kod biopsije blastociste (u odnosu na cleavage stage). Za 3-5% može postojati razlika u ploidnosti između biopsije trofoektoderma i unutrašnje mase stanica blastociste.

Znači da uobičajeni PGS trofoektoderma može dati pogrešnu dijagnozu u 5% embrija. Sadašnjost i budućnost uspješnog IVF-a svakako ide smjerom pouzdanog odabira zdravog zametka PGS-om, jer su morfološki kriteriji nepouzdati.

Razlike u uspjehu koristeći PGS pokazuju brojna RCT istraživanja (tablica 3) kao na primjer:

pacijenti	morfološki	PGS
ET dan single SET	6. dan	6. dan
CPR	45,8%	70,9%
OPR	41,7%	69,1%
ET DET	2	1,9
LBR	67,5%	84,7%

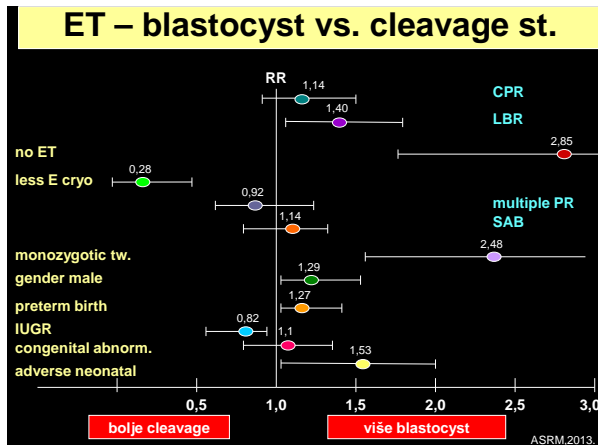
### Kultura i transfer blastociste

Produžena kultura zametaka do stadija blastociste (5. ili 6. Dan nakon oplodnje) napredan je embriološki postupak kojim se prirodno selektiraju samo kvalitetni zameci. Takvi zameci imaju viši potencijal za implantaciju i može se ostvariti CPR od 50-60%. Valja imati na umu da je oko 40% blastocista nekompetentno, aneuploidno. Prednost ET blastociste dolazi do izražaja u pacijentica s dobrom prognozom (3. dan postoji  $\geq 3$  zametka s 8 blastomera) i većim brojem zametaka.

CPR	Blastocist - ET	Cleavage - ET
pacijenti dobre prognoze	50,5%	30,1%
svi pacijenti	41,6%	38,6%

To je metoda samo za napredne IVF centre, pogodna za SET (single embryo transfer), ali kultura blastociste se ne preporučuje za sve pacijentice, neselektirane i one slabe prognoze. Dosta su konzistentni i

uvjerljivi nalazi štetnih događaja u trudnoći nakon ET blastociste: prijevremeni porođaj, EPH gestoze, monozigotic twining i kongenitalne abnormalnosti (više nego u prirodnoj trudnoći i trudnoći nakon cleavage ET).



Slika 22.

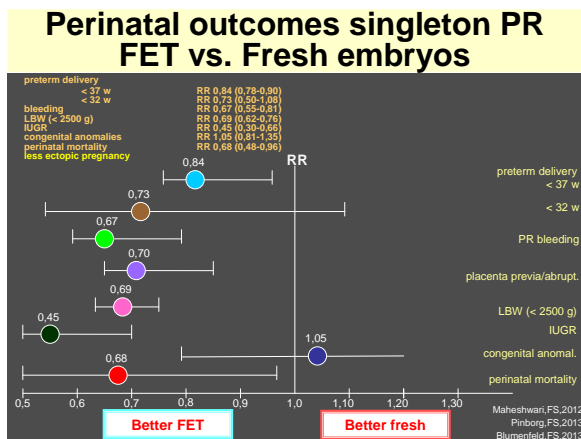
Kulturu i ET blastociste koristi se u 20-70% pacijentica prema našoj anketi svjetskih autoriteta. Zanimljivo i Cornell IVF Centar obavlja većinu ET u cleavage stadiju (3. dan).

### Freeze all tehnologija

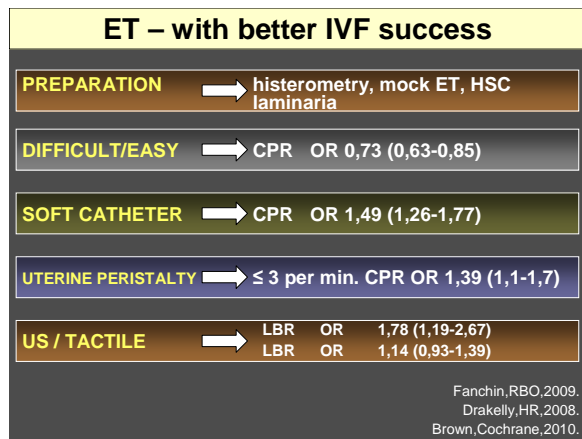
Do prije 8 godina, odmrznuti ET (FET, cryo ET) je davao slabije rezultate IVF-a, ali zadnje 3 godine uspjeh svježeg ET i FET-a su izjednačeni. Poboljšanja u tehnologiji (vitifikacija zametaka) omogućila su visoku uspješnost FET-a, single ET, ET blastocista i kumulativnog rezultata (svježi + FET). Stoga je **freeze all tehnologija** prihvatljiva opcija s brojnim prednostima:

- rizik OHSS-a
- areceptivan endometriji
- povišen preovulacijski progesteron
- PGS
- novonastale abnormalnosti uterusa
- epigenetski efekti SO
- očuvanje plodnosti.

