



## Središnja medicinska knjižnica

**Ćorić, Mario (2011) *Procjena učinaka dviju metoda laparoskopskog liječenja endometrioma na pričuve jajnika pomoću biokemijskih i ultrazvučnih parametara [Two laparoscopic methods in the treatment of ovarian endometriomas and its effect on the ovarian reserve assessed by known biochemical and ultrasonographic parameters]*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/1348>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Mario Ćorić**

**Procjena učinaka dviju metoda  
laparoskopskog liječenja endometrioma na  
pričuve jajnika pomoću biokemijskih i  
ultrazvučnih parametara**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2011. godine**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Mario Ćorić**

**Procjena učinaka dviju metoda  
laparoskopskog liječenja endometrioma na  
pričuve jajnika pomoću biokemijskih i  
ultrazvučnih parametara**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2011. godine**

Rad je izrađen u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog Bolničkog Centra i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelj rada je Prof. dr. sci. Dubravko Barišić

Ovaj rad je izrađen uz stručnu i prijateljsku pomoć mojih dragih kolega i prijatelja i čast mi je što im se ovdje mogu na tome zahvaliti.

Zahvaljujem se mentoru i učitelju prof. dr. sci. Dubravku Barišiću na ideji, slobodi, podršci, strpljenju, kritici, dobroti i prisnosti koju mi je dopustio, ne samo tijekom izrade ove disertacije nego i u svakidašnjem kliničkom radu.

Nesebično su mi pomagale i uvijek bile na dispoziciji drage kolegice doc. dr. sci. Dinka Pavičić, dr. Magdalena Karadža i dr. Maja Banović.

Veliko hvala, osobito mi dragoj, Gordani Sakoman, ali i Andreji koje su uvijek činile sve da dokumentacija bude sigurno spremljena, arhivirana i dostupna kad je trebalo, a uz čiju sam pomoć mogao bezbrižno izbivati iz Klinike.

Osobito se zahvaljujem svim odjelnim sestrama 1. i 4. Ginekološkog odjela, u "tamnoplavim i svijetloplavim" odorama, što su savjesno odradile tehnički dio u ovom istraživanju, što je za njih bio dodatni posao, a meni izrazito potreban u izradi ovog rada.

Također sam osobito zahvalan kompletnom laborantskom timu na čelu sa inž. Sašom Kralik.

Zahvaljujem se svim anesteziolozima, anesteziološkim tehničarima i tehničarkama te posebno sestrama instrumentarkama i svom pomoćnom osoblju na strpljenju, podršci i dobroj atmosferi tijekom brojnih i katkad dugotrajnih operacija.

Zahvaljujem dr. Josipu Jurasu i dr. sci. Držislavu Kalafatiću na strpljenju i pomoći tijekom statističke obrade podataka.

Zahvaljujem svojim prijateljima dr. Andreji Marinić – Pivac, dr. sci Goranu Vujiću te mr. sci Trpimiru Goluži što su mi pomogli u iznalaženju novčanih sredstava neophodnih za izradu i dovršetak ovog istraživanja.

Bez domovine, ljubavi i podrške roditelja i obitelji, ali i svih vas koji me makar malo volite ništa ne bi imalo smisla.....

## **POPIS OZNAKA I KRATICA**

AFC	broj antralnih folikula
AMH	anti-Müllerov hormon
ASRM	Američko društvo za reprodukciju medicinu
CA-19.9	karcinomski antigen 19-9
CA-125	karcinomski antigen 125
CRP	C-reaktivni protein
DMPA	depo-medroksiprogesteronacetat
EGF	epidermijski faktor rasta
EKG	elektrokardiografija
FSH	folikulostimulirajući hormon
GnRH	gonadotropin otpuštajući hormon
GnSAF	čimbenik koji neutralizira gonadotropinski skok
IL-6	interleukin-6
IL-8	interleukin-8
IL-1	interleukin-1
IVF	postupaka izvanjske oplodnje
KTP	kalij titanil fosfat laser
LPSC	laparoskopija
MRI	nuklearne magnetske rezonancije
NO	dušični oksid
NSAID	nesteroidni antireumatici
PCO	policistični jajnici

PDGF trombocitni faktor rasta

TGF-  $\beta$  transformirajući faktor rasta  $\beta$

TNF tumorski nekrotizirajući čimbenik

VEGF vaskularni endotelni čimbenik rasta

## SADRŽAJ

<b>I UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1. ENDOMETRIOZA.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Etiopatogeneza.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Epidemiologija.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Klinička slika.....</b>	<b>3</b>
1.3.1 Bol.....	3
1.3.2 Nepravilna krvarenja.....	4
1.3.3 Neplodnost.....	4
<b>1.4. Postavljanje dijagnoze.....</b>	<b>5</b>
1.4.1 Određivanje plazmatske razine serumskih biljega.....	6
1.4.2. Dijagnostička laparoskopija.....	7
<b>1.5. Liječenje.....</b>	<b>14</b>
1.5.1 Medikamentozno liječenje.....	14
1.5.2 Kirurško liječenje.....	16
1.5.2.1 Laparoskopija.....	17
1.5.2.1.1. Laparoskopija u liječenju endometrioze jajnika- endometrioma.....	18
1.5.2.1.2 Laparoskopske tehnike i pričuva jajnika.....	21
<b>1.6 Pričuva jajnika („ovarijska rezerva“).....</b>	<b>22</b>
<b>II HIPOTEZE I CILJEVI RADA.....</b>	<b>25</b>
<b>III BOLESNICE I METODE.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Bolesnice.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Metode.....</b>	<b>29</b>
3.2.1 Prijeoperacijska priprema pacijentice uz prijeoperacijsko određivanje AMH, inhibina B te FSH.....	29
3.2.2 Operacijske tehnike.....	29
3.2.3 Praćenje pacijentica poslije operacije.....	32
<b>3.3 Statistička analiza podataka.....</b>	<b>32</b>



<b>IV</b>	<b>REZULTATI.....</b>	<b>34</b>
<b>V</b>	<b>RASPRAVA.....</b>	<b>54</b>
<b>VI</b>	<b>ZAKLJUČCI.....</b>	<b>70</b>
<b>VII</b>	<b>SAŽETAK.....</b>	<b>71</b>
<b>VIII</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>73</b>
<b>IX</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>75</b>
<b>X</b>	<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>92</b>

# I UVOD

## 1. Endometrioza

*Endometrioza* je česta kronična, kompleksna i progresivna bolest koju karakterizira izvanmaternično sijelo endometrijskog tkiva. Najčešće sijelo endometrioze jesu organi u zdjelici - jajnici, zdjelični peritoneum, sakrouterini ligamenti, rektovaginalni septum, stražnji dio široke maternične sveze. Rjeđe lokalizacije su vrat maternice, rodnica, mokraćni mjehur, omentum, koža te crijeva (1). Endometrioza se može naći u gotovo svakom ženskom organu pa je tako opisana i endometrioza pluća (2) koja može biti bez simptoma ili se manifestirati pneumotoraksom, hemoptizom i hematotoraksom tijekom menstruacije. Ektopično sijelo endometralne sluznice u kompenzacijski hipertrofiranom miometriju naziva se *adenomioza* (3). S kliničkog stanovišta uz adenomiozu kao specifičan entitet bolesti koju uz bol karakteriziraju i nepravilna krvarenja, razlikuju se još tri klinička entiteta – endometrioza jajnika, peritonealna endometrioza te duboka zdjelična endometrioza (4).

### 1.1 Etiopatogeneza

Histološki potvrđeno izvanmaternično sijelo endometralnih žlijezda i strome s makrofagima ispunjenim hemosiderinom među prvima je opisao još 1860. godine Rokitansky (3,5). On je histološki opisao i adenomiozu, a termin je u kliničkopatološku praksu uveo i dodatno opisao Cullen 1896. godine. U cijelom razdoblju do današnjih dana razvilo se više histogenetskih teorija nastanka bolesti, ali su se s vremenom ustalile i iskristalizirale četiri teorije. Među prvima je *transplantacijska teorija* retrogradne menstruacije Johna Sampsona iz 1921. godine koja se, između ostalog, temelji na nalasku endometrijskih fragmenata u menstrualnoj krvi nađenoj u Douglasovom prostoru, ali i većoj učestalosti endometrioze u žena s opstrukcijom i poremećajem otjecanja menstrualne krvi (6,7). *Teorija celomske metaplazije* temelji se na činjenici da se i Müllerovi kanalići, germinativni epitel te zdjelični peritoneum razvijaju iz

zajedničkog celomskog epitela. Iako je to najstarija teorija, danas se smatra da već diferencirani peritonealni epitel nema sposobnost daljnje diferencijacije (3). *Indukcijska teorija* objedinjuje ove dvije spomenute teorije, zagovarajući postojanje „endometralnog čimbenika“ koji regurgitacijom inducira nediferencirane mezenhimalne stanice koje stvaraju endometriotične ciste (8). Činjenica da je retrogradna menstruacija dokazana u 70 do čak 90% žena (9), a sve žene ne obolijevaju od endometrioze te razvoj imunologije pogodovao je razvoju tzv. *imunološke teorije* koja na neki način objedinjuje sve dosadašnje teorije. Naime, u žena s endometriozom dokazano je da postoji poremećaj imunološkog odgovora s povećanom aktivnošću makrofaga uz istovremeno smanjenu citotoksičnost posredovanom T-limfocitima i NK-stanicama (10). Menstrualna krv na neki način stimulira peritonealne makrofage kojih u neplodnih žena s endometriozom ima u većem broju nego u plodnih, zdravih žena, a njihova fagocitna aktivnost je također izraženija, uz lučenje različitih proteolitičkih enzima, citokina, prostaglandina i faktora rasta (11). Među tim faktorima rasta dokazano je da trombocitni faktor rasta (PDGF), epidermijski faktor rasta (EGF) i transformirajući faktor rasta  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) potiču umnažanje stromalnih endometralnih stanica i vjerojatno implantaciju endometralnih stanica (12,13).

## **1.2 Epidemiologija**

Endometrioza je treći uzrok svih ginekoloških hospitalizacija u Sjedinjenim Američkim Državama (14). Objavljeno je više studija koje opisuju prevalenciju endometrioze od 3-10 pa čak i 15% u žena reproduktivne dobi, uz prevalenciju od 25-35% u neplodnih žena (15-18). Jedna od novijih studija koja je obradila više od tisuću žena u općoj praksi navodi prevalenciju od 3,6% (19). Incidencija novih slučajeva bolesti je 1,3 na tisuću pacijentica u dobi od 15-44 godine uz faktore rizika kao što su veća visina i mršavost, kraći ciklusi, ranije menarhe, nuliparitet, dismenoreja te uzimanje alkohola i kofeina (20). Možda je najintrigantniji epidemiološki podatak činjenica da od početka simptoma bolesti do

postavljanja dijagnoze prođe u prosjeku šest godina (14)! U Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb velika je koncentracija pacijentica koje boluju od endometrioze, a jedna trećina (33%) svih laparoskopski operiranih pacijentica podvrgnuto je zahvatu upravo zbog endometrioze (21).

### **1.3 Klinička slika**

Teško je reći koji je veći problem žena koje boluju od endometrioze; je li to *neploidnost* ili *bol*, koja je sigurno dominantni simptom i osnovno je obilježje bolesti.

#### **1.3.1 Bol**

Neodređena zdjeljučna bol prisutna je u gotovo 80% pacijentica, a njih 70% navodi dismenoreju te 49% dispareuniju (22) koja se javlja nakon određenog broja godina kada su menstruacije i spolni odnosi bili bezbolni (23). Postoji diskrepanca u intenzitetu boli i opsežnosti bolesti te vidljivih endometriotičnih promjena, koja se objašnjava različitom dubinom infiltracije endometrioze, ali i lokacijom bolesti u odnosu na medijalnu liniju (24). Naime, bol je intenzivnija u pacijentica koje imaju žarišta bliže medijalnoj liniji.

Bol može biti difuzna ili lokalizirana, najčešće u području rektuma i intenzivnija je ukoliko su zahvaćeni rektum, mokraćni mjehur ili ureter.

*Bolnost pri pregledu ili bolan pregled*, pri čemu je vrlo teško palpacijski izdiferencirati promjene, su dodatno obilježje pacijentica s endometriozaom. Vrlo često se u području hvatišta sakrouterinih ligamenata palpiraju endometriotični čvorovi veličine zrna do nekoliko centimetara, u području stražnjeg forniksa, izrazito bolni i katkad vidljivi golim okom u spekulima. Maternica je vrlo često ograničeno gibiva, položena prema straga u retroverzijiifleksiji. U području adneksa palpiraju se povećani i tumorski promjenjeni jajnici koji su fiksirani i bolni.

### 1.3.2 Nepravilna krvarenja

*Nepravilna krvarenja* vrlo su čest simptom bolesti, osobito ako uz endometriozu postoji i adenomioza maternice. Krvarenja iz rektuma su rijetka, ali su istovremeno znak infiltracije debelog crijeva.

### 1.3.3 Neplodnost

Problem plodnosti u pacijentica s endometriozom može se izraziti i prikazati na različite načine. Jedan od načina je stopa vjerojatnosti rađanja živog djeteta po jednom menstruacijskom ciklusu (eng. *fecundity rate*). Ta je stopa značajno niža već u pacijentica s minimalnim promjenama i početnom endometriozom i iznosi 2-10% (25), dok je u normalnih parova 15-20% (26). Potpuno je jasan i objašnjiv mehanizam neplodnosti u uznapredovaloj bolesti s posljedičnom fibrozom i priraslicama. U takvim slučajevima postoji očiti *mehanički čimbenik* jer je ograničen i smanjen motilitet fimbrija i onemogućena je spontana aspiracija jajne stanice nakon ovulacije. Međutim nije u cijelosti jasan uzrok neplodnosti u pacijentica s minimalnom i početnom endometriozom. *Sekundarna dispareunija* svakako može biti jedan od razloga (24), ali većina radova ukazuje na čitav niz funkcijskih poremećaja na različitim razinama uz „oštećenu“ *folikulogenezu*, s posljedičnom *ovulacijskom disfunkcijom* sa *smanjenom kvalitetom oocite* i *disfunkcijom žutog tijela*, što ima za posljedicu *smanjenu sposobnost fertilizacije* i *abnormalnu embriogenezu* (27,28,29). S imunološkog aspekta dokazana je *disfunkcija peritonealnih makrofaga* koji pokazuju povećanu koncentraciju i povećanu aktivnost, u inače povećanoj količini peritonealne tekućine u pacijentica s endometriozom (26,30). Povišene vrijednosti *interleukina-6 (IL-6)* te *interleukina-8* i *interleukina-1 (IL-8 i IL-1)*, *prostaglandina* i *tumorskog nekrotizirajućeg čimbenika (TNF- $\alpha$ )* i *proteaza* u peritonealnoj tekućini, ali ne u serumu, također se povezuju s intenzivnijom,

štetnom, lokalnom, imunološkom aktivnošću makrofaga u pacijentica s endometriozom (26, 31).

Uz sve poznate i potencijalne uzroke neplodnosti pacijentica s endometriozom nedavno je objavljen rad koji je analizom serumske razine anti-Müllerovog hormona (AMH) u neplodnih pacijentica s minimalnom, početnom endometriozom dokazao značajno nižu razinu AMH u odnosu na neplodne pacijentice s opstrukcijom jajovoda (32). Obzirom da se AMH danas u mnogim laboratorijima za humanu reprodukciju koristi kao pokazatelj pričuve jajnika u sklopu postupaka izvantjelesne oplodnje (IVF) i trenutačno je jedan od najboljih pokazatelja stvarnog broja primordijalnih folikula (33-35), vjerojatno je da je u pacijentica s endometriozom dodatno oštećena i smanjena ovarijska rezerva, što dodatno pridonosi neplodnosti takvih pacijentica.

#### **1.4 Postavljanje dijagnoze**

*Anamneza i klinički pregled* su osnova i početak svakog dijagnostičkog postupka. Na endometriozu treba posumnjati uvijek kada se pacijentica generativne dobi žali na kroničnu bol u donjem trbuhu, uz dismenoreju ili dispareuniju.

Klinički pregled je nerijetko otežan zbog bolnosti koja se povećava pri pomicanju vrata maternice ili prilikom palpacije adneksalnih tvorbi. U uznapredovaloj bolesti ili dubokoj zdjeličnoj endometriozici maternica je vrlo često položena prema straga, u retroverziji i fleksiji, s bolnim zrnatim ili većim čvorovima, na hvatištima sakrouterinih ligamenata. Katkad takvi čvorovi prosijavaju plavkasto u stražnji forniks i izrazito su bolni. Ukoliko postoje endometriomi na jajnicima palpiraju se kao napetoelastične, ograničeno gibive tvorbe različite veličine. Obliteriran Douglasov prostor govori uvijek u prilog duboke zdjelične endometrioze. Nerijetko kliničkim pregledom ne nalazimo nikakvih kliničkih, objektivnih znakova koji bi govorili u prilog endometrioze. Iz tog razloga, ali i s ciljem potvrđivanja bolesti kada oni

postoje, u dijagnostičkom postupku koriste se različite „*imaging*“ metode. Ginekološki transvaginalni i transrektalni ultrazvuk koriste se u razlikovanju endometrioma od ostalih adneksalnih masa različite etiologije (36,37). Međutim, osjetljivost ultrazvuka pa i s današnjom 3-D tehnologijom, još je uvijek puno manja od nuklearne magnetske rezonancije (MRI) koja se koristi u prijeoperacijskom utvrđivanju i lokaliziranju lezija u pacijentica s dubokom zdjeličnom endometriozom rektovaginalnog septuma i sakrouterinih ligamenata te utvrđivanju eventualne proširenosti bolesti na druge zdjelične i abdominalne organe (38).

#### **1.4.1 Određivanje plazmatske razine serumskih biljega**

CA-125 je površni antigen koji se nalazi na stanicama svih tkiva koji su derivati celomskog epitela i danas je jedan od najprimjenjivanih serumskih biljega u praćenju pacijentica s epitelnim rakom jajnika. Njegove normalne vrijednosti kreću se od 8-22 U/ml u nemenstruacijskoj fazi menstruacijskog ciklusa (39). Povišene vrijednosti CA-125 pronađene su i u pacijentica s endometriozom, uz dobru korelaciju sa stadijem bolesti i odgovorom na liječenje (40,41). Njegove vrijednosti su povišene i tijekom menstruacije, u trudnoći, pri upalnoj zdjeličnoj bolesti, kod mioma, tako da je njegova specifičnost niska, ali može poslužiti kao koristan pokazatelj terapijskog učinka i eventualnog recidiva bolesti. Tendencija je u istraživanjima povećati osjetljivost i specifičnost testova kombinacijom CA-125 s još nekim serumskim biljezima, kao što su IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$ , C-reaktivni protein (CRP) i CA-19.9 (42).

### 1.4.2 Dijagnostička laparoskopija

U nekim situacijama nedefinirane boli u truhu ili neplodnosti, uz postojeću kliničku sumnju na endometriozu, a bez konkretnog nalaza na osnovi neinvazivnih dijagnostičkih metoda, indicirano je učiniti dijagnostičku laparoskopiju. Pri tome valja naglasiti da je u takvim situacijama odgovornost na kirurgu hoće li samo dijagnosticirati stanje ili pokušati u istom aktu izliječiti bolest. Pri tome je potrebno sustavno pregledati čitavu zdjelicu i abdomen. Tipične lezije koje ukazuju na endometriozu su čvorići („powder-burn“ ili „gunshot“) različite veličine razasuti po peritoneumu (39). Oni mogu biti crne, tamno smeđe ili plavkaste boje ili male cistične tvorbe ispunjene hemoragičnim sadržajem s okolnom fibroznom reakcijom. Endometrioza se može prikazati i poput minimalnih crvenkastih implantata i vezikula (Slika 1), bijelih fibroznih plakova (Slika2), žutosmeđih peritonealnih diskoloracija (Slika3) i jedva uočljivim rahlim priraslicama jajnika (43). Konačna dijagnoza endometrioze postavlja se na osnovi patohistološke evaluacije ekscidiranih lezija pri čemu histološka dijagnoza može i u makroskopski očitim endometriotičnim promjenama biti negativna u 24% slučajeva (44).

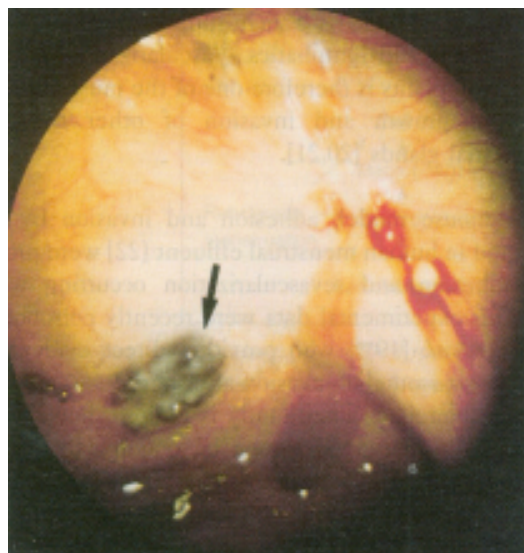


Slika 1. Crvenkasti implantati endometrioze

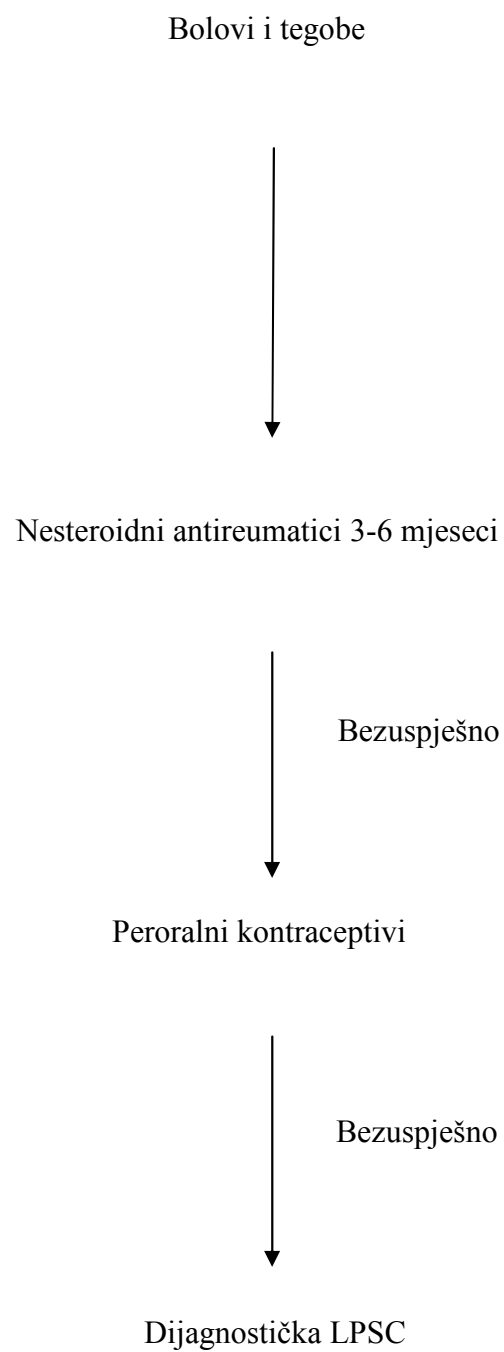




Slika 2. Bijela fibrozna žarišta s okolnim smeđkastim promjenama



Slika 3. Tipični smeđi endometriotični plakovi



Dijagram 1. Klinički algoritam u slučajevima kronične zdjelične boli sa sumnjom na endometriožu

Američko društvo za reprodukcijску medicinu (American Society for Reproductive Medicine – ASRM) predložilo je četiri stupnja izraženosti endometrioze (Tablica 1) (45). Stadij bolesti ne korelira sa simptomima i nema prediktivnu vrijednost za povratak bolesti, niti neplodnost.

Tablica 1. Američko društvo za reprodukcijску medicinu (ASRM) - revidirana klasifikacija endometrioze, 1985.

PERITONEUM	ENDOMETRIOZ	< 1 CM	1-3 CM	>3 CM
	A			
	POVRŠNA	1	2	4
	DUBOKA	2	4	6
JAJNIK	DESNO POVRŠ	1	2	4
	DESNO DUBOKA	4	16	20
	LIJEVO POVRŠ	1	2	4
	LIJEVO DUBOKA	4	16	20
OBLITERACIJ	DJELOMIČNO	KOMPLETNA		
	A C. DOUGLASI	4	40	
JAJNIK	PRIRASLICE	<1/3	1/3 - 2/3	>2/3
		OBUHVAĆE N JAJNIK	OBUHVAĆE N JAJNIK	OBUHVAĆE N JAJNIK
	D RAHLE	1	2	4
	GUSTE	4	8	16

	L RAHLE	1	2	4
	GUSTE	4	8	16
JAJOVODI	D RAHLE	1	2	4
	GUSTE	4	8	16
	L RAHLE	1	2	4
	GUSTE	4	8	16

I STADIJ (MINIMALNA) 1- 5

II STADIJ (BLAGA) 6 – 15

III STADIJ (UMJERENA) 16 -40

IV STADIJ (TEŠKA ENDOMETRIOZA) >40

U pokušaju da se klasifikacija endometrioze tako boduje da pomogne ocjeni plodnosti, nedavno je objavljen Indeks plodnosti u endometriozi (*eng.* Endometriosis fertility index) (46) kojim se pri operaciji pokušava predvidjeti buduću plodnost (Tablica 2).

Tablica 2. Indeks plodnosti u u pacijentica s endometriozom (2009).

<b>Endometriosis fertility index (2009)</b>	
<b>Osobina-----</b>	<b>bodovi</b>
Dob (< 35/ 36 – 39/ ≥40)	2 / 1 / 0
Trajanje neplodnosti (≤ 3g / >3g )	2 / 0
Ranije trudnoće (da / ne )	1 / 0
Oštećenje funkcije – (blago/srednje/jako/bez funkcije desno/ lijevo)	
Tube	4/3/2/1/0
Fimbrije	4/3/2/1/0
Jajnik	4/3/2/1/0

AFS/ ASRM score

- < 16 → 1
- ≥ 16 → 0
- < 71 → 1
- ≥ 71 → 0

**Viši score od 8/9** udružen je s povišenom vjerojatnošću za trudnoću u naredne 2 – 3 godine (50-75%).

**Nizak score** govori za umanjenu plodnost

Austrijsko društvo za ginekologiju i opstetriciju nedavno je objavilo prijedlog revidirane Enzian klasifikacije (Tablica 3) iz 2005. godine (47) kojom se nastoje otkloniti manjkavosti ASRM klasifikacije, s ciljem boljeg stupnjevanja bolesti pri dubokoj zdjelčnoj endometriози, analogno onkološkom stupnjevanju bolesti s retroperitonealnom proširenošću.

Tablica 3. revEnzian klasifikacija duboke zdjelčne endometrioze

Ravnina Stadij	A	B	C
	rektovag.septum - rodnica	Sakrouterini ligg - zid zdjelice	Rektum / Sigma
1  < 1 cm	Rev E sc 1A  < 1 cm	Rev E sc 1B  < 1 cm obostrano lig.sc	Rev E sc 1C  < 1 cm čvor rekt/sigma
2  1-3 cm	Rev E sc 2A  1-3 cm čvor u rek- vag-septumu	Rev E sc 2B  1-3 cm čvorovi sakrout. ligg	Rev E sc 2 C  1-3 cm čvor rektuma ili sigme
3  3 cm	Rev E sc 3A  >3 cm	Rev E sc 3B  >3 cm	Rev E sc 3C  >3 cm

## 1.5 Liječenje

Ciljevi liječenja u pacijentice s endometriozom su uklanjanje boli - dominantnog simptoma bolesti, uklanjanje čimbenika neplodnosti – s ciljem povećanja vjerojatnosti da pacijentica normalno zanese te, s kirurškog stanovišta, uspostavljanje normalnih anatomskih odnosa u zdjelici s ciljem povećanja vjerojatnosti da žena zanese, ali i smanjenja rizika za recidivom bolesti na najmanju moguću razinu.

Liječenje endometrioze može biti medikamentozno i kirurško.

### 1.5.1 Medikamentozno liječenje

Medikamentozno liječenje iako nije uvijek optimalno, često je neizbježno. U izboru lijeka potreban je individualan pristup. Odabir medikamentozne terapije ovisi o simptomima, željom za plodnošću te o izraženosti upale i bolesti.

Medikamentozno liječenje savjetuje se:

- prije operacije (problematičan učinak)
- dodatno liječenje nakon operacije
- liječenje ozbiljnih simptoma bez operacije ?
- priprema za liječenje neplodnosti – posebno IVF
- liječenje adolescentica i žena u premenopauzi
- za liječenje adenomioze

U svrhu medikamentoznog liječenja koriste se:

1. Protuupalni lijekovi – nesteroidni antireumatici (NSAID)
2. Hormoni

**Nesteroidni protuupalni lijekovi** inhibiraju stvaranje prostaglandina, umanjuju upalu i bol. Imaju ozbiljne nus-pojave i rizik nastajanja želučanog vrieda, ali i antiovlacijski učinak ako se koriste u sredini ciklusa (48).

Obzirom da je poznato da estrogene stimuliraju rast endometrijskih promjena, svrha je medikamentoznog, **hormonskog liječenja**, posredna ili neposredna inhibicija njihove sinteze (39). Posljedica te inhibicije je atrofija ektopičnih endometrijskih implantata te izostanak njihove cikličke stimulacije i krvarenja.

U svrhu medikamentoznog liječenja endometrije danas se koriste *kombinirani estrogensko-gestagenski lijekovi*, *gestageni*, *GnRH agonisti* – agonisti gonadotropnog otpuštajućeg hormona koji smanjuju broj GnRH receptora („downregulacija“) u hipofizi i na taj način koče lučenje FSH i LH, s posljedičnom supresijom funkcije jajnika.

Prevladava mišljenje i preporuka je da se *kombinirana estrogensko-gestagenska* terapija kakva je u peroralnim kontraceptivima uzima kontinuirano jer je dokazan bolji analgetski učinak (49,50), ali i prevenira se prijelomno krvarenje i refluks krvi s upalnim citokinima i drugim sastojcima ishemičnog i odljuštenog endometrija (51). Kontinuiranim uzimanjem peroralnih kontraceptiva dolazi do atrofije i pseudodecidualizacije endometrija pa tako i endometrijskih promjena.

Svrha *gestagenske* terapije je inhibicija estrogenske stimulacije endometrialne proliferacije i rasta. Od gestagena koji se danas primjenjuju u liječenju endometrije najčešće se koristi norethidron acetat 5-20 mg dnevno, dienogest 2 mg dnevno – gestagen sa selektivnom 19-nortestosteronskom i progesteronskom aktivnošću te depo-medroksiprogesteronacetat (DMPA) koji se pokazao uspješnim pri uzimanju 6 – 12 mjeseci (51).

Iako je primjenom gotovo svih navedenih hormonskih lijekova dokazan njihov učinak u smanjenju boli, nema nikakvih dokaza pozitivnog djelovanja na povećanje plodnosti pa niti u pacijentica sa stadijem bolesti I i II (26,52-54). GnRH agonisti, iako skupi, danas se dosta često primjenju u konzervativnom liječenju pacijentica s endometriozom. U pacijentica s višim stadijima bolesti njihova prijeoperacijska primjena pokazala se korisnom u smanjenju stadija bolesti i redukciji proširenosti endometrije („r-ASRM score“), ali bez dokazane



kliničke koristi (55,56). Recidiv simptoma je učestala pojava nakon prestanka uzimanja GnRH agonista, a dodatni nepovoljni čimbenici su nuspojave vezane za hipoestrinizam s posljedičnom demineralizacijom kostiju i perimenopauzalnim simptomima. Da bi se suzbio takav nepovoljni utjecaj, GnRH agonisti se kombiniraju s niskodoziranim kombiniranim pripravcima estrogena i gestagena („add-back“ terapija) (52). Takvo kombinirano liječenje s analgetskim učinkom, a bez demineralizacije kostiju i ostalih nuspojava, moguće je u razdoblju do dvije godine (57). Vrlo često se GnRH analozi primjenjuju nakon incizije i drenaže velikih endometrioma jajnika s ciljem njihovog smanjivanja i eventualnog lakšeg odstranjivanja u drugom aktu, međutim Matsuzaki i suradnici su analizirajući čimbenike rizika za odstranjenjem normalnog tkiva jajnika prilikom cistektomije ustvrdili da primjena GnRH agonista značajno povećava taj rizik (58).

U redukciji dismenoreje i poboljšanja kvalitete života pacijentica s endometriozom važno je spomenuti i dobar učinak „Mirene“, hormonskog intrauterinog uložka koji otpušta lokalno gestagen - levonorgestrel 20 µg dnevno što rezultira s atrofijom endometrija i amenorejom u 60% pacijentica, a dobar se učinak pokazao u 50% pacijentica s endometriozom (51,59,60).

### **1.5.2 Kirurško liječenje**

Većina žena koje boluju od endometrioze su žene reproduktivske dobi koje žele zanijeti, stoga je jedan od najvažnijih ciljeva kirurškog liječenja očuvanje reproduktivske funkcije.

Tijekom svakog kirurškog zahvata potrebno je ekscidirati ili koagulirati sva vidljiva endometriotična žarišta te učiniti kompletnu adheziolizu odstranjivanjem priraslica jajnika, jajovoda, crijeva i drugih zdjeličnih organa s ciljem uspostavljanja normalnih anatomskih odnosa. Potrebno je potom odstraniti endometriome s jajnika i nakon toga učiniti korektnu hemostazu. Optimalna operacija uključuje i resekciju čvorova sakrouterinih ligamenata i rektovaginalnog septuma.

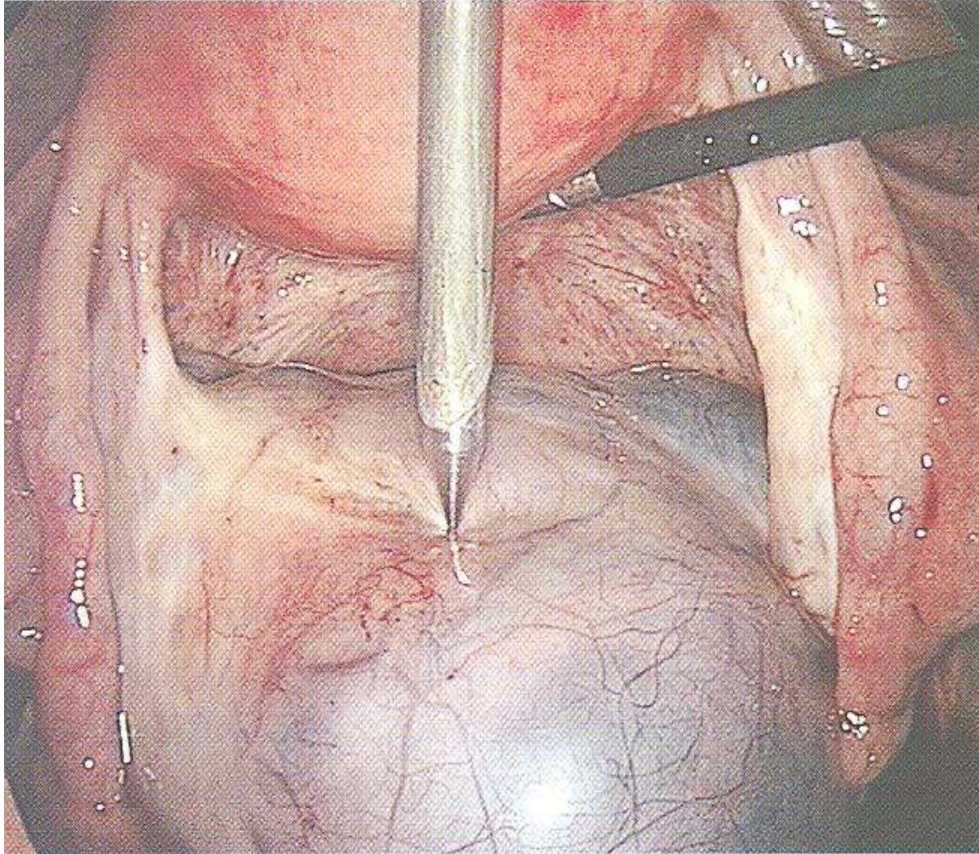
Nekoliko istraživanja (61-63) je dokazalo da nema značajne razlike između laparotomije i laparoskopije s aspekta poslijeoperacijske stope trudnoća i plodnosti te recidiva endometrioma. Ipak, *laparotomija* je danas izbor u pacijentica s dubokom zdjeličnom endometriozom stadija III i IV, kada laparoskopija nije moguća ili u pacijentica u kojih nije potrebno očuvati reproduktivnu funkciju (39).

### **1.5.2.1 Laparoskopija**

Znanje i vještine koje su se proširile razvojem endoskopske kirurgije, ali i razumijevanje bolesti zaslužni su da je danas laparoskopija postala zlatni standard i gotovo „idealna“ metoda u liječenju pacijentica s endometriozom (55). Dokazano je da se pacijentice operirane laparoskopski brže oporavljaju, trebaju manje analgetika i ranije otpuštaju iz bolnice, što značajno snizuje cijenu zahvata (53,64). Kirurgu laparoskopija pruža dodatne dvije prednosti, a to su povećanje i bolje osvjetljenje promjena, koje olakšavaju dijagnosticiranje endometrioze i na taj način omogućuju optimalno liječenje (65). Laparoskopija se svakako pokazala metodom izbora u liječenju endometrioze s aspekta uklanjanja simptoma i smanjenja boli (55,66), ali i s aspekta povećanja plodnosti pacijentica nakon zahvata (55,67,68).

Poseban problem u laparoskopskom liječenju endometrioze, o čemu se još uvijek vode velike rasprave, je liječenje endometrioze jajnika- endometrioma.

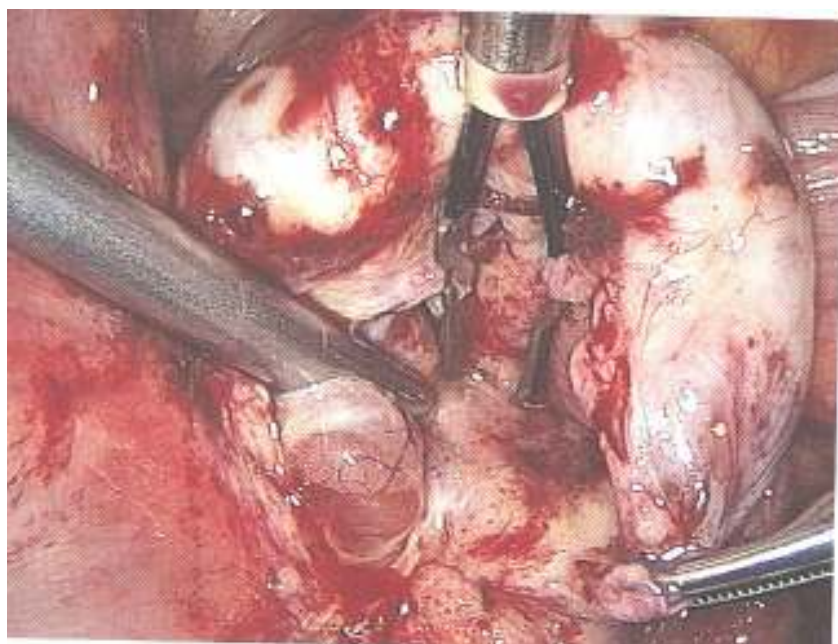
### 1.5.2.1.1 Laparoskopija u liječenju endometrioze jajnika - endometrioma



Slika 4. Endometriom lijevog jajnika koji zauzima gotovo cijeli Douglasov prostor

Endometrioza jajnika ili „endometriom“ (Slika 4) je najčešći oblik bolesti koji nalazimo u pacijentica s endometriozom s učestalošću i do 55% (69) te čini 35% svih benignih cističnih tvorbi jajnika (70). Patogeneza endometriotičnih cisti je još uvijek kontroverzna, ali većina dokaza ukazuje da nastaju progresivnom invaginacijom lateralne stijenke jajnika nakon priraštanja uz peritonej zida zdjelice, što upućuje da je endometriom ustvari „pseudocista“ (71). Akumulacija „čokoladnog sadržaja“ unutar ciste proizvod je ili metaplastično transformiranog invaginiranog mezotela kore jajnika (72) ili proizvod regurgitiranog, ektopičnog, implantiranog endometrija koji je invaginacijom s površine dospio u unutrašnjost

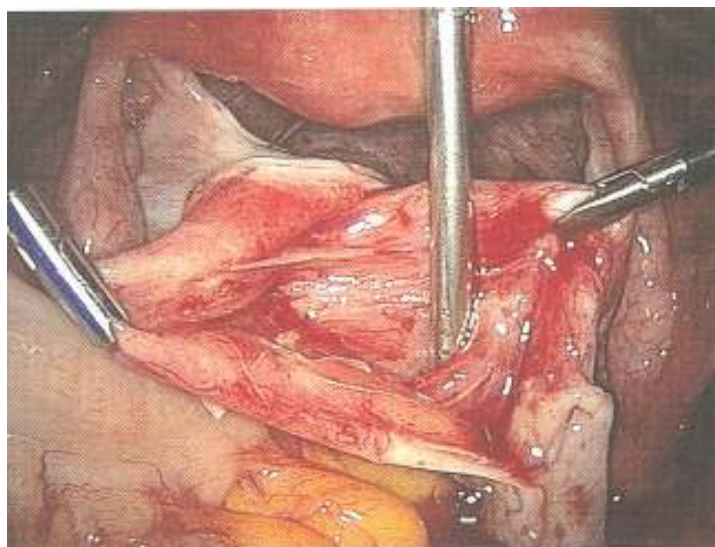
pseudociste i oblaže cijeli unutrašnji sloj ciste (71). Upravo patogeneza nastanka endometriotične ciste i njezino razumijevanje ima veliki utjecaj na izbor i vrstu liječenja endometrioma jajnika. Naime, iz metaplastične teorije, koja tvrdi da je unutarnji sloj pseudociste prekriven mezotelom kore jajnika, a unutar nje postoji svega nekoliko endometriotičnih žarišta koji proizvode „čokoladni sadržaj“ ciste, proizlazi da bi *metoda fenestracije i ablacije endometrioma* (Slika 5) bila dovoljna u liječenju endometrioma jajnika.



Slika 5. Fenestracija i ablacija endometrioma

Međutim, Muzii i suradnici (73) su patohistološki analizirajući ekscidirane endometriome dokazali da je prosječna prekrivenost unutrašnjosti endometrioma endometralnim tkivom oko 60%, a u nekim cistama čak i 100%. Upravo ove činjenice idu u prilog teorije „invaginacije ektopičnog endometrija“ koji je kroz jajovode dospio u zdjelicu. Daljnjom patohistološkom evaluacijom u članku je prikazano da je prosječna dubina penetracije endometralnog tkiva u stijenku ciste 0,6 mm, a u rijetkim slučajevima ta je penetracija veća i od 1.5 mm. Metodom fenestracije i ablacije endometrioma za ablaciju unutrašnjeg sloja sa žarištima, koristi se kalij

titanil fosfat laser (KTP) ili CO2 laser ili bipolarna struja maksimalne snage do 40W pri čemu je oštećenje tkiva manje i od 0.2 mm u dubinu (73-75). Može se neposredno zaključiti da je metoda ablacije i fenestracije nedostatna u liječenju endometrioze jajnika. Druga tehnika je *ekstirpacija „pseudociste“ ljuštenjem ili ekscizija endometrioma (eng. „stripping“)* (Slika 6) pri čemu se atraumatskim hvataljkama nakon fenestracije i identifikacije slojeva endometriom u cijelosti izljušti i potom učini hemostaza na preostalom tkivu jajnika.



Slika 6. Ekscizija endometrioma („stripping“)

Dvije su randomizirane studije (76,77), koje su uspoređujući dvije metode operacije endometrioma jajnika s aspekta uklanjanja boli, poslijeoperacijske stope trudnoća i kasnijih recidiva, afirmirale „stripping“ metodu kao optimalnu, a to se i navodi u svim relevantnim člancima (53,55,73) koji se dotiču problematike vezane uz liječenje endometrioze. Beretta i suradnici 1998. godine (76) analizirali su 62 pacijentice, koje su randomizirane u dvije skupine i operirane jednom od navedenih laparoskopskih tehnika. Praćene su poslije operacije 25 mjeseci. Analizirana su dva parametra: ponovna pojava tipičnih tegoba (recidiv) i stopa trudnoća. U skupini u kojoj su pacijentice operirane metodom ljuštenja čahure

endometrioma recidivi su se javljali nakon 12 mjeseci u oko 5% pacijentica, za razliku od druge skupine, gdje su recidivi bilo u oko 40% slučajeva. Nakon 25 mjeseci, prva skupina je imala recidiv u oko 25% slučajeva, a druga skupina u gotovo 45% slučajeva. I velika metanaliza Vercellinija (78), ali i velika Cochrane analiza (79) također je dokazala sve prednosti ekscizije i ljuštenja endometrioma u odnosu na ablacijsku tehniku.

#### **1.5.2.1.2 Laparoskopske tehnike i pričuva jajnika**

Endometrioza je bolest koja, a priori, zbog već navedenog niza čimbenika na različite, pretpostavljene načine kompromitira plodnost pacijentice (24-31). Plodnost je značajno niža u odnosu na zdrave žene (25,26). Uz sve čimbenike koji se odnose na kvalitetnu folikulogenezu, ovulaciju, prirodnu aspiraciju jajne stanice u Douglasovom prostoru nakon ovulacije, oplodnju, transport i implantacijske procese, u novije vrijeme dokazana je i a priori niža razina pričuve jajnika (32) što dodatno pridonosi subfertilnosti takvih pacijentica. U jajniku koji sadrži endometriom razvija se tijekom folikulogeneze značajno manji broj dominantnih folikula (80), ali i značajno je manji broj oocita dobiven aspiracijom u postupcima potpomognute oplodnje (81).

Unatoč minimalnoinvazivnom pristupu, može se reći da niti jedna laparoskopska metoda operacije endometrioma nije idealna pa tako niti „stripping – metoda“ ljuštenja endometrioma. Uvijek prilikom ekstirpacije pseudociste postoji opasnost odstranjenja i destrukcije dijela preostalog tkiva jajnika. Iako s endometriomom odstranjeni „zdravi“ dio jajnika nema histološke karakteristike, a možda niti funkciju, normalnog tkiva jajnika (73), on je u izravnoj korelaciji s veličinom endometrioma (82). Hachisuga i Kawarabayashi su čak dokazali da se to puno češće događa kada je lakše pronaći sloj i kada se endometriom lakše ljušti (83)! Odstranjenje zdravog tkiva jajnika je puno češće pri operaciji endometriotične ciste nego pri operaciji drugih benignih cističnih tvorbi na jajniku (58).

Prevalencija poslijeoperacijske afunkcije jajnika s posljedičnom prijevremenom menopauzom u pacijentica operiranih zbog obostranih endometrioma jajnika iznosi 2.4%, dok je prevalencija idiopatske prijevremene afunkcije jajnika u općoj populaciji 1.1% (84). Ovaj podatak dodatno upozorava na potreban oprez prilikom operacije endometrioma jajnika i zahtjeva posebno razmatranje rizika i razgovor s pacijenticom prije samog zahvata.

S patogenetskog aspekta endometriom je pseudocista i to je bitan čimbenik na koji ne možemo utjecati, a u značajnoj mjeri otežava ljuštenje endometrioma. Međutim nakon ekstirpacije endometrioma potrebno je učiniti korektnu hemostazu preostalog tkiva jajnika koje katkad i obilno krvari. To je onaj nepovoljni reproduksijski čimbenik na koji kirurg, ipak, prilikom laparoskopije svakako može utjecati. U retrospektivnoj studiji na svega 47 pacijentica s jednim jajnikom Fedele i suradnici su na osnovi razine FSH i estradiola utvrdili prednost šivanja jajnika u odnosu na destruktivnu metodu elektrokoagulacije preostalog tkiva jajnika nakon odstranjenja endometrioma (85).

Laparoskopskim ljuštenjem („strippingom“) unatoč sofisticiranosti instrumenata nije moguće procijeniti koliko će se uz endometriotičnu cistu izljuštiti zdravog tkiva jajnika, ali je moguće odabrati povoljniju i bolju metodu postizanja hemostaze i na taj način na najmanju moguću mjeru smanjiti dodatni rizik gubitka zdravog tkiva jajnika, njegove pričuve, funkcije te reproduksijskog potencijala.

## **1.6 Pričuva jajnika („ovarijska rezerva“)**

Većina informacija vezanih za pričuvu jajnika proizašla je iz istraživanja vezanih uz metode potpomognute oplodnje u neplodnih pacijentica. U svrhu procjene pričuve jajnika i reproduksijskog potencijala u žena koje se liječe postupcima potpomognute oplodnje danas se koristi: određivanje broja antralnih folikula (engl. *antral follicle count*, AFC) te vrijednosti

folikulostimulirajućeg hormona (FSH), inhibina B i anti-Müllerovog hormona (AMH) određenih iz periferne krvi trećeg dana menstruacijskog ciklusa.

Antralni folikuli predstavljaju skupinu funkcionalnih folikula koji su nastali dinamičkom i kompleksnom selekcijom kroz 3 prethodna menstruacijska ciklusa iz mnoštva primordijalnih folikula. Primordijalni folikuli u osnovi predstavljaju pričuvu jajnika. Iz antralnih će folikula daljnjom endokrinom, parakrinom i autokrinom selekcijom u tekućem ciklusu nastati Graffov folikul koji će i ovulirati (86). Primordijalni se folikuli ne vide golim okom niti danas dostupnim ultrazvučnim tehnikama. S obzirom da broj antralnih folikula u jajniku stoji u proporcionalnoj korelaciji s brojem primordijalnih folikula danas se smatra da broj antralnih folikula predstavlja kvantitativni aspekt funkcije jajnika (87). *Broj antralnih folikula* je broj detektiranih folikula u jajniku veličine 2-10 mm mjeren treći dan menstruacijskog ciklusa danas dostupnim ultrazvučnim tehnikama. Broj antralnih folikula  $< 5$  smatra se pokazateljem slabe pričuve jajnika, a broj  $\geq 5$  antralnih folikula po svakom jajniku smatra se pokazateljem normalne pričuve jajnika. Broj antralnih folikula  $\geq 10$  po svakom jajniku ukazuje na ultrazvučnu dijagnozu sindroma policističnih jajnika (87).

Prvi primijenjen i najviše korišten pokazatelj pričuve jajnika je *folikulostimulirajući hormon (FSH)* određen u ranoj folikularnoj fazi menstruacijskog ciklusa (između 2 i 5 dana). Sekrecija FSH iz hipofize pod kontrolom je estradiola i inhibina B. Gubitak folikula kao i smanjenje lučenja inhibina B dovodi do porasta FSH. Postoje vrlo velike varijacije između laboratorija u definiranju normalne vrijednosti FSH. Danas se smatra da su vrijednosti FSH iznad 12 mIU/ml povezane sa slabom pričuvom jajnika i lošim odgovorom folikula jajnika na lijekove za poticanje ovulacije, vrijednosti iznad 15 mIU/ml govore u prilog vrlo loše aktivnosti jajnika, dok se vrijednosti iznad 25 mIU/ml povezuju s menopauzom (88,89).



*Inhibin B* pripada obitelji  $\beta$ -transformirajućih čimbenika rasta. Luče ga granulosa stanice u ranoj folikulinskoj fazi u vrijeme razvoja kohorte folikula. Kao što mu samo ime govori, inhibin smanjuje lučenje FSH. Iako postoji problem standardizacije metodologije određivanja inhibina B, Seifer i suradnici su u pokušaju određivanja „cut-off“ pokazali da bolesnice koje imaju vrijednosti manje od 45 pg/ml inhibina B u cirkulaciji pokazuju slabiji odgovor folikula na stimulaciju ovulacije. Posljedično tome, kod takvih se žena dobiva manji broj jajnih stanica u stimuliranim IVF ciklusa, te je manja stopa trudnoća (90). U žena koje slabo reagiraju na lijekove koje se koriste za poticanje ovulacije (*eng. poor responder*) dokazana je veća prediktivna vrijednost inhibina B u procjeni ovarijskog odgovora u odnosu na FSH (91).

*Anti-Müllerov hormon (AMH)* također pripada obitelji  $\beta$ -transformirajućih čimbenika rasta. Poznata je njegova uloga u regresiji Müllerovih kanala kod muškog fetusa tijekom rane diferencijacije testisa. U žena AMH luče granulosa stanice pre-antralnih i malih antralnih folikula. Dokazano je njegovo parakrino djelovanje u jajniku žene gdje smanjuje osjetljivost velikih preantralnih i malih antralnih folikula na FSH i na taj način omogućuje autoregulaciju potrebne razine FSH u selekcijskom procesu svakog jajnika (92,93). Najizraženija ekspresija AMH u rastućim neselektiranim folikulima te mogućnost njegova mjerenja u serumu, dovela je do zaključka o važnosti AMH u posrednoj procjeni veličine „bazena“ primordijalnih folikula. De Vet i suradnici (94) su dokazali značajan pad razine AMH u trogodišnjem razdoblju u žena s normalnim menstrualnim ciklusima, dok se razina serumskog FSH i inhibina B te broja antralnih folikula nije mijenjala, što ukazuje na raniju osjetljivost AMH u procjeni starenja jajnika i smanjenju njegove pričuve. AMH se danas u mnogim laboratorijima za humanu reprodukciju koristi kao pokazatelj pričuve jajnika u sklopu IVF postupka. Iako „cut-off“ vrijednosti nisu jednoznačno definirane, smatra se da vrijednosti AMH u serumu od  $\leq 15,7$  pmol/L jasno ukazuju na smanjenje pričuve jajnika (95).

## II HIPOTEZE I CILJEVI RADA

Hipoteze istraživanja su:

1. Oštećenje funkcije jajnika i njegove pričuve manje je ako se u postizanju hemostaze nakon ljuštenja endometriotične ciste koristimo šivanjem jajnika u odnosu na hemostazu visokofrekventnom koagulacijskom strujom.
2. AMH je klinički bolji pokazatelj pričuve jajnika (broja antralnih folikula) u odnosu na FSH i inhibin B.

Ciljevi istraživanja su:

1. potvrditi ili opovrgnuti dovodi li laparoskopsko ljuštenje endometriotične ciste do smanjenja pričuve jajnika i njegovog reprodukcijaskog potencijala
2. je li smanjenje reprodukcijaskog potencijala jajnika značajno manje ukoliko se kao metoda uspostave hemostaze nakon ljuštenja endometrioma koristi šivanje produžnim šavom u odnosu na visokofrekventnu koagulacijsku struju
3. može li se kombinacija biokemijskih pokazatelja (FSH, inhibina B i AMH) koristiti kao pokazatelj pričuve jajnika (broja antralnih folikula) u bolesnica operiranih zbog endometrioma

### III BOLESNICE I METODE

#### 3.1 Bolesnice

U razdoblju od 1. studenog 2008. do 31. prosinca 2010. godine u Zavodu za kirurgiju i uroginekologiju, Klinike za ženske bolesti i porode, KBC-a i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, operirano je laparoskopski 130 pacijentica s endometriomom na jednom jajniku u dobi od 18-35 godina.

Dijagnoza je postavljena na temelju tipičnih anamnestičkih podataka, kliničkog pregleda te ultrazvučne pretrage vaginalnom sondom.

Uključujući kriteriji za istraživanje su bili jednostrani endometriom u najvećem promjeru 30 mm ili više, dob između 18 i 35 godina, regularan menstrualni ciklus (dužine 25-35 dana), negativna anamneza obzirom na prethodne ginekološke operacije ili bilo kakvo uzimanje hormonskih pripravaka (peroralni kontraceptivi, gestageni ili GnRH analozi) u zadnjih šest mjeseci neposredno pred operaciju. Isključujući kriteriji su bili: trudnoća, aktivna zdjelična upalna bolest, genitalna ili bilo kakva ekstragenitalna maligna bolest, PCO zajedno s endometriozom, intraoperacijski postavljena sumnja ili definitivna dijagnoza koja histološki isključuje dijagnozu, intraoperacijska komplikacija koja je zahtjevala konverziju u laparotomiju, peroralna primjena peroralnih kontraceptiva ili GnRH analoga u razdoblju praćenja nakon operacije, trudnoća u istom razdoblju te gubitak pacijentice tijekom praćenja.

Pacijentice su nakon zadovoljavanja kriterija za uključivanje u istraživanje bile nasumično raspodijeljene u skupinu A i skupinu B, obzirom na način laproskopske operacije koja je uvijek bila u prvoj, folikulinskoj fazi ciklusa (<http://www.randomizer.org>):

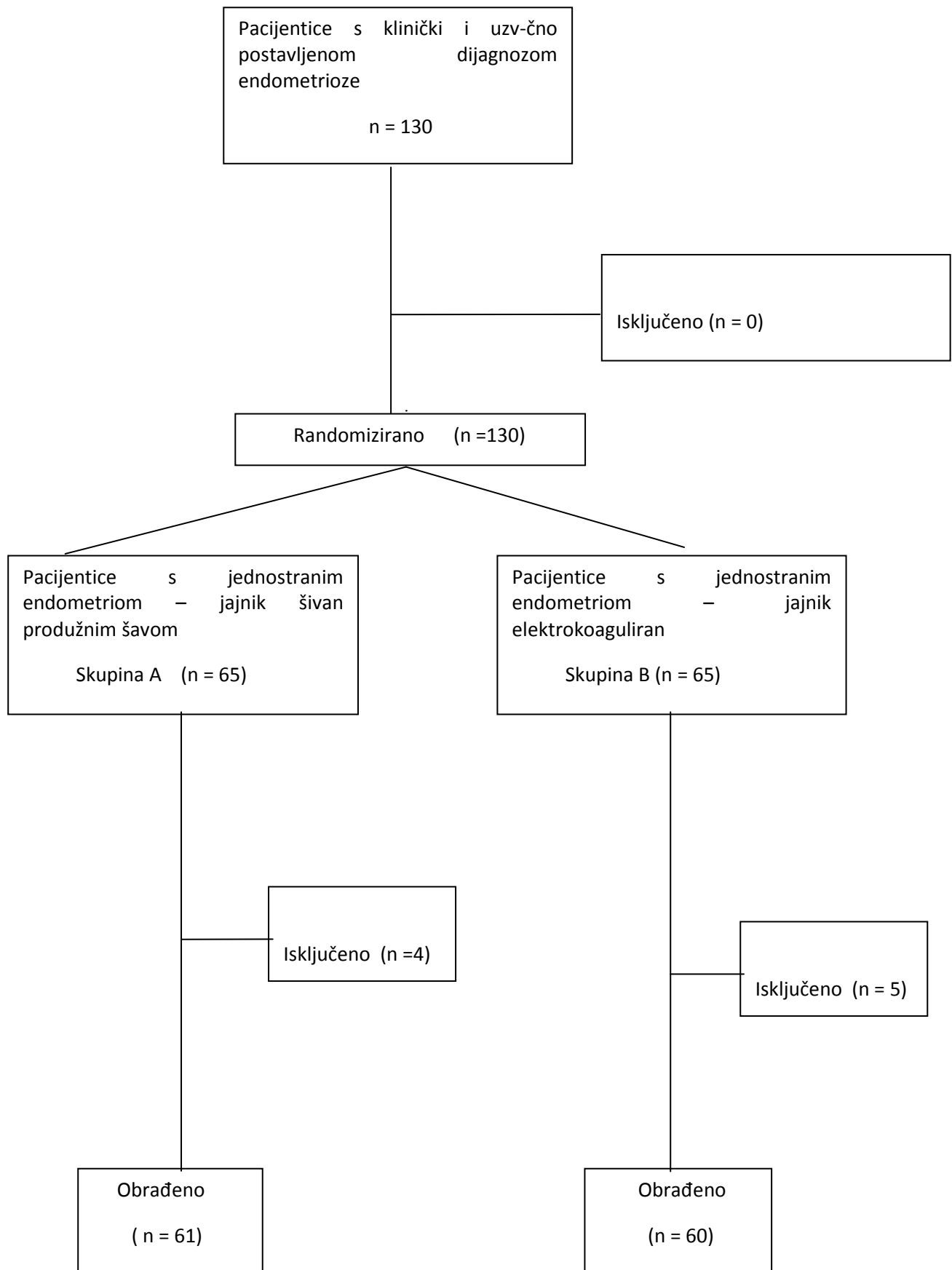
Skupina A – bolesnice s endometriomom na jednom jajniku na kojem je hemostaza postignuta šivanjem jajnika produžnim monofilamentarnim šavom debljine -2 (2-0 Vicryl na zakrivljenoj igli)

Skupina B – bolesnice s endometriomom na jednom jajniku na kojem se je hemostaza postigla elektrokagulacijom bipolarnom hvataljkom promjera 5 mm i jačinom bipolarnu struje od 25 W

Nakon uključivanja i randomizacije u svakoj je skupini bilo 65 pacijentica nakon čega su u skupini A isključene 4 pacijentice, a u skupini B 5 pacijentica (Dijagram 2). U skupini A dvije su pacijentice zatrudnjele neposredno nakon operacije tijekom praćenja, u jedne nije histološki potvrđena endometrioza te u jedne je tijekom operacije utvrđeno da uz endometrioza ima i aktivnu zdjeličnu upalnu bolest. U skupini B tri su pacijentice zatrudnjele tijekom praćenja po operaciji, a u dvije nije histološki potvrđena endometrioza.

Statistički je obrađeno u skupini A 61 pacijentica te u skupini B 62 pacijentice.

Istraživanje je bilo prospektivna, randomizirana studija.



Dijagram 2. Randomizacija i dijagram praćenja tijekom istraživanja

## **3.2 Metode**

### **3.2.1 Prijeoperacijska priprema pacijentice uz prijeoperacijsko određivanje AMH, inhibina B te FSH**

Svim pacijenticama je pred operaciju učinjena standardna prijeoperacijska priprema koja uz klinički pregled i pregled anesteziologa uključuje i standardne laboratorijske pretrage: kompletnu krvnu sliku, glukozu u krvi, kreatinin i ureu u krvi, urin sa sedimentom, urinokulturu, EKG te internistički pregled. Neposredno pred operaciju učinjen je i ultrazvučni pregled radi određivanja točne veličine i smještaja endometrioma (General Electric Logic 500MD 5 MHz ili General Electric Voluson 730 Pro 5-11 MHz). Posebno je točno 3. dana ciklusa svakoj pacijentici izvađena krv radi prijeoperacijskog određivanja AMH, inhibina B te FSH.

### **3.2.2 Operacijske tehnike**

Sve pacijentice su laparoskopski operirane u prvoj fazi menstruacijskog ciklusa. Nakon pražnjenja mokraćnog mjehura u većine pacijentica postavljen je uterus manipulator po Valtchevu.

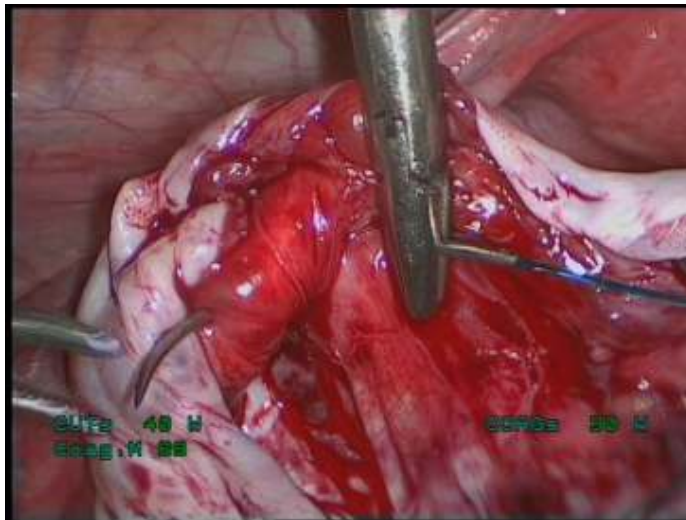
Laparoskopija je učinjena na uobičajen način. Nakon uspostavljanja intraabdominalnog tlaka između 10 i 12 mm Hg, uveden je laparoskop promjera 11mm. Pod kontrolom oka uvedeni su pomoćni troakari; 6 mm lijevo i desno 2 cm medijalno od spina crijevne kosti te jedan suprapubično od 10 mm.

Slijedi pažljiva inspekcija cijelog abdomena i zdjelice te uzimanje ispirka s fiziološkom otopinom iz male zdjelice ili slobodne tekućine za citološku obradu.

Ukoliko nije nađeno znakova malignosti jajnik s endometriomom se mobilizirao i odvojio od uobičajenih priraslica za zid zdjelice i sakrouterini ligament. Pri tom bi se endometriom

fenestrirao te bi se nakon izlivanja „čokoladnog“ sadržaja isti u cijelosti izljuštio („stripping“) od preostalog zdravog tkiva jajnika pažljivom trakcijom i kontratrakcijom uz pomoć atraumatskih hvataljki (Storz).

U skupini A egzaktnu hemostazu smo postigli produžnim polidiakson šavom (2-0 Vicryl na atraumatskoj zakrivljenoj igli, Ethicon, Edinburgh,UK) uz pomoć Ethiconovih iglodržača. Šivanje bi završili s intraovarijskim čvorom s ciljem da se šav i čvor ne ukazuju na površini šivanog jajnika. Egzaktna hemostaza u području hilusa jajnika u skupini A uspostavljena je isključivo šivanjem jajnika. Šivani jajnik u skupini A označen je kao A1, dok je intaktni označen kao A0 (Slika 7).



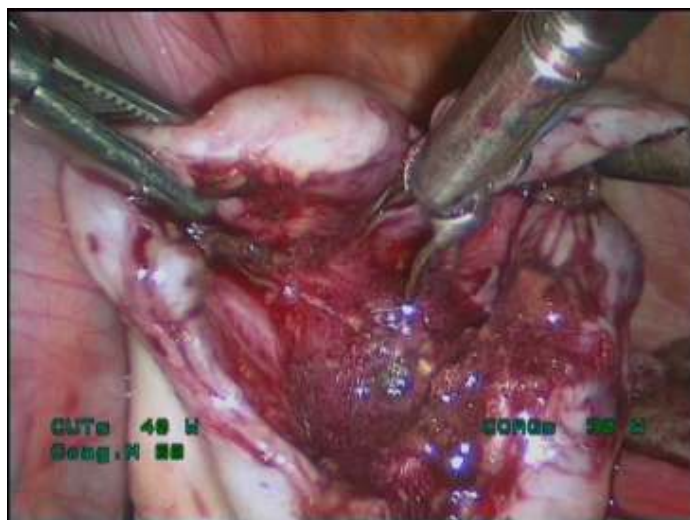
Slika 7. Uspostavljanje hemostaze na jajniku nakon izljuštenja endometrioma šivanjem.

U skupini B nakon izljuštenja endometrioma egzaktna hemostaza je učinjena elektrokoagulacijom uz pomoć bipolarnе hvataljke (Storz) koristeći bipolarnu struju snage 25-

30 W (Slika 8). U skupini B jajnik s endometriomom je označen kao B1 dok je intaktni jajnik označen kao B0.

U obje skupine nije zabilježena niti jedna komplikacija vezana za sam zahvat ili operacijsku tehniku.

Pacijentice su otpuštene kući drugi ili treći poslijeoperacijski dan te su dolazile na vađenje šavi sedmi dan.



Slika 8. Uspostavljanje hemostaze na jajniku nakon izluštenja endometrioma uz pomoć bipolarne elektrode.



### 3.2.3 Praćenje pacijentica poslije operacije

Po operaciji, nakon urednog poslijeoperacijskog tijeka, pacijentice su bile naručene na kontrolne preglede 3. dana menstruacijskog ciklusa kroz sljedeća tri menstruacijska ciklusa radi UZV-čnog pregleda pri čemu je nezavisni istraživač s dobrim iskustvom, određivao i brojio antralne folikule kako na operiranom tako i na intaktnom jajniku pacijentica iz obje skupine. Broj antralnih folikula je zabilježen na svakom jajniku u svakom ciklusu, a u analizi smo koristili **zbroj folikula svakog jajnika iz tri ciklusa**. Istovremeno je na svakom pregledu 3. dana ciklusa ponovno izvađena krv radi određivanja AMH, inhibina B te FSH.

### 3.3 Statistička analiza podataka

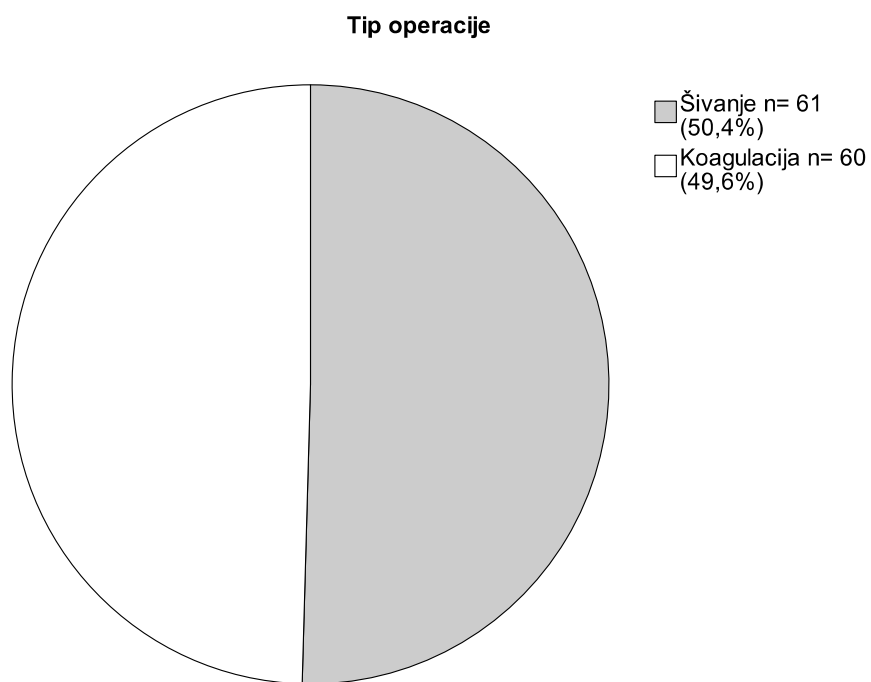
Podaci su analizirani statističkim postupcima ispitivanja razlika i povezanosti pomoću SPSS 17 (IBM, NY, USA). Veličina uzorka se izračunala iz preliminarnih rezultata koristeći srednju vrijednost i standardnu devijaciju. Normalnom raspodjelom kontinuirane varijable smatrala se svedenost i zaobljenost raspodjela manja od 1. Također se pravilnost raspodjele provjerila Smirnov-Kolmogorovljevim testom. Srednje vrijednosti kontinuiranih varijabli su izražene medijanom i rasponom za varijable koje se ne raspodjeljuju normalno. Nominalni pokazatelji su prikazani raspodjelom učestalosti po skupinama i udjelom. Za utvrđivanje razlika između više od dva nezavisna uzorka upotrebljen je Kruskal- Wallisov test za neparametrijsku analizu pa potom Mann-Whitney U – test za post hoc neparametrijsku analizu. Za utvrđivanje razlika među proporcijama između više od dva nezavisna uzorka upotrebljen je Pearsonov  $\chi^2$  pa  $\chi^2$  za post hoc raščlambu. Za utvrđivanje povezanosti uzorka upotrebljeni su Kendallov tau i Spearmanov rho test za neparametrijsku analizu te Spearmanov test za parametrijsku analizu kontinuiranih varijabli. Parcijalna korelacija je korištena kako bi se isključio utjecaj pojedine varijable na povezanost ostalih. Metodom standardne

multiple regresije provjeren je utjecaj pojedinih varijabli na ishod određene varijable.

Statistička značajnost je prihvaćena uz  $p < 0,05$ .

## IV REZULTATI

Nakon randomizacije u dvije skupine, a na temelju isključnih kriterija u skupini A- šivanje, statistički je obrađena 61 pacijentica, a u skupini B-koagulacija, 60 pacijentica (Graf 1).



Graf 1. Grafički prikaz zastupljenosti tipa operacije

Prosječna dob ispitanica, veličina endometrioma te udio nerotkinja i rotkinja nije se značajno razlikovao po skupinama (Tablice 4 i 5).

Tablica 4. Dob ispitanica u godinama i promjer endometrioma (mm) u svakoj od skupina.

Studentov T-test nezavisnih uzoraka.

		N	X	SD	t	p
Dob (godine) ispitanica	<b>A skupina</b> - Šivanje	61	29,98	4,32	0,096	0,924
	<b>B-skupina</b> Koagulacija	60	29,89	5,55		
Promjer endometrioma (mm)	<b>A skupina</b> - Šivanje	61	46,67	12,5	-0,162	0,871
	<b>B-skupina</b> Koagulacija	60	47,11	16,13		

Tablica 5. Udio ispitanica koje su rodile i koje nisu u svakoj od skupina. Mann – Whitneyev test

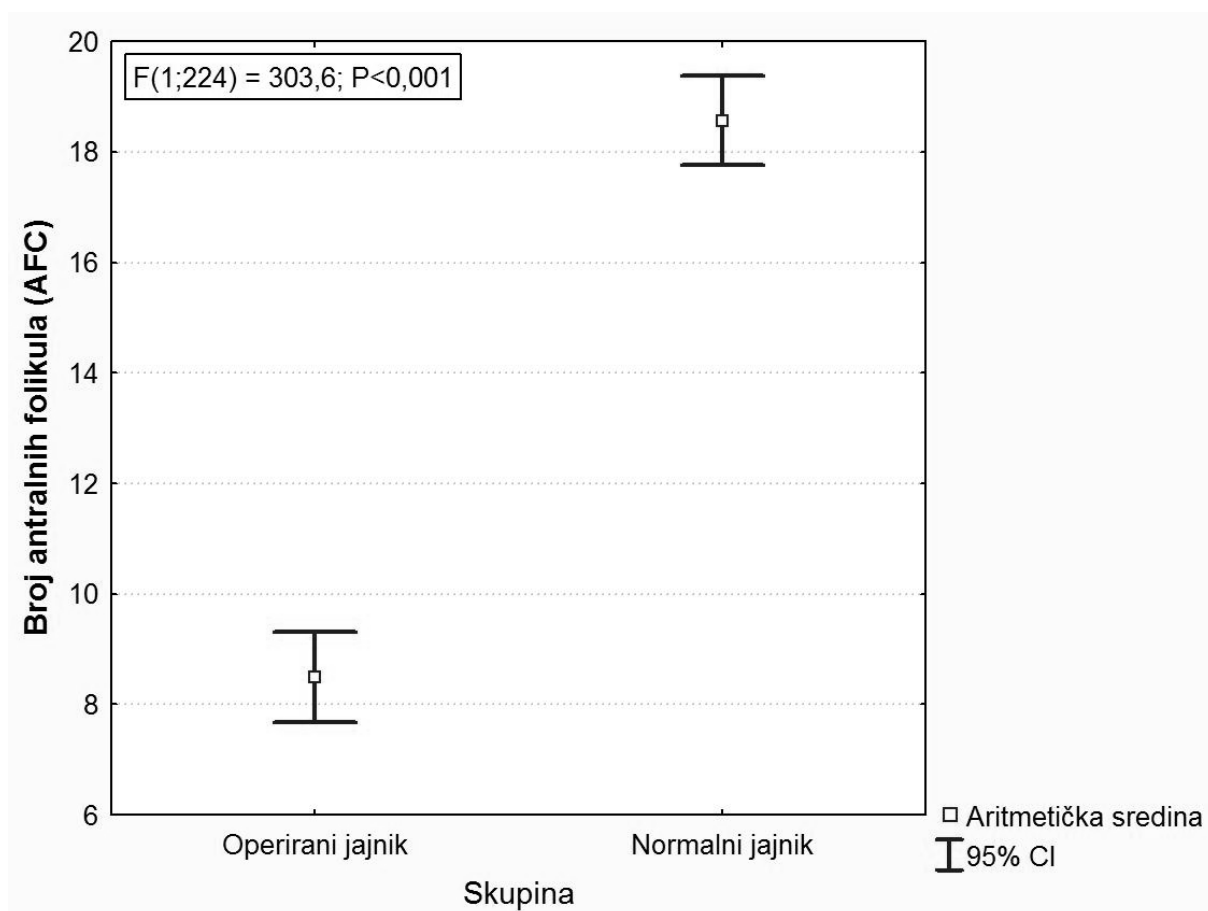
			Metoda		Ukupno	Z	p
			Šivanje (A)	Koagulacija (B)			
Rodilja	NE	N	49	44	93	-0,941	0,347
		%	80,7	73,2	76,9%		
	DA	N	12	16	28		
		%	19,3%	26,8%	23,1%		
Total		N	61	60	121		
		%	100	100	100		

T-testom nezavisnih uzoraka je provjerena statistička značajnost razlike u broju antralnih folikula na cijelom uzorku i to u svim operiranim jajnicima u obje skupine, bez obzira na metodu hemostaze i u svim zdravim jajnicima u ispitanica obje skupine. Značajno je veći broj antralnih folikula bio u skupini zdravih jajnika, kako je prikazano u tablici 6. Zdravi jajnik u odnosu na operirani ima gotovo dvostruko više ultrazvučno izbrojenih antralnih folikula, što je i statistički značajna razlika ( $P < 0,001$ ) (Box - Whiskers plot – Graf 2).

Tablica 6. Razlika u broju antralnih folikula (AFC) između operiranog i zdravog jajnika:

nezavisni t-test

	Skupina	N	X	SD	Min	Max	Percentile			P
							25.	Medijan	75.	
Broj antralnih folikula	Operirani jajnik	121	8,50	4,35	2	19	4,50	9,00	12,00	<0,001
	Zdravi jajnik	121	18,57	4,34	8	29	16,00	19,00	21,00	



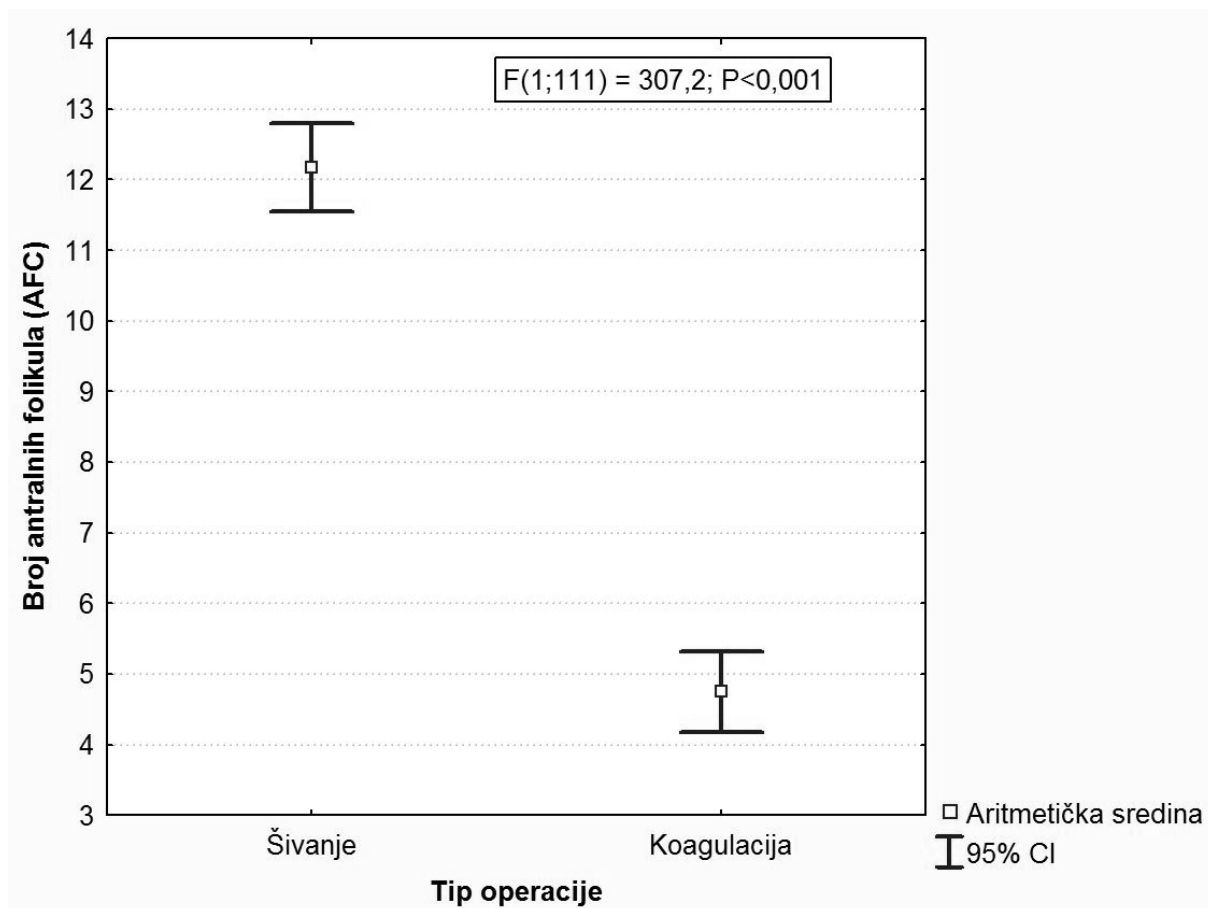
Graf 2. Box - Whiskers plot; Razlika u broju antralnih folikula (AFC) između operiranog i zdravog jajnika: nezavisni t-test

U skupini u kojoj je jajnik šivan izbrojeno je kroz tri ciklusa značajno više antralnih folikula na operiranom jajniku u odnosu na operirani jajnik na kojem je hemostaza postignuta visokofrekventnom koagulacijskom strujom (Tablica 7). Vrijednosti AFC između operacijskih skupina i njihova značajna razlika se vide i na Box i Whiskers plotu (Graf 3.)

Tablica 7. Razlika u broju antralnih folikula (AFC) dva operacijska pristupa - šivanje produžnim šavom u odnosu na visokofrekventnu koagulacijsku struju: nezavisni t-test

	Operacija	N	X	SD	Min	Max	Percentile			P
							25.	Medijan	75.	
Broj antralnih folikula	A-Šivanje	61	12,18	2,37	7	19	10,00	12,00	14,00	<0,001
	B-Koagulacija	60	4,75	2,13	2	10	3,00	4,50	6,00	





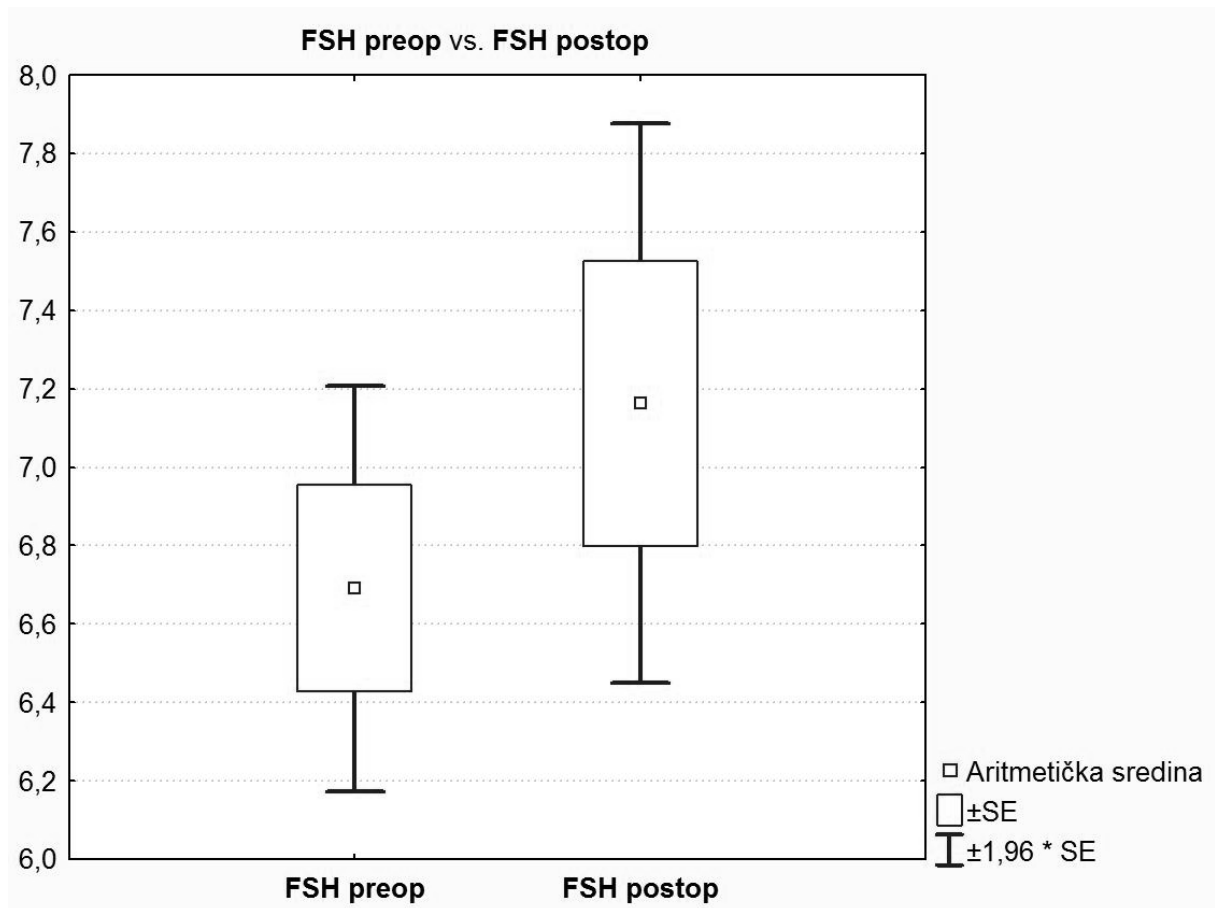
Graf 3. Razlika u broju antralnih folikula (AFC) dva operacijska pristupa - šivanje produžnim šavom u odnosu na visokofrekventnu koagulacijsku struju: Box i Whiskerov plot

Statističkom obradom prijeoperacijskih i poslijeoperacijskih vrijednosti svih biokemijskih parametara (FSH, inhibin B i AMH) na ukupnom uzorku – svih 121 obrađena ispitanica - dobiveni su sljedeći rezultati:

Prije i poslijeoperacijske vrijednosti **FSH** se ne razlikuju značajno ( $P=0,205$ ) (Tablica 8), što se također uočava na pripadajućem Box i Whiskerovom plotu (Graf 4.)

Tablica 8. Usporedba prije i poslijeoperacijskih vrijednosti FSH: zavisni t-test

Varijabla	N	X	SD	SE	P
FSH preop	121	6,69	2,80	0,26	0,205
FSH postop	121	7,16	3,87	0,36	

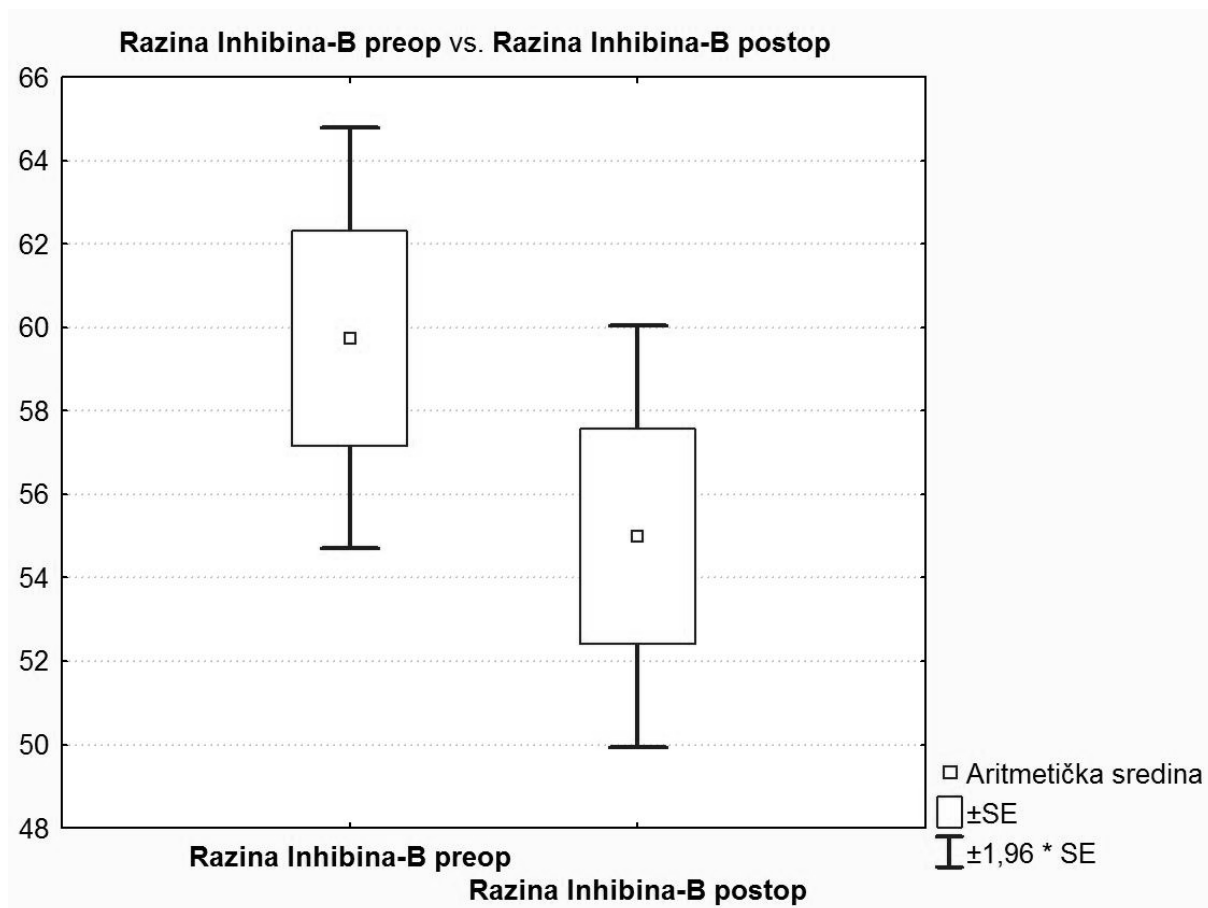


Graf 4. Usporedba prije i poslijeoperacijskih vrijednosti FSH: Box i Whiskerov plot

Prije i poslijeoperacijska razina inhibina B se statistički značajno razlikuje: poslijeoperacijske vrijednosti su značajno niže ( $P=0,017$ ) (Tablica 9, Graf 5).

Tablica 9. Usporedba prije i poslijeoperacijskih vrijednosti inhibina B: zavisni t-test

Varijable	N	X	SD	SE	P
Razina Inhibina-B prijeop.	121	59,74	27,33	2,57	0,017
Razina Inhibina-B poslijeop.	121	55,00	27,37	2,57	

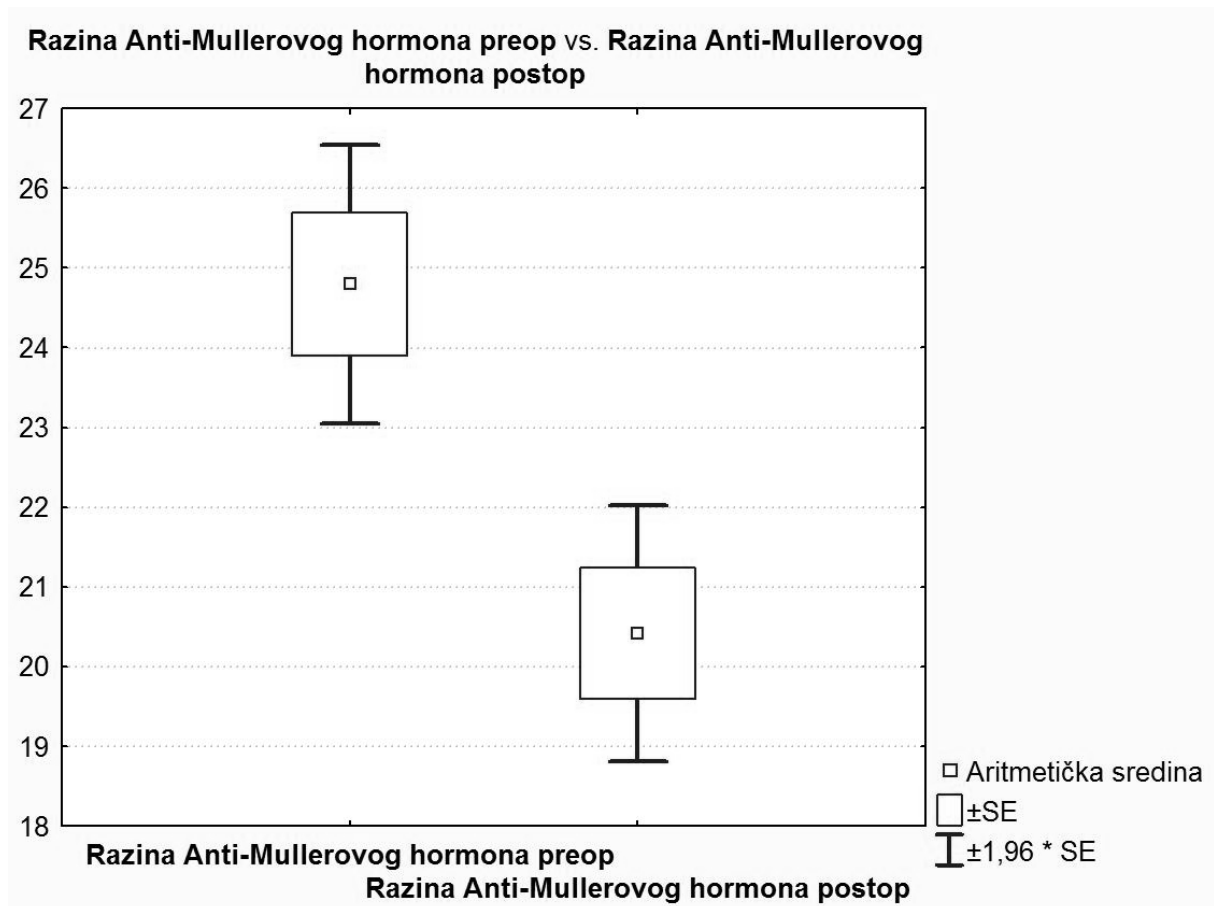


Graf 5. Usporedba prije i poslijeoperacijskih vrijednosti inhibina B: Box i Whiskerov plot

Anti-Mullerov hormon je u odnosu na ostale mjerene parametre imao najznačajniji poslijeoperacijski pad ( $P < 0,001$ ) (Tablica 10, Graf 6).

Tablica 10. Usporedba prije i poslijeoperacijskih vrijednosti Anti-Mullerovog hormona:  
zavisni t-test

Varijable	N	X	SD	SE	P
Razina AMH prijeop.	121	24,80	9,48	0,89	<0,001
Razina AMH poslijop.	121	20,42	8,73	0,82	



Graf 6. Usporedba prije i poslijeoperacijskih vrijednosti Anti-Mullerovog hormona: Box i Whiskerov plot

Analizirajući vrijednosti AFC i biokemijske parametre po skupinama (Tablica 11), osim AFC jedina značajna razlika je u razini AMH poslijeoperacije – ispitanice u skupini B u kojih je hemostaza postignuta elektrokoagulacijom visokofrekventnom strujom imale su značajno niže vrijednosti AMH (P=0,038).

Tablica 11. Razlike u razinama AMH, inhibina B, FSH i AFC u odnosu na tip operacije:

nezavisni t-test

	Tip operacije	N	Aritm. sred.	SD	Min	Max	Percentile			P
							25.	Medija n	75.	
Razina AMH prijeop	A Šivanje	61	24,34	9,62	2,60	47,50	18,65	20,50	30,10	0,610
	B Koagulaci	60	25,26	9,40	8,90	41,00	17,98	25,10	33,43	
Razina AMH poslijeop	A Šivanje	61	22,11	8,15	3,30	40,30	16,65	19,60	29,00	<b>0,038</b>
	B Koagulaci	60	18,70	9,03	2,90	35,50	10,80	18,55	25,50	
Razina Inhibina B prijeop	A Šivanje	61	64,04	23,60	9,50	129,30	47,15	61,40	79,30	0,092
	B Koagulaci	60	55,37	30,26	14,2	153,60	32,40	48,20	74,65	
Razina Inhibina-B poslijeop	A Šivanje	61	59,36	28,19	8,40	162,40	38,10	58,20	69,90	0,087
	B Koagulaci	60	50,55	26,01	13,6	112,30	27,88	43,55	72,80	



FSH prijeop	A Šivanje	61	6,75	3,22	2,40	15,80	4,10	6,40	7,89	0,814
	B Koagulaci	60	6,63	2,33	2,88	11,40	5,10	6,25	8,58	
FSH poslijeop	A Šivanje	61	6,87	3,09	2,00	17,60	4,60	6,20	8,75	0,420
	B Koagulaci	60	7,46	4,53	1,80	25,40	4,47	6,15	9,34	
AFC tretirani jajnik	A Šivanje	61	12,18	2,37	7,00	19,00	10,00	12,00	14,00	<0,001
	B Koagulaci	60	4,75	2,13	2,00	10,00	3,00	4,50	6,00	

Metodom standardne linearne regresije ispitan je prediktorni utjecaj poslijeoperacijskih koncentracija AMH, inhibina B i FSH na broj antralnih folikula postoperativno. Model je bio statistički značajan ( $p=0,049$ ) kako je prikazano u tablici 12, te je utvrđen statistički značajan utjecaj poslijeoperacijske koncentracije AMH na poslijeoperacijski broj antralnih folikula.

Tablica 12. Prediktorni utjecaj poslijeoperacijskih koncentracija AMH, inhibina B i FSH na broj antralnih folikula postoperativno.

	Zbroj kvadrata	df	Srednji kvadrat	F	p
Regresija	1,948	3	0,649	2,702	<b>0,049</b>
Rezidualnost	26,194	117	0,240		
Ukupno	28,142	120			

	Nestandardiz. koeficijent		Standardiz. koeficijent	t	p	95% CI za B	
	B	SE	Beta			Donji	Gornji
Konstanta	0,083	0,216		0,383	0,702	-0,346	0,512
Konc. <b>AMH</b> poslijeop.	0,013	0,006	0,231	2,265	<b>0,025</b>	0,002	0,025
Konc. Inhibina B poslijeop.	0,002	0,002	0,095	0,950	0,344	-0,002	0,005
Konc. FSH poslijeop.	0,003	0,014	0,021	0,197	0,844	-0,024	0,030

Metodom standardne linearne regresije ispitan je prediktorni utjecaj **razlika** prijeoperacijskih i poslijeoperacijskih koncentracija AMH, FSH te inhibina B na broj antralnih folikula postoperativno. Model je bio statistički značajan ( $p < 0,001$ ) kako je prikazano u tablici 13. te je utvrđen statistički značajan utjecaj razlike prijeoperacijske i poslijeoperacijske koncentracije AMH na poslijeoperacijski broj antralnih folikula.

Tablica 13. Prediktorni utjecaj **razlika** prijeoperacijskih i poslijeoperacijskih koncentracija AMH, FSH te inhibina B na broj antralnih folikula postoperativno.

	Zbroj kvadrata	df	Srednji kvadrat	F	p
Regresija	6,745	3	2,248	11,454	<b>&lt;0,001</b>
Rezidualno st	21,396	117	0,196		
Ukupno	28,142	120			

	Nestandardiz koeficijent		Standardizk oeficijent	t	p	95% CI za B	
	B	SE	Beta			Donji	Gornji
Konstanta	0,755	0,065		11,544	<0,001	0,626	0,885

Razlika konc. AMH	-0,066	0,012	-0,481	-5,674	<b>&lt;0,001</b>	-0,088	-0,043
Razlika konc. FSH	0,018	0,011	0,140	1,668	0,098	-0,003	0,039
Razlika konc. inhibina B	0,002	0,002	0,081	0,950	0,344	-0,002	0,006

Korištenjem Pearsonovog testa korelacije ustanovljena je:

- Mala pozitivna povezanost poslijeoperacijske koncentracije AMH i broja antralnih folikula ( $r=0,219$ ;  $p=0,02$ ). Što je veća poslijeoperacijska koncentracija AMH veći je broj antralnih folikula postoperativno.
- Mala pozitivna povezanost poslijeoperacijske koncentracije AMH i poslijeoperacijske koncentracije inhibina B ( $r=0,264$ ;  $p=0,005$ ). Što je veća poslijeoperacijska koncentracija AMH veća je poslijeoperacijska koncentracija inhibina B.
- Srednje velika negativna povezanost poslijeoperacijske koncentracije AMH i poslijeoperacijske koncentracije FSH ( $r=-0,405$ ;  $p<0,001$ ). Što je veća poslijeoperacijska koncentracija AMH manja je poslijeoperacijska koncentracija FSH.
- Srednje velika negativna povezanost poslijeoperacijske koncentracije inhibina B i poslijeoperacijske koncentracije FSH ( $r=-0,364$ ;  $p<0,001$ ). Što je veća poslijeoperacijska koncentracija inhibina B manja je poslijeoperacijska koncentracija FSH.
- Također je utvrđena srednje velika negativna povezanost razlike koncentracija AMH prije i poslije operacije i broja antralnih folikula ( $r=-0,494$ ;  $p<0,001$ ). Što je veća razlika koncentracija AMH prije i poslije operacije manji je broj antralnih folikula postoperativno.

Metodom parcijalne korelacije ispitana je povezanost između AFC i ostalih varijabli. Isključen je utjecaj dobi ispitanica. Ukoliko je dob kontrolirana varijabla na ukupnom uzorku, postoji značajna pozitivna korelacija između AMH postop i AFC, te inhibina-B i AFC (veći AMH i inihbin B – veći AFC) Tablica 14).

Tablica 14. Metoda parcijalne korelacije povezanosti između AFC i ostalih varijabli. Isključen je utjecaj dobi ispitanica.

Kontrolirana varijabla		AFC tretirani jajnik	
Dob	Razina <b>AMH</b> poslijeop	Koeficijent korelacije	0,245
		p	<b>0,009</b>
		df	110
	Razina <b>Inhibina-B</b> poslijeop	Koeficijent korelacije	0,200
		p	<b>0,035</b>
		df	110
	<b>FSH</b> poslijeop	Koeficijent korelacije	-0,144
		p	0,130
		df	110

Ukoliko je tip operacije bio kontrolirana varijabla tj. isključena iz utjecaja na ostale, tada se gubi statistička značajnost povezanosti, što znači da tip operacije bitno doprinosi povezanosti AMH, Inhibina B i FSH s AFC-om (Tablica 15).

Tablica 15. Metoda parcijalne korelacije povezanosti između AFC i ostalih varijabli. Isključen je utjecaj tipa operacije.

Kontrolirana varijabla		AFC	tretirani jajnik
Tip operacije	Razina AMH postop	Koeficijent korelacije	0,102
		p	0,285
		df	110
	Razina Inhibina-B postop	Koeficijent korelacije	0,004
		p	0,970
		df	110
	FSH postop	Koeficijent korelacije	-0,084
		p	0,381
		df	110

## V RASPRAVA

Uz bol koja značajno narušava kvalitetu života pacijentica s endometriozom, veliki problem predstavlja i neplodnost.

Nekoliko je, već spomenutih, studija dokazalo smanjenu plodnost pacijentica koje boluju od endometrioze (25,26). Prevalencija u neplodnih žena iznosi 48%, u usporedbi s pacijenticama koje se podvrgavaju sterilizaciji (96), a vjerojatnost da neplodna žena ima endometriozu veća je 6 do 8 puta nego u zdravih, plodnih žena (97).

Opsežne zdjelične priraslice svakako su jedan od značajnih *mehaničkih* čimbenika neplodnosti u pacijentica s uznapredovalom bolešću trećeg ili četvrtog stadija (98).

Čitav je niz istraženih *hormonskih, kemijskih i imunoloških* čimbenika i mehanizama kojima endometrioza remeti reproduktivnu funkciju žene na razini folikulogeneze, ovulacije, kvalitete oocite, funkcije jajovoda, oplodnje i funkcije spermija te implantacije (99).

Nekoliko je autora ukazalo na poremećaj folikulogeneze, uz produženu folikulinsku fazu, manji promjer dominantnog folikula s abnormalnošću ovulacije i funkcije žutog tijela (99-102). Jedan od uzroka poremećene folikulogeneze svakako je i poremećena kinetika granulosa stanica u žena s endometriozom, kojih je značajno veći broj u S-fazi i apoptozi (99,103,104), što je pak izraženije u pacijentica s višim stadijima bolesti (105). U granulosa stanicama pacijentica s endometriozom povišeni su produkti lipidne peroksidacije kao posljedice oksidativnog stresa (103). Oni uzrokuju degeneraciju oocite i apoptozu remeteći njezinu mejotičku diobu te induciraju lokalnu upalnu reakciju povisujući lokalnu citokinsku aktivnost (99).

Povišene vrijednosti B limfocita, NK-stanica i monocita-makrofaga u folikularnoj tekućini svjedoče o promjenjenom lokalnom imunološkom odgovoru (106). Povišeni su i lokalni „nepovoljni citokini“ poput IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10 te TNF- $\alpha$ , dok je snižen vaskularni endotelni čimbenik rasta (VEGF) koji ima pozitivan učinak u cijeljenju folikula i njegovoj vaskularizaciji (29,107). Navedena citokinska alteracija ima negativan učinak kako na granulosa stanice i njihovu fiziološku funkciju, ali i na steroidogenezu što ima za posljedicu niže lokalne vrijednosti estradiola, ali i progesterona u folikulinskoj tekućini. Navedeno, s lokalno izoliranim čimbenikom koji neutralizira gonadotropinski skok (eng. Gonadotropin-surge attenuating factor –GnSAF), negativno utječe na proizvodnju LH te posljedično na ovulaciju (108,109).

Abnormalnosti lokalnog humoralnog i stanicama posredovanog imunološkog odgovora postoje i u peritonealnoj tekućini pacijentica s endometriozom. Veća koncentracija monocita-makrofaga, koji su nositelji lokalnog staničnog imuniteta, rezultira lokalnom, kaskadnom upalnom reakcijom koja povećava mogućnost ektopične implantacije endometralnog tkiva, kao i njegov rast i proliferaciju (110). Oosterlynck i suradnici (111) su demonstrirali supresivnu aktivnost peritonealne tekućine na citotoksične T-limfocite i NK- stanice koji su odgovorni za prepoznavanje i uništavanje nepoznatih stanica pa tako i stanica ektopičnog endometrija.

Posljedica povećane aktivnosti makrofaga u peritonealnoj tekućini pacijentica s endometriozom uz spomenute citokine je i dušični oksid (NO) koji je slobodni radikal i bioregulator apoptoze (99). Zajedno s drugim već spomenutim slobodnim kisikovim radikalima u peritonealnoj tekućini negativno utječe na jajnu stanicu i njezin transport jajovodom, ali i na mobilnost spermija (99). Sveukupno gledajući, u pacijentica s endometriozom značajno je snižen antioksidacijski kapacitet uz više vrijednosti lipidnog peroksida koji na to ukazuje (99,112),



Ovakav sveukupni lokalni imunološki milje neposredno utječe na razvoj i upalnu reakciju ektopičnog endometralnog tkiva, dodatno provocirajući citotoksični učinak na zdravu jajnu stanicu ometajući i normalno spajanje gameta na razini zone pelucide (113).

Neplodnost pacijentica s endometriozom u novije vrijeme promatra se i s aspekta smanjene *pričuve jajnika*. Pričuva jajnika (*eng. ovarian reserve*) je pojam koji je nastao kao posljedica sve većeg broja žena koje odgađaju prvu trudnoću za razdoblje u kasnijim tridesetim ili četrdesetim godinama života, ali i razvojem niza postupaka potpomognute reprodukcije. Pričuva jajnika se odnosi na prirodni proces smanjenja plodnosti žene uslijed prirodne deplecije primordijalnih folikula jajnika što rezultira početkom menopauze (114). Posebno mjesto pričuva jajnika ima u predikciji ishoda pacijentica koje se podvrgavaju kontroliranoj hiperstimulaciji jajnika i metodama potpomognute oplodnje, a sve što se dosad zna o pričuvi jajnika, manje-više, proizišlo je iz istraživanja vezanih za te postupke.

U osnovi pričuvu jajnika predstavljaju, u kvantitativnom smislu, svi primordijalni folikuli koji su prisutni u jajniku. Njihov je broj na vrhuncu oko 20. tjedna fetalnog razvoja kada je u oba jajnika ukupno 5-7 milijuna primordijalnih folikula koji sadrže jajnu stanicu zakočenu u diplotenu profaze prve mejotičke diobe. U neonatalno doba taj se broj smanjuje na 1-2 milijuna da bi u pubertetu ostalo 300 000 do 500 000 tisuća germinativnih stanica unutar primordijalnih folikula od kojih će 400-500 ovulirati u reprodukcijskoj dobi žene u sljedećih 35-40 godina, da bi ih u menopauzi ostalo svega nekoliko stotina (115). Do potpunog njihovog nestanka, primordijalni folikuli prolaze faze rasta i atrezije, a taj dinamički proces traje u svakoj dobi žene i ne zaustavlja se niti za vrijeme trudnoće, ovulacije, niti u razdobljima anovulacije (115). Kronološka dob početka menopauze značajno se razlikuje i ona se ne poklapa uvijek s biološkom i reprodukcijskom dobi žene (116). Očito je da su početak i stopa folikularne deplecije

varijabilni u različitim individua, ali i da je proces smanjenja prirodne plodnosti u žena ustrajan, ali tihi proces (114). Sama po sebi, veća kronološka dob žene ima negativan utjecaj na prirodnu plodnost i stopu trudnoća, ali predstavlja samo grubi parametar procjene pričuve jajnika (88). U studijama koje su procjenjivale prediktivnu vrijednost kronološke dobi prema stopi trudnoća u postupcima potpomognute reprodukcije, dokazana je značajno niža stopa trudnoća u žena iznad 35-37 godina (88). Upravo iz tog razloga u ovoj studiji jedan od kriterija za uključivanje je bila dob pacijentice do 35. godine.

Obzirom da je kronološka dob pacijentice nepouzdan predskazatelj pričuve jajnika, u svrhu procjene pričuve jajnika i reproduktivnog potencijala u žena koje se liječe postupcima asistiranе reprodukcije danas se koriste mnogi testovi od kojih su neki korišteni i u ovom istraživanju. Unazad nekoliko godina ultrazvučni parametar - *broj antralnih folikula* (AFC od eng. *antral follicle count*) jedan je od pouzdanijih testova koji se koristi u nekim svjetskim centrima. Antralni folikuli predstavljaju skupinu funkcionalnih folikula koji su nastali dinamičkom i kompleksnom selekcijom kroz 3 prethodna menstrualna ciklusa iz mnoštva primordijalnih folikula. Iz antralnih će folikula daljnjom endokrinom, parakrinom i autokrinom selekcijom u tekućem ciklusu nastati Graffov folikul koji će i ovulirati (86). Primordijalni se folikuli ne vide golim okom niti danas dostupnim ultrazvučnim tehnikama. S obzirom da broj antralnih folikula u jajniku stoji u proporcionalnoj korelaciji s brojem primordijalnih folikula danas se smatra da broj antralnih folikula predstavlja kvantitativni aspekt funkcije jajnika (87). Broj antralnih folikula je broj detektiranih folikula u jajniku veličine 2-10 mm mjeren treći dan menstrualnog ciklusa danas dostupnim ultrazvučnim tehnikama. U našem istraživanju upravo ove mjere koristili za određivanje antralnih folikula unutar jajnika iako su neki radovi pokazali da je reproducibilnost antralnih folikula na pričuvu

jajnika najveća u folikula veličine 2-6 mm (117). Međutim kako je njihov udio u ukupnom broju antralnih folikula, veličine do 10 mm, preko 76 %, smatramo da „cut-off“ vrijednost od 10 mm, ne remeti značajno reproducibilnost testa. Broj antralnih folikula je morfološki ultrazvučni pokazatelj, lako primjenjiv, ali i pouzdan parametar u procjeni pričuve jajnika koji najbolje korelira s dobi žene (118). U nekim novijim istraživanjima čak bolje korelira sa stvarnim brojem primordijalnih folikula od AMH (119), a poznato je da se pokazao kao dobar predskazatelj loših odgovora na kontroliranu hiperstimulaciju jajnika (88, 120), ali i broj oocita dobivenih aspiracijom (88,121). U ovom istraživanju koristili smo jednostavnu 3D tehnologiju u određivanju i brojenju antralnih folikula, ali bez određivanja volumena i vaskularizacije jajnika, obzirom da se u predikciji broja oocita i loših odgovora na hiperstimulaciju, tehnologija mjerenja volumena jajnika i vaskularizacije nije pokazala vrednijom (122). Postojeću dokazanu intercikličku varijabilnost pri mjerenju i brojenju antralnih folikula, koja se pripisuje više subjektivnosti istraživača nego realnoj biološkoj varijabilnosti (123), pokušali smo izbjeći na način da smo AFC određivali tri puta nakon operacije te statistički obrađivali ukupan zbroj folikula kroz tri ciklusa. Upravo zbog činjenice da je AFC lako primjenjiv, a pokazao se pouzdan parametar u procjeni funkcije jajnika s dobrom korelacijom sa stvarnim brojem primordijalnih folikula (119), njega smo uzeli kao bazični parametar u našem istraživanju.

Jedan od najranije primjenjenih i korištenih pokazatelja funkcije jajnika je serumsko određivanje bazalne razine FSH između 2-5. dana ciklusa. Iako često korišten tijekom razvoja metoda potpomognute oplodnje, vrijednost ovog testa je ograničena (124). Njegova pozitivna prediktivna vrijednost veća je tek u žena starijih od 40 godina (88). Danas se smatra da su vrijednosti FSH iznad 12 mIU/ml povezane sa slabom pričuvom jajnika i lošim odgovorom folikula jajnika na lijekove za poticanje ovulacije, vrijednosti

iznad 15 mIU/ml govore u prilog vrlo loše aktivnosti jajnika, dok se vrijednosti iznad 25 mIU/ml povezuju s menopauzom (88,89). Lučenje FSH negativnom povratnom spregom kontroliraju inhibin B i estradiol iz grupe početno selektiranih folikula u jajniku. Sva tri hormona u međusobnom su odnosu i njihova apsolutna razina dijelom je određena njihovim međusobnim odnosom i nije samo odraz broja i veličine rastućih folikula u jajniku (122). Takva negativna povratna sprega vjerojatno je uzrok velike intercikličke varijabilnosti apsolutnih vrijednosti FSH (123). Kada se tome pridoda i poliformizam FSH receptora (125) te neujednačenost laboratorijskih testova (88) iz čega proizlaze i nedefinirane apsolutne „cut-off“ vrijednosti, potpuno je jasno zašto se i u našoj studiji FSH pokazao nepouzdanim u procjeni pričuve jajnika. Ipak, sve pacijentice koje su pristupile istraživanju imale su bazalne vrijednosti serumskog FSH u „granicama normale“, tj. niže od 8-10 mIU/ml.

Endokrini čimbenici inhibin B i AMH su proizvod granulosa stanica manjih folikula koji počinju svoj rast i prve su ideje bile u smjeru da bi oni bili najvjerođostojniji pokazatelji stvarnog broja folikula u jajniku (126). Međutim, negativna povratna sprega u osovini „hipotalamus-hipofiza-jajnik“, gdje inhibin B koči lučenje FSH i njihova međusobna ovisnost značajno utječe na serumsku razinu oba ova hormona. Seifer sa suradnicima je još 1997. godine pokušao odrediti „cut-off“ vrijednost inhibina B i dokazao da su vrijednosti niže od 45pg/ml povezane sa slabijim odgovorom jajnika u kontroliranoj hiperstimulaciji i da je dobiveno manje oocita aspiracijom (127). Međutim, najviše vrijednosti inhibina B su u folikulinskoj fazi ciklusa te njegova unutarciklička varijabilnost i međusobna ovisnost o FSH umanjuje njegovu stvarnu vrijednost u procjeni funkcije jajnika (88). Dodatni nepovoljni čimbenik je svakako i nepostojanje standardiziranih testova u određivanju njegove serumске razine (89,90). U naših ispitanica početne vrijednosti su bile više od 45 pg/ml. Iako na ukupnom uzorku od svih

obrađenih pacijentica postoji statistički značajan pad koncentracije inhibina B nakon operacije (Tablica 9) ipak za inhibin B se ne može reći da ima značajan prediktorni utjecaj u procjeni funkcije jajnika nakon operacije endometrioze. U našem istraživanju metodom standardne linearne regresije ispitali smo prediktorni utjecaj poslijeoperacijskih koncentracija inhibina B te njegovih prije i poslijeoperacijskih **razlika** koncentracija na broj antralnih folikula (Tablice 12 i 13) pri čemu se inhibin B nije pokazao kao pouzdan parametar. Tek kada je metodom parcijalne korelacije isključen utjecaj dobi ispitanica dobivena je mala povezanost inhibina B i izbrojenih antralnih folikula postoperativno (Tablica 14).

AMH kao i inhibin B pripada  $\beta$ -obitelji čimbenika rasta i proizvod je granulosa stanica. Osim njegove uloge u diferencijaciji i razvoju muških spolnih organa (128), dokazano je njegovo parakrino djelovanje u jajniku žene gdje smanjuje osjetljivost velikih preantralnih i malih antralnih folikula na FSH i na taj način omogućuje autoregulaciju potrebne razine FSH u selekcijskom procesu svakog jajnika (92,93). Njegova razina je izvan sustava uzajamne povratne sprege FSH-inhibin, stoga je razumljivo da je upravo AMH trenutno jedan od najboljih endokrinih pokazatelja ovarijske pričuve koji se pokazao i kao uspješan hormonski predskazatelj hiperstimulacije jajnika, broja dobivenih oocita te trudnoća u postupcima potpomognute reprodukcije (119,122,129,130). AMH se pokazao i kao najbolji endokrini biljeg u procjeni smanjenja reproduktivne funkcije ovisne o dobi žene. Naime, de Vet, ali i van Rooij sa suradnicima su dokazali značajan pad razine AMH u trogodišnjem razdoblju u žena s normalnim menstrualnim ciklusima, dok se razina serumskog FSH i inhibina B te broja antralnih folikula nije mijenjala, što ukazuje na raniju osjetljivost AMH u procjeni starenja jajnika i smanjenju njegove pričuve (94,131). U neposrednoj procjeni stanja i broja folikula u jajniku AMH se pokazao boljim i u striktnijem odnosu sa stanjem i brojem folikula nego drugi endokrini

biljezi kao što su inhibin B, FSH, LH, estradiol (132). Dokazana unutarciklička stabilnost serumske koncentracije AMH, bez značajne fluktuacije unutar menstrualnog ciklusa, posljedica je neovisnosti o drugim endokrinim čimbenicima i dodatna je pozitivna karakteristika (133,134). Najnovija studija Hansena i suradnika (119) dosad je jedina objavljena koja je uspoređivala stvarnu korelaciju poznatih endokrinih i ultrazvučnih biljega koji se koriste u procjeni pričuve jajnika sa stvarnim brojem primordijalnih folikula na osnovi histološke analize. Nakon korekcije prema kronološkoj dobi dva su testa pokazala najbolju korelaciju sa stvarnim brojem primordijalnih folikula - ultrazvučni test brojenja antralnih folikula (AFC) te od endokrinih biljega - AMH.

U našem istraživanju AFC i AMH su se također pokazali boljim u procjeni pričuve jajnika i njegove funkcije, u odnosu na FSH i inhibin. Ukoliko AFC primjenimo kao bazični parametar u procjeni pričuve jajnika, iz ovog istraživanja proizlazi da s AFC-om najbolje korelira AMH, ako se uzmu u obzir ili samo poslijeoperacijska koncentracija (Tablica 12) ili razlika prije i poslijeoperacijskih koncentracija (Tablica 13).

Upravo je analizirajući vrijednosti AMH u pacijentica s početnom endometriozom, Lemos sa suradnicima dokazao da su te vrijednosti značajno niže od vrijednosti AMH pacijentica s drugim uzrocima neplodnosti (32). Posredno su dokazali da je već i prije bilo kakvog zahvata u *pacijentica s endometriozom smanjena pričuva jajnika* i smanjen reproduksijski potencijal žene.

Iz svega navedenog proizlazi da je kompromitirana plodnost pacijentica s endometriozom posljedica mehaničkih oštećenja i poremećene anatomije male zdjelice (osobito u uznapredovalim stadijima bolesti), čitavog niza promjenjenih hormonskih, kemijskih i imunoloških odnosa koji prate bolest, ali i oštećene pričuve jajnika. Ono što preostaje kirurgu koji operira pacijentice s endometriozom i na što on jedino može utjecati je način

operacije i pažljivo odvajanje zdjeličnih struktura i genitalnih organa te uspostavljanje normalnih anatomskih odnosa. Veliki problem i ono čemu se u literaturi lome koplja i pridaje velika pažnja je *način operacije endometrioma, odnosno endometrioze jajnika*. Kirurg pri tome mora biti svjestan važnosti odabira optimalne metode kako bi izbjegao ili na najmanju moguću mjeru smanjio dodatno oštećenje već i onako oštećene funkcije i pričuve jajnika.

Cilj svakog „konzervativnog“ kirurškog liječenja endometrioze, kojim se želi očuvati reproduksijska funkcija bolesnice, je odstranjenje svih vidljivih endometriotičnih promjena te uspostavljanje normalnih anatomskih odnosa. S tom namjerom laparoskopija je svakako postala zlatni standard u liječenju i ima čitav niz prednosti u odnosu na laparotomiju. Za pacijenticu je to svakako brže vrijeme oporavka, a za kirurga povećanje i osvjetljenje kirurškog polja, što je posebno važno jer olakšava uspostavljanje točne dijagnoze koja je preduvjet optimalnog kirurškog liječenja (65). Laparoskopija se pokazala bolja s aspekta liječenja boli i ublažavanja simptoma u svim stadijima bolesti (55), a u povećanju plodnosti pacijentica pokazala se prihvatljivijom u stadijima bolesti I i II (55,67,68).

Ekscizija endometrioma i njegovo ljuštenje atraumatskim hvataljkama (*eng. „stripping“*) je svakako metoda izbora u liječenju endometrioze jajnika što su dokazale i raspravljale mnoge dosad objavljene studije (53,55,73,76-79). Iako većina vodećih endoskopskih kirurga operira na taj način ipak postoje određene dileme i nedoumice, a jedna od njih je svakako gubitak i destrukcija preostalog zdravog tkiva jajnika, odnosno oštećenje njegove funkcije. Neki autori (71,72) postavljaju pitanje gubitka folikula jajnika ljuštenjem endometrioma. Međutim, objavljene su dvije odlične rasprave Muziia i suradnika (135,136) u kojima je afirmirana „stripping“ metoda i s kliničkog aspekta (135), ali i na temelju kasnije patohistološke evaluacije (136). S kliničkog aspekta Muziia

uvodi već i prije ljuštenja cirkularnu eksciziju na mjestu gdje je endometriom prirastao za peritoneum što olakšava pronalaženje sloja i ljuštenje endometrioma. Ono što je posebno izdvojeno u Muziievoj metodi je elektrokoagulacija hvatišta endometrioma u području hilusa, potom pažljiva resekcija škalicama na tom mjestu da bi se izbjeglo obilnije krvarenje, ali i što manje oštetilo preostalo tkivo jajnika. Takav način ljuštenja prihvatljiv je i sa stanovišta trajanja zahvata i jednostavnosti izvedbe, ali i kvalitete patohistološkog uzorka. U starijoj studiji iz 2002. godine isti autor je sa suradnicima, također, histološki analizirao odstranjene endometriome pri čemu je utvrdio da se u 54% uzoraka nalazi i tkivo jajnika. Međutim, to tkivo jajnika se morfološki razlikuje od normalnog ovarijskog tkiva i rijetko pokazuje normalan folikularni uzorak kakav nalazimo inače u zdravom tkivu jajnika (137). Međutim, u području gdje se endometriom drži za hilus jajnika tu je i debljina odstranjenog tkiva jajnika veća (do 0.8 mm), a dodatno je histološki potvrđeno visoko funkcionalno tkivo jajnika i folikuli u svim razvojnim stadijima (73,136). Ono što afirmira eksciziju endometrioma kao metodu je upravo činjenica što u većem dijelu stijenke izljuštenog endometrioma nema funkcionalnog tkiva jajnika, a činjenica da se normalno tkivo jajnika najčešće nalazi u području hilusa nalaže poseban oprez prilikom ljuštenja na tom osjetljivom dijelu. Ovakvim histološkim specifičnostima pokušava se objasniti i povećanje plodnosti pacijentica koje su operirane ljuštenjem endometrioma. Neki su autori postavili hipotezu da se samim odstranjenjem nezdravog, fibrotičnog tkiva jajnika koji okružuje endometriom poboljšava sekundarno funkcija jajnika. Hipoteza je da rastući endometriom rasteže koru jajnika uzrokujući strukturne promjene koje dovode do disfunkcije. Maneschi je sa suradnicima prospektivno histološki analizirao 32 endometrioma i ukazao na smanjeni broj folikula uz inhibiciju njihovog sazrijevanja te oštećenu vaskularnu mrežu u kori jajnika u okolici endometrioma (138). Zaključuje da su kortikalne promjene posljedica upalnog odgovora na endometriotične implantate ili



toksičnog učinka sadržaja ciste, a ljuštenjem i odstranjenjem endometrioma otklonio bi se taj negativni učinak.

Problemu oštećenja hilusa jajnika ljuštenjem endometrioma neki su autori pokušali doskočiti kombiniranim načinima kirurškog liječenja. Tako je Donnez još 1996. godine (72) opisao metodu u 3 akta (*eng. three-stage management*), koju je primjenjivao na velikim endometriomima. Prilikom prve laparoscopske operacije endometriom bi otvorio, drenirao i aspirirao čokoladni sadržaj, zatim slijedi tromjesečna terapija GnRH analogima te ponovna operacija pri čemu je vaporizirao laserom unutrašnjost endometrioma. Istu metodu nedavno su uspoređivali s ekscizijom endometrioma Pados i Tsolakidis u dva rada (139,140) pri čemu su koristili AFC i AMH u procjeni pričuve jajnika. Ukazali su na prednost metode u tri akta, ali samo na temelju analize deset pacijentica u svakoj skupini, a tijekom praćenja kroz godinu dana u „*three-stage management- skupini* „, dvije pacijentice su razvile recidiv, što iznosi 20% (!). To nije niti čudno, obzirom da je u izvrsnoj analizi još jednom Muzii sa suradnicima dokazao da endometriotično tkivo pokriva od 10-98% unutrašnje površine ciste s penetracijom u stijenku od 0.6+-0.4 mm, a dubina vaporizacije KTP ili CO2 laserom iznosi svega 0.2 mm (73). Nedavno je Donnez objavio i drugačiji pristup laparoscopske operacije endometrioma pri kojoj je u samo jednom aktu izljuštio 80-90% stijenke endometrioma, a tamo gdje se endometriom čvrsto drži uz hilus u istom bi aktu koristio za destrukciju ponovno CO2 laser (141). Visoka stopa trudnoća od 40% u prvih osam mjeseci nakon operacije te recidiv u manje od 2% pacijentica ukazuju na određene prednosti ovakvog načina liječenja. Ustvari se radi o već spomenutom, sličnom, kombiniranom postupku unutar jedne operacije koju je opisao Muzii još prije pet godina (135,136).

U našoj smo studiji koristili „klasično“ ljuštenje uz pomoć atraumatskih hvataljki s pažljivim odstranjenjem endometrioma u području hilusa. Bez obzira na koji smo način

uspostavljali hemostazu na jajniku, na temelju broja antralnih folikula poslije operacije, ali i poslijeoperacijskih vrijednosti AMH, ali i inhibina B, došlo je do smanjenja (oštećenja) funkcije operiranog jajnika i smanjenja njegove pričuve u odnosu na zdravi jajnik (Tablice 6,9,10). Na temelju ovih podataka nije moguće utvrditi je li to oštećenje posljedica ljuštenja endometrioma ili ne i ako ono postoji koliki je udio tog oštećenja prouzrokovan ljuštenjem, a koliki uspostavljanjem hemostaze. Hachisuga i Kawarabayashi su histološki utvrdili da se u čak lakše izljuštenih endometrioma nalazi 69% tkiva jajnika s primordijalnim folikulima, a u onima koji se teže ljušte da tkiva jajnika uopće nema (83). Međutim, Muzii na osnovi debljine preparata u njihove dvije skupine smatra da se ipak radi o različitoj kirurškoj tehnici, a ne o dvije vrste endometrioma.

Nedvojbeno je da je funkcija jajnika oštećena prisutnošću endometrioze, ali dodatni nepovoljni čimbenik svakako je i kirurški pristup. Bez obzira na vještinu kirurga, lokalna upalna reakcija prouzrokovana kirurškom manipulacijom te primjena elektrokoagulacije svakako dodatno može oštetiti korteks jajnika, ali i njegovu vaskularizaciju (53). Na kompleksnost kirurgije jajnika u pacijentica s endometriozom svakako ukazuje i podatak o prevalenciji prijevremene ovarijske disfunkcije s posljedičnom prijevremenom menopauzom, od 2,4% u pacijentica koje su operirane zbog obostranih endometrioma jajnika dok je ista u normalnoj populaciji svega 1,1% (84). Ne može se ne primjetiti da su i Donez (72), ali i Pados i Tsolakidis (139,140) u svojim studijama u kontrolnim skupinama koristili bipolarnu elektrokoagulaciju bipolarnom strujom snage 30W!

Jedan od ciljeva ove studije je bio ukazati na dodatni negativni učinak bipolarnu struje prilikom uspostavljanja hemostaze na preostalo zdravo tkivo jajnika. Ekscizija ljuštenjem endometrioma ima svoj udio u gubitku funkcije jajnika i oštećenja preostalog parenhima, ali to je svakako u obje naše skupine bio samo dio kirurškog zahvata, a razlika je jedino

bila u načinu uspostavljanja hemostaze. Mi smo se referirali na retrospektivnu studiju Fedelea i suradnika (85), u kojoj su se oni fokusirali na već prije adneksektomirane pacijentice s endometriomom u preostalom jajniku. Obzirom na vrlo restriktivne kriterije uključivanja u studiju obrađen je mali broj pacijentica, ali studija je analizirajući vrijednosti FSH prije i poslije operacije, također ukazala na prednosti šivanja jajnika u očuvanju njegove pričuve, u odnosu na elektrokoagulaciju. Mi smo u našoj studiji koristili po prvi puta kombinaciju trenutačno najpouzdanijih parametara koji se koriste u procjeni pričuve jajnika i dodatno potvrdili vrijednost koju AFC, kao najjeftiniji, ali i najjednostavniji parametar za određivanje ima, uz hormonski biljeg AMH. U skupini u kojoj je jajnik šivan produžnim šavom korišten je samo šav za uspostavljanje hemostaze pa čak kada se radilo i o ozbiljnijim krvarenjima iz područja hilusa jajnika. Bilo kakva manipulacija i uspostavljanje hemostaze na jajniku uzrokuje upalnu reakciju u tkivu jajnika, uz određeni stupanj ishemije. Tako šivanje tkiva jajnika također uzrokuje ishemiju jajnika, ali nema sumnje da je ishemija inducirana elektrokoagulacijom puno opširnija s manjom vjerojatnošću za spontani oporavak, što je na temelju analiza brzina protoka u stromi jajnika i njegova promjera u svojoj prospektivnoj, ali nerandomiziranoj studiji, zaključio i Li sa suradnicima (142), makar su jajnike šivali pri laparotomiji i uspoređivali s jajnicima operiranim laparoskopski uz elektrokoagulaciju i laser-vaporizaciju.

Na temelju našeg istraživanja možemo svakako zaključiti da se šivanje jajnika pokazalo kao prihvatljivija hemostatska opcija u odnosu na elektrokoagulaciju bipolarnom strujom. Međutim, treba uvijek biti oprezan i istaknuti da i pretjerano zatezanje produžnog šava može izazvati ireverzibilne ishemijske promjene i dodatno oštećenje zdravog tkiva jajnika. Ai Saeki i Matsumoto sa suradnicima navode da primjenjuju za hemostazu samo ciljanu „pinpoint“ elektrokoagulaciju jajnika i to nakon injektiranja razrijeđenog

vazopresina, a šivanje koriste samo u situacijama obilnijeg krvarenja iz hilusa (143). Dokazali su da su u skupini u kojoj je korišten vazopresin, uspostavili hemostazu u znatno kraćem vremenu uz značajno manju upotrebu bipolarnu struju. Problem je što je u ovoj prospektivnoj studiji uključeno svega petnaest pacijentica podjeljenih u tri skupine te da autori, nažalost, nisu analizirali ovarijsku rezervu nakon operacije.

Na temelju podataka iz literature s vremenom su se iskristalizirala dva problema vezana za procjenu pričuve jajnika nakon kirurškog zahvata. Prvi proizlazi iz činjenice da je u početku većina studija koje su obrađivale tu problematiku „proizvod“ centara koji se bave neplodnošću što ima za posljedicu ograničenost u izboru pacijentica. Naime, i u našoj smo se studiji vodili činjenicom da poslijeoperacijska (ne)plodnost pacijentice nije dobar kriterij za evaluaciju pričuve jajnika. Sve žene ne žele trudnoću nakon operacije, a plodnost nije samo rezultat funkcije jajnika nego ovisi o više čimbenika, kao što su stupanj endometrioze, priraslice, oštećenje jajovoda, muški i endometralni čimbenik. Dodatni problem u tih pacijentica je svakako i agresivna primjena gonadotropina u stimuliranim ciklusima pa su i rezultati koji se tiču odnosa operacije i pričuve jajnika upitni i nereprezentativni zbog neprirodnih uvjeta.

Drugi je problem svakako postojanje stvarnih teškoća u procjeni pričuve jajnika, odnosno pronalaženje optimalnog „testa“ ili biljega kojim bismo to procjenili. Naša je studija potvrdila najveću pouzdanost morfološkog, ultrazvučnog parametra brojenjem antralnih folikula – AFC i hormonskog biljega AMH, što se i podudara s najnovijim rezultatima u već gore navedenoj studiji Hansena i suradnika (119). U našem istraživanju se na temelju zbroja antralnih folikula mjerenih i određivanih kroz tri ciklusa može neposredno zaključiti da je funkcija jajnika manje oštećena ako se jajnik šiva. To su pokazale i poslijeoperacijske vrijednosti AMH (Tablica 11), koji se pokazao najpouzdanim biokemjskim parametrom u procjeni funkcije jajnika, a koje su značajno više u skupini u

kojoj se jajnik šivao u odnosu na skupinu u kojoj je hemostaza postignuta elektrokoagulacijom.

Fenomen fiziološke kompenzacije, kako drugog, zdravog jajnika, tako i preostalog zdravog tkiva, istog, operiranog jajnika može imati neposredne implikacije u primjenjivosti i pouzdanosti hormonskih biljega u procjeni pričuve jajnika. Da bismo utjecaj kompenzacije sveli na minimum, u našem istraživanju određivali smo AMH trećeg dana, trećeg poslijeoperacijskog ciklusa, oko tri do četiri mjeseca po operaciji. Naime, fenomen kompenzacije i spontane obnove funkcije jajnika nakon operacije endometrioma na temelju serijskog određivanja AMH kroz tri mjeseca opisao je nedavno u najnovijoj pilot studiji Chang HJ sa suradnicima (144). Nakon primarnog pada vrijednosti AMH neposredno nakon operacije u prvom tjednu i prvom poslijeoperacijskom mjesecu, uočena je restauracija vrijednosti na 65% početnih prijeoperacijskih vrijednosti u trećem mjesecu po operaciji. Takva obnova funkcije jajnika objašnjava se mogućom reperfuzijom operiranog jajnika i dodatnim otpuštanjem AMH iz ostatnog folikularnog bazena nakon uspostavljanja novih malih krvnih žila. Druga je mogućnost kompenzacijske hiperaktivacije granulosa stanica u preostalim folikulima jajnika, iako je njihov ukupan broj smanjen. Neki autori su još davno spominjali i mogućnost spašavanja nekih folikula od atrezije u skupini „rezervnih folikula“ nakon hemikastracije u štakora (145-7), a najkontroverznija je teorija koja sugerira da kirurški uzrokovana upalna reakcija stimulira regeneraciju novih folikula iz izvornog epitela jajnika ili same koštane srži (148, 149).

Promatrajući obje ispitivane skupine, može se zaključiti da operacija endometrioma jajnika smanjuje pričuvu jajnika. Dodatni nepovoljni čimbenik je uspostavljanje hemostaze bipolarnom elektrokoagulacijom, ali je smanjenje pričuve jajnika značajno manje, ako se hemostaza na preostalom tkivu jajnika uspostavlja šivanjem.

Ovim istraživanjem ne ulazimo u prosudbu kada je, obzirom na veličinu endometrioma, kliničku sliku endometrioze ili anamnezu neplodnosti pacijentice, potrebno operirati endometriom jajnika, odnosno pacijenticu s endometriozom. Međutim, preporuča se šivanje jajnika kao metoda za uspostavljanje hemostaze. Unatoč možda dužem trajanju operacije, kirurg treba biti svjestan potrebe za treningom i primjenom šava u uspostavljanju hemostaze pri laparoskopskim operacijama jajnika.

Brojenje antralnih folikula (AFC) te biokemijsko određivanje AMH iz seruma su trenutačno optimalne metode u procjeni pričuve i funkcije jajnika, koje se danas primjenjuju u praksi.

## VI ZAKLJUČCI

1. Laparoskopsko ljuštenje endometriotične ciste u pacijentica koje boluju od endometrioze dovodi do smanjenja pričuve jajnika i njegovog reproduktivnog potencijala.
2. Smanjenje reproduktivnog potencijala jajnika i njegovo oštećenje značajno je manje ukoliko se kao metoda uspostave hemostaze nakon ljuštenja endometrioma koristi šivanje produžnim šavom u odnosu na visokofrekventnu koagulacijsku struju.
3. FSH, inhibin B i AMH mogu se koristiti kao pokazatelji pričuve jajnika u bolesnica operiranih zbog endometrioma, a kao najbolji biokemijski parametar u procjeni funkcije jajnika, koji je pokazao i najbolju korelaciju prema broju antralnih folikula, pokazao se AMH.

## VII SAŽETAK

Plodnost pacijentica s endometriozom, između ostalog, kompromitirana je zbog a priori smanjene pričuve jajnika. Broj antralnih folikula (AFC) kroz tri poslijeoperacijska ciklusa te biokemijski parametri (AMH, inhibin B te FSH) prije i poslije operacije korišteni su u istraživanju u procjeni pričuve jajnika. U istraživanje je uključeno 121 pacijentica, podijeljene u dvije skupine s ciljem utvrđivanja dovodi li laparoskopsko ljuštenje endometrioma do smanjenja pričuve jajnika i koja metoda uspostave hemostaze na operiranom jajniku manje oštećuje njegovu pričuvu i funkciju.

U 61 pacijentice hemostaza je nakon izljuštenja endometrioma postignuta šivanjem produžnim monofilamentarnim šavom debljine -2 ( skupina A), a u 60 pacijentica hemostaza je potignuta elektrokoagulacijom visokofrekventnom bipolarnom strujom jačine 25 W (skupina B).

Obje skupine nisu se značajno razlikovale po dobi, veličini endometrioma te paritetu. AFC kroz tri ciklusa na svim zdravim jajnicima svih pacijentica iznosio je  $18,57 \pm 4,34$ , a na operiranim  $8,50 \pm 4,35$ , što se pokazalo statistički značajno,  $p < 0,001$ . AFC kroz tri ciklusa u skupini A – šivani jajnici, iznosio je  $12,18 \pm 2,37$ , a u skupini B-elektrokoagulirani jajnici,  $4,75 \pm 2,13$ , što se pokazalo statistički značajno,  $p < 0,001$ . AMH u skupini A je poslije operacije bio  $22,11 \pm 8,15$ , a skupini B  $18,70 \pm 9,03$ , što se pokazalo statistički značajno,  $p = 0,038$ .

Metodom standardne linearne regresije utvrđen je značajan prediktorni utjecaj poslijeoperacijskih koncentracija AMH ( $p = 0,025$ ), kao i njegovih prije i poslijeoperacijskih razlika koncentracija ( $p < 0,001$ ) na poslijeoperacijski broj antralnih folikula. Metodom parcijalne korelacije uz isključenje dobi kao kontrolirane varijable utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija AMH i AFC ( $p = 0,009$ ) te inhibna B i AFC ( $p = 0,035$ ).



Laparoskopsko ljuštenje endometriotične ciste u pacijentica koje boluju od endometrioze dovodi do smanjenja pričuve jajnika i njegovog reproduktivnog potencijala i ono je manje ukoliko se kao metoda uspostave hemostaze nakon ljuštenja endometrioma koristi šivanje produžnim šavom u odnosu na visokofrekventnu koagulacijsku struju. Biokemijski parametri - FSH, inhibin B i AMH - mogu se koristiti kao pokazatelji pričuve jajnika u bolesnica operiranih zbog endometrioma, a kao najbolji biokemijski parametar u procjeni funkcije jajnika, koji je pokazao i najbolju korelaciju prema broju antralnih folikula, pokazao se AMH.

## VIII SUMMARY

### **Two laparoscopic methods in the treatment of ovarian endometriomas and its effect on the ovarian reserve assessed by known biochemical and ultrasonographic parameters**

Fertility of patients with endometriosis is seriously compromised due to decrease in the follicle ovarian reserve even before any ovarian surgery. Antral follicle count (AFC) , anti Mullerian hormon (AMH), inhibin B and FSH were used in the ovarian reserve assessment.

Hundred twenty one (121) patients were randomized. In group A 61 patients- ovarian haemostasis was obtained by suturing and group B 60 patients- ovarian haemostasis was obtained by bipolar electrocoagulation. A prospective study was designed to assess whether the laparoscopic suturing for haemostasis had less adverse effect on the ovarian reserve compared to bipolar electrocoagulation.

Age, parity and the size of endometriomas were comparable between both groups. The sum of AFC in three postoperative cycles of whole 121 intact ovaries in both groups was significantly lower than the AFC of whole 121 operated ovaries ( $18,57 \pm 4,34$  vs.  $8,50 \pm 4,35$ ;  $p < 0,001$ ). There was a significantly higher AFC in ovaries that had been sutured (A) than in ovaries that had been electrocoagulated (B) ( $12,18 \pm 2,37$  vs.  $4,75 \pm 2,13$ ;  $p < 0,001$ ). In addition, there was a significantly higher AMH serum level in group A than in group B ( $22,11 \pm 8,15$  vs.  $18,70 \pm 9,03$ ;  $p < 0,05$ ).

By the method of standard linear regression it was noted significant predictive effect of postoperative serum levels of AMH ( $p = 0,025$ ) and its preoperative and postoperative difference ( $P < 0,001$ ) on the postoperative AFC. After the adjustment for

chronological age serum levels of AMH ( $p=0,009$ ) and serum levels of inhibin B ( $p=0,035$ ) were statistically significant predictors of AFC.

Laparoscopic operation on ovarian endometrioma could reduce ovarian reserve. That adverse effect could be less if the haemostasis is achieved by suturing of the rest ovarian tissue. Biochemical markers - FSH, inhibin B and AMH - could be used in the assessment of the ovarian reserve after laparoscopic treatment of ovarian endometriomas. AMH has significant predictive effect on the ovarian AFC.

## IX LITERATURA

1. Ishimaru T, Masuzaki H. Peritoneal endometriosis: endometrial tissue implantation as its primary etiologic mechanism. *Am J Obstet Gynecol.* 1991; 165:210.
2. Foster DC, Stern JL, Buscema J, Rock JA, Woodruff JD. Pleural and parenchymal pulmonary endometriosis. *Obstet Gynecol.* 1981; 58(5): 552-6.
3. Guarnaccia MM, Silverberg K, Olive DL. Endometriosis and Adenomyosis. U: Copeland LJ, ur. *Textbook of Gynecology.* Philadelphia-London-Tokyo: WB. Saunders Company; 2000. Str. 687-722.
4. García Manero M, Olartecoechea B, Royo Manero P, Aubá M, López G. Endometriosis. *Rev Med Univ Navarra.* 2009; 53(2): 4-7.
5. Jukić S, Babić D, Ilić-Forko J, Nola M. Bolesti ženskog spolnog sustava. U Damjanov I, Jukić S, Nola M, ur. *Patologija.* Zagreb: Medicinska Naklada; 2011. Str. 723-769.
6. Kruitwagen RFMP, Poels LG, Willemsen WNP, Jap PHK, Thomas CMG, Rolland R. Endometrial epithelial cells in peritoneal fluid during the early follicular phase. *Fertil Steril.* 1991; 55:297.
7. Olive DL, Henderson DY. Endometriosis and mullerian anomalies. *Obstetrics Gynecol.* 1987; 69: 412
8. Lavander G, Normal P. The pathogenesis of endometriosis: an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1955;34:366.
9. Liu DTY, Hitchcock A: Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhea and tubal Pathology. *Br J Obstet Gynecol.* 1986; 93:859.
10. Dmowski WP, Steele RW, Baker GF: Deficient cellular immunity in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1981;141:377.

11. Halme J, Hammond MG, Hulka JF et al: Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol.* 1984; 64:151..
12. Ramey JW, Archer DF. Peritoneal fluid: its relevance to the development of endometriosis. *Fertil Steril.* 1993; 60(1): 1-14.
13. Surrey ES, Halme J. Effect of platelet-derived growth factor on endometrial stromal cell proliferation in vitro: a model for endometriosis? *Fertil Steril.* 1991; 56(4):672-9.
14. McLeod BS, Retzliff MG. Epidemiology of endometriosis: an assessment of risk factors. *Clin Obstet Gynecol.* 2010 Jun;53(2):389-96.
15. Gruppo Italiano per lo Studio Dell' Endometriosi. Prevalence and anatomical distribution of endometriosis in women with selected gynaecological conditions: results from a multicentric Italian study. *Hum Reprod* 1994; 9:1158.
16. Ranney B. Etiology, prevention, and inhibition of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol.* 1980; 23(3):875-82.
17. Olive DL, Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med.* 1993;17:328(24):1759-69.
18. Viganò P, Parazzini F, Somigliana E, Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004;18(2):177-200.
19. Ferrero S, Arena E, Morando A, Remorgida V. Prevalence of newly diagnosed endometriosis in women attending the general practitioner. *Int J Gynaecol Obstet.* 2010;110(3):203-7.
20. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;955:11-22; discussion 34-6, 396-406.
21. Ćorić M. Laparoscopsko liječenje endometrioze – procjena ovarijske rezerve. VII. Hrvatski kongres o ginekološkoj endokrinologiji, humanoј reprodukciji i menopauzi; Brijuni 10-13.9.2009.

22. Matalliotakis IM, Cakmak H, Fragouli YG, Goumenou AG, Mahutte NG, Arici A. Epidemiological characteristics in women with and without endometriosis in the Yale series. *Arch Gynecol Obstet*. 2008; 277(5):389-93.
23. Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, Di Nola G, Parazzini F. Pain symptoms associated with endometriosis. *Obstet Gynecol*. 1992;79:767-9.
24. Endometriosis. U: Speroff L, Glass RH, Kase NG, ur. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Baltimore – Philadelphia: Lippincott W&W; 1999. Str. 1057-73.
25. Hughes EG, Fedorkow DM, Collins JA. A quantitative overview of controlled trials in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril*. 1993; 59(5):963-70.
26. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility. *Fertil Steril*. 2006; 86 Suppl 1:156-60.
27. Barnhart K, Dunsmoor-su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002;77:1148–55.
28. Cahill DJ, Hull MGR. Pituitary–ovarian dysfunction and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000;6:56–66.
29. Garrido N, Navarro J, Remohı J, Simon C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2000;6:67–74.
30. Osborn BH, Haney AF, Misukonis MA, Weinberg JB. Inducible nitric oxide synthase expression by peritoneal macrophages in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril*. 2002; 77(1):46-51.
31. Kalu E, Sumar N, Giannopoulos T, Patel P, Croucher C, Sherriff E i dr. Cytokine profiles in serum and peritoneal fluid from infertile women with and without endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res*. 2007; 33(4):490-5.

32. Lemos NA, Arbo E, Scalco R, Weiler E, Rosa V, Cunha-Filho JS. Decreased anti-Müllerian hormone and altered ovarian follicular cohort in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *Fertil Steril*. 2008; 89(5):1064-8.
33. De Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BC. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77(2): 357-62.
34. Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. Relevance of anti-Müllerian hormone measurement in routine IVF program. *Hum Reprod* 2008; 23(6): 1359-65.
35. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arsenio AC i dr. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update*. 2010; 16(2):113-30.
36. Guerriero S, Mais V, Ajossa S, Paoletti AM, Angiolucci M, Melis GB. Transvaginal ultrasonography combined with CA125 plasma levels in the diagnosis of endometrioma. *Fertil Steril* 1996;65:293–298.
37. Fedele L, Bianchi S, Portuese A, Borruto F, Dorta M. Transrectal ultrasonography in the assessment of rectovaginal endometriosis. *Obstet Gynecol* 1998;91:444–448.
38. Kinkel K, Frei KA, Balleyguier C, Chapron C. Diagnosis of endometriosis with imaging: a review. *Eur Radiol*. 2006; 16(2):285-98.
39. D'Hooghe TM, Hil JA. Endometriosis. U Berek JS, ur. *Novak's Gynecology*. Baltimore – Philadelphia; Lippincot W&W. 2002. Str. 383-98.
40. Barbieri RL, Niloff JM, Bast Jr RC, Schaetzel E, Kistner RW, Knapp RC. Elevated serum concentrations of CA-125 in patients with advanced endometriosis. *Fertil Steril*. 1986; 45:630.
41. Pittaway DE. The use of serial CA-125 concentration to monitor endometriosis in infertile women. *Am J Obstet Gynecol*. 1990; 163:1032.

42. Mihalyi A, Gevaert O, Kyama CM, Simsa P, Pochet N, De Smet F i sur. Non-invasive diagnosis of endometriosis based on a combined analysis of six plasma biomarkers. *Hum Reprod.* 2010; 25(3): 654-64.
43. Nisolle M, Paindaveine B, Bourdon A, Berlière M, Casanas-Roux F, Donnez J. Histological study of peritoneal endometriosis in infertile women. *Fertil Steril.* 1990;53:984–948.
44. Moen MH, Halvorsen TB. Histologic confirmation of endometriosis in different peritoneal lesions. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1992; 71(5): 337-42.
45. American Fertility Society: Revised American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril.* 1985;43: 351-2.
46. Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril.* 2010; 94(5): 1609-15.
47. Tuttlies F, Keckstein J, Ulrich U, Possover M, Schweppe KW, Wustlich M i sur. ENZIAN-score, a classification of deep infiltrating endometriosis. *Zentralbl Gynakol.* 2005; 127(5): 275-81.
48. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R i sur; ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005; 20(10): 2698-704.
49. Vercellini P, Frontino G, De Giorgi O, Pietropaolo G, Pasin R, Crosignani PG. Continuous use of an oral contraceptive for endometriosis-associated recurrent dysmenorrhea that does not respond to a cyclic pill regimen. *Fertil Steril.* 2003; 80(3): 560-3.



50. Coffee AL, Sulak PJ, Kuehl TJ. Long-term assessment of symptomatology and satisfaction of an extended oral contraceptive regimen. *Contraception*. 2007; 75(6): 444-9.
51. SOGC Clinical practice guideline: Endometriosis: Diagnosis and Management. *JOGC*. 2010. Supl2; 244: 1-29.
52. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. The investigation and management of endometriosis. RCOG Guideline No. 24. October 2006; 1-14.
53. Busacca M, Vignali M. Endometrioma excision and ovarian reserve: a dangerous relation. *J Minim Invasive Gynecol*. 2009; 16(2): 142-8.
54. Chapron C, Vercellini P, Barakat H, Vieira M, Dubuisson JB. Management of ovarian endometriomas. *Hum Reprod Update*. 2002; 8(6): 591-7.
55. Yeung PP Jr, Shwayder J, Pasic RP. Laparoscopic management of endometriosis: comprehensive review of best evidence. *J Minim Invasive Gynecol*. 2009; 16(3): 269-81.
56. Audebert A, Descamps P, Marret H, Ory-Lavollee L, Bailleul F, Hamamah S. Pre or post-operative medical treatment with nafarelin in stage III-IV endometriosis: a French multicenter study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998; 79(2): 145-8.
57. Sagsveen M, Farmer JE, Prentice A, Breeze. Gonadotrophin-releasing hormone analogues for endometriosis: bone mineral density. *ACochrane Database Syst Rev*. 2003;(4): CD001297.
58. Matsuzaki S, Houille C, Darcha C, Pouly JL, Mage G, Canis M. Analysis of risk factors for the removal of normal ovarian tissue during laparoscopic cystectomy for ovarian endometriosis. *Hum Reprod*. 2009; 24(6): 1402-6.
59. Vercellini P, Frontino G, De Giorgi O, Aimi G, Zaina B, Crosignani PG. Comparison of a levonorgestrel-releasing intrauterine device versus expectant management after

- conservative surgery for symptomatic endometriosis: a pilot study. *Fertil Steril.* 2003; 80(2): 305-9.
60. Lockhat FB, Emembolu JO, Konje JC. The efficacy, side-effects and continuation rates in women with symptomatic endometriosis undergoing treatment with an intra-uterine administered progestogen (levonorgestrel): a 3 year follow-up. *Hum Reprod.* 2005; 20(3): 789-93.
  61. Crosignani PG, Vercellini P, Biffignandi F, Costantini W, Cortesi I, Imperato E. Laparoscopy versus laparotomy in conservative surgical treatment for severe endometriosis. *Fertil Steril.* 1996; 66(5): 706-11.
  62. Busacca M, Fedele L, Bianchi S, Candiani M, Agnoli B, Raffaelli R i sur. Surgical treatment of recurrent endometriosis: laparotomy versus laparoscopy. *Hum Reprod.* 1998; 13(8): 2271-4.
  63. Sawada T, Satoshi O, Kawakami S. Laparoscopic surgery vs laparotomy management for infertile patients with ovarian endometrioma. *Gynecol Endosc.* 1999;8: 7-19.
  64. Mais V, Ajossa S, Guerriero S et al. Laparoscopic management of endometriomas: a randomized trial versus laparotomy. *J Gynecol Surg.* 1996; 12: 41-6.
  65. Wood C, Kuhn R, Tsaltas J. Laparoscopic diagnosis of endometriosis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2002; 42(3): 277-81.
  66. Abbott J, Hawe J, Hunter D, Holmes M, Finn P, Garry R. Laparoscopic excision of endometriosis: a randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril.* 2004; 82(4): 878-84.
  67. Marcoux S, Maheux R, Bérubé S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med.* 1997; 24; 337(4): 217-22.

68. Parazzini F. Ablation of lesions or no treatment in minimal-mild endometriosis in infertile women: a randomized trial. Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi. *Hum Reprod.* 1999; 14(5): 1332-4.
69. Liu X, Yuan L, Shen F, Zhu Z, Jiang H, Guo SW. Patterns of and risk factors for recurrence in women with ovarian endometriomas. *Obstet Gynecol.* 2007; 109(6): 1411-20.
70. Vercellini P. Endometriosis: what a pain it is. *Semin Reprod Endocrinol.* 1997;15(3):251-61.
71. Brosens IA, Van Ballaer P, Puttemans P, Deprest J. Reconstruction of the ovary containing large endometriomas by an extraovarian endosurgical technique. *Fertil Steril.* 1996; 66(4): 517-21.
72. Donnez J, Nisolle M, Gillet N, Smets M, Bassil S, Casanas-Roux F. Large ovarian endometriomas. *Hum Reprod.* 1996; 11(3): 641-6.
73. Muzii L, Bianchi A, Bellati F, Cristi E, Pernice M, Zullo MA i sur. Histologic analysis of endometriomas: what the surgeon needs to know. *Fertil Steril.* 2007; 87(2): 362-6.
74. Jones KD, Sutton C. Endometriotic ovarian cysts: the case for ablative surgery. *Gynecol Endosc* 2001;10:281-7.
75. Baggish MS, Tucker RD. Tissue actions of bipolar scissors compared with monopolar devices. *Fertil Steril.* 1995; 63(2): 422-6.
76. Beretta P, Franchi M, Ghezzi F, Busacca M, Zupi E, Bolis P. Randomized clinical trial of two laparoscopic treatments of endometriomas: cystectomy versus drainage and coagulation. *Fertil Steril.* 1998; 70(6): 1176-80.
77. Alborzi S, Momtahan M, Parsanezhad ME, Dehbashi S, Zolghadri J, Alborzi S. A prospective, randomized study comparing laparoscopic ovarian cystectomy versus

- fenestration and coagulation in patients with endometriomas. *Fertil Steril*. 2004; 82(6): 1633-7.
78. Vercellini P, Chapron C, De Giorgi O, Consonni D, Frontino G, Crosignani PG. Coagulation or excision of ovarian endometriomas? *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 188(3): 606-10.
  79. Hart RJ, Hickey M, Maouris P, Buckett W. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008; 16; (2): CD004992.
  80. Somigliana E, Infantino M, Benedetti F, Arnoldi M, Calanna G, Ragni G. The presence of ovarian endometriomas is associated with a reduced responsiveness to gonadotropins. *Fertil Steril*. 2006; 86(1): 192-6.
  81. Gupta S, Agarwal A, Agarwal R, Loret de Mola JR. Impact of ovarian endometrioma on assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online*. 2006; 13(3): 349-60.
  82. Roman H, Tarta O, Pura I, Opris I, Bourdel N, Marpeau L i sur. Direct proportional relationship between endometrioma size and ovarian parenchyma inadvertently removed during cystectomy, and its implication on the management of enlarged endometriomas. *Hum Reprod*. 2010; 25(6): 1428-32.
  83. Hachisuga T, Kawarabayashi T. Histopathological analysis of laparoscopically treated ovarian endometriotic cysts with special reference to loss of follicles. *Hum Reprod*. 2002; 17(2): 432-5.
  84. Busacca M, Riparini J, Somigliana E, Oggioni G, Izzo S, Vignali M i sur. Postsurgical ovarian failure after laparoscopic excision of bilateral endometriomas. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 195(2): 421-5.
  85. Fedele L, Bianchi S, Zanconato G, Bergamini V, Berlanda N. Bipolar electrocoagulation versus suture of solitary ovary after laparoscopic excision of ovarian endometriomas. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 2004; 11(3): 344-7.

86. Yeh J, Adashi EY. The ovarian life Cycle. U Yen SSC, Jaffe RBJ, Barbieri RL. Reproductive Endocrinology. 4-th edition by W.B. Saunders Company. Philadelphia-London-Tokyo. 1999; 153-190.
87. Broeksmans FJ, KweeJ, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk DB. A systematic review of test predicting ovarian reserve and IVF outcome. Human Reprod Update 2006; 12: 685-718.
88. Bukulmez O, Arici A. Assessment of ovarian reserve. Curr Opin Obstet Gynecol. 2004; 16(3): 231-7.
89. Creus M, Penarrubia J, Fabregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R i sur. Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. Hum Reprod. 2000; 15(11):2341-6.
90. Corson SL, Gutmann J, Batzer FR, Wallace H, Klein N, Soules MR. Inhibin B as a test of ovarian reserve for infertile women. Hum Reprod 1999; 14(11): 2818-21.
91. Muttukrishna S, Suharjono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients? BJOG 2004; 111(11): 1248-53.
92. Knight PG, Glister C. TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. Reproduction 2006;132(2):191-206.
93. Visser JA, De Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti Mullerian hormone: a new marker for ovarian function. Reproduction 2006; 131(1): 1-9.
94. De Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen APN, Fauser BC. Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. Fertil Steril 2002; 77(2): 357-62.
95. Gnoth C, Schuring AN, Friol K, Tigges J, Mallmann P, Godehardt E. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in routine IVF program. Hum Reprod 2008; 23(6): 1359-65.

96. Strathy JH, Molgaard CA, Coulam CB, Melton LJ 3rd. Endometriosis and infertility: a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. *Fertil Steril.* 1982; 38(6): 667-72.
97. Verkauf BS. Incidence, symptoms, and signs of endometriosis in fertile and infertile women. *J Fla Med Assoc.* 1987; 74(9): 671-5.
98. Schenken RS, Asch RH, Williams RF, Hodgen GD. Etiology of infertility in monkeys with endometriosis: luteinized unruptured follicles, luteal phase defects, pelvic adhesions, and spontaneous abortions. *Fertil Steril.* 1984; 41(1): 122-30.
99. Gupta S, Goldberg JM, Aziz N, Goldberg E, Krajcir N, Agarwal A. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril.* 2008; 90(2): 247-57.
100. Trinder J, Cahill DJ. Endometriosis and infertility: the debate continues. *Hum Fertil (Camb).* 2002; 5(1 Suppl): S21-7.
101. Cahill DJ, Wardle PG, Maile LA, Harlow CR, Hull MG. Ovarian dysfunction in endometriosis-associated and unexplained infertility. *J Assist Reprod Genet.* 1997; 14(10): 554-7.
102. Tummon IS, Maclin VM, Radwanska E, Binor Z, Dmowski WP. Occult ovulatory dysfunction in women with minimal endometriosis or unexplained infertility. *Fertil Steril.* 1988; 50(5): 716-20.
103. Saito H, Seino T, Kaneko T, Nakahara K, Toya M, Kurachi H. Endometriosis and oocyte quality. *Gynecol Obstet Invest.* 2002; 53 Suppl 1:46-51.
104. Toya M, Saito H, Ohta N, Saito T, Kaneko T, Hiroi M. Moderate and severe endometriosis is associated with alterations in the cell cycle of granulosa cells in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril.* 2000; 73(2): 344-50.

105. Nakahara K, Saito H, Saito T, Ito M, Ohta N, Sakai N i sur. Incidence of apoptotic bodies in membrana granulosa of the patients participating in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril.* 1997; 67(2): 302-8.
106. Lachapelle MH, Hemmings R, Roy DC, Falcone T, Miron P. Flow cytometric evaluation of leukocyte subpopulations in the follicular fluids of infertile patients. *Fertil Steril.* 1996; 65(6): 1135-40.
107. Lucena E, Cubillos J. Immune abnormalities in endometriosis compromising fertility in IVF-ET patients. *J Reprod Med.* 1999; 44(5): 458-64.
108. Yoshida S, Harada T, Iwabe T, Taniguchi F, Mitsunari M, Yamauchi N i sur. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Hum Reprod.* 2004; 19(8): 1821-5.
109. Cahill DJ, Wardle PG, Maile LA, Harlow CR, Hull MG. Pituitary-ovarian dysfunction as a cause for endometriosis-associated and unexplained infertility. *Hum Reprod.* 1995; 10(12): 3142-46.
110. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2001; 75(1): 1-10.
111. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Koninckx PR, Vandeputte M. Immunosuppressive activity of peritoneal fluid in women with endometriosis. *Obstet Gynecol.* 1993; 82(2): 206-12.
112. Szczepańska M, Koźlik J, Skrzypczak J, Mikołajczyk M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril.* 2003; 79(6): 1288-93.

113. Qiao J, Yeung WS, Yao YQ, Ho PC. The effects of follicular fluid from patients with different indications for IVF treatment on the binding of human spermatozoa to the zona pellucida. *Hum Reprod.* 1998; 13(1): 128-31.
114. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev.* 2009; 30(5): 465-93.
115. The ovary – Embryology and Development. U: Speroff L, Glass RH, Kase NG, ur: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* Baltimore – Philadelphia: Lippincott W&W; 1999. str. 107-22.
116. Treloar AE. Menstrual cyclicity and the pre-menopause. *Maturitas.* 1981; 3(3-4): 249-64.
117. Jayaprakasan K, Deb S, Batcha M, Hopkisson J, Johnson I, Campbell B i sur. The cohort of antral follicles measuring 2-6 mm reflects the quantitative status of ovarian reserve as assessed by serum levels of anti-Müllerian hormone and response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2010; 94(5): 1775-81.
118. Ng EH, Yeung WS, Fong DY, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. *Hum Reprod.* 2003; 18(10): 2169-74.
119. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril.* 2011; 95(1): 170-5.
120. Bancsi LF, Broekmans FJ, Eijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2002; 77(2): 328-36.



121. Yong PY, Baird DT, Thong KJ, McNeilly AS, Anderson RA. Prospective analysis of the relationships between the ovarian follicle cohort and basal FSH concentration, the inhibin response to exogenous FSH and ovarian follicle number at different stages of the normal menstrual cycle and after pituitary down-regulation. *Hum Reprod.* 2003; 18(1): 35-44.
122. Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Johnson I, Raine-Fenning N. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril.* 2010; 93(3): 855-64.
123. Jayaprakasan K, Campbell B, Hopkisson J, Clewes J, Johnson I, Raine-Fenning N. Establishing the intercycle variability of three-dimensional ultrasonographic predictors of ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2008; 90(6): 2126-32.
124. Bancsi LF, Huijs AM, den Ouden CT, Broekmans FJ, Looman CW, Blankenstein MA i sur. Basal follicle-stimulating hormone levels are of limited value in predicting ongoing pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2000; 73(3): 552-7.
125. de Koning CH, Benjamins T, Harms P, Homburg R, van Montfrans JM, Gromoll J i sur. The distribution of FSH receptor isoforms is related to basal FSH levels in subfertile women with normal menstrual cycles. *Hum Reprod.* 2006; 21(2): 443-6.
126. Broekmans FJ, Knauff EA, te Velde ER, Macklon NS, Fauser BC. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends. *Trends Endocrinol Metab.* 2007; 18(2): 58-65.
127. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril.* 1997; 67(1): 110-4.

128. Lee MM, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. *Endocr Rev.* 1993; 14(2): 152-64.
129. Kwee J, Schats R, McDonnell J, Themmen A, de Jong F, Lambalk C. Evaluation of anti-Müllerian hormone as a test for the prediction of ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2008; 90(3): 737-43.
130. Nardo LG, Gelbaya TA, Wilkinson H, Roberts SA, Yates A, Pemberton P i sur. Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2009; 92(5): 1586-93.
131. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH i sur. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril.* 2005; 83(4): 979-87.
132. Fanchin R, Schönäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J. Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod.* 2003; 18(2): 323-7.
133. La Marca A, Stabile G, Artenisio AC, Volpe A. Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod.* 2006; 21(12): 3103-7.
134. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod.* 2007; 22(7): 1837-40.
135. Muzii L, Bellati F, Palaia I, Plotti F, Mancini N, Zullo MA i sur. Laparoscopic stripping of endometriomas: a randomized trial on different surgical techniques. Part I: clinical results. *Hum Reprod.* 2005; 20(7): 1981-6.

136. Muzii L, Bellati F, Bianchi A, Palaia I, Mancini N, Zullo MA i sur. Laparoscopic stripping of endometriomas: a randomized trial on different surgical techniques. Part II: pathological results. *Hum Reprod.* 2005; 20(7): 1987-92.
137. Muzii L, Bianchi A, Crocè C, Mancini N, Panici PB. Laparoscopic excision of ovarian cysts: is the stripping technique a tissue-sparing procedure? *Fertil Steril.* 2002; 77(3): 609-14.
138. Maneschi F, Marasá L, Incandela S, Mazzaresse M, Zupi E. Ovarian cortex surrounding benign neoplasms: a histologic study. *Am J Obstet Gynecol.* 1993; 169(2 Pt 1): 388-93.
139. Pados G, Tsolakidis D, Assimakopoulos E, Athanatos D, Tarlatzis B. Sonographic changes after laparoscopic cystectomy compared with three-stage management in patients with ovarian endometriomas: a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 2010; 25(3): 672-7.
140. Tsolakidis D, Pados G, Vavilis D, Athanatos D, Tsalikis T, Giannakou A i sur. The impact on ovarian reserve after laparoscopic ovarian cystectomy versus three-stage management in patients with endometriomas: a prospective randomized study. *Fertil Steril.* 2010; 94(1): 71-7.
141. Donnez J, Lousse JC, Jadoul P, Donnez O, Squifflet J. Laparoscopic management of endometriomas using a combined technique of excisional (cystectomy) and ablative surgery. *Fertil Steril.* 2010; 94(1): 28-32.
142. Li CZ, Liu B, Wen ZQ, Sun Q. The impact of electrocoagulation on ovarian reserve after laparoscopic excision of ovarian cysts: a prospective clinical study of 191 patients. *Fertil Steril.* 2009; 92(4): 1428-35.
143. Saeki A, Matsumoto T, Ikuma K, Tanase Y, Inaba F, Oku H i sur. The vasopressin injection technique for laparoscopic excision of ovarian endometrioma: a technique to reduce the use of coagulation. *J Minim Invasive Gynecol.* 2010; 17(2): 176-9.

144. Chang HJ, Han SH, Lee JR, Jee BC, Lee BI, Suh CS i sur. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels. *Fertil Steril.* 2010; 94(1): 343-9.
145. Peters H, Byskov AG, Himmelstein-Braw R, Faber M. Follicular growth: the basic event in the mouse and human ovary. *J Reprod Fertil.* 1975; 45(3): 559-66.
146. Fujimori K, Nakamura RM, Tonetta SA, di Zerega GS. Cessation of transition-phase follicle growth in the guinea pig by follicle-regulatory protein. *Biol Reprod.* 1987; 37(4): 812-22.
147. Greenwald GS. Effect of an anti-PMS serum on ovulation and estrogen secretion in the PMS-treated hamster. *Biol Reprod.* 1973; 9(4): 437-46.
148. Bukovsky A, Svetlikova M, Caudle MR. Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005;3:17.
149. Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M, Lee HJ, Adams GB, Niikura Y i sur. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell.* 2005; 122(2): 303-15.

## X ŽIVOTOPIS

Rođen sam u Zagrebu 1967. godine. U Zagrebu sam završio osnovnu školu i gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 1987, a na istom diplomirao 1993.

Obvezni pripravnički staž proveo sam radeći u KB Sestara Milosrdnica te sam državni ispit položio 1995.

Nakon godine dana rada kao liječnik u HV-u, 1996. započeo sam specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije. Specijalistički ispit sam položio 2001. godine i od tada radim u Zavodu za ginekološku kirurgiju i uroginekologiju, Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb. Pohađao sam više međunarodnih stručnih tečajeva iz područja ginekološke endoskopije.

Od 1995 – 2000. godine sam pohađao Znanstveni poslijediplomski studij iz kolegija „Klinička farmakologija“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Magistrirao sam 2004. godine.

2005. sam upisao 3. razlikovnu godinu Doktorskog studija na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Od 2005. godine radim i kao asistent u kumulativnom radnom odnosu na Katedri za ginekologiju i opstetriciju MF Sveučilišta u Zagrebu.

2010. godine položio sam subspecijalistički ispit iz ginekološke uroginekologije.