

# Očuvanje plodnosti u žena

---

**Pukec, Lucija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*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:105:475592>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-14**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Lucija Puhec**

# **Očuvanje plodnosti u žena**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Lucija Puhec**

**Očuvanje plodnosti u žena**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2019.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ženske bolesti i porode, Petrova 13, Zagreb, pod vodstvom prof. dr. sc. Hrvoja Vrčića te je predan na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

## POPIS KRATICA

AFC – broj antralnih folikula (eng. *antral follicular count*)

AMH – anti-Müllerov hormon (eng. *anti-Müllerian hormone*)

COS – kontrolirana stimulacija jajnika (eng. *controlled ovarian stimulation*)

FET – prijenos odmrznutog embrija (eng. *frozen-thawed embryo transfer*)

FSH – hormon koji stimulira folikule (eng. *folliclestimulating hormone*)

GnRH – hormon koji oslobađa gonadotropine (eng. *gonadotropin-releasing hormone*)

GnRHa – agonist hormona koji oslobađa gonadotropine (eng. *gonadotropin-releasing hormone agonist*)

hCG – humani korionski gonadotropin (eng. *human chorionic gonadotropin*)

IVF – in vitro fertilizacija (eng. *in vitro fertilization*)

IVM – in vitro maturacija (eng. *in vitro maturation*)

LBR – stopa živorođenja (eng. *live birth rate*)

LH – luteinizirajući hormon (eng. *luteinizing hormone*)

MPO – medicinski potpomognuta oplodnja

OHSS – ovarijski hiperstimulacijski sindrom (eng. *ovarian hyperstimulation syndrome*)

OTC – krioprezervacija tkiva jajnika (eng. *ovarian tissue cryopreservation*)

POA – prijevremeno ovarijsko starenje (eng. *premature ovarian aging*)

POI – prijevremena/primarna ovarijska insuficijencija (eng. *premature/primary ovarian insufficiency*)

## SADRŽAJ

1. Uvod .....	1
2. Rezerva jajnika .....	3
3. Prijevremena ovarijska insuficijencija .....	5
4. Metode očuvanja plodnosti u žena .....	9
4.1 Zaštita jajnika tijekom zračenja .....	9
4.2 Transpozicija jajnika .....	10
4.3 Krioprezervacija embrija i oocita .....	10
4.3.1 Kontrolirana stimulacija jajnika .....	10
4.3.2 Krioprezervacija embrija .....	13
4.3.3 Krioprezervacija oocita .....	15
4.4 Krioprezervacija tkiva jajnika i autotransplantacija .....	16
4.5 In vitro maturacija .....	21
4.6 Agonisti hormona koji oslobađa gonadotropine .....	22
5. Indikacije za očuvanje plodnosti .....	24
5.1 Medicinske indikacije .....	26
5.1.1 Maligne bolesti .....	26
5.1.2 Nemaligne bolesti .....	27
5.2 Socijalne indikacije .....	29
6. Zaključak .....	31
7. Zahvale .....	32
8. Popis literature .....	33
9. Životopis .....	40