Danas freeze all (u vrhunskim centrima) ima bolje rezultate IVF-a – IR, CPR, LBR, uz manje pobačaje (slika 23 i 24)



Slika 23.

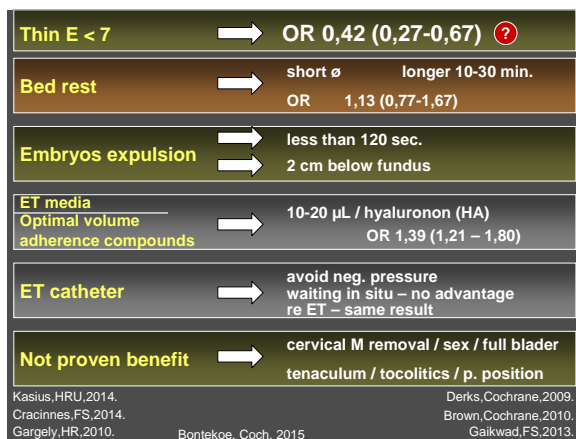


Slika 24.

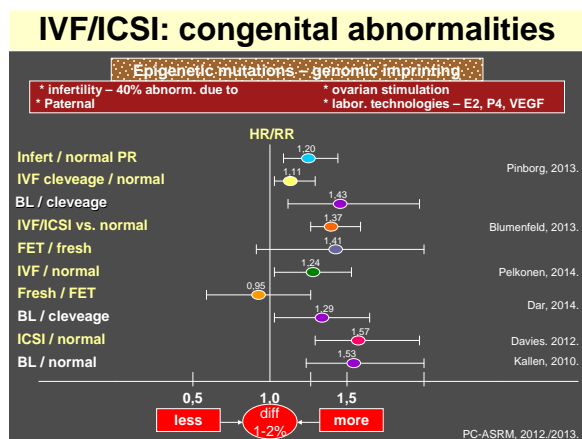
Posebno se ističu bolji perinatalni pokazatelji uz FET. Čini se da su rezultati te tehnologije isti ako se zameci zamrzavaju u pronuklearnom stadiju, 3. ili 5. dan razvitka. (Shapiro, FS, 2015).

### Kakav je embrio transfer (ET) bolji?

Brojna poboljšanja embrio transfera (ET) čvrsto su dokazana, dok za neke intervencije i preporuke nema konsenzusa (slika 24 i 25).



Slika 25.



Slika 26.

Ističemo da su na kraju navedeni i neki perinatalni rizici i kongenitalne abnormalnosti koji se povezuju s MPO. Ti nalazi nisu konzistentni i predmet su daljnjeg istraživanja i rasprave.

## Skraćenice

AFC	- antral follicular count
AMH	- antimüllerov hormon
ART	- asistirane reprodukcijske tehnologije
ATE	- arterijske tromboembolije
CAT	- chlamidia antibody test
CPR	- clinical pregnancy rate
DFI	- DNK fragmentacijski indeks
DOR	- diminished ovarian reserve
E2	- estradiol
EQ	- embryo quality
ET	- embrio transfer
FR	- fertilization rate
FS	- fertility-sterility
FSH	- folikulostimulirajući hormon
HCG	- humani chorionski gonadotropin
HSG	- histerosalpingografija
ICSI	- intracitoplazmatska spermalna injekcija
IM	- intramuralno
IR	- implantation rate
IVF	- in vitro fertilizacija
LBR	- live birth rate
MCL	- menstrual cycle length
NMH	- niskomolekularni heparin
OHSS	- ovarian hyperstimulation syndrome
OPR	- ongoing pregnancy rate
OR	- odds ratio
P4	- progesteron
PCOM	- polycystic ovary morphology
PCOS	- polycystic ovary syndrome
POR	- poor ovarian response
RCT	- randomizirani klinički pokus
RR	- relativni rizik
SAB	- spontani abortus
SHT	- supklinički hipertireoidizam
SO	- stimulacija ovulacije
TSH	- tiroid stimulacijski hormon
US	- ultrasound (UZV – ultrazvuk)
VTE	- venske tromboembolije

Izvori:

1. Šimunić V.: Plenarna predavanja, Brijuni, Ljubljana, Sarajevo, 2015.
2. Kongres o humanoj reprodukciji i IVF-u, Brijuni, 2015.
3. Kongres Mediteranskog društva za HR, Ljubljana, 2015.
4. 18. Svjetski kongres o IVF-u, Kopenhagen, 2015.
5. Practice Committee ASRM opinion – 2008 – 2015.
6. Rosenwax Z.: Human fertility, Humana p., NY, 2014.
7. Fertility/sterility, Human Reproduction, Human Reproduction Update, Reproductive Biomedicine Online – 2014./2015.
8. Analiza ankete vrhunskih svjetskih stručnjaka, 2015.