

# Dodavanje progesterona tijekom prijenosa svježih i zamrznutih embrija

---

Šafarić, Rahela

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:708349>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-16**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Rahela Šafarić**

**Dodavanje progesterona tijekom prijenosa svježih i zamrznutih  
embrija**



**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2024.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Kliničkom bolničkom centru „Zagreb“, Klinici za ženske bolesti i porode, Zavodu za humanu reprodukciju pod vodstvom prof. dr. sc. Dinke Pavičić Baldani, dr. med. I predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023./2024.

## KRATICE

AH- pomognuto izlijeganje (*engl.* assisted hatching)

AFC – broj antralnih folikula (*engl.* antral follicle count)

AMH- AntiMüllerov hormon

ASRM- Američko društvo za reproduktivnu medicinu

ESHRE- Europsko društvo za humanu reprodukciju i embriologiju

FET- frozen embryo transfer (prijenos zamrznutih embrija)

FSH- folikulostimulirajući hormon

GnRH- gonadotropin-oslobađajući hormon

hMG- humani menopauzalni gonadotropin

ICSI- intracitoplazmatska injekcija spermija

IUI- intrauterina inseminacija

IVF- izvantjelesna oplodnja

LH- luteinizirajući hormon

MPO- medicinski pomognuta oplodnja

OHSS- sindrom hiperstimulacije jajnika

PGT-predimplantacijsko genetičko testiranje

PGT-A- preimplantacijsko genetičko testiranje za aneuploidiju

## Sadržaj

### SAŽETAK

### SUMMARY

<b>1.UVOD</b> .....	1
1.1. Progesteron.....	1
1.1.1. Sinteza progesterona.....	2
1.2. Oplodnja.....	3
1.2.1.Medicinski potpomognuta oplodnja.....	5
1.2.2.lijekovi koji se koriste za stimulaciju i indukciju ovulacije .....	12
1.2.2.1. Klomifen citrat.....	12
1.2.2.2. Inhibitori aromataze.....	13
1.2.2.3.Egzogeni gonadotropini.....	13
1.2.2.4.Indukcija ovulacije pulsirajućim GnRH.....	14
1.2.2.5.GnRH analozi.....	15
<b>2.DODAVANJE PROGESTERONA TIJEKOM PRIJENOSA SVJEŽIH I ZAMRZNUTIH EMBRIJA</b> .....	17
2.1. Prijenos embrija.....	17
2.2. Krioprezervacija embrija.....	19
2.3. Potpora lutealne faze.....	22
2.4. Prijenos zamrznutih embrija.....	23

2.4.1. Prirodni i modificirani prirodni ciklus FET-a.....	24
2.4.2. Dodavanje progesterona tijekom prirodnog i modificiranog prirodnog FET ciklusa.....	25
2.4.3. Programirani ciklus FET-a.....	28
2.5. Dodavanje progesterona tijekom prijenosa svježih embrija.....	29
2.6. Ishodi trudnoće prilikom prijenosa svježih i zamrznutih embrija.....	31
<b>3.ZAKLJUČAK.....</b>	<b>32</b>
<b>4.ZAHVALE.....</b>	<b>33</b>
<b>5.LITERATURA.....</b>	<b>34</b>
<b>6.ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>40</b>

## **SAŽETAK**

### **Dodavanje progesterona tijekom prijenosa svježih i zamrznutih embrija**

**Autor: Rahela Šafarić**

Progesteron je ključan hormon za prijelaz endometrija iz proliferativne u sekretornu fazu, što je vitalno za implantaciju embrija i održavanje trudnoće. Ovaj hormon regulira menstrualni ciklus, mijenja cervikalnu sluz i sprječava kontrakcije mišića maternice. Progesteron se sintetizira iz kolesterola u jajnicima, nadbubrežnim žlijezdama i mozgu, pri čemu se kolesterol pretvara u pregnenolon, a potom u progesteron. Medicinski pomognuta oplodnja (MPO) obuhvaća metode kao što su intrauterina inseminacija (IUI), izvantjelesna oplodnja (IVF), intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI), embriotransfer prethodno zamrznutih embrija (FET), donaciju gameta, predimplantacijsko genetičko testiranje (PGT), pomognuto izlijevanje (AH), očuvanje plodnosti i surogatstvo. Embriji se prenose u maternicu s pomoću katetera nakon kultivacije, a kvaliteta prijenosa može se poboljšati pravilnim rukovanjem embrijima i minimiziranjem izloženosti nepovoljnim uvjetima. Nakon prijenosa embrija, podrška lutealnoj fazi ključna je za održavanje funkcije žutog tijela i uspješnu implantaciju, što se postiže primjenom progesterona ili ponovljenim injekcijama hCG-a. Dodatak progesterona značajno poboljšava ishod trudnoće kod prijenosa svježih i zamrznutih embrija. Krioprezervacija embrija uključuje metode poput sporog zamrzavanja i vitrifikacije, koje sprječavaju formiranje kristala leda i toksičnih koncentracija otopina. U prirodnim i modificiranim prirodnim ciklusima FET-a (dodavanje progesterona može smanjiti kontraktilnost maternice, potaknuti imunološke prilagodbe i poboljšati uvjete za implantaciju embrija. Sve ove metode i postupci imaju za cilj poboljšanje stope uspješnosti trudnoće, uz posebnu pažnju na pravilno vrijeme i način primjene progesterona kako bi se osigurao optimalan ishod prijenosa embrija.

Ključne riječi: progesteron, izvantjelesna oplodnja ( IVF), prijenos embrija



## **SUMMARY**

### **Addition of progesterone during fresh and frozen embryo transfer**

**Author: Rahela Šafarić**

Progesterone is a key hormone for transitioning the endometrium from the proliferative to the secretory phase, which is vital for embryo implantation and the maintenance of pregnancy. This hormone regulates the menstrual cycle, alters the cervical mucus, and prevents uterine muscle contractions. Progesterone is produced from cholesterol in the ovaries, adrenal glands, and brain, where cholesterol is converted into pregnenolone and then into progesterone. Medically assisted reproduction (MAR) includes methods such as ovulation induction, intrauterine insemination (IUI), in vitro fertilization (IVF), intracytoplasmic sperm injection (ICSI), frozen embryo transfer (FET), gamete donation, preimplantation genetic testing (PGT), assisted hatching (AH), fertility preservation and surrogacy. After the embryos have been cultivated, they are transferred into the uterus using a catheter. The quality of the transfer can be enhanced by ensuring proper handling of the embryos and minimizing exposure to unfavorable conditions. Following the embryo transfer, it's essential to provide luteal phase support to maintain corpus luteum function and facilitate successful implantation. This can be achieved through the administration of progesterone or repeated hCG injections. Progesterone supplementation significantly improves pregnancy outcomes in both fresh and frozen embryo transfers. Embryo cryopreservation includes methods like slow freezing and vitrification, which prevent the formation of ice crystals and toxic concentrations of solutions. In natural and modified natural cycles of FET adding progesterone can reduce uterine contractility, promote immunological adaptations, and improve conditions for embryo implantation. All these methods and procedures aim to improve pregnancy success rates, with special attention to the proper timing and method of progesterone administration to

ensure optimal embryo transfer outcomes.

Keywords: progesterone, in vitro fertilization (IVF), embryo transfer

## 1.Uvod

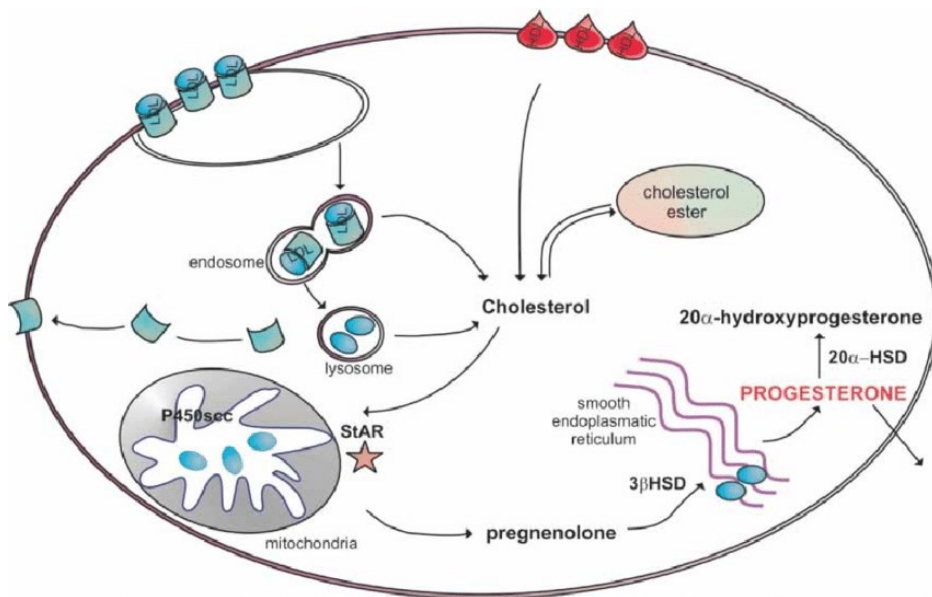
### 1.1.PROGESTERON

Reproduktivni hormon progesteron je steroidne građe i omogućuje prijelaz endometrija iz proliferativne faze u sekretornu fazu. Tijekom implantacije olakšava ugnježđenje blastociste te nam je važan pri uspješnom održavanju trudnoće(1). Progesteron djeluje antagonistički u odnosu na estrogen pa će tako progesteron zaustaviti mitoze u endometriju, inhibirati aromatazu i sulfotransferazu(2). Iako djeluje antagonistički u odnosu na estrogen, u kontroli menstrualnog ciklusa djeluje sinergistički s estrogenom radi poticanja skoka luteinizirajućeg hormona (LH) pri kraju folikularne faze. Poznato je da je progesteron hormon kojeg luči žuto tijelo (corpus luteum) u jajniku nakon ovulacije. Međutim, manje količine progesterona mogu se proizvesti i prije ovulacije, a upravo taj predovulatorni skok može igrati ključnu ulogu u pripremi maternice za moguću trudnoću. Predovulatorni skok progesterona ima ulogu u finom podešavanju vremena i intenziteta LH skoka, što je ključao za pokretanje ovulacije. Dodatno, predovulatorni skok progesterona može također utjecati na razine drugih hormona uključenih u reproduktivni ciklus, poput estrogena, osiguravajući skladnu hormonalnu ravnotežu potrebnu za uspješnu ovulaciju i moguću trudnoću. Iako predovulatorni skok progesterona nije toliko poznat ili istražen kao postovulatorni porast ovog hormona, sve više studija ukazuje na njegov značaj u reproduktivnom ciklusu. Njegova uloga u finom podešavanju različitih aspekata reproduktivnog sustava naglašava važnost hormonske ravnoteže i koordinacije za uspješnu plodnost(2). Izlučivanje veće količine progesterona pri kraju folikularne faze dovest će to inhibicije LH i do povećanog lučenja FSH(3). Uz kontrolu menstrualnog ciklusa, zadaća progesterona je mijenjanje cervikalnog faktora i inhibicijski učinak na kontrakcije mišića(2). 8 dana nakon preovulatornog skoka LH-a, dolazi do vrhunca lučenja

progesterona te se to vrijeme vrhunca poklapa s dvodnevnom prozorom za implantacijom blastociste u endometrij. Kada dođe do implantacije i trudnoće, uloga progesterona je imunomodulatorna i vazodilatatorna koja je važna zbog smanjenja krvnog tlaka tijekom trudnoće i sprječavanja nastanka preeklampsije i hipertenzije u trudnoći. Funkcija progesterona nije samo pripremanje maternice za implantaciju, već progesteron potiče i razvoj režnjića i alveola dojke i pospješuje sekreciju sluznice u jajovodu(4).

### **1.1.2. Sinteza progesterona**

Progesteron je steroidni hormon koji se sintetizira u jajnicima, najveći dio iz kolesterola koji dolazi iz krvi i manji dio od acetil-koenzima A(4). Osim u jajnicima, progesteron se sintetizira i u nadbubrežnim žlijezdama i u mozgu(5). Na početku sinteze steroidnih hormona prvo se sintetiziraju progesteron i androgeni (testosteron, androstendion). U tijeku luteinske faze ovarijskog ciklusa stvara se znatno više progesterona nego što se može razgraditi, pa se dio progesterona luči u krvni optok (4). Sama sinteza progesterona je jednostavan proces koji se sastoji od 2 koraka. Prvi korak je pretvaranje kolesterola u pregnenolon u mitohondrijima pomoću enzima koji razgrađuje bočni lanac kolesterola, poznatog i kao P450scc enzim. Drugi korak u sintezi progesterona je pretvaranje pregnenolona u progesteron putem enzima  $3\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaze (4).(slika 1).



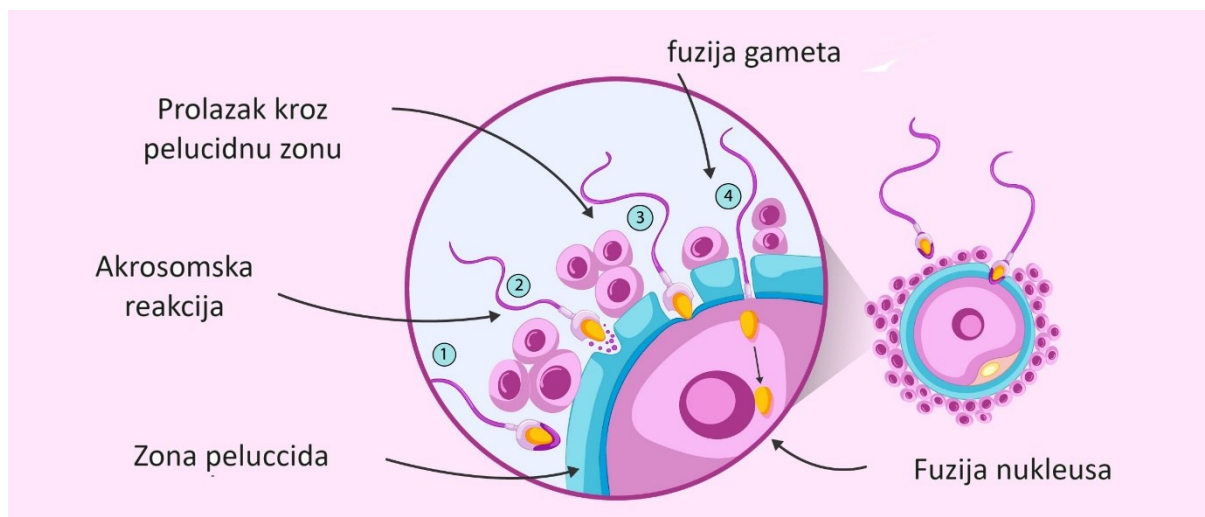
Slika 1. biosinteza progesterona iz kolesterola. Preuzeto od researchgate.net (6)

Metabolizam progesterona događa se u jetri, a glavni produkt razgradnje je pregnandiol te se u tom obliku izluči oko 10% izvornog progesterona mokraćom(2,4).

## 1.2. Oplodnja

Oplodnja(fertilizacija) je završni korak u složenom procesu ulaska spermija u jajnu stanicu. Kako bi došlo do uspješne oplodnje, u žena se mora desiti ovulacija. Ovulacija se događa 36-38h nakon početnog skoka LH. Par minuta nakon ovulacije, zrela jajna stanica dopijeva u ampulu jajovoda i ostaje u metafazi II mejotičke diobe sve dok ne bude oplodena spermijem(2,7). Do oplodnje u jajne stanice može doći već nakon 6-8h nakon ovulacije, dok su spermiji za oplodnju sposobni čak 48-72h(2). Funkcionalno sazrijevanje ili kapacitacija nužni su procesi koji se moraju dogoditi prije nego što spermiji postanu sposobni za oplodnju(8). Kapacitacija spermija je proces koji uključuje promjene neophodne za omogućavanje spermijima da oplode jajnu stanicu, a karakterizira je spremnost za akrosomsku reakciju, sposobnost vezivanja za zonu

pelucidu i povećana pokretljivost spermija(7). Druga promjena koja se mora dogoditi u spermiju je akrosomska reakcija koja je nužna za oplodnju i uključuje promjene lipida i glikoproteina u staničnoj membrani spermija, što dovodi do destabilizacije plazmatske membrane i akrosomske membrane ispod nje. Kao rezultat, iz akrosoma se oslobađaju enzimi poput hijaluronidaze, neuraminidaza-sličnog čimbenika, kumulus dispergirajućeg enzima i proteaze akrosina(7). Oplodnja jajne stanice događa se u ampuli jednog od jajovoda, no kako bi došlo do uspješne oplodnje spermij mora prodrijeti kroz *coronu radiatu* (više slojeva stanica granuloze) koja je s vanjske strane pričvršćena na jajnu stanicu(4). Zona pellucida je glikoproteinska ovojnica koja obavija jajnu stanicu te ima dvije uloge koje su posebno bitne kod oplodnje. Sadrži receptore koji su specifični za vrstu i sprečava ulazak više spermija u jajnu stanicu kako bi se spriječila poliplodija(2). Nakon što spermij enzimatski razgradi zonu pelucidu koja okružuje samu jajnu stanicu, dolazi do odabira i ulaska samo jednog spermija u citoplazmu jajne stanice(2,4) (slika 2.). Fuzijom gameta dolazi do nastavka II.mejotičke diobe koji se završava za 2-3 sata i aktivaciju metabolizma jajne stanice(2). Tim procesom nastaje zrela jajna stanica (ženski pronukelus) i sekundarni polocit koji se potom izbacuje(2,4). Tijekom procesa oplodnje mijenja se i spermij. Ulaskom u jajnu stanicu, glava spermija nabubri i postane muški pronukleus te raspadanjem pronuklearnih membrana nastaje zigota. Posljednji stadij oplodnje završava spajanjem kromosoma (singamija) Od fuzije samih gameta do singamije potrebno 18-21 sati(2).



Slika 2. Proces oplodnje. Preuzeto i prevedeno prema invitra.com (9)

### 1.2.1. Medicinski pomognuta oplodnja

Medicinski potpomognuta oplodnja (MPO) obuhvaća niz tehnika osmišljenih za pomoć pojedincima i parovima koji imaju problema s neplodnošću. Ove metode uključuju različite razine intervencije i mogu se prilagoditi specifičnim uzrocima neplodnosti.(2). Prije započinjanja MPO treba obraditi moguće uzroke neplodnosti para nizom dijagnostičkih i kliničkih pretraga. Treba uzeti anamnezu te napraviti fizikalni pregled žene i muškarca. U početnoj obradi traži se potvrda ovulacije i normalne anatomije ženskog reproduktivnog sustava kod žene (10). Dijagnostički testovi dokaza ovulacije uključuju mjerenje koncentracije LH te progesterona u serumu gdje vrijednosti iznad 4-6 ng/mL u luteinskoj fazi ukazuju na postojanje ovulacije. Radi isključenja smanjene ovarijske rezerve mjere se razine folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i estradiola u ranoj folikularnoj fazi i analiza AntiMüllerovog hormona (AMH). Za ispitivanje ovarijske rezerve koristi se i određivanje broja antralnih folikula ultrazvučnom pretragom (*engl.* antral follicle account, AFC). Neplodnost kod muškaraca procjenjuje se analizom ejakulata tj. spermograma, DNA fragmentacijom spermija, hormonskom obradom i

genetičkim testiranjem(10). U metode medicinski potpomognute oplodnje ubrajaju se: 1. indukcija ovulacije; 2. Intrauterina inseminacija (IUI); 3. *In vitro* fertilizacija (IVF); 4. Intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI); 5. Donacija spermija ili jajnih stanica; 6. Preinplantacijsko genetičko testiranje (PGT); 7. Pomognuto izlijeganje (*engl.* Assisted hatching, AH); 8. Očuvanje plodnosti i 9. Surogatstvo. Indukcija ovulacije uključuje uporabu lijekova za poticanje folikulogeneze i u principu se koristi kod anovulatorne neplodnosti. Najčešće korišteni lijekovi pri indukciji ovulacije su klomifen citrat, letrozol, rjeđe gonadotropini u niskim dozama. Intrauterina inseminacija odnosi se na postupak pri kojem se prikupljeni, isprani i koncentrirani spermiji uz pomoć katetera ubacuju u maternicu u vrijeme ovulacije. Najčešća indikacija za IUI je nerazjašnjena neplodnost, cervikalni čimbenik neplodnosti te blaža muška neplodnosti. IVF je najpoznatija i najraširenija metoda MPO. U ovom se postupku najčešće koriste gonadotropini radi stimulacije ovulacije kako bi se u jednom ciklusu potakla višestruka folikulogeneza. U vrijeme uobičajeno potaknute ovulacije korištenjem humanog korionskog gonadotropina (hCG) transvaginalno se pod kontrolom ultrazvuka aspiriraju jajne stanice. Oplodnja dobivenih jajnih stanica vrši se izvan tijela u laboratoriju. Dobiveni embriji kultiviraju se da bi se potom prenijeli u maternicu žene u postupku koji se naziva embriotransfer (ET). U današnje vrijeme potiče se ET jednog embrija kako bi se izbjegao nastanak višeplođnih trudnoća. Intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI) poseban je oblik IVF-a koji se prvenstveno koristi za liječenje teže muške neplodnosti. U navedenom se postupku jedan spermij direktno ubrizgava u jajnu stanicu kao bi se olasala oplodnja. Nastali embrij se zatim transferira u maternicu kao kod klasičnog IVF-a. Embriotransfer prethodno zamrznutog embrija (FET) je postupak u kojem se embriji dobiveni u „svježem“ ciklusu pohranjuju (krioprezerviraju) za daljnje korištenje. Donacija gameta – jajnih stanica ili spermija koristi se u slučajevima kada jedan od



partnera ne može proizvesti održive gamete. Donirani spermiji koriste se u kombinaciji s IUI ili IVF-om za postizanje trudnoće, dok se donirane jajne stanice koriste u postupku IVF-a ili ICSI-a. Predinplantacijsko genetičko testiranje (PGT) koristi se u kombinaciji s IVF-om za pregled embrija na genetske poremećaje prije embriotransfera. Kod PGT-a učini se biopsija nekoliko stanica embrija na kojima se potom provodi genetska analiza kako bi se identificirale eventualne abnormalnosti embrija. Pomognuto izlijevanje (AH) je tehnika se ponekad koristi u IVF-u kako bi se pomoglo embriju da se izlegne iz svoje vanjske ovojnice. Očuvanje plodnosti uključuje tehnike za očuvanje plodnosti kod osoba koje se podvrgavaju tretmanima koji bi mogli utjecati na njihovu plodnost (npr. kemoterapija). Surogat majčinstvo je postupak u kojem surogat majka nosi trudnoću za drugu osobu ili par. Danas se gotovo isključivo koristi tzv. gestacijsko surogatstvo u kojem surogat majka nosi embrij stvoren putem IVF-a koristeći gamete namjeravanih roditelja i nema genetsku povezanost s djetetom. Rjeđe se koristi tzv. tradicionalno surogatstvo kod kojeg je surogat majka inseminirana spermijima namjeravanog oca i genetski je povezana s djetetom. Kao što je ranije navedeno najčešće korištena metoda medicinski potpomognute oplodnje je IVF. Dakle, IVF je metoda gdje se oocite iz prethodno stimuliranih jajnika uzimaju transvaginalno pod kontrolom ultrazvuka i samim time se zaobilaze jajovodi u kojima se inače događa *in vivo* oplodnja(2,8). Prvi korak u ciklusu IVF-a je stimulacije ovulacije. Postoji više protokola koji se koriste pri tom koraku. Protokoli stimulacije jajnika za IVF dizajnirani su da potaknu jajnike na stvaranje više folikula u jednom menstrualnom ciklusu. Izbor protokola ovisi o različitim čimbenicima, uključujući dob pacijentice, rezervu jajnika i odgovor na prethodnu stimulaciju.

Dugi GnRH agonistički protokol jedan je od najčešće korištenih protokola. Počinje fazom supresije u srednjoj lutealnoj fazi prethodnog ciklusa korištenjem GnRH agonista kao što je primjerice leuprolid acetat kako bi se inhibirali endogeni gonadotropini hipofize, sprečavajući prijevremenu ovulaciju. Nakon potvrde supresije, gonadotropini (FSH ili kombinacija FSH i LH) se primjenjuju u dozama individualno određenim za svaku pacijenticu uobičajeno temeljem vrijednosti AMH ili AFC. Praćenje rasta folikula vrši se serijskim ultrazvučnim pretragama, ali i određivanjem vrijednosti estrogena u serumu. Humani korionski gonadotropin (hCG) ili GnRH agonist koristi se kada folikuli dosegnu odgovarajuću veličinu za poticanje konačnog sazrijevanja oocita. Prikupljanje (aspiracija) oocita provodi se 34-36 sati nakon poticanja ovulacije. GnRH antagonistički protokol u današnje je vrijeme popularniji od dugog GnRH agonističkog protokola zbog kraćeg trajanja i nižeg rizika od nastanka sindroma hiperstimulacije jajnika (OHSS). Gonadotropini se počinju primjenjivati 2. ili 3. dana menstrualnog ciklusa, a GnRH antagonisti poput cetorelix-a ili ganirelix-a dodaju se obično oko 6. dana kako bi se spriječila prijevremena ovulacija. Kao i kod dugog GnRH agonističkog protokola folikulogeneza se prati hormonskim i ultrazvučnim pretragama. hCG ili GnRH agonist koriste se za konačno sazrijevanje oocita, a aspiracija se provodi se 34-36 sati nakon poticanja ovulacije. Mikrodozni flare protokol često se koristi kod pacijentica s lošim odgovorom jajnika ili smanjenom rezervom jajnika. Mala doza GnRH agonista počinje se primjenjivati 2. dana ciklusa kako bi se potaknulo početni skok u oslobađanju gonadotropina iz hipofize. Gonadotropini se počinju dodavati ubrzo nakon početka primjene GnRH agonista. Praćenje rasta folikula, konačno sazrijevanje ako i aspiracija oocita vrši se na prethodno spomenut način. IVF s prirodnim ciklusom uključuje minimalnu ili nikakvu stimulaciju. Prirodni ciklus pacijentice prati se pomoću ultrazvuka i određivanjem razine hormona. U nekim

slučajevima može se koristiti vrlo mala doza gonadotropina ili oralno primijenjenih lijekova poput klomifen citrata. hCG se primjenjuje kada vodeći folikul dosegne odgovarajuću veličinu, a aspiracija oocita usklađena je s prirodnom ovulacijom, obično 34-36 sati nakon poticaja ovulacije. Blagi protokoli stimulacije koriste niže doze lijekova za poticanje ovulacije. Koriste se niže doze gonadotropina i ponekad oralno primijenjeni lijekovi poput klomifen citrata ili letrozola. Stimulacija u lutealnoj fazi manje je konvencionalan protokol gdje stimulacija počinje u lutealnoj fazi menstrualnog ciklusa. Protokoli se često prilagođavaju pojedinačnim pacijenticama na temelju njihovih specifičnih potreba i odgovora na prethodne tretmane. Svi protokoli nose rizik od OHSS-a, iako neki, poput antagonist protokola, imaju niži rizik. Izbor protokola može utjecati na broj i kvalitetu prikupljenih jajašaca, što zauzvrat utječe na uspješnost IVF-a. (10,11,12). Kao što je prethodno navedeno, aspiracija jajnih stanica vrši se otprilike 34–36 sati nakon početka sazrijevanja oocita injekcijom hCG. Kašnjenje izvan ovog intervala nosi rizik od nastanka ruptуре folikula, odnosno ovulacije, dok preuranjena aspiracija može rezultirati dobivanjem većeg broja nezrelih oocita. Svaki folikul se punkтира pod kontrolom ultrazvuka, a folikularna tekućina se aspirira u zagrijanu sterilnu epruvetu i odmah prenosi u embriološki laboratorij. Jajna stanica mora završiti svoju prvu mejotičku diobu kako bi bila uspješno oplodjena(12,13). Drugi korak u ciklusu IVF-a nam je sama *in vitro* oplodnja jajne stanice i spermija. Oplodnja jajne stanice postiže se ubacivanjem spermija kroz membranu jajne stanice izravno u citoplazmu u postupku ICSI dok se jajna stanica inkubira s količinom tekućine koja sadrži približno 50,000 spermija u postku IVF(12,13). Nakon 24 sata provedenih u kulturi, jajne stanice se pregledavaju. Ukoliko je došlo do oplodnje bit će vidljiva dva pronukleusa (muški i ženski). U takvim se situacijama kultiviranje se nastavlja još 24–48 sati, tijekom kojih embriji dosežu četvorostanični do osmostanični stadij (slika 3.) te se njihova kvaliteta

provjerava mikroskopskom procjenom morfologije. U nekim se ustanovama prije zadnjeg koraka u ciklusu IVF-a radi preimplantacijsko genetsko testiranje za aneuploidiju (PGT-A). PGT-A je postupak koji se koristi radi provjere ima li embrij normalan broj kromosoma prije nego što se vrati u maternicu. Aneuploidija je stanje u kojem stanica ima abnormalan broj kromosoma, što može dovesti do pobačaja, neuspjele implantacije ili genetskih poremećaja kod potomstva. PGT-A omogućava odabir embrija s najvećim potencijalom za uspješnu trudnoću, smanjujući rizik od pobačaja i genetskih poremećaja. Ovaj postupak je posebno koristan za žene starije dobi, one s poviješću ponavljajućih pobačaja, ili parove s poznatim kromosomskim abnormalnostima(12). Zadnji korak u ciklusu IVF-a je transfer embrija. Nakon provjere kvalitete embrija, obično se odabere 1 ili 2 embrija za prijenos kako bi se spriječila mogućnost nastanka multiplih trudnoća, dok se ostali embriji mogu krioprezervirati u tekućem dušiku za kasniju upotrebu(12). Prijenos embrija izvodi se pomoću fleksibilnog katetera za prijenos, u koji se embriji stave, suspendirani u 50 µl medija za kulturu. Transcervikalni prijenos zahtijeva umetanje Cusco spekuluma, čišćenje cerviksa radi uklanjanja viška sluzi, te nježno umetanje katetera za prijenos do oko 1 cm ispod fundusa. Abdominalni ultrazvuk sve se više koristi za praćenje položaja katetera i može rezultirati poboljšanjem stopa trudnoće u usporedbi s kliničkom metodom palpacije. Nakon što je kateter na mjestu, tekućina koja sadrži embrije ubrizgava se u materničnu šupljinu. Kvaliteta prijenosa embrija može se poboljšati „laganim“ postupkom prijenosa(12,13). Nakon embriotransfera nužno je primijeniti lijekove koji podržavaju lutealnu fazu. Naime, lutealna faza može biti insuficijentna u IVF ciklusima zbog nekoliko razloga povezanih s načinom stimulacije jajnika i aspiracijom oocita. Tijekom IVF ciklusa koriste se lijekovi poput agonista ili antagonista GnRH kako bi se spriječila prijevremena ovulacija. Ovi lijekovi potiskuju prirodno

izlučivanje LH, koji je ključan za održavanje funkcije žutog tijela u lutealnoj fazi. Bez dovoljno LH, žuto tijelo stvara nedovoljno progesterona. Dodatno, u IVF ciklusu, ovulacija je inducirana injekcijom hCG, što ne može potpuno replicirati kompleksnu hormonalnu podršku prirodne ovulacije. Nadalje, sam postupak aspiracije jajnih stanica dovodi do oštećenja folikula što može utjecati na sposobnost žutog tijela da proizvodi dovoljno progesterona. Svemu navedenom treba pribrojiti da stimulacija jajnika često dovodi do razvoja višestrukih folikula koji proizvode visoke razine estrogena. Ovaj povećani estrogen može imati negativan povratni učinak na hipofizu, smanjujući izlučivanje LH, što opet može rezultirati insuficijentnom lutealnom fazom. Neke žene mogu imati inherentne probleme s funkcijom žutog tijela, što može biti pogoršano lijekovima i postupcima korištenim u IVF ciklusu. Zbog ovih razloga, podrška žutom tijelu potrebna je u IVF ciklusima. To se obično postiže dodavanjem egzogenog progesterona (u obliku intramuskularnih ili subkutanih injekcija, vaginalnih supozitorija ili oralnih tableta) nakon aspiracije oocita kako bi se osigurala adekvatna razina progesterona i podržala implantacija embrija te održavanje rane trudnoće. Podrška žutom tijelu može se pružiti i primjenom hCG-a, no takav pristup iako ne pokazuje razliku u stopi trudnoća u odnosu na primjenu progesterona, nosi veći rizik nastanka ovarijskog hiperstimulacijskog sindroma (OHSS)(12).



Slika 3. 8-stanični embrij. Preuzeto od Atlas.eshre.eu (14)

## **1.2.2.LIJEKOVI KOJI SE KORISTE ZA INDUKCIJU I STIMULACIJU OVULACIJE**

### **1.2.2.1.Klomifen citrat**

Lijek prvog izbora kod indukcije ovulacije je klomifen citrat, strukturno sličan estrogenu te djeluje na razini hipotalamičkih estrogenskih receptora tako da smanjuje negativnu povratnu spregu endogenih estrogena na lučenje gonadotropin-oslobađajućeg hormona (GnRH) , a posljedično time i na lučenje gonadotropina LH I FSH koje će biti pojačano. Klomifen citrat se uobičajeno daje od 3. do 7. odnosno 5.do 9.dana ciklusa u dozama od 50-100mg dnevno s očekivanom ovulacijom od 6.do 9. dana nakon posljedne doze klomifen citrata(2). Kod nekih žena se može javiti rezistencija na klomifen citrat, no uz kombiniranu terapiju klomifen citrata s metforminom, egzogenim humanim korionskim gonadotropinom (hCG) ili glukokortikoidima može se postići indukcija ovulacije. Korištenje kombinirane terapije opravdava se u slučaju nekoliko

neuspješnih ciklusa indukcije ovulacije s klomifen citratom ili na temelju anamneze i laboratorijskih testova žene(11).

#### **1.2.2.2. Inhibitori aromataze**

U novije vrijeme, lijekovi anastrozol i letrozol, inhibitori aromataze, iako su registrirani kao lijekovi za liječenje raka dojke u postmenopauzalnih žena, sve se više koriste i za indukciju ovulacije na temelju njihovog poznatog mehanizma djelovanja. Inhibiranjem enzima aromataze dolazi do smanjene sinteze estrogena što potiče negativnu povratnu spregu i povećanu sekreciju GnRH što posljedično uzrokuje i povećanu sekreciju LH i FSH. Iako klomifen citrat i inhibitori aromataze dovode do povećane sekrecije GnRH, zbog različitih mehanizama djelovanja dolazi i do različite kliničke važnosti tih lijekova. Prednost inhibitora aromataze naspram klomifen citrata je da se nakon prekida uzimanja inhibitora aromataze razine estrogena odmah povećaju i dolazi do većeg smanjenja FSH te to smanjuje vjerojatnost nastanka multiplih trudnoća (16).

#### **1.2.2.3. Egzogeni gonadotropini**

Gonadotropini se već dugi niz godina široko koriste diljem svijeta za indukciju i stimulaciju ovulacije. Za tu svrhu se primjenjuju tri glavna egzogena gonadotropina: folikulostimulirajući hormon (FSH), luteinizirajući hormon (LH) i humani korionski gonadotropin (hCG). Trenutačno su ovi gonadotropini dostupni u formama dobivenim iz urina (osim LH-a) i rekombinantnim formama. FSH (uz ili bez LH-a) koristi se za poticanje rasta folikula, dok se hCG koristi za poticanje ovulacije zrelih folikula. Izbor režima liječenja gonadotropinima temelji se na vrsti ovulatorne disfunkcije kod

pacijentice i cilju liječenja. Indukcija i stimulacija jajnika primjenom gonadotropina obično se primjenjuje kod tri različite skupine pacijentica: žene s anovulacijom iz WHO grupe II (pretežno kod sindroma policističnih jajnika (PCOS)), žene s hipogonadotropnim hipogonadizmom (WHO grupa I) i ovulatorne žene koje se podvrgavaju IVF-u. Optimalno bi bilo odabrati gonadotropin za poticanje ovulacije kod žena s PCOS-om koji ne sadrži LH zbog povišenih razina prirodnog LH-a kod tih žena. Ipak, i humani menopauzalni gonadotropin (hMG) i čisti FSH pripravci su se pokazali učinkovitima u indukciji ovulacije kod ovih žena. Gonadotropini se kod pacijentica sa PCOS koriste u niskim dozama kako bi se smanjio rizik OHSS-a. Žene s hipogonadotropnim hipogonadizmom (WHO grupa I) imaju izrazito niske razine endogenih gonadotropina te im za optimalan razvoj folikula i steroidogenezu trebaju egzogeni FSH i LH. Iako samo FSH može izazvati razvoj folikula, navedeno je povezano sa postizanjem suboptimalnim vrijednosti estradiola u cirkulacije i posljedičnom nižom stopom trudnoća. Za uspješnu rast i razvoj folikula potrebna je mala količina egzogenom LH-a, stoga se kod pacijentica s hipogonadotropnim hipogonadizmom preferira dodavanje malih količina LH primjenjenom rekombinantnom FSH (17).

#### **1.2.2.4. Stimulacije ovulacije pulsirajućim GnRH**

Primjena pulsirajućeg GnRH-a putem infuzijske pumpe ili subkutano, u dozama od 15 do 20 mg ili intravenski u dozama od 5 do 10 mg s intervalom od 60 do 90 minuta, dokazala se kao sigurna, jednostavna i učinkovita terapija s mnogim prednostima u usporedbi s terapijom gonadotropinima. Osobito je korisna za pacijente s idiopatskim hipogonadotropnim hipogonadizmom i amenorejom povezanom s gubitkom tjelesne težine. Pulsirajući GnRH potiče prirodno oslobađanje FSH-a, što rezultira događajima



karakterističnim za normalni ovulacijski ciklus. Nakon ovulacije, primjena pumpe može se nastaviti tijekom lutealne faze ili prekinuti, uz pružanje podrške lutealnoj fazi. Usporedba s terapijom gonadotropinima pokazuje da terapija pulsirajućim GnRH-om zahtijeva manje praćenja, a rezultira značajno većom stopom monoovulacije. Stoga su stope višestrukih trudnoća vrlo niske, a teški OHSS gotovo se ne javlja(18). Praćenje terapije i prilagodba doze temelji se na redovitim mjerenjem FSH, LH, estradiola i progesterona, te uz redovitu intravaginalnu ultrazvučnu pretragu. Ovulacija se definirana rupturom dominantnog folikula uz kontinuirano povećanje razine progesterona u serumu. Nakon utvrđene ovulacije uklanja se pumpa, a pacijenticama se započinje s primjenom terapije za podršku lutealnoj fazi(19). Nuspojave povezane s GnRH pumpom su obično minimalne i uglavnom se odnose na lokalnu iritaciju na mjestu uboda igle. Rjeđe se viđa tromboflebitis nakon intravenske primjene. Pulsirajuća GnRH terapija danas se rijetko koristi zbog manje praktičnosti temeljene na potrebi za nošenjem infuzijske pumpe i redovitih medicinskih pregleda za prilagodbu terapije. Također, terapija može biti skuplja i zahtijeva strogo medicinsko nadziranje kako bi se osigurala ispravna primjena i praćenje odgovora na liječenje (18). Iako je ova metoda poticanja ovulacije vrlo uspješan u liječenju hipotalamičke anovulatorne neplodnosti, jedinstvena sposobnost pulsirajućeg GnRH-a da obično dovodi do razvoja samo jednog dominantnog folikula čini ga neadekvatnim za korištenje u postupcima *in vitro* fertilizacije(20).

#### **1.2.2.5. GnRH analozi**

GnRH analozi koji se koriste u indukciji ovulacije su GnRH agonisti i GnRH antagonisti. Ključan dio stimulacije ovulacije u postupku IVF/ICSI uključuje primjenu dodatnih lijekova kako bi se spriječila prijevremena luteinizacija. Dva pristupa ovom problemu

su smanjenje osjetljivosti hipofize dugotrajnom svakodnevnom primjenom agonista GnRH ili trenutna blokada sekrecije LH hipofize pomoću antagonista GnRH-a (21) .

GnRH agonisti djeluju tako što inicijalno stimuliraju izlučivanje gonadotropina (LH i FSH) iz hipofize, ali nakon nekoliko dana kontinuirane primjene, dovode do desenzitizacije receptora na GnRH u hipofizi. To rezultira smanjenjem izlučivanja LH i FSH, čime se kontrolira prirodni ovulacijski ciklus. U IVF protokolima, GnRH agonisti se koriste na dva glavna načina u tzv. u dugom ili kratkom protokolu. U dugom protokolu GnRH agonist se započinje koristiti u lutealnoj fazi prethodnog ciklusa (otprilike 7-10 dana prije očekivane menstruacije) i nastavlja se do početka stimulacije jajnika gonadotropinima. Ovaj pristup omogućuje potpunu supresiju prirodnog ciklusa, čime se osigurava bolja kontrola stimulacije jajnika. U kratkom protokolu, GnRH agonist se započinje koristiti na početku menstrualnog ciklusa i koristi se zajedno s gonadotropinima za stimulaciju jajnika. Ovaj pristup smanjuje ukupno trajanje liječenja i može biti korisniji za žene s određenim indikacijama, poput onih sa niskom ovarijskom rezervom. GnRH antagonisti djeluju tako što odmah blokiraju GnRH receptore u hipofizi, čime se brzo smanjuje izlučivanje LH i FSH. Ovo omogućuje bržu kontrolu nad hormonskim ciklusom bez početnog povećanja gonadotropina koje se javlja kod GnRH agonista. U antagonističkom protokolu stimulacija jajnika započinje gonadotropinima, a GnRH antagonist se dodaje nekoliko dana kasnije (obično na 5. ili 6. dan stimulacije) kako bi se spriječio preuranjeni LH skok i ovulacija. Ovaj protokol ima nekoliko prednosti poput kraćeg trajanja liječenja i manjeg rizika OHSS-a te veće fleksibilnosti u liječenju. Odabir između GnRH agonista i antagonista u IVF protokolu ovisi o individualnim karakteristikama pacijentice, povijesti liječenja, odgovoru na prethodne stimulacije, te preferencijama liječnika i pacijentice. Oba pristupa imaju svoje prednosti i mogu biti učinkoviti u postizanju uspješne trudnoće (22).

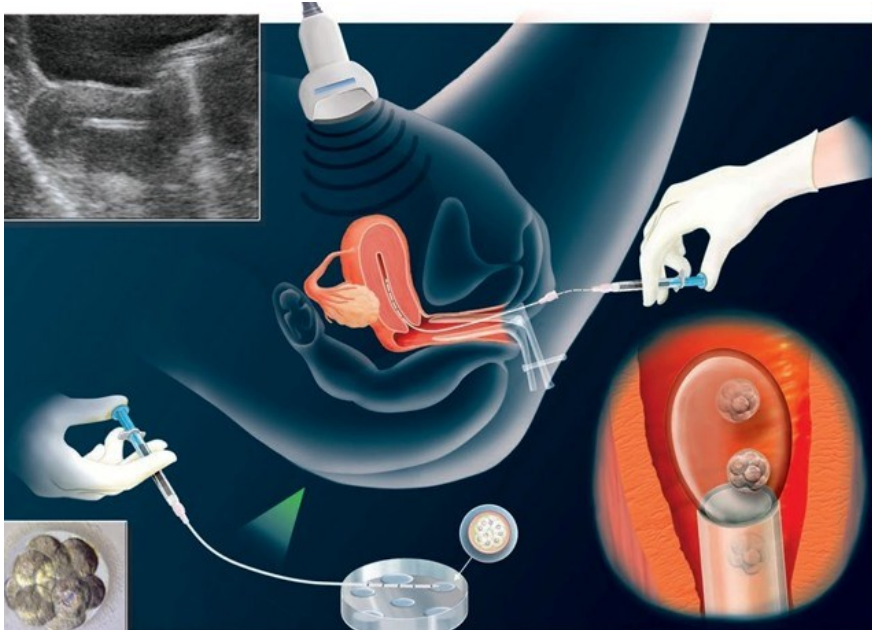
## **2.DODAVANJE PROGESTERONA TIJEKOM PRIJENOSA SVJEŽIH I ZAMRZNUTIH EMBRIJA**

### **2.1. Prijenos embrija**

Nakon početnih uspjeha u postizanju trudnoća putem IVF-a prije gotovo tri desetljeća, mnoge sastavnice ovog procesa su evoluirale, dok je tehnika prijenosa embrija ostala gotovo nepromijenjena. Iako je ključna za uspjeh IVF-a, tehnika prijenosa embrija često je bila zapostavljena. Danas je jasno prepoznato da loša kvaliteta embrija ili nepovoljni uvjeti maternice mogu utjecati na uspjeh implantacije, što čini tehniku prijenosa od vitalne važnosti za uspjeh postupka. Glavni cilj uspješnog prijenosa embrija je precizno smještanje u maternicu na mjesto gdje je implantacija najvjerojatnija. Potencijalni uzroci neuspjelog prijenosa uključuju oštećenje endometrija tijekom uvođenja katetera, poticanje kontrakcija maternice, nepravilno polijeganje embrija te prisutnost krvi, sluzi ili bakterijske kontaminacije na vrhu katetera, kao i izostanak otpuštanja embrija(23,24). Iako je subjektivna, "težina" prijenosa embrija često se koristi kako bi opisala prijenose koji su dugotrajni, zahtijevaju upotrebu čvršćeg katetera, uzrokuju nelagodu ili uključuju dodatne instrumente poput tenakula. Glavni razlozi za teške prijenose uključuju stenozu cerviksa ili značajne promjene u položaju maternice. Određeni pristupi, poput izvođenja probnog prijenosa, korištenja ultrazvučnog vođenja ili upotrebe mekanog katetera, mogu olakšati prienos embrija(23). Prije početka postupka IVF-a, mogu se izvesti probni prijenosi kako bi se provjerila prikladnost maternične šupljine i cervikalnog kanala za sam prienos embrija. Ovi probni prijenosi mogu se obaviti prije početka stimulacije jajnika ili neposredno prije samog prijenosa embrija. U nekim IVF centrima, probni se prijenosi mogu obaviti u oba ova trenutka. Rezultati probnog prijenosa mogu pružiti korisne informacije koje mogu potaknuti kliničara na dodatne