## Sažetak

### Očuvanje plodnosti u žena

Lucija Pukec

Očuvanje plodnosti u žena odnosi se na metode i postupke kojima je cilj očuvati potencijal biološkog majčinstva u djevojčica i žena kojima bolest ili gonadotoksična terapija prijete prijevremenom insuficijencijom jajnika. Metode očuvanja plodnosti u žena koje se danas smatraju standardnima jesu transpozicija jajnika izvan polja zračenja prije početka radioterapije, zaštita jajnika olovnim štitnicima tijekom radioterapije, krioprezervacija oocita i krioprezervacija embrija. Kontrolirana stimulacija jajnika prema različitim, individualno prilagođenim protokolima preduvjet je krioprezervacije oocita i embrija, dvaju najčešće korištenih metoda očuvanja plodnosti. Tehnika vitrifikacije pokazuje se uspješnijom i sve više zamjenjuje sporo zamrzavanje oocita i embrija. Primjena agonista hormona koji oslobađa gonadotropine (GnRHa) nema jednoznačne rezultate u očuvanju plodnosti, no kada druge metode nisu izvedive, i kod mladih žena s rakom dojke, preporučuje se primjena GnRHa s ciljem smanjenja rizika kemoterapijom inducirane ovarijske insuficijencije. U prepubertalnih djevojčica jedina izvediva metoda je krioprezervacija tkiva jajnika (OTC) – u većini zemalja i dalje smatrana eksperimentalnom. Temeljem dosadašnjih rezultata mnogi stručnjaci smatraju da je vrijeme da se OTC proglasi valjanom i uspješnom metodom. In vitro maturacija (IVM) nezrelih oocita novija je istraživana mogućnost, no potrebno je još istraživanja i unaprjeđenja te metode da bi se primjenjivala u očuvanju plodnosti djece i žena. Indikacije za očuvanje plodnosti dijele se na medicinske (maligne bolesti i nemaligne bolesti/stanja koja zahtijevaju gonadotoksičnu terapiju) te nemedicinske, tj. socijalne (vitifikacija oocita zbog očekivanog smanjenja plodnosti s dobi). Pacijentice kojima prijete POI važno je pravovremeno informirati o dugoročnim posljedicama bolesti i liječenja na plodnost te, one zainteresirane za očuvanje plodnosti, uputiti specijalistima reproduktivne medicine.

Ključne riječi: plodnost, prijevremena insuficijencija jajnika, krioprezervacija oocita, krioprezervacija embrija, krioprezervacija tkiva jajnika

## Summary

### Fertility preservation in women

Lucija Pukec

Fertility preservation in women consists of methods and procedures aiming to save the potential of biological motherhood in girls and women in which disease itself or its treatment causes premature ovarian insufficiency (POI). For women, standard methods in fertility preservation include ovarian transposition away from the radiation field before its start, pelvic shielding during radiation therapy, cryopreservation and banking of oocytes or embryos. Controlled ovarian stimulation using different, individualized protocols precedes cryopreservation of oocytes and embryos - two most commonly used methods of fertility preservation. Compared to slow freezing, vitrification seems to be superior freezing technique for both embryos and oocytes. There is conflicting evidence to recommend agonists of gonadotropin-releasing hormone (GnRHa) for fertility preservation, but when proven methods are not feasible, and in the setting of young women with breast cancer, GnRHa may be offered to reduce the likelihood of chemotherapy induced ovarian insufficiency. For prepubertal girls, ovarian tissue cryopreservation (OTC), in most countries an experimental method, is the only option for fertility preservation. However, many experts believe that there is now enough evidence to support the use of OTC as a valid and effective method. In vitro maturation (IVM) of immature oocytes is a recently investigated method, but more research and improvements of the technique are needed so that it could be used in the setting of fertility preservation for girls and some women. Indications for fertility preservation are divided into medical (malignant and non-malignant disease/conditions treated with gonadotoxic agents) and nonmedical, i.e social (oocyte vitrification for anticipated age-related fertility decline). It is very important to timely inform patients with a risk of POI about the long-term effects of the disease and its treatment on fertility and to refer those interested in fertility preservation to reproductive specialists.

Key words: fertility, premature ovarian insufficiency, oocyte cryopreservation, embryo cryopreservation, ovarian tissue cryopreservation



## 1. Uvod

Očuvanje plodnosti definira se kao uporaba kirurških, medicinskih ili laboratorijskih postupaka s ciljem očuvanja potencijala biološkog roditeljstva u odraslih ili djece koji su pod povećanim rizikom steriliteta prije prirodnog kraja reproduktivnog razdoblja (1). Prvotno se pojam odnosio na muškarce i žene oboljele od maligne bolesti koji prije započinjanja gonadotoksične onkološke terapije žele sačuvati svoje spolne stanice ili tkivo radi buduće reprodukcije. Unazad desetak godina, koncept očuvanja plodnosti vrlo brzo napreduje i širi indikacije na razne nemaligne bolesti – hematološke, autoimune, ginekološke i druge koje zahtijevaju gonadotoksičnu terapiju (2). Trend sve kasnijeg rađanja prvog djeteta, uz saznanje o padu plodnosti s godinama života, rezultirao je primjenom metoda očuvanja plodnosti u žena koje žele odgoditi trudnoću zbog karijere, neimanja partnera, financijskih i drugih osobnih razloga te uveo termine poput „elektivno očuvanje plodnosti“ ili „AGE banking“ (oocyte banking for anticipate gamete exhaustion) (2,3).

Paralelnim napretkom onkologije i reproduktivne medicine razvila se nova disciplina – onkofertilitetna medicina, koja omogućuje preživjelima od raka nastavak ili početak reproduktivnog života. Potreba za onkofertilitetnim postupcima javila se zbog velikih promjena u onkologiji, uključujući sve bolju dijagnostiku, nove terapijske mogućnosti, razvoj ciljanih bioloških lijekova, metode smanjenja doze i polja zračenja itd., koji su znatno povećali preživljenje onkoloških bolesnika i pretvorili rak u često kroničnu ili čak izlječivu bolest (4). Ističu se podaci o preživljenju pedijatrijskih onkoloških bolesnika: oni liječeni između 1975. i 1979. godine imali su 55 postotno petogodišnje preživljenje, dok je, kod djece liječene između 2005. i 2011. godine, isto poraslo na 83% (5). Porast incidencije malignih bolesti, uz pad mortaliteta i porast preživljenja, stvaraju težnju za što kvalitetnijim životom nakon izlječenja maligne bolesti. Jedna od važnih komplikacija onkološkog liječenja smanjenje je reproduktivne funkcije, od uništenja gameta do poremećaja proizvodnje hormona hipofize i gonada. (6). Upravo zbog navedenoga, onkofertilitetna medicina treba spojiti i uskladiti onkološko liječenje s planiranjem buduće reprodukcije pravovremeno informirajući muškarce, žene, djecu i njihove skrbnike o učincima kemoterapije, radioterapije i operacije na reproduktivnu funkciju (7). Prema ASCO (American Society for Clinical Oncology) smjernicama, onkolozi bi trebali u sklopu edukacije i informiranog pristanka, a prije početka liječenja maligne bolesti, pacijentima objasniti moguće učinke bolesti i terapije na reproduktivno zdravlje te ih uputiti specijalistima

reproduktivne medicine, ako su prikladne dobi i karakteristika te izraze želju za očuvanjem plodnosti (8).

Prepoznaje se sve više populacijskih skupina kojima metode očuvanja plodnosti mogu pomoći pa se indikacije šire na sve mlađe onkološke bolesnike, osobe s raznim nemaligim bolestima čija priroda bolesti ili terapija smanjuje plodnost, osobe s poremećajem spolnog razvoja, transrodne osobe te žene koje odluče odgoditi prvu trudnoću na kasniju životnu dob (6). Očuvanje plodnosti u prepubertalnih djevojčica i dječaka još uvijek je izazov reproduktivne medicine u kojem najveću nadu pruža krioprezervacija tkiva jajnika i testisa, no obje metode za sada su eksperimentalne (9,10). Nemaligne bolesti/stanja koja mogu uzrokovati prijevremenu insuficijenciju jajnika (eng. *premature/primary ovarian insufficiency*, POI) neke su sistemske bolesti liječene kemoterapijom, radioterapijom ili transplantacijom koštane srži, bilateralni benigni tumori jajnika, rekurentni ovarijski endometriomi, torzije jajnika, obiteljska povijest POI i neke genetske bolesti poput Turnerova sindroma (2). One zajedno čine 8-19% zahtjeva za očuvanjem plodnosti te zahtijevaju jednak angažman oko reproduktivnog savjetovanja kao i u onkoloških bolesnika (11). Krioprezervacija oocita žena koje žele odgoditi trudnoću iz nemedicinskih razloga još uvijek nema opće prihvaćenu terminologiju te je tema mnogih debata vezanih uz moralna, etička i financijska pitanja (12).

Metode očuvanja plodnosti u žena koje se danas smatraju standardnima jesu krioprezervacija oocita, krioprezervacija embrija, transpozicija jajnika izvan polja zračenja i zaštita jajnika tijekom radioterapije. Krioprezervacija tkiva jajnika još uvijek je eksperimentalna metoda, iako mnogi predviđaju njeno službeno odobrenje i početak standardne uporabe jer pokazuje dobre rezultate očuvanja plodnosti i endokrine funkcije nakon autotransplantacije. Među ostalima, primjena agonista gonadotropin oslobađajućeg hormona (eng. *gonadotropin-releasing hormone*, GnRH) tijekom kemoterapije, pod hipotezom da smanjuje gonadotoksični učinak kemoterapeutika, nema jednoznačne rezultate u očuvanju plodnosti prema dosadašnjim istraživanjima. In vitro maturacija (eng. *in vitro maturation*, IVM) nezrelih oocita prikupljenih iz nestimuliranog ili minimalno stimuliranog jajnika zanimljiva je nova mogućnost očuvanja plodnosti u specifičnim slučajevima. Dodatne mogućnosti ostvarivanja biološkog roditeljstva jesu surogat majčinstvo, ukoliko je prije histerektomije (ili druge terapije koja rezultira nemogućnošću nošenja) učinjena krioprezervacija oocita ili embrija, te transplantacija maternice koja je pokazala početne uspjehe (6).

Očuvanje plodnosti zadnjih godina brzo napreduje i prelazi iz teorijskih, pretkliničkih, preko eksperimentalnih u standardne metode. Uvođenjem sve naprednijih i uspješnijih tehnika, usporedno s promjenama u društvu i medicini, proširuju se indikacije i populacijske skupine koje bi tim putem mogle očuvati plodnost.

## **2. Ovarijska rezerva**

Ovarijska rezerva pojam je koji se odnosi na funkcionalni potencijal jajnika dajući procjenu broja i kvalitete oocita (13).

Premda ne postoji jedinstveni marker ili nalaz koji bi ukazivao na točan preostali funkcionalni potencijal jajnika, za sada je najprecizniji marker u uporabi serumski anti-Müllerov hormon (AMH) (14). AMH proizvode granulosa stanice primarnih, sekundarnih, preantralnih i antralnih folikula do 8 milimetara veličine te ga otpuštaju u folikularnu tekućinu i krvne žile. Folikuli veličine od 5 do 8 milimetara proizvode oko 60% serumske razine AMH, dok granulosa stanice preovulatornih folikula većih od 10 milimetara ne pokazuju ekspresiju AMH (15). Prednost AMH pred ostalim markerima ovarijske rezerve jest neovisnost serumske razine o danu menstrualnog ciklusa (16). Razina AMH u zdravih premenopauzalnih žena ovisi o dobi, trenutnom uzimanju hormonske kontracepcije te dobi nastupa menarhe (17). Najviša razina AMH bilježi se s prosječno 25 godina, nakon čega pada do vrlo niskih razina nekoliko godina prije menopauze, što se pokazalo korisnim u modelima predviđanja nastupa menopauze ovisno o AMH i dobi (18,19). Osim navedenog, mjerenje razine AMH klinički je korisno u medicinski potpomognutoj oplodnji (MPO), sindromu policističnih jajnika te praćenju učinka kemoterapije, radioterapije i kirurških zahvata na ovarijsku rezervu (20). Veliko randomizirano kontrolirano kliničko ispitivanje, ESTHER-1 (Evidence-based Stimulation Trial with Human rFSH in Europe and Rest of World), pokazalo je da individualizirani protokol stimulacije jajnika u in vitro fertilizaciji (IVF) folitropinom delta, baziran na serumskoj razini AMH i tjelesnoj težini, rezultira s manje slabih odgovora na stimulaciju i manje hiperstimulacija, a sličnom stopom trudnoća i živorođenja, u odnosu na konvencionalni protokol s folitropinom alfa u fiksnoj dozi (21). Unatoč velikom broju istraživanja i dokaza da žene s nižim AMH imaju niže stope trudnoće, ne postoji donja granica razine AMH koja bi bila siguran pokazatelj niske šanse trudnoće jer su objavljeni podaci o značajnim stopama trudnoće i u žena s vrlo niskim AMH (20). Ne postoji sporazum oko koristi AMH u procjeni trenutnog fertiliteta i mogućnosti prirodnog začeća (20).

