

NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA

UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 30.11.2021. godine, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom: „Uticaj laparoskopske cistektomije endometrioma na rezervu jajnika“ kandidata dr Vere Kovačević, zaposlene u Dispanzeru za zdravstvenu zaštitu žena, DZ Subotica.

Mentor je Prof dr Ana Mitrović Jovanović.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof dr Biljana Kastratović Kotlica, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu, Univerzitet u Beogradu
2. Prof dr Mladenko Vasiljević, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu, Univerzitet u Beogradu
3. Prof dr Tihomir Vejnović, redovni profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Univerzitet u Novom Sadu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Vere Kovačević napisana je na ukupno 136 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada i hipoteze, klinički materijal i metodologija istraživanja, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 25 tabela, 15 grafikona i šest figura. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta je to endometriozna, prevalenca i mehanizam nastanka endometriotične ciste jajnika. Objasnjen je infertilitet uzrokovan samim prisustvom endometrioze i endometriotične

ciste jajnika, detaljno su opisane moguće promene u kvalitetu jajnih ćelija i spermatozoida uzrokovane prisustvom endometrioze. Definirano je šta je to rezerva jajnika i fertilna sposobnost žene. Objasnjeni su najvažniji markeri rezerve jajnika koji određuju fertilnu sposobnost žene: Anti-mullerov hormon (AMH), životna dob, FSH i estradiol. Na adekvatan način su u potpunosti opisane tehnike operativnog lečenja endometrioze i endometriotične ciste jajnika.

Ciljevi rada su precizno definisani. Cilj studije je proceniti rezervu jajnika kod žena sa endometriotičnom cistom jajnika ≥ 4 cm pre i nakon laparoskopskog uklanjanja endometriotične ciste jajnika, primenom tkz. tehnike „ljuštenja“ kapsule uz korišćenje bipolarne struje za uspostavljanje hemostaze. Promenu rezerve jajnika ispitivaćemo kroz određivanje vrednosti Antimilerovog hormona (AMH), FSH i estradiola u serumu pre same operacije, kao i 6, 12 meseci nakon operacije. Da li se nastala promena u rezervi jajnika održava ili dolazi do njenog oporavka 12 meseci posle operacije? Takođe cilj studije je identifikovati najvažnije faktore, koji predviđaju rezervu jajnika pre i nakon operativnog lečenja pacijentkinja sa endometriotičnom cistom jajnika. Uticaj laparoskopске cistektomije endometrioma na fertilnu sposobnost kod žena koje planiraju trudnoću posle operativnog lečenja endometriotične ciste jajnika. Utvrditi najvažnije prognostičke faktore, koji određuju fertilnu sposobnost žena.

U poglavlju **klinički materijal i metodologija istraživanja** navedeno je da se istraživanje sprovodi po tipu prospektivne, kohortne studije sprovedeno je na Odeljenju ginekologije i akušerstva Opšte bolnice u Subotici, u periodu od februara 2013 do novembra 2016 godine. Pre uključivanja u studiju kod svake pacijentkinje je dijagnostifikovano postojanje jednostrane ili obostrane endometriotične ciste ≥ 4 cm, na osnovu dva ili više ultrazvučnih pregleda. Detaljno su navedeni kriterijumi za uključenje u studiju kao i kriterijumi za isključenje iz studije. Koncentracije AMH, FSH i estradiola u serumu su određivane kod 54 pacijentkinje u ranoj folikularnoj fazi njihovog spontanog ciklusa, od 3-ćeg do 5- tog dana pre operacije kao i 6 i 12 meseci nakon operacije. Definirani su kriterijumi za smanjenu rezervu jajnika. Na adekvatan način je u potpunosti opisano laparoskopsko lečenje endometriotične ciste jajnika primenom tehnike „ljuštenja“ ili tkz. „stripping“ tehnike uz upotrebu bipolarne struje za uspostavljanje hemostaze uključujući: indikacije, preoperativnu pripremu, tip anestazije, samu hiruršku tehniku, vrste postoperativne medikamentozne terapije i stopu spontanog zatrudnjivanja nakon operativnog lečenja u pacijentkinja kod kojih u prethodnom periodu nije došlo do trudnoće. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Opšte bolnice Subotica. Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključivanja u studiju. Svi upitnici koji su korišćeni u studiji su detaljno opisani,

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena literatura sadrži spisak od 176 referenci.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Uticaj laparoskopske cistektomije endometrioma na rezervu jajnika“, kandidata Vere Kovačević, konstatovano je da utvrđeno podudaranje teksta iznosi 11%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je citata, ličnih imena, bibliografskih podataka o korišćenoj literaturi, tkz. opštih mesta i podataka, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja koji su proistekli iz njegove disertacije) što je u skladu sa članom 8. stav 2. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) Kratak opis postignutih rezultata

Prvi cilj naše studije bilo je odrediti oštećenje rezerve jajnika nakon laparoskopske cistektomije, kroz određivanje vrednosti AMH u serumu kod pacijentkinja sa jednostranom (n=37) odnosno obostranom endometriotičnom cistom jajnika (n=17). Rezultati naše studije pokazali su da je došlo do značajnog pada vrednosti AMH u serumu 6 ($p < 0.001$) i 12 meseci ($p < 0.001$) nakon operativnog lečenja endometriotičnih cisti jajnika. Nije došlo do značajne razlike u vrednosti AMH u serumu 6 i 12 meseci nakon operativnog lečenja ($p = 0.285$). Pre operacije kao i 6 i 12 meseci nakon operacije, koncentracije AMH u serumu iznosile su: 3.07, 1.29 i 1.46 ng/mL. Kod pacijentkinja sa jednostranom endometriotičnom cistom, median vrednost AMH u serumu bila je 3.31, 1.43 i 1.72 ng/mL, dok je kod pacijentkinja sa obostranom endometriotičnom cistom jajnika bila 2.55, 0.98 i 0.89 ng/mL.

Laparoskopska cistektomija endometriotične ciste jajnika dovela je do smanjenja vrednosti AMH u serumu a samim tim i rezerve jajnika za $53.27 \pm 38.2\%$ i $49.43 \pm 38.3\%$ 6 odnosno 12 meseci nakon operacije. Univarijantnim regresionim modelom pokazano je da su najznačajniji prediktori vrednosti AMH u serumu 6 i 12 meseci nakon laparoskopske cistektomije endometriotične ciste bazalna vrednost AMH u serumu, životna dob pacijentkinje i obostrana endometriotična cista.

Multivarijantnom regresionom analizom u kojoj je vrednost AMH u serumu 6 i 12 meseci nakon operacije bila zavisna varijabla, pokazano je da od ove tri prediktora rezerve jajnika, jedini značajno precizni prediktor bila bazalna vrednost AMH u serumu. Nijedan od oslalih prediktora nije bio povezan sa relativnim padom vrednosti AMH u serumu 12 meseci nakon operacije. Od ukupno 54

pacijentkinje, uključene u studiju, 31 pacijentkinja je bila zainteresovana za trudnoću (57.40 %) neposredno nakon operativnog lečenja. Do trudnoće je došlo kod 22 od 31 pacijentkinje (70.96%) zainteresovane za trudnoću. 16 žena (51.61%) žena ostvarilo je trudnoću spontanim putem, a 6 žena uz pomoć IVF-a (19.35%). Jedan od ovih žena prvu trudnoću ostvarila je uz pomoć IVF-a dok je do druge trudnoće dve godine kasnije došlo prirodnim putem. Od 31 (57.4%) pacijentkinje od ukupno 54 uključene u studiju koje su nakon operativnog lečenja bile zainteresovane za trudnoću, petnaest pacijentkinja (48.38%) koje su zatrudnele i rodile živo dete bilo je u grupi ≤ 30 godina starosti; pet pacijentkinja (16.12%) je bilo u grupi od 31 do 35 godina starosti. Dve pacijentkinje (6.45%) su bile u grupi žena ≥ 35 godina starosti nije ostvarila trudnoću koja je rezultirala rađanjem živog deteta. Na osnovu rezultata naše studije možemo da zaključimo da postoji značajna razlika između starosti pacijentkinje i stope živorođenja ($U=34.5$; $p=0.001$). Iz dijagrama raspodele može se uočiti da postoji slaba korelaciona veza ($R=0.327$) između broja živorođene dece (kao zavisne varijable) i godina života (nezavisna varijabla) jer se tačke u dijagramu koncentrišu oko zamišljene krive linije koja je interpolisana između tačaka u dijagramu raspodele. (To znači da će sa porastom godina života trudnica dolaziti do pada reproduktivnog potencijala posmatranih žena). Ukupan broj živorođene dece 22 od 31 (70.96%) pacijentkinje koje su bile zainteresovane za trudnoću (iz spontane trudnoće i putem BMPO) iznosi 37 deteta.

Dvanaest meseci nakon laparoskopske cistektomije u grupi žena sa vrlo niskim vrednostima AMH u serumu ≤ 0.4 ng/mL 5 žena (23.8%) je ostalo u drugom stanju i rodilo živo dete. U grupi žena sa vrednostima AMH u serumu 0.41-1.1ng/mL 3 žene (14.3%) je zatrudnelo i rodilo živo dete. U grupi žena sa vrednošću AMH u serumu 1.2-2.5 ng/mL (23.8%) odnosno u grupi žena sa vrednošću AMH u serumu ≥ 2.5 (38.1%) je ostvarilo trudnoću koja je rezultirala rađanjem živog deteta. Iz dijagrama raspodele može se uočiti da postoji slaba korelaciona veza ($R=0.225$) između broja živorođene dece (kao zavisne varijable) i vrednosti Antimillerovog hormona u serumu (nezavisna varijabla) jer se tačke u dijagramu koncentrišu oko zamišljene krive linije koja je interpolisana između tačaka na dijagramu raspodele.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Prema našem saznanju do 2017. godine objavljena su dva sistematska pregleda i meta-analize, kod kojih je ovarijalna rezerva nakon laparoskopske cistektomije endometriotične ciste procenjivana na osnovu vrednosti AMH u serum pre i nakon operacije. Prvi je objavljen od strane Raffi i dr., koji su u svom pregledu uključili ukupno 291 pacijentkinju kod kojih je urađeno 237 ekscizija endometriotične ciste. Sve studije su bile prospektivne studije publikovane tokom perioda od 2009 do 2011 (93). Studije su u 7 slučajeva bile kohortne dok se u 1 slučaju radilo o randomizovanoj kontrolisanoj studiji (RCT). Period praćenja promene koncentracije AMH u serumu kretao se od 1, 3, 6 i 9 meseci

postoperativno. Endometriotične ciste su u 4 studije bile isključivo unilateralne, u 3 studije unilateralne i bilateralne dok u 1 studiji lateralnost endometrioma nije bila jasno definisana. Kada je analiziran efekat unilateralne cistektomije endometriotične ciste na rezervu jajnika, u analizu je uključeno 6 studija sa 152 ekscizije. Ponderisana prosečna preoperativna vrednost AMH kod žena sa unilateralnom endometriotičnom cistom iznosila je 3.3 ng/mL. Nađen je statistički značajan postoperativni pad u vrednosti AMH u serumu od 30%. Kod ispitivanja efekta bilateralne cistektomije endometriotične ciste u analizu su uključeni rezultati samo 2 studije sa ukupno 32 žene. Ponderisana prosečna preoperativna vrednost AMH kod žena sa bilateralnom endometriotičnom cistom iznosila je 2.7 ng/mL. Nađen je statistički značajan postoperativni pad u vrednosti AMH u serumu od 44%. Drugi sistematski pregled i meta-analiza koji je imao za cilj ispitati promene u koncentraciji AMH u serumu nakon laparoskopske ekscizije endometriotične ciste publikovan je od strane Somigliana i dr., izvršio je pregled baze MEDLINE i obuhvatio period od 1990 do 2012 godine; uključeno je 11 studija, publikovanih tokom perioda od 2010 do 2012. godine (94). Period praćenja promene vrednosti AMH u serumu kretao se od 1, 3, 6 do 9 meseci. Devet od 11 studija dokumentovalo je značajno smanjenje vrednosti AMH u serumu postoperativno. Dve studije nisu uspele da dokumentuju pad u vrednosti AMH u serumu. Veličina pada je bila izraženija u žena operisanih zbog bilateralne endometriotične ciste. U ovom pregledu, 5 studija kod kojih je ispitivan uticaj bilateralne endometriotične cistenarativno je sažeto bez sprovođenja meta-analize, zbog heterogenosti originalnih studija. Prema našem saznanju vrlo je malo radova koji govore o dugoročnom ishodu laparoskopske cistektomije endometriotične ciste uz primenu bipolarne energije za uspostavljanje hemostaze, naročito da li se uočeno oštećenje rezerve jajnika održava trajno ili nakon izvesnog vremenskog perioda dolazi do oporavka rezerve jajnika. RCT koju je sproveo Ferrero pokazala je da laparoskopska cistektomija bilateralne endometriotične ciste dovodi do značajnog pada u vrednosti AMH i porasta bazalnih vrednosti FSH 3. 6. i 12 meseci nakon operacije nezavisno od toga da li se koji se metod hemostaze koristi bipolarna energija ili sutura (95). Procentualne (relativne) promene vrednosti AMH u serumu kod 54 pacijentkinje zabeležene na 6 i 12 meseci nakon operativnog lečenja iznosile su: $-53.3 \pm 38.2\%$ i $-49.4 \pm 38.3\%$, redom. Procentualne promene vrednosti AMH u serumu 6 meseci nakon operativnog lečenja u grupi žena sa unilateralnim i bilateralnim endometriomom iznosile su: $-53.6 \pm 38.4\%$ i $-52.5 \pm 38.9\%$, redom. Procentualne promene vrednosti AMH u serumu 12 meseci nakon operativnog lečenja u grupi žena sa unilateralnim i bilateralnim endometriomom iznosile su: $-45.5 \pm 38.9\%$ i $-58 \pm 36.6\%$, redom. Laparoskopska cistektomija endometriotične ciste jajnika, uz primenu bipolarne energije za uspostavljanje hemostaze, dovodi do neizbežnog i neželjenog gubitka u rezervi jajnika, koji se održava i tokom 3, 6, i 9 meseci, nakon operacije (81,82,86,87,90,135–137). Prema Celiku nakon laparoskopske cistektomije endometriotične ciste moguć je dalji progresivni pad u vrednosti AMH u serumu kod pacijentkinja sa 24% 6 nedelja, nakon operacije, na 67% kod pacijentkinja sa

obostranom endometriotičnom cistom i 57% kod pacijentkinja sa jednostranom endometriotičnom cistom jajnika, 6 meseci nakon operacije (83). Dalje, postoje studije, kao što je ona koju je sproveo Ercan, koja nije primetila značajan pad u koncentraciji AMH u serumu nakon laparoskopske cistektomije endometrioma (138). Ograničen je broj studija koje pokazuju da je pad u rezervi jajnika nakon laparoskopske cistektomije endometriotične ciste privremen i da nakon izvesnog vremena dolazi do oporavka u rezervi jajnika. Tako je Chang u studiji na 13 žena pokazao da dolazi do oporavka u rezervi jajnika do 65% 3 meseca nakon operativnog lečenja endometriotične ciste jajnika (91). Studija koju je sprovedla Goodman je zabeležila značajan pad u vrednosti AMH u serumu 1 mesec nakon operacije (1.12 ng/mL, opseg 0.81-1.45 ng/mL) u poređenju sa preoperativnim vrednostima (1.77ng/mL, opseg 1.18-2.37 ng/mL); 6 meseci nakon operacije zabeležen je delimičan oporavak rezerve jajnika (1.41ng/mL, opseg 0.97-1.85 ng/mL) (139). Broj studija koje su pratile promene u rezervi jajnika nakon cistektomije u period dužem od 6 meseci je ograničen. Alborzi je u svojoj studiji zabeležio pad u vrednosti AMH u serumu nedelju dana nakon cistektomije, da bi zatim usledio značajan porast u vrednosti AMH u serumu 3 meseca nakon operacije, što je obrazloženo povoljnim procesom zarastanja i reperfuzijom "hirurški lečenih jajnika" (135). Međutim, autori nisu našli nikakav dalji porast u vrednosti AMH u serumu 3-9 meseci nakon operativnog lečenja. Prema Vignaliu je moguć potpuni oporavak u rezervi jajnika, 12 meseci nakon operativnog lečenja (4.01 ± 3.59 ng/mL) u poređenju sa preoperativnim vrednostima (3.98 ± 3.27 ng/mL) ($p > 0.05$) (140). Autori ove studije su zaključili da je oštećenje rezerve jajnika nakon cistektomije privremeno i da je moguć potpun oporavak rezerve jajnika 12 meseci nakon operacije. Sugita je zabeležio značajan pad u rezervi jajnika kod svih pacijentkinja 1 mesec nakon operacije (141). Sugita je kod skoro polovine pacijentkinja zabeležio oporavak u vrednosti AMH u serumu, jednu godinu nakon operativnog lečenja, dok je kod druge polovine pacijentkinja vrednost AMH u serumu nastavila da opada od 1- meseca do 1 godine nakon operativnog lečenja. Prema našem saznanju ovo je treća studija koja je nakon laparoskopske cistektomije endometriotične ciste(a) jajnika, uz primenu bipolarnе energije za hemostazu. pratila promene u rezervi jajnika, 12 meseci nakon operativnog lečenja i do sada je uključila najveći broj pacijentkinja. Takođe, je uključila praćenje stope pre svega spontanog zatrudnjivanja u žena koje su planirale trudnoću nakon operativnog lečenja, a do koje nije došlo u prethodnom periodu. Younis je 2019. godine publikovala do sada najveću meta-analizu, koja je obuhvatila period od 2000.-2018. godine i koja je imala za cilj ispitati uticaj jednostrane i obostrane cistektomije endometriotične ciste na biomarkere rezerve jajnika, pre i nakon cistektomije endometriotične ciste. Meta-analiza je uključila 12 studija podobnih za analizu sa ukupno 783 pacijentkinja, 489 sa jednostranom i 294 pacijentkinja sa obostranom endometriotičnom cistom. Rezultati i naše studije uvršteni su u ovu meta-analizu (142). Preoperativno se vrednosti AMH u serumu nisu značajno razlikovale između grupa. Meta-analiza je pokazala da postoperativno dolazi

do značajnog pada u vrednosti AMH u serumu za 39.5%, odnosno 57.0% kod pacijentkinja sa jednostranom odnosno obostranom endometriotičnom cistom, redom. Cistektomija endometriotične ciste naročito obostranih ima štetan i trajan učinak na rezervu jajnika (143). Zasnovano na rezultatima naše studije tri važna prediktora rezerve jajnika nakon laparoskopske cistektomije endometriotične ciste su: 1. starost pacijentkinje, 2. bazalna vrednost AMH u serumu i 3. obostrano prisustvo endometriotične ciste.

1. Starost pacijentkinje Mlađe pacijentkinje su imale veće vrednosti AMH preoperativno kao i 6 i 12 meseci nakon operacije, međutim, procentualna promena AMH u serumu nije bila povezana sa starošću. Slične promene u vrednosti AMH u serumu primećene su i kod mlađih i kod starijih pacijentkinja. Slično našem zaključku, Alborzi i dr su našli da su pacijentkinje >38 godina imale značajno niže bazalne vrednosti AMH u serumu u odnosu na pacijentkinje ≤38 godina (1.58 ± 2.53 vs. 3.97 ± 3.5 ng/mL. $p=0.003$). Dalje, pacijentkinje ≤38 godina pokazale su stopupada u vrednosti AMH u serumu sličnu onoj koja je zabeležena kod žena >38 godina (135).

2. Obostrano prisustvo endometriotičnih cisti jajnika. Poredeći sa pacijentkinjama sa jednostranom endometriotičnom cistom, pacijentkinje sa obostranim endometriotičnim cistama jajnika su imale niže vrednosti AMH u serumu kako preoperativno tako i 6 i 12 meseci nakon cistektomije. Ovaj nalaz naše studije potvrđen je u studiji koju je sproveo Hwu (137) i protivreči drugim prospektivnim studijama koje su našle veće promene u vrednosti AMH u serumu u pacijentkinja sa obostranim endometriotičnim cistama nego kod pacijentkinja sa jednostranim endometriotičnim cistama jajnika (87,91,139,144,145).

3. Bazalna vrednost AMH u serumu. Od ova tri prediktora rezerve jajnika, jedino je bazalna vrednost AMH u serumu ostala značajna u multivarijantnom modelu. Nijedan od ostalih prediktora nije bio povezan sa relativnim smanjenjem AMH u serumu 12 meseci nakon operacije (Tabela 7). Nekoliko studija takođe je zabeležilo postojanje negativne korelacije između starosti pacijentkinje i preoperativnih vrednosti AMH u serumu (137,144,145). Nieweglowska je u svojoj studiji zapazila da su pacijentkinje sa obostranom endometriotičnom cistom imale niže median vrednosti AMH u serumu ($p<0.001$) u poređenju sa ženama sa jednostranim endometriotičnim cistama ($p<0.001$) odnosno kontrolnom grupom žena ($p<0.001$); dok između žena sa jednostranim endometriotičnim cistama i zdravih kontrola nije bilo značajne razlike ($p=0.182$). Slično rezultatima naše studije, multivarijantna regresiona analiza Nieweglowske je pokazala da su jedino prisustvo obostranih endometriotičnih cista jajnika ($p=0.003$) i starost pacijentkinje ($p<0.001$) bili negativno povezani sa koncentracijom AMH u serumu. Snažna negativna korelacija između vrednosti AMH i starosti potvrđena je kod zdravih kontrola ($R=-0.834$; $p<0.001$) i kod žena sa jednostranom endometriotičnom cistom ($R=-0.774$; $p<0.001$), dok je ova korelacija bila umereno negativna kod žena sa obostranim endometriotičnim cistama ($R=-0.663$; $p<0.001$). Studija je dokazala smanjenje vrednosti AMH u serumu vezano za dob kod svih pacijentkinja (146). Kriterijumi za smanjenu rezervu jajnika postavljeni na osnovu ESHRE konsenzusa

iz 2011. godine (110). Prema ESHRE konsenzusu minimalni kriterijumi potrebni za postavljanje dijagnoze prevremene insuficijencije jajnika (POF) zahtevaju prisustvo minimum dva odsledeće tri kriterijuma:- uznapredovala životna dob majke (≥ 40 godina) ili bilo koji drugi faktor rizika za POF, - prethodni POF (dobijeno <3 oocite konvencionalnim protokolom stimulacije), - abnormalni test rezerve jajnika (AFC $<5-7$ folikula ili vrednost AMH $0.5-1.1\text{ng/mL}$).

U našoj studiji, prema Bologna kriterijumu stopa pacijentkinja, koje su preoperativno imale vrednost AMH u serumu $<1.1\text{ ng/mL}$ iznosila je 16% da bi 6, odnosno 12 meseci postoperativno stopa pacijentkinja sa vrednošću AMH u serumu $<1.1\text{ng/mL}$ iznosila čak 58.5%. U studiji Rie Ozaki preoperativno smanjena rezerva jajnika kod žena sa endometriotičnom cistom jajnika (aDOR) zabeležena je kod 21.7% žena, da bi postoperativno bila zabeležena vrednost AMH $<1.1\text{ ng/mL}$ kod 33.9% pacijentkinja. Starost žene i pre-operativna vrednost FSH su bile značajno povezane sa preoperativno aDOR, dok su preoperativna vrednost AMH u serumu i obostrana cistektomija značajni faktori, koji utiču na verovatnoću da će pacijentkinja nakon laparoscopske cistektomije endometriotične ciste imati smanjenu rezervu jajnika (147). Kumulativna stopa spontanih trudnoća u žena sa preoperativno smanjenom rezervom jajnika (aDOR) je bila značajno niža nego u grupi žena bez a DOR (14.3% vs. 59.2%, $p=0.004$). U našoj studiji, 31 pacijentkinja (57.4%) od ukupno 54 pacijentkinja uključenih u studiju bilo je zainteresovano za trudnoću nakon operativnog lečenja. Kod 9/31 (29.03%) pacijentkinja sa vrednošću AMH $<1.1\text{ ng/mL}$ i kod 13/31 (41.93%) pacijentkinja sa vrednošću AMH $>1.1\text{ ng/mL}$ nakon operativnog lečenja došlo je do trudnoće, koja je rezultirala živorođenjem. Značajno veći procenat trudnoća ostvaren je kod pacijentkinja sa vrednošću AMH $>1.1\text{ ng/mL}$. U grupi pacijentkinja sa vrednošću AMH $<1.1\text{ ng/mL}$ 5/31 pacijentkinja (16.12%) do trudnoće je došlo IVF postupkom, dok su u grupi žena sa vrednošću AMH $>1.1\text{ng/mL}$ 2/31 pacijentkinje (6.45%) IVF postupkom ostvarile trudnoću, koja je rezultirala živorođenjem.

5.9.Trudnoće nakon operativnog lečenja endometrioma. Jedan od ciljeva naše prospektivne studije bio je utvrditi uticaj laparoscopske operacije endometrioma primenom tehnike "ljušćenja" uz hemostazu primenom bipolarne struje na fertilnu sposobnost žena. Pacijentkinjama zainteresovanim za trudnoću, a kod kojih u prethodnom periodu nije dolazilo do trudnoće nakon operativnog lečenja dat je savet da ne odlažu trudnoću. Ponuđena im je opcija uključivanja u postupak biomedicinski potpomognute oplodnje (BMPO). Pacijentkinjama je dat savet kako da prate plodne dane. Ni kod jedne pacijentkinje, koje su se odlučile da pokušaju spontano zatrudnjivanje, nije primenjena stimulacija ovulacije, niti je urađena intrauterine inseminacija. Od (57.4%) pacijentkinje koje su bile zainteresovane za ostvarivanje trudnoće odmah nakon laparoscopske cistektomije, 22 pacijentkinje (70.96%) su zatrudnele, trudnoće su rezultirale živorođenjem, kod 16 pacijentkinja (51.61 %) do

trudnoće je došlo prirodnim putem, dok je 6 pacijentkinja (19.35 %) trudnoću ostvarilo putem jedne od metoda BMPO. Pacijentkinje koje su zatrudnele i čija je trudnoća završila živorođenjem deteta:

- u grupi ≤ 30 godina bilo je 15 (48.38%) pacijentkinja,
- od 31-35 godina bilo je 5 (16.12%) pacijentkinja,
- u grupi ≥ 35 godina bile su 2 (6.45%) pacijentkinje.

Kada je reč o grupi pacijentkinja kod kojih trudnoća ostvarena prirodnim putem, a koje su rezultirale rađanjem živog deteta nađeno je da je 8 žena rodilo po 1 živo dete, 6 žena iz ove grupe spontano je zatrudnelo i rodilo dva puta po 1 živo dete, dok su 3 žene spontano zatrudnele i rodile po 1 živo dete 3 puta tokom perioda od 6 godina. Znači, spontanim putem rođeno je 29 živa deteta. Jedna od ovih pacijentkinja je prvu trudnoću koja je rezultirala živorođenjem ostvarila putem BMPO, da bi dve godine kasnije spontano zatrudnela i rodila još 1 živo dete. Četiri žene koje su zatrudnele uz pomoć jedne od metoda BMPO rodile su po 1 živo dete, 1 žena iz ove grupe koja je zatrudnela putem BMPO rodila je 1 par živih blizanaca, dok je jedna žena koja je ostvarila trudnoću uz pomoć jedne od metoda BMPO i rodila živo dete dve godine kasnije uz primenu „frozen ET“ ponovo je zatrudnela, trudnoća je rezultirala rađanjem još 1 živog deteta. Znači putem BMPO rođeno je ukupno 8 dece. Ukupan broj živorođene dece 22 od 31 (70.96%) pacijentkinje koje su bile zainteresovane za trudnoću (iz spontane trudnoće i putem BMPO) iznosi 37 deteta. Slično rezultatima naše studije, Donnez je primenom kombinovane tehnike u operativnom lečenju endometrioma kod 52 žene zabeležio stopu trudnoća od 41% (37/52) tokom perioda od 8.3 meseca, te zaključio da primena kombinovane tehnike (stripping-a i ablacije) nije štetna za jajnik (76). Period praćenja pacijentkinja do trudnoće u našoj studiji bio je duži, pa pretpostavljamo da se sa povećanjem dužine perioda praćenja pacijentkinja može očekivati i veća stopa trudnoća nakog operativnog lečenja. U našoj studiji, 22 pacijentkinje (70.96%) je zatrudnelo, trudnoće su rezultirale živorođenjem, kod 16 pacijentkinja (51.61%) do trudnoće je došlo prirodnim putem dok je 6 pacijentkinja (19.35%) trudnoću ostvarilo putem jedne od metoda BMPO. Barri je u opservacionoj studiji na 825 infertilnih žena sa endometriomom utvrdio da je stopa trudnoća nakon kombinovanog lečenja (laparoskopska cistektomija potom IVF postupak) značajno veća od stope trudnoće postignute samo operativnim lečenjem ($p < 0.001$), stope trudnoće nakon IVF postupka kao primarne opcije ($p < 0.001$) ili stope trudnoće kod žena koje nisu prihvatile ni jednu opciju lečenja endometrioma ($p < 0.001$). Barri je zabeležio stopu spontanih trudnoća nakon operacije kao primarne opcije lečenja od 58.5% dok je kombinovana stopa kliničkih trudnoća (stripping +IVF) iznosila 65.8%. Stopa trudnoće u grupi žena podvrgnutih IVF postupku kao primarnoj opciji iznosila je 32.2% po aspiraciji a kod pacijentkinja koje nisu prihvatile lečenje 11.8%. Ovim se potvrđuje da su dileme oko načina lečenja pacijentkinja sa endometriozaom i neplodnošću predmet

diskusije, posebno ako se komentarišu rezultati uspeha IVF. a bez prethodnog operativnog lečenja. Još jednom se potvrdilo da je značano veći procenat uspeha IVF postupka, ukoliko mu prethodi operativno lečenje. Saglasni smo sa zaključkom Barria, da bi IVF bi trebalo savetovati kao primarnu opciju, kada postoje i dodatni faktori neplodnosti ili gde postoje kontraindikacije za operativno lečenje. Prema Barri-ju kombinacija operativnog lečenja i IVF postupka povećava šansu za trudnoću kod ovih pacijentkinja (112). Kada su u pitanju rezultati naše studije saglasni smo sa zaključkom Ragnijeve studije da je laparoscopska cistektomija endometrioma, uz primenu bipolarne struje za hemostazu povezana sa kvantitativnim, ali ne i kvalitativnim oštećenjem rezerve jajnika (121). Rezultati naše studije su u skladu sa rezultatima dve visoko kvalitetne prospektivne kohortne studije, koje su zabeležile grubu stopu spontanih trudnoća od 57%-69% (umerena endometrioza) i 52% do 68% (teška endometrioza) nakon laparoscopske cistektomije endometrioma (168).

5.10. Prognostički faktori koji određuju fertilnu sposobnost žena

Glavni faktori povezani sa živorođenjem deteta nakon operativnog lečenja na osnovu rezultata naše studije su; 1. starost žene, 2. vrednost AMH u serumu. U našoj studiji smo našli da je 15 pacijentkinja (48.38%) koje su zatrudnele i rodile živo dete bilo u grupi ≤ 30 godina starosti. U grupi žena od 31-35 godina bilo je pet pacijentkinja (16.12%) koje su zatrudnele i rodile živo dete dok su u grupi ≥ 35 godina starosti bile dve pacijentkinje (6.45%). Na osnovu rezultata naše studije možemo da zaključimo da postoji značajna razlika između starosti pacijentkinje i ishoda trudnoće ($U=34.5$; $p=0.001$) (Tabela 10). Mlađe pacijentkinje imaju bolju rezervu jajnika izraženu kroz vrednost AMH u serumu, bolji kvalitet jajnih ćelija i samim tim možemo očekivati bolji ishod trudnoće. Slaba korelacijska veza ($R=0.327$) između broja živorođene dece (kao zavisne varijable) i godina života (nezavisna varijabla) uočena je u dijagramu rasturanja jer se tačke u dijagramu grupišu oko zamišljene krive linije koja je interpolisana između tačaka u dijagramu rasturanja. To znači da će sa porastom godina života pacijentkinja dolaziti do pada reproduktivnog potencijala posmatranih žena (Grafikon1). Postojanje korelacije između ishoda trudnoće i starosti žene potvrđuje i Barri. On je u grupi žena < 35 godina kod kojih je primenjeno operativno lečenje endometrioma zabeležio stopu trudnoća od 61.68% odnosno 29.7% u grupi žena >35 godina starosti ($p<0.05$). U grupi žena gde je IVF bio primarna opcija, stopa kliničkih trudnoća <35 godina iznosila je 35.7% odnosno 25.0% >35 ($p<0.05$) (112). Barada je sproveo studiju koja je uključila žene sa smanjenom rezervom jajnika i koje su na osnovu vrednosti AMH podeljene u sledeće grupe: AMH <0.1 ng/mL, AMH 0.11-0.4 ng/mL, AMH od 0.41-0.8 ng/mL, AMH 0.81-1.2 ng/mL. Trudnoća je bila zabeležena pri svim vrednostima AMH u serumu ali je verovatnoća za trudnoću bila ispod 5 % kod AMH ispod 0.4 ng/mL da bi značajno porasla ($p=0.001$) pri vrednosti AMH 0.81-1.2 ng/mL. Žene koje su zatrudnele imale su značajno veće vrednosti AMH, od onih koje nisu uspele da zatrudne ($p=0.001$) (72). Šanse za trudnoću i živorođenje nakon ART postupka postoji čak i

kod žena sa ekstremno niskim vrednostima AMH u serumu (0.1-0.4 ng/mL). Rezultati našestudije pokazali su postojanje korelacije između vrednosti AMH u serumu 12 meseci nakon operacije i stope živorođene dece. U grupi žena sa vrlo niskim vrednostima AMH u serumu ≤ 0.4 ng/mL 6 žena (19.35%) je ostalo u drugom stanju i rodilo živo dete. U grupi žena sa vrednostima AMH u serumu 0.41-1.1 ng/mL 4 žene (12.90%) su zatrudnele i rodile živo dete. U grupi žena sa vrednošću AMH u serumu 1.2-2.5 ng/mL 4 žene (12.90%), odnosno u grupi žena sa vrednošću AMH u serumu ≥ 2.5 ng/mL 9 žena (29%) je ostvarilo trudnoću koja je rezultirala rađanjem živog deteta. Najveća stopa trudnoća koja je rezultirala živorođenjem ostvarena je kod žena sa najvećim vrednostima AMH u serumu. U našoj studiji uočeno je postojanje slabe korelacione veze ($R=0.225$) između broja živorođene dece (kao zavisne varijable) i vrednosti AMH u serumu (nezavisna varijabla) jer se tačke grupišu oko zamišljene krive linije, koja je interpolisana između tačaka u dijagramu rasturanja (Grafikon 2). Ovi rezultati naše studije potvrđuju postojanje korelacije između stope trudnoća, koje rezultiraju živorođenjem i vrednosti AMH u serumu. Najveća stopa trudnoća koja je rezultirala živorođenjem ostvarena je kod žena sa najvećim vrednostima AMH u serumu. Trudnoća je zabeležena pri svim vrednostima AMH čak i u odsustvu detektovanog AMH u serumu (170). Prema našim saznanjima, Fraisse je prvi objavio rad sa trudnoćom pri niskim vrednostima AMH u serumu 2007. godine ($AMH < 0.4$ ng/mL) (171). Gleicher je našao da se stopa živorođenja drastično povećava pri vrednosti AMH od > 1.05 ng/mL (170). Prema Gleicheru, sve vrednosti $AMH < 1.05$ ng/mL pokazuju statistički sličnu nisku stopu živorođenja. Jedino su vrednost AMH ($p=0.001$) i starost ($p<0.001$) bili su značajno udruženi sa stopom živorođenja (170). Prema Schefferu starost kao marker je najbolji pojedinačni prediktor reproduktivnog ishoda kod žene (172). Retrospektivna studija Nakagawe uključila je 33 infertilne žene sa endometriomom jajnika koje su podvrgnute laparoskopskoj cistektomiji. Na osnovu nalaza podeljene su dve grupe zavisno od toga da li nalaz zahteva dalji IVF postupak ili ne (175). Pacijentkinje su mešovane sa 70 žena koje su podvrgnute ART lečenju bez laparoskopije kao kontrolna grupa. Stopa trudnoće nakon laparoskopske cistektomije endometrioma u IVF i non IVF podgrupi bile su 50.0% i 60.9%, dok je u kontrolnoj grupi žena iznosila 41.4%. Kumulativna stopa trudnoća u non IVF podgrupi dostigla je 52.2% 12 meseci nakon operativnog lečenja. Studija Littmana prikazala je pacijentkinje sa neuspelim IVF pokušajima prosečno 2.2 (± 0.7) a kod kojih je u 76% (22/29) slučajeva došlo do spontanog zatrudnjivanja nakon laparoskopskog lečenja endometrioma (176). Kod 22/29 žena (76 %) došlo je do trudnoće nakon operativnog lečenje. Littman savetuje da u odsustvu okluzije tuba ili teškog muškog faktora infertiliteta, laparoskopija može da se razmotri kao opcija lečenja čak i nakon multiplih neuspeh IVF pokušaja. Milingos je zabeležio da je 53% žena nakon laparoskopskog lečenja endometrioma prečnika (≥ 3 cm) kao jedinog uzroka infertiliteta ostalo u drugom stanju u roku od 2 godine nakon operativnog lečenja (101). Coccia ME i dr je zabeležila stopu trudnoća nakon laparoskopske cistektomije

endometrioma kod 302 operisane žene od 48.2%, od čega je stopa spontanih trudnoće iznosila 35.4% dok je do trudnoće nakon IVF postupka došlo u 12.58%. Stopa trudnoće kod žena direktno upućenih na IVF iznosila je 18.2%. Recidiv endometrioma zabeležen je u 24.2% slučajeva.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Vera Miodrag Kovačević, Luka Momir Anđelić Ana Mitrović Jovanović. **Changes in serum antimüllerian hormone levels in patients 6 and 12 months after endometrioma stripping surgery.** Fertil Steril 2018 Nov;110(6): 1173-1180. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.07.019.

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „„Uticaj laparoscopske cistektomije endometrioma na rezervu jajnika““ kandidata dr Vere Kovačević, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja laparoscopske cistektomije endometrioma na rezervu jajnika i fertilnu sposobnost žena. Zasnovano na rezultatima naše studije, zaključili smo da laparoscopsko hirurško lečenje endometriotične ciste primenom tehnike “ljušćenja“ uz upotrebu bipolarnе struje za uspostavljanje hemostaze dovodi do neizbežnog i neželjenog oštećenja rezerve jajnika u pacijentkinja sa jednostranom i/ili obostranom endometriotičnom cistom jajnika. Do pada u rezervi jajnika dolazi odmah nakon operacije. Značajni prediktori vrednosti AMH u serumu 6 i 12 meseci nakon operacije su: bazalna vrednosti AMH u serumu, starost pacijentkinje kao i prisustvo obostrane endometriotične ciste. Na osnovu rezultata našeg istraživanja možemo zaključiti da su starost pacijentkinje i vrednost AMH u serumu najvažniji prediktori fertilne sposobnosti žene. Ovi nalazi moraju da se uzmu u obzir posebno kada imamo pacijentkinju koja je starije životne dobi ili sa obostranom endometriotičnom cistom, a koja je zainteresovana za očuvanje svoje fertilitnosti. Na osnovu radova koji su do sada publikovani i zaključka ove disertacije može se očekivati korigovanje operativnog pristupa, operativne tehnike i izvora energije koji se koristi za uspostavljanje hemostaze a sve u cilju očuvanja rezerve jajnika i fertilne sposobnosti žena.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Vere Kovačević i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 30.06.2022.

Članovi Komisije:

Prof dr Biljana Kastratović Kotlica

2. Prof dr Mladenko Vasiljević

3. Prof dr Tihomir Vejnović,

Mentor:

Prof dr Ana Mitrović Jovanović