mjere opreza prije samog prijenosa embrija. Primjerice, ukoliko probni prijenos pokaže da je cerviks previše sužen za prolazak katetera, može se planirati dilatacija cerviksa prije samog prijenosa embrija. Dokazi sugeriraju da takva dilatacija, provedena nekoliko tjedana prije prijenosa embrija, može poboljšati šanse za uspješnu implantaciju embrija. Stoga se preporučuje redovito provođenje probnih prijenosa 1 do 2 mjeseca prije početka ciklusa IVF-a. U prošlosti se za vođenje postavljanja transfernog katetera koristio "klinički dodir", gdje se kateter postavlja na udaljenost od oko ~10 mm od fundusa maternice prije ubrizgavanja embrija. Ova metoda oslanja se na taktička osjetila kliničara kako bi procijenio ispravan položaj katetera. Danas se uveliko koristi postavljanje katetera pod kontrolom ultrazvuka čime se olakšava identifikacija provođenja istog kroz cervikalni kanal i endometrijsku šupljinu, što dovodi do smanjenja trauma endometrija i omogućuje preciznija polijeganje embrija u šupljinu maternice. Ultrazvuk je posebno koristan u slučajevima deformacija maternice uzrokovane miomima ili u slučajevima postojanja ožiljaka od prethodnih carskih rezova, gdje se kateter može zapeti ili biti pogrešno usmjeren. Direktna vizualizacija katetera u cervikouterinom kutu olakšava umetanje, omogućujući liječniku postavljanje odgovarajuće zakrivljenosti, što je osobito korisno u izrazito savijenim maternicama (slika 4). Također, puni mjehur, potreban za pregled abdominalnim ultrazvukom, pomaže ispravljanju cervikouterinog kuta i olakšava ulazak katetera, posebice kod maternica koje leže u izraženoj ante ili retroverziji(23,24). Uobičajeno je postaviti vrh katetera 5–10 mm udaljeno od fundusa maternice, no nedavna istraživanja ukazuju na postizanje veće stope trudnoća ukoliko se vrh katetera postavi na veću udaljenost od fundusa (15–20 mm). Neki stručnjaci predlažu da bi idealno mjesto za postavljanje embrija trebalo uzeti u obzir duljinu maternične šupljine umjesto fiksne udaljenosti od fundusa. Također, važno je minimizirati vremenski interval između smještanja embrija

u kateter i njihovog polaganja u maternicu jer embriji mogu biti osjetljivi na promjene temperature, svjetlost ili druge čimbenike u kateteru. Dulji vremenski interval može smanjiti uspješnost implantacije, a interval više od 120 sekundi može rezultirati lošom prognozom(23,25).



Slika 4. Slikovni prikaz prijenosa embrija. Preuzeto od Gyne-invitro.ch(26)

## 2.2. Krioprezervacija embrija

Krioprezervacija embrija postaje neophodna u slučajevima kada se planirani prijenos embrija otkáže zbog različitih rizika kao što su hiperstimulacija jajnika, krvarenje endometrija ili povišene razine serumskog progesterona na dan okidanja ovulacije (27). Osnovni princip krioprezervacije je održavanje vitalnosti stanica u stanju mirovanja putem povećanja viskoznosti kako unutar tako i izvan stanica, na razini gdje su svi difuzijski i kemijski procesi suspendirani. Glavni izazov u krioprezervaciji embrija je spriječiti formiranje kristala leda i toksičnih koncentracija otopina, koji su glavni uzroci propadanja stanica tijekom procesa zamrzavanja, uz održavanje funkcionalnosti

unutarstaničnih organela i očuvanje vitalnosti embrija. Korištenje krioprotektivnih tvari olakšava dehidraciju stanica. Krioprotektivne tvari se mogu podijeliti u dvije glavne kategorije: 1) permeabilne krioprotektivne tvari (propilen glikol, dimetil sulfoksid, glicerol i etilen glikol) i 2) nepermeabilne krioprotektivne tvari (saharoza, trehaloza, glukoza, amid, fikor, proteini i lipoproteini). Permeabilne krioprotektivne tvari djelomično zamjenjuju vodu unutar stanica putem osmotskog gradijenta, dok nepropusne krioprotektivne tvari povećavaju osmolarnost izvan stanica, stvarajući osmotski gradijent preko membrane koji podržava dehidraciju stanica prije zamrzavanja(27,28). Metode koje se koriste tijekom krioprezervacije su metoda sporog zamrzavanja i vitrifikacija. Sporo zamrzavanje do nedavno je bio najčešći način krioprezervacije embrija, no danas je metoda vitrifikacije preuzela primat(28). Prije postupka sporog zamrzavanja, embriji se dehidriraju korištenjem mješavine permeabilnih i nepermeabilnih krioprotektivnih tvari tijekom 10 minuta(27). Početna otopina za zamrzavanje embrija hladi se s sobne temperature brzinom od 1–3 °C/min do blago pothlađenog stanja između -5 i -7 °C. Nakon toga, embriji se hlade na -180 °C brzinom od 40 °C/min prije uranjanja u tekući dušik. Neki protokoli preskaču konačnu fazu hlađenja i embriji se odmah uranjaju u tekući dušik čim dosegnu temperature ispod -30 °C(29). Druga metoda krioprezervacije embrija je vitrifikacija. Slično sporom zamrzavanju, dehidracija stanica postiže se pomoću permeabilnih krioprotektivnih tvari. Međutim, za razliku od sporog hlađenja, vitrifikacija ne pokušava održavati ravnotežu s obje strane stanične membrane. Vrijeme za dehidraciju je kratko, koncentracija krioprotektivnih tvari je viša, a brzina hlađenja znatno veća. Kod metode vitrifikacije primjenjuje se ultrabrzo hlađenje kako bi se tekućina transformirala u staklasto stanje povećanjem viskoznosti, što smanjuje vrijeme izloženosti uzorka temperaturama koje mogu uzrokovati oštećenja i stvaranje ledenih kristala. Protokoli

za vitrifikaciju embrija su jednostavniji od onih za sporo zamrzavanje i ne zahtijevaju zamrzivač s kontroliranom brzinom hlađenja ili drugu skupu opremu. Permeabilne krioprotektivne tvari primjenjuju se u dva koraka: najprije se embriji izlažu 50% konačne koncentracije krioprotektivnih tvari tijekom 5 do 15 minuta, što omogućuje izlazak unutarstanične vode i ulazak krioprotektivnih tvari te uspostavljanje ravnoteže. Nakon toga, embriji se izlažu konačnoj 30 do 40% otopini krioprotektivnih tvari na minimalno vrijeme (manje od 60 sekundi) potrebno za smanjenje volumena stanice. Embriji se zatim uranjaju u tekući dušik i, ovisno o nosaču, volumenu uzorka i sastavu otopine, hlade se brzinom od 2,5 do  $30 \times 10^3$  °C/min(30). Vitrifikacija je sve popularnija u odnosu na sporo zamrzavanje jer stanice bolje preživljavaju nakon odmrzavanja. Osnovni eksperimenti pokazuju manje oštećenja stanica tijekom vitrifikacije te ova tehnika donosi značajno poboljšanje stopa preživljavanja, oplodnje, razvoja embrija te postizanja kliničkih trudnoća u usporedbi sa sporijim postupkom zamrzavanja i odmrzavanja(31). Iako je vitrifikacija općenito sigurna i učinkovita, postoje određeni rizici i izazovi povezani s ovim postupkom. Jedan od rizika je oštećenje embrija tijekom procesa zamrzavanja i odmrzavanja. Iako su moderni postupci vitrifikacije smanjili ovaj rizik, mogućnost oštećenja stanica embrija i dalje postoji. Također, neki embriji možda neće preživjeti proces zamrzavanja i odmrzavanja, što može smanjiti broj dostupnih embrija za transfer. Postoji i mogućnost formiranja ledenih kristala, koji mogu oštetiti stanične strukture embrija ako proces zamrzavanja nije pravilno izveden. Iako je rizik minimalan, postoji mogućnost kontaminacije tijekom procesa vitrifikacije ili skladištenja u tekućem dušiku. Uspješnost vitrifikacije može varirati ovisno o iskustvu i stručnosti osoblja te kvaliteti laboratorijske opreme i protokola. Troškovi vitrifikacije i skladištenja embrija također mogu biti značajni za pacijente. Iako rijetko, mogu se pojaviti genetske ili epigenetske promjene kao rezultat procesa zamrzavanja i odmrzavanja. Unatoč

ovim rizicima, vitifikacija embrija smatra se vrlo sigurnom i uspješnom metodom za očuvanje plodnosti i povećanje šansi za trudnoću u budućnosti. Korištenje moderne tehnologije i pažljivo praćenje postupaka može minimizirati većinu potencijalnih rizika(32).

### **2.3. Potpora lutealne faze**

U prirodnom ciklusu, dominantni folikul proizvodi sve veće količine estradiola, što pokreće porast LH. Prije nego što LH dosegne svoj vrhunac, povećava se amplituda i učestalost njegovog pulsiranja, što naposljetku vodi do LH porasta koji uzrokuje nastavak mejoze oocita, luteinizaciju granuloznih stanica, ovulaciju i početak razvoja žutog tijela. Granulozne stanice i teka stanice tada proizvode do 40 mg progesterona dnevno, zajedno sa značajnim količinama androgena i estradiola. Progesteron inducira sekretornu transformaciju endometrija, čineći ga spremnim za implantaciju. Endometrijska receptivnost ovisi o trajanju izloženosti progesteronu nakon što odgovarajuće izloženosti estradiolu, što je ključno za interakciju trofoblasta i endometrija. Za razliku od prirodnog ciklusa, gdje obično postoji jedan dominantni folikul, cilj stimulacije jajnika u postupcima pomognute oplodnje je razvoj više folikula kako bi se povećale šanse za trudnoću. Višestruki rast folikula postiže se primjenom egzogenih gonadotropina, što dovodi do vrlo visokih razina estradiola i progesterona, ne samo u folikularnoj fazi, već i u ranoj lutealnoj fazi. Povišene razine hormona inhibiraju lučenje LH iz hipofize putem negativne povratne sprege, što rezultira nedovoljno funkcionalnom lutealnom fazom kod gotovo svih pacijentica. Za kompenzaciju nedostatka lutealne faze nakon stimulacije jajnika i održavanje sekretornog endometrija, ključno je osigurati odgovarajuću potporu lutealne faze, što



je nužno nakon stimulacije jajnika(33). Iako su i dodatna primjena progesterona i hCG-a doveli do sličnih stopa kliničkih trudnoća, primjena hCG-a povezana je s većim rizikom nastanka OHSS-a. Stoga se za potporu lutealne faze uglavnom koristi primjena progesterona. Prediktor za defekt lutealne faze je razina serumskog progesterona. Ukoliko je razina serumskog progesterona u sredini lutealne faze ispod 10 ng/mL, to ukazuje na mogući defekt lutealne faze(34). Pokazano je da se odgovarajuća podrška lutealnoj fazi može postići i korištenjem intramuskularnih injekcija progesterona od 100 mg dnevno i primjenom vaginalnog mikroniziranog progesterona u dozama od 300 do 600 mg dnevno. Iako su vaginalni pripravci i intramuskularne injekcije progesterona jednako učinkoviti u podršci lutealne faze, preferira se upotreba vaginalnih pripravaka zbog ozbiljnih nuspojava povezanih s intramuskularnim injekcijama progesteronom. Međutim, oralna primjena mikroniziranog progesterona nije pokazala efikasnost u izazivanju sekretornih promjena na endometriju(35).

#### **2.4. Prijenos zamrznutih embrija**

Nakon što su embriji krioprezervirani, slijedi transfer zamrznutih embrija (*engl.* frozen embryo transfer-FET). Vitifikacija embrija uz kasnije odmrzavanje u ciklusu FET-a donosi niz prednosti, uključujući postizanje prirodnijeg okruženja na razini endometrija bez utjecaja prekomjernih razina steroidnih hormona što je vidljivo u „svježem“ ciklusu. Određivanje optimalnog vremena za FET kao i korištenje optimalne metode pripreme endometrija i podrške lutealnoj fazi smatraju se ključnim aspektima za postizanje uspjeha, odnosno trudnoće. Ključna je prisutnost žutog tijela u trenutku FET-a, jer osigurava pulsirajuću proizvodnju progesterona i pruža lučenje određenih endogenih

molekula, kao što je relaksin. U programiranim ciklusima FET-a, gdje žuto tijelo nedostaje, očekuje se drugačija hormonalna i endometrijska dinamika, što zahtijeva specifičnu podršku steroidima kako bi se osigurao uspješan proces implantacije. Stoga je važno pravilno pripremiti endometrij i osigurati optimalnu podršku lutealne faze kako bi se postigao uspjeh u ciklusima FET-a. Trenutni protokoli pripreme endometrija mogu se podijeliti na prirodne i modificirane prirodne cikluse FET-a, gdje je prisutno endogeno žuto tijelo, te programirane cikluse, gdje endogeno žuto tijelo nedostaje(36).

#### **2.4.1. Prirodni i modificirani prirodni ciklus FET-a**

Određivanje vremena odmrzavanja i transfera embrija obično se temelji na prirodnom porastu LH ili poticanju ovulacije. Ovaj pristup pripreme endometrija primjenjuje se samo kod osoba s redovitim ovulacijskim ciklusima. Glavni cilj pravog prirodnog ciklusa je postići preciznu sinkronizaciju endometrija i embrija za implantaciju putem prirodnog razvoja folikula, bez upotrebe hormonske terapije, te obaviti transfer embrija unutar fiziološkog prozora za implantaciju. Unutar prirodnog ciklusa, važno je pratiti prirodni porast LH tijekom razvoja folikula i redovito kontrolirati razine LH i progesterona. Kada folikul dosegne veličinu od 17 mm ili više, potrebno je češće pratiti znakove ovulacije. Nakon zabilježenog porasta LH, vrijeme transfera embrija prilagođava se embriju, uzimajući u obzir mogućnost ovulacije unutar 24 do 56 sati, obično unutar 24 sata nakon porasta LH. Ukratko, ako je debljina endometrija veća od 7 mm, a promjer dominantnog folikula prelazi 17 mm, nakon prirodnog porasta LH moguće je izvesti transfer embrija trećeg dana za embrije u ranom stadiju razvoja, ili petog dana za embrije u stadiju blastociste(36). U prirodnim ciklusima ovulacije, postoji uvjerenje da žuto tijelo koje se razvija prirodno podržava proces implantacije embrija, dok je pravi nedostatak lutealne faze izuzetno rijedak. Međutim, podrška lutealnoj fazi u prirodnim

ciklusima zamrznutih embrija česta je praksa u mnogim klinikama diljem svijeta(37). Dok se nedostatak lutealne faze prijavljuje u oko 8% prirodnih ciklusa, neki istraživači navode veće stope živorođenja kod pacijenata koji primaju vaginalne kapsule progesterona nakon prirodnog porasta LH, dok drugi ne vide korist od lutealne podrške u prirodnim ciklusima. Nove studije su pokazale da postoji znatna varijabilnost u trajanju menstrualnog ciklusa, uključujući i nepravilnosti u duljini lutealne faze. Navedeno može imati utjecaj na preciznost dijagnoze ovulacije i planiranje trenutka prijenosa embrija. Podrška lutealnoj fazi može biti korisna u slučajevima kada postoji asinkronija embrija i endometrija, bilo zbog prirodnih varijacija ili zbog netočnih interpretacija laboratorijskih rezultata(37). Glavna razlika u modificiranom prirodnom ciklusu je stimulacija ovulacije LH-om ili hCG-om, uz uvjete debljine endometrija, promjera dominantnog folikula i razine progesterona u serumu. Planiranje transfera embrija pretpostavlja potaknutu ovulaciju unutar 36 do 48 sati nakon stimulacije. Dugotrajni učinak hCG-a koji se koristi za poticanje ovulacije čini se da pruža određenu podršku lutealnoj fazi, zbog čega postoji konsenzus da dodatna podrška lutealnoj fazi nije potrebna u modificiranim prirodnim ciklusima(36).

#### **2.4.2. Dodavanje progesterona tijekom prirodnog i modificiranog prirodnog FET ciklusa**

Dodatna korist podrške lutealnoj fazi prije prijenosa embrija može biti smanjenje kontraktilnosti maternice. Povećana učestalost subendometrijskih kontrakcija tijekom prijenosa embrija, bez obzira jesu li spontane ili izazvane traumatičnim ili teškim embriotransferom, povezana je s manjom stopom trudnoće. Progesteron djeluje na smanjenje kontraktilnosti maternice i valne aktivnosti subendometrija. Stoga, pojačavanje izloženosti progesteronu u načelu može poboljšati ishod postupka.

Konačno, progesteron posreduje u nizu imunoloških prilagodbi koje potiču održavanje trudnoće. Potiče Th2-dominantno citokinsko okruženje istovremeno suzbijajući upalne imunološke odgovore, što se događa i na sistemskoj i lokalnoj razini. Imunomodulatorni učinci progesterona na endometrij sugerirani su kao podrška implantaciji embrija i održavanju trudnoće poglavito kod pacijentica sa ponovljenim gubitkom trudnoće. Preporučeni početak primjene podrške lutealnoj fazi varira ovisno o vrsti FET ciklusa. Za "prave" prirodne cikluse, neki stručnjaci sugeriraju početak podrške lutealnoj fazi prvog dana nakon detekcije porasta LH, dok drugi preporučuju početak primjene drugi ili treći dan nakon LH porasta, ili čak nakon samog prijenosa embrija. Modificirani prirodni FET ciklus predstavlja naprednu tehniku koja je prilagođenija pacijentima. U odnosu na prirodni FET ciklus modificirani prirodni FET ciklus je fleksibilniji i traži rjeđu primjenu ultrazvučnih i endokrinoloških pretraga(38).U modificiranim prirodnim FET ciklusima, uobičajeno je započeti s primjenom podrške lutealnoj fazi dva dana nakon primjene hCG-a. Navedene smjernice nisu temeljene na usporedbama, već na pretpostavci da endometrij zahtijeva određeno razdoblje progesterona nakon ovulacije kako bi omogućio uspješnu implantaciju embrija. Međutim, ne postoje službene smjernice o primjeni podrške lutealnoj fazi u prirodnim FET ciklusima objavljenih od strane Američkog društva za reproduktivnu medicinu (ASRM) ili Europskog društva za humanu reprodukciju i embriologiju(ESHRE) te se praksa primjene podrške lutealnoj fazi razlikuje među klinikama (37). Iako kod prirodnih ciklusa FET-a postoji raznolikost mišljenja među kliničarima oko opravdanosti primjene podrške lutealnoj fazi, postoji više razloga koji objašnjavaju prednosti primjene progesterona tijekom prirodnih FET ciklusa. Jedno od tih mogućih objašnjenja je da određeni broj neplodnih žena ima insuficijenciju lutealne faze te bi mogle imati koristi od primjene podrške lutealne faze, čak i u prirodnim FET ciklusima. Također, primjena

hCG-a za poticanje ovulacije nakon što je već započeo porast LH-a može imati negativan utjecaj na ishod ciklusa zbog pomicanja endometrijskog implantacijskog prozora. Primjena progesterona kod podrške lutealnoj fazi može pomoći u prevladavanju takvih izazova. Kada se uspoređuju farmakodinamika progesterona u nadomjesnim ciklusima i prirodnim ciklusima, primjetna razlika je u gubitku pulsacije i postizanju relativno stabilnih visokih razina progesterona uz podršku lutealne faze(39). Iako nema statistički značajne razlike u stopi trudnoće između različitih metoda primjene progesterona, vaginalna primjena se čini najprikladnijom metodom za podršku lutealnoj fazi. Pri vaginalnoj primjeni progesterona, osigurava se stabilna koncentracija progesterona na razini endometrija čak i kada su serumske razine progesterona niske, čime se smanjuje rizik od sistemskih nuspojava(40). Nadomještanje progesteronom tijekom lutealne faze pokazuje korisne učinke na ishod trudnoće nakon transfera zametaka u modificiranim prirodnim ciklusima. Otkriveno je da takva suplementacija značajno smanjuje stopu pobačaja i povećava stopu živorođenja u modificiranim prirodnim ciklusima, iako nije bilo značajnih razlika u stopi uspješnih trudnoća ili stopi implantacije embrija između skupine koja je primila suplementaciju progesteronom i skupine koja nije. Ovo ukazuje na moguću povezanost modificiranih prirodnih ciklusa transfera zametaka s nedostatkom lutealne faze, pri čemu nedostatak lutealne faze može doprinijeti nastanku veće stope pobačaja. U istraživanju provedenom od strane Bjurestena i suradnika, primijećeno je značajno povećanje stope živorođenja nakon transfera zametaka u prirodnim ciklusima uz suplementaciju progesteronom. Iako je zabilježena niža klinička stopa pobačaja u skupini koja je primila mikronizirani vaginalni progesteron u dozi od 400 mg dva puta dnevno od dana transfera embrija, razlika nije bila statistički značajna(41).

### **2.4.3. Programirani ciklus FET-a**

Osnovna karakteristika programiranih ciklusa zamrznutog prijenosa embrija je imitacija folikularne faze menstrualnog ciklusa korištenjem estradiola, a potom progesterona umjetno, bez stvaranja žutog tijela. Ova strategija korisna je za osobe s anovulatornim ciklusima(36). Estrogen se prvo primjenjuje kako bi se potaknuo rast endometrija, a zatim se dodaje progesteron za pripremu endometrija za prijenos embrija. U usporedbi s drugim protokolima, programirani FET ciklus je praktičniji i fleksibilniji za pacijente i liječnike jer omogućuje lakše planiranje prijenosa embrija uz nižu stopu otkazivanja ciklusa. Ipak, programirani FET ciklus može imati neke negativne strane, poput potencijalnih štetnih učinaka zbog primjene egzogenog estrogena i nedostatka žutog tijela. Estrogen se obično započinje primjenjivati unutar prva tri dana menstrualnog ciklusa kako bi se pripremio endometrij. Estradiol se može davati u fiksnoj dozi ili prema režimu postupnog povećavanja. Fiksna doza sprječava rast folikula i ovulaciju, dok režimi postupnog povećavanja omogućuju fiziološki porast razine estradiola. Fiksna doza iznosi 6 mg dnevno, počevši od prvog, drugog ili trećeg dana ciklusa. U režimu postupnog povećavanja, doza estradiola najčešće započinje s 2 mg dnevno tijekom prvog tjedna, zatim se povećava na 4 mg dnevno tijekom sljedećih pet dana, te se na kraju povećava na 6 mg dnevno do dana prijenosa embrija. Bitno je pravilno odabrati trenutak za primjenu progesterona kako bi se osiguralo odgovarajuće pripremanje endometrija i usklađivanje s prijenosom embrija u programiranom FET ciklusu. Korištenjem različitih tehnika za procjenu receptivnosti endometrija, mogu se odrediti pokazatelji koji ukazuju na prikladno razdoblje za implantaciju. Transvaginalni ultrazvuk se često koristi kao neinvazivna metoda za procjenu receptivnosti endometrija. Kada se potvrde odgovarajuća debljina endometrija, započinje se s primjenom progesterona, a termin za prijenos embrija planira se sukladno tome. Kod

pacijenata koji prolaze kroz programirani FET ciklus, pravilna primjena nadomjesne terapije progesteronom ključna je za postizanje uspješne trudnoće. Postoje različiti putovi primjene progesterona, kao što su oralna, intramuskularna i vaginalna primjena (supozitoriji ili gelovi). Svaki put ima svoje prednosti i nedostatke, uključujući praktičnost, udobnost pacijenta i brzinu apsorpcije. Također, dostupni su različiti oblici primjene progesterona, poput mikroniziranih kapsula, tableta, supozitorija i bio-ljepljivih gelova, koji mogu podržati receptivnost endometrija. Među različitim putovima primjene progesterona, vaginalna primjena je najčešća(38). Važno je započeti suplementaciju progesteronom tek kada je debljina endometrija veća od 7 mm, a razina progesterona u serumu manja od 1,5 ng/ml. Budući da sekretorne promjene nastupaju nakon ovog koraka, vrijeme odmrzavanja i prijenosa zamrznutog embrija bit će određeno prema trenutku primjene progesterona. Programirani ciklusi zamrznutog prijenosa embrija pokazuju slične stope trudnoće i spontanih pobačaja kao i prirodni ili modificirani prirodni ciklusi zamrznutog prijenosa embrija(36).

## **2.5. Dodavanje progesterona tijekom prijenosa svježih embrija**

Razlike između transfera svježih i zamrznutih embrija leže u hormonalnoj dinamici i lutealnoj fazi. U prijenosu svježih embrija, nakon stimulacije jajnika, obično se formira više žutih tijela, dok u prijenosu zamrznutih embrija taj broj može biti ograničen na jedan ili nijedan(36). U prijenosu svježih embrija, podrška lutealnoj fazi redoviti je korak jer je poznato da poboljšava kliničke stope trudnoće, trudnoća u tijeku i živorođenja. Tijekom stimulacije jajnika, funkcija žutog tijela je inhibirana te to dovodi do smanjenja razine progesterona. Promjene u razinama progesterona mogu negativno utjecati na sposobnost implantacije embrija. Postupak aspiracije oocita dovodi do gubitka određenog broja granulosa stanica, što može uzrokovati smanjenja funkcije žutog

tijela. Primjena progesterona, koja je sada glavna metoda podrške lutealnoj fazi, može se provoditi intramuskularno, potkožno, vaginalno i oralno. Intramuskularna primjena obično rezultira višim razinama serumskog progesterona nego vaginalna primjena, iako te razine možda ne odražavaju stvarne razine progesterona u endometrijskom tkivu. U prijenosu svježih embrija teško je procijeniti apsolutnu fiziološku razinu progesterona zbog lučenja endogenog žutog tijela i drugih čimbenika poput inhibicije lučenja hipofize, kontrolirane stimulacije jajnika i samog postupka aspiracije oocita te su stoga potrebna daljnja istraživanja kako bi se utvrdila najniža učinkovita razina serumskog progesterona u prijenosu svježih embrija(42). Prema smjernicama ESHRE, dnevna primjena 50 mg intramuskularnog progesterona, 25 mg subkutanog progesterona i 600 mg mikroniziranog vaginalnog progesterona pokazuje jednaku učinkovitost. Što se tiče vremena početka podrške lutealnoj fazi, dodavanje progesterona trebalo bi započeti između dana aspiracije oocita i trećeg dana nakon toga, dok je početak progesterona prije aspiracije oocita nepoželjan. Prema meta-analizi koja je obuhvatila 6 randomiziranih kontroliranih studija o trajanju primjene progesterona, nije pronađena značajna razlika u stopi živorođenja između pacijenata koji su prestali uzimati progesteron nakon pozitivnog testa trudnoće i onih koji su ga nastavili koristiti do 6./7. tjedna trudnoće. Navedeno ukazuje da možda nije potrebno nastaviti s suplementacijom progesterona nakon prvog pozitivnog nalaza testa na trudnoću. Sukladno tome, ESHRE preporučuje da se primjena progesterona za podršku lutealnoj fazi nastavi barem do dana učinjenog testa na trudnoću. Unatoč izdanim smjernicama ESHRE, primjećuje se velika varijacija u trajanju primjene progesterona u kliničkoj praksi: neki liječnici prekidaju primjenu na dan pozitivnog hCG testa, dok drugi preferiraju nastavak primjene do 12. tjedna trudnoće(43).



## **2.6. Ishodi trudnoće prilikom prijenosa svježih i zamrznutih embrija**

U istraživanju se primijetilo da je rani gubitak trudnoće bio češći u skupini koja je koristila zamrznuti prijenos embrija, ali ta razlika nije bila značajna u usporedbi s onima koji su koristili svježe embrije za prijenos. Također, uočilo se blago veće stope živorodenja kod zamrznutog transfera embrija. Aflatoonian i suradnici nisu otkrili značajne razlike između perinatalnih ishoda u svježim i zamrznutim trudnoćama, iako je broj živorođenih bio neznatno veći u svježim ciklusima, dok je broj prijevremenih rođenja bio značajno veći u zamrznutom ciklusu(44). Prema dosadašnjim istraživanjima, uspješna trudnoća ovisi o skladnom funkcioniranju složenih bioloških procesa, što uključuje interakcije između endometrija i fetusa. U postupku prijenosa zamrznutih embrija, embriji se smještaju u prirodno okruženje maternice, dok se u postupku prijenosa svježih embrija endometriji suočava s učincima hiperstimulacije jajnika, što može rezultirati neskladom između endometrijske receptivnosti i rasta fetusa. Drugim riječima, neprikladni uvjeti u maternici mogu dovesti do abnormalnih ishoda tijekom trudnoće. Budući da značajno smanjenje rizika od sindroma hiperstimulacije jajnika i poboljšanje ishoda trudnoće idu u korist FET postupka, ovaj bi postupak trebao biti preferiran(45). Ipak, važno je napomenuti da i svježi prijenos embrija i FET postupak imaju svoje prednosti i nedostatke. Konačna odluka o tome koji postupak odabrati trebala bi se temeljiti na profilu pacijenata i ostalim relevantnim faktorima(44).

### **3.Zaključak**

Dodavanje progesterona tijekom prijenosa svježih i zamrznutih embrija ključan je čimbenik za uspjeh IVF postupaka. Progesteron omogućuje prijelaz endometrija iz proliferativne u sekretornu fazu, olakšava implantaciju embrija i održava trudnoću. Lutealna faza, razdoblje nakon ovulacije i prije menstruacije, zahtijeva održavanje odgovarajuće razine progesterona kako bi se podržala implantacija i rani razvoj trudnoće. Progesteron se može primijeniti intramuskularno, oralno ili vaginalno, pri čemu je vaginalna primjena najčešća zbog manjih nuspojava. Kod prijenosa svježih embrija, primjena progesterona obično počinje nakon ovulacije ili aspiracije jajnih stanica, kako bi se osigurala adekvatna priprema endometrija za implantaciju. Tipično, administracija progesterona započinje 1 do 2 dana nakon aspiracije i nastavlja se sve dok se ne potvrdi trudnoća. Kod prijenosa zamrznutih embrija, primjena progesterona započinje nekoliko dana prije prijenosa, kako bi se pripremio endometrij za implantaciju u ciklusu bez ovulacije. Preporuke za početak podrške lutealnoj fazi variraju, no najčešće se primjena započinje prvog dana nakon detekcije porasta LH ili nakon prijenosa embrija. Ishodi trudnoće kod prijenosa svježih i zamrznutih embrija uz primjenu progesterona pokazuju visoke stope uspješnosti. Dodavanje progesterona kod svježih embrija smanjuje rizik od insuficijencije žutog tijela, dok kod zamrznutih osigurava adekvatnu pripremu endometrija. Upotreba progesterona prilagođava se specifičnim potrebama pacijentica, s ciljem postizanja optimalnih rezultata i minimaliziranja rizika. Statistički podaci pokazuju visoke stope trudnoće i rođenja živog djeteta kod oba pristupa, no potrebna su daljnja istraživanja za dodatnu optimizaciju protokola i poboljšanje skrbi za pacijentice.

#### **4.Zahvale**

Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Dinki Pavičić Baldani, na njenom mentorstvu, strpljenju i podršci tijekom izrade ovog diplomskog rada. Posebnu zahvalnost upućujem svojoj obitelji, dečku i prijateljima na neizmjerne podršci, ljubavi, savjetima i velikom razumijevanju koje su mi pružili tokom studija. Hvala što ste uvijek vjerovali u mene i bili uz mene na svakom koraku ovog puta.

## 5.Literatura

1. Taraborrelli S. Physiology, production and action of progesterone. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015 Nov;94 Suppl 161:8-16. doi: 10.1111/aogs.12771.
2. Šimunić V. i sur. *Ginekologija*. Prvo izdanje. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. Str. 48.-49., Str. 74.-75., Str. 357.-358., str.354.
3. Jessie K. Cable; Michael H. Grider. *Physiology: Progesterone*. Statpearls(Internet) : National Library of Medicine (ažurirano 01.05.2023. ; pristupljeno 15.5.2024.). Dostupno na : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558960/>
4. Guyton AC, Hall JE. U: Andreis I, Taradi Kukulja S, Taradi M, urednici. *Guyton i Hall: Medicinska fiziologija*. 13. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2017. Str. 1042-1046.
5. Sundström-Poromaa I, Comasco E, Sumner R, Luders E. Progesterone - Friend or foe? *Front Neuroendocrinol.* 2020 Oct;59:100856. doi: 10.1016/j.yfrne.2020.100856.
6. *Biology of the Corpus luteum - Scientific Figure on ResearchGate*. [slika s interneta] (pristupljeno 15.5.2024.) Dostupno na: [https://www.researchgate.net/figure/Pathway-for-progesterone-biosynthesis-in-a-luteal-cell-Three-sources-of-cholesterol-can\\_fig3\\_281581695](https://www.researchgate.net/figure/Pathway-for-progesterone-biosynthesis-in-a-luteal-cell-Three-sources-of-cholesterol-can_fig3_281581695)
7. Đelmiš J., Orešković S. i sur. *Fetalna medicina i opstetricija*. Zagreb. Medicinska naklada; 2014. str.51.
8. Rebecca Oliver; Hajira Basit. *Embryology: Fertilization*. Statpearls(Internet) : National Library of Medicine( ažurirano 17.04.2023. pristupljeno 15.5.2024.) dostupno na <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542186/>

9. Invitra.com. Penetration of the corona radiata. (slika s interneta) 2018 (pristupljeno 15.5.2024.) Dostupno na : <https://www.invitra.com/en/human-fertilization/penetration-of-the-corona-radiata/>
10. Hoffman BL., Schorge JO., Bradshaw KD., Halvorson LM., Schaffer JI., Corton MM. U: Orešković S., Duić Ž., Ivanišević M., Juras J., Kalafatić D., Mišković B, Šprem Goldštajn M, Vujić G, ur. Wiliamsova ginekologija. Treće izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2021. Str. 464, str.433.-437., Str.444.
11. Jennifer Choe; Antholy L. Shanks. In vitro fertilization. Statpearls(Internet): National Library of Medicine( ažurirano 04.09.2023. pristupljeno 21.05.2024.) dostupno na <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562266/>
12. Coughlan C, Ledger WL. In-vitro fertilisation. Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine. 2008 Nov;18(11):300–306. doi: 10.1016/J.OGRM.2008.08.009
13. Barad DH. In Vitro Fertilization (IVF). U: Huhtaniemi I, Martini L, urednici. Encyclopedia of Endocrine Diseases. 1.izdanje. Elsevier; 2004. str. 77.–81. doi: 10.1016/B0-12-475570-4/00769-1
14. Atlas.eshre.eu. Cell numbers (slika s interneta) (pristupljeno 15.5.2024.) Dostupno na: <https://atlas.eshre.eu/es/14550068476800020>
15. Kimelman D, Pavone ME. Non-invasive prenatal testing in the context of IVF and PGT-A. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. 2021 Feb;70:51–62. doi: 10.1016/J.BPOBGYN.2020.07.004
16. von Hofe J, Bates GW. Ovulation Induction. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America. 2015 Mar;42(1):27–37. doi: 10.1016/j.ogc.2014.09

17. Amer S. Gonadotropin induction of ovulation. *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine*. 2007 Jul;17(7):205–210. doi: 10.1016/J.OGRM.2007.06.001
18. Homburg R. Ovulation induction in perspective. *Human Reproduction Update*. 2002 Sep;8(5):449–462. doi: 10.1093/humupd/8.5.449
19. Christou F, Pitteloud N, Gomez F. The induction of ovulation by pulsatile administration of GnRH: an appropriate method in hypothalamic amenorrhea. *Gynecological Endocrinology*. 2017 Aug;33(8):598–601. doi: 10.1080/09513590.2017.1296948
20. Filicori M, Cognigni GE. Ovulation induction with pulsatile gonadotropin releasing hormone: missing in action. *Fertility and Sterility*. 2018 Apr;109(4):621–622. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.023
21. Lambalk CB, Banga FR, Huirne JA, Toftager M, Pinborg A, Homburg R, van der Veen F, van Wely M. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: a systematic review and meta-analysis accounting for patient type. *Human Reproduction Update*. 2017 Sep;23(5):560–579. doi: 10.1093/humupd/dmx017
22. Hayden C. GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques. *European Journal of Endocrinology*. 2008 Nov;159(Suppl 1) –S25. doi: 10.1530/EJE-08-0354
23. Mains L, van Voorhis BJ. Optimizing the technique of embryo transfer. *Fertility and Sterility*. 2010 Sep;94(3):785–790. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.03.030
24. Schoolcraft WB, Surrey ES, Gardner DK. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. *Fertility and Sterility*. 2001 Nov;76(5):863–870. doi: 10.1016/S0015-0282(01)02731-5

25. Mizrachi Y, McQueen DB. Embryo transfer success: It is in our hands. *Fertility and Sterility*. 2022 Nov;118(5):815–819. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.08.858.
26. Gyne-invitro.ch. IVF/ICSI ( slika s interneta ( pristupljeno 17.5.2024.) Dostupno na : <https://www.gyne-invitro.ch/cms/en-GB/Patienteninfo-Singer/Bilder-IVF-Dr-med-Michael-Singer-E.aspx?Sel=456>
27. Konc J, Kanyó K, Kriston R, Somoskői B, Cseh S. Cryopreservation of Embryos and Oocytes in Human Assisted Reproduction. *BioMed Research International*. 2014;2014:1–9. doi: 10.1155/2014/307268
28. Wong KM, Mastenbroek S, Repping S. Cryopreservation of human embryos and its contribution to in vitro fertilization success rates. *Fertility and Sterility*. 2014 Jul;102(1):19–26. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.027
29. Nel-Themaat L, Chang C-C, Elliott T, Bernal DP, Wright G, Nagy ZP. Slow Freezing of Embryos. In: Nagy ZP, Varghese AC, Agarwal A, editors. *In Vitro Fertilization*. Springer International Publishing; 2019. p. 689–700. doi: 10.1007/978-3-319-43011-9\_56
30. Sparks A. Human Embryo Cryopreservation—Methods, Timing, and other Considerations for Optimizing an Embryo Cryopreservation Program. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2015;33(02):128–144. doi: 10.1055/s-0035-1546826
31. Herrero L, Martínez M, Garcia-Velasco JA. Current status of human oocyte and embryo cryopreservation. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. 2011 Aug;23(4):245–250. doi: 10.1097/GCO.0b013e32834874e2
32. Michelmann HW, Nayudu P. Cryopreservation of Human Embryos. *Cell and Tissue Banking*. 2006 Jun;7(2):135–141. doi: 10.1007/s10561-005-0877-1

33. Lawrenz B, Coughlan C, Fatemi HM. Individualized luteal phase support. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2019 Jun;31(3):177-182. doi: 10.1097/GCO.0000000000000530
34. Le TMC, Duong KT, Nguyen QA, Ong PT, Nguyen THN, Thai TCT, Le QT, Roque M, Alviggi C. Effectiveness of progesterone supplementation in women presenting low progesterone levels on the day of frozen embryo transfer: a randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2022 Feb 23;12(2):e057353. doi: 10.1136/bmjopen-2021-057353
35. Yanushpolsky EH. Luteal phase support in in vitro fertilization. *Semin Reprod Med*. 2015 Mar;33(2):118-27. doi: 10.1055/s-0035-1545363
36. Pabuçcu E, Pabuçcu R, Gürgan T, Tavmergen E. Luteal phase support in fresh and frozen embryo transfer cycles. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2020 Jun 22:101838. doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101838
37. Mizrachi Y, Weissman A, Rozen G, Rogers PAW, Stern C, Polyakov A. Timing of progesterone luteal support in natural cryopreserved embryo transfer cycles: back to basics. *Reprod Biomed Online*. 2022 Jul;45(1):63-68. doi: 10.1016/j.rbmo.2022.03.021
38. Hsueh YW, Huang CC, Hung SW, Chang CW, Hsu HC, Yang TC, Lin WC, Su SY, Chang HM. Finding of the optimal preparation and timing of endometrium in frozen-thawed embryo transfer: a literature review of clinical evidence. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Aug 29;14:1250847. doi: 10.3389/fendo.2023.1250847
39. Mizrachi Y, Horowitz E, Ganer Herman H, Farhi J, Raziel A, Weissman A. Should women receive luteal support following natural cycle frozen embryo



- transfer? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2021 Jun 22;27(4):643-650. doi: 10.1093/humupd/dmab011
40. Schwartz E, Bernard L, Ohl J, Bettahar K, Rongières C, Lichtblau I, Pirrello O. Luteal phase progesterone supplementation following induced natural cycle frozen embryo transfer: A retrospective cohort study. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2019 Feb;48(2):95-98. doi: 10.1016/j.jogoh.2018.10.011
41. Kim CH, Lee YJ, Lee KH, Kwon SK, Kim SH, Chae HD, Kang BM. The effect of luteal phase progesterone supplementation on natural frozen-thawed embryo transfer cycles. *Obstet Gynecol Sci*. 2014 Jul;57(4):291-6. doi: 10.5468/ogs.2014.57.4.291
42. Nho EJ, Hong YH, Park JH, Kim SK, Lee JR, Jee BC, Kim SH. Efficacy of dual progesterone administration (intramuscular and vaginal) for luteal support in fresh day 3 or day 4 embryo transfer cycles. *Clin Exp Reprod Med*. 2020 Sep;47(3):227-232. doi: 10.5653/cerm.2020.03489
43. Di Guardo F, Midassi H, Racca A, Tournaye H, De Vos M, Blockeel C. Luteal Phase Support in IVF: Comparison Between Evidence-Based Medicine and Real-Life Practices. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Aug 18;11:500. doi: 10.3389/fendo.2020.00500
44. Pounikar M, Shrivastava P. Comparison of Fresh vs Frozen Embryo Transfer in Terms of Early Pregnancy Outcome. *Int J Infertil Fetal Med*. 2024;15(1):58-61. doi: 10.5005/jp-journals-10016-1339
45. Baradaran Bagheri R, Bazrafkan M, Sabour A, Ataei M, Badehnoosh B, Mashak B, Khakifirooz B, Moghaddam R. The comparison of pregnancy outcomes in fresh and frozen embryo transfer: A cross-sectional study. *Int J Reprod Biomed*. 2023 Aug 23;21(7):551-556. doi: 10.18502/ijrm.v21i7.13891

## **6.Životopis**

Rođena sam 29. travnja 1999. godine u Čakovcu. Od 2006. do 2014. godine pohađala sam Osnovnu školu dr.Vinka Žganca Vratišinec. Nakon završene osnovne škole upisala sam Gimnaziju Josipa Slavenskog Čakovec i maturirala 2018. godine s odličnim uspjehom. Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja bavila sam se cheerleadingom i plesom. Nakon završetka srednje škole i položenog prijemnog ispita, 2018. godine upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija aktivno sam sudjelovala u projektu „mRAK“ kao edukator, 2023.godine sam sudjelovala u organizaciji CROSS-a ( Croatian Student Summit ) te sam 2024.godine sudjelovala na studentskom kongresu OSCON kao aktivni sudionik. Kroz studij razvila sam poseban interes za područje ginekologije i opstetricije te se nadam kako će moja profesionalna karijera uspješno krenuti u tom smjeru.