Drugi marker ovarijske rezerve – broj antralnih folikula (AFC), dobiva se transvaginalnim ultrazvukom zbrajanjem folikula promjera od 2 do 10 milimetara te dobro korelira sa serumskom razinom AMH (22,23). Oboje, AMH i AFC, ukazuju na broj primordijalnih folikula nakon korekcije po kronološkoj dobi te su, stoga, najbolji markeri ovarijske dobi i rezerve (24).

Markeri ovarijske rezerve vrlo su korisni u MPO i onkofertilitetnoj medicini. Mnoga istraživanja pokazala su da folikularni bazen, AMH i AFC značajno padaju nakon terapije maligne bolesti (25–27). AMH je marker mjerljiv u žena svih dobi te je važan pokazatelj oštećenja funkcije jajnika nakon onkološkog liječenja (28–30). Kemoterapija i radioterapija koje uključuju zračenje jajnika značajno utječu na funkciju jajnika (6). AMH je koristan u praćenju učinaka kemoterapije i radioterapije te je prepoznat kao marker koji pomaže u predviđanju vulnerabilnosti jajnika i odlukama o očuvanju plodnosti (6,31,32). Ovarijsku rezervu pacijentice trebalo bi utvrditi prije početka terapije malignoma jer je preterapijska razina AMH važna za predviđanje ovarijske rezerve nakon terapije, temeljem čega bi se određivala potreba za metodama očuvanja plodnosti (6). Naime, oporavak funkcije jajnika češći je u žena s višom razinom AMH prije terapije (33). Dakle, markeri ovarijske rezerve mogu pomoći i prije i poslije onkološke terapije, u odabiru najbolje metode očuvanja plodnosti te procjeni mogućnosti oporavka prirodnog fertiliteta (6). Ipak, za sada nema dovoljno detaljnih informacija o korelaciji buduće plodnosti i razine AMH u žena koje su preživjele i preboljele rak te se kroz nekoliko godina očekuju rezultati studija koji bi doveli do valjanog zaključka (20).

Ostali testovi, poput razine hormona koji stimulira folikule (FSH) i estradiola na 3. dan ciklusa, također se koriste za procjenu plodnosti u žena, no oni daju informacije i o endokrinom statusu, čiji je oporavak također važan za kvalitetu života pacijentica. FSH i estradiol obično se mjere i sagledavaju zajedno, pri čemu visoki FSH ukazuje na smanjenu ovarijsku rezervu. Volumen jajnika mjeren transvaginalnim ultrazvukom smanjuje se starenjem te također ukazuje na smanjenje ovarijske rezerve. Povratak menstruacijskih ciklusa nakon terapije ne jamči da su uspostavljeni ciklusi ovulatorni niti je siguran znak plodnosti. Pritom, test s klomifen citratom može pokazati mogućnost ovulacije. Također, nema nalaza testova koji bi garantirali ili sasvim otklonili mogućnost začeća (6,20).

Treba naglasiti da je dob vrlo važna u procjeni ovarijske rezerve te se granice pojedinih markera određuju prema dobi žene (34). Starenjem AMH pada, a FSH raste. Primjerice, razina AMH od 0.5 ng/ml normalna je u žene stare 41 godinu, dok je za mlađu zdravu ženu na početku tridesetih

godina ta razina vrlo niska te indikativna za prijevremeno ovarijsko starenje (eng. *premature ovarian aging*, POA). Slično, FSH bi u žene do 33. godine trebao biti ispod 7.0 mIU/mL, a u žene iznad 40 godina do 8.5 mIU/mL, stoga se ne smije zaboravljati i zanemarivati korekcija razine markera prema dobi (35).

### **3. Prijevremena ovarijska insuficijencija**

Iako većina istraživača i literature koristi termin primarna, tj. prijevremena ovarijska insuficijencija (POI), N. Gleicher i Centar za humanu reprodukciju u New Yorku zalažu se za uvođenje termina prijevremeno ovarijsko starenje (POA), stanje slično, ali različito od POI. Prema Gleicheru, POI se definira razinom FSH iznad 40 mIU/mL, a visoke razine FSH, ali niže od 40 mIU/mL ukazuju na POA. POA, tj. okultna POI (OPOI) može se smatrati predstadijem POI. Važna klinička razlika te dvije dijagnoze jest vjerojatnost trudnoće u MPO. Za razliku od žena s prijevremenom menopauzom, tj. POI, žene s POA uz primjerenu terapiju imaju veće šanse trudnoće u IVF postupcima s vlastitim oocitama (36). Općenito, POA označava premalu ovarijsku rezervu za dob i jedan je od često previđenih uzroka neplodnosti u žena (37).

Primarna ovarijska insuficijencija klinički je sindrom u kojem dolazi do gubitka funkcije jajnika prije 40. godine života, pri čemu su gonadotropini u krvi visoki, a estrogeni niski. Za dijagnozu POI, mora doći do oligomenoreje ili amenoreje tijekom najmanje 4 mjeseca uz povišene razine FSH (>25 IU/l) u dva navrata, u razmaku od mjesec dana. POI se teoretski dijeli na jatrogeno i nejatrogeno uzrokovano. Prevalencija POI je oko 1%, uz napomenu da je incidencija jatrogene zbog onkološkog liječenja u porastu (38).

Jatrogeni uzroci POI bilateralna su ovariektomija, kemoterapija i radioterapija. Bilateralna ovariektomija kao terapija zloćudnih ili dobroćudnih tumora koji zahvaćaju oba jajnika uzrokuje ireverzibilni gubitak plodnosti (38).

Kemoterapija, ovisno o vrsti lijeka i njegovom mehanizmu djelovanja, uzrokuje direktno oštećenje DNA, apoptozu i uništenje folikula (39). Glavni mehanizam nastanka POI nakon kemoterapije ubrzani je i prerani gubitak zametnih stanica u jajnicima zbog direktnog toksičnog učinka (najčešće presudnih dvostrukih lomova DNA molekule) na oocite, a ozljedi jajnika pridonose i oštećenja strome i mikrovaskularne arhitekture (39). Prema teoriji „burn-out“ mehanizma nastanka POI zbog kemoterapije, kada se kemosenzitivni rastući folikuli unište, dolazi do pada parakrinih faktora rasta granuloza stanica poput AMH koji su inhibirali

regrutaciju primordijalnih folikula što rezultira pojačanom aktivacijom primordijalnih folikula. To dovodi do povećanja broja velikih folikula koji zatim podliježu atreziji i smanjuju ovarijsku rezervu (40). Oštećenje strome i krvnih žila remeti steroidogenezu pa često dolazi do amenoreje tijekom i nakon kemoterapije. Oporavak je varijabilnog trajanja i ovisi o broju ostatnih primordijalnih folikula, a može se pratiti pomoću AMH (33,38). Osim o vrsti kemoterapeutika, posljedice kemoterapije na jajnik ovise o dobi pacijentice, ovarijskoj rezervi prije početka terapije, dozi i trajanju kemoterapije (27,39). Ciklofosamid nosi najveći rizik POI, u nepoznatoj graničnoj dozi toksičnosti (39). Rizici za neplodnost nakon terapije lijekom iz pojedine skupine prikazani su u tablici 1.

*Tablica 1. Rizik neplodnosti prema kemoterapeuticima (modificirano iz ref. 39)*

<b>Skupina kemoterapeutika</b>	<b>Primjeri lijekova iz skupine</b>	<b>Rizik neplodnosti</b>
alkilirajuća sredstva	ciklofosamid, mekloretoamin, klorambucil, busulfan	visok
spojevi platine	cisplatin, karboplatin	srednji
antimetaboliti	metotreksat, 5-fluorouracil	nizak
vinka alkaloidi	vinkristin, vinblastin	nizak
antraciklinski antibiotici	daunorubicin, bleomicin, doksorubicin	nizak (osim doksorubicin: srednji)

Jajnici su također vrlo radiosenzitivni, što pokazuje LD50 (doza potrebna za uništenje 50% nezrelih oocita) od 2 Gy za oocite (41). Učinak i posljedice zračenja ovise o dobi žene, dozi zračenja i polju zračenja (38). Stanice koje se dijele općenito su osjetljivije na zračenje pa su, u mlađih odraslih žena, oocite zastale u profazi I mejoze i mirujući primordijalni folikuli otporniji u odnosu na rastuće folikule (6). Doza koja uzrokuje sterilizaciju uvelike ovisi o dobi žene. Djevojčice prije puberteta imaju visok rizik smanjenja ovarijske rezerve nakon zračenja dozom 10 – 15 Gy, a sterilizacijska doza u njih je 20 Gy. Starenjem se povećava radiosenzitivnost, odnosno već i manje doze zračenja smanjuju ovarijsku rezervu i uzrokuju sterilitet. Nakon puberteta, 5-10 Gy uzrokovat će iscrpljivanje folikula, a 16 Gy sterilizaciju. Nakon 40. godine života, doza od 2,5 – 5 Gy uzrokovat će sterilitet u 90% žena (38). Zračenje cijelog tijela može oštetiti neuroendokrinu os hipotalamus–hipofiza–gonade i uzrokovati hormonske promjene. Ova neuroendokrini os važna je u kontroli menstrualnog ciklusa i trudnoće jer regulira izlučivanje brojnih spolnih hormona važnih za reprodukciju (GnRH, FSH, LH, estrogen,

progesteron, prolaktin), a može biti oštećena raznim putevima u tijeku onkološkog liječenja (6). Iz navedenog je logično da radioterapija koja uključuje zračenje glave ili cijeloga tijela remeti balans hormona, smanjuje reproduktivne funkcije i plodnost te uzrokuje POI. Isto tako, zračenje zdjelice oštećuje jajnike i maternicu. Maternica je nedvojbeno važna za reprodukciju iz višestrukih razloga, od kojih je osnovni implantacija embrija i održavanje trudnoće. Radioterapija smanjuje volumen i elastičnost maternice, oštećuje endometrij, miometrij i krvne žile (6). Ako žena uspije zatrudnjeti nakon radioterapije maternice, ima povećan rizik spontanog pobačaja, patologije placente, prijevremenog porođaja i rađanja djeteta vrlo niske porođajne težine (6,38). Za razliku od kemoterapije, radioterapija uzrokuje veća oštećenja i posljedice u mlađih. Iako je nepoznata granična doza iznad koje se ne bi mogla dogoditi trudnoća, nije zabilježena niti jedna trudnoća nakon zračenja zdjelice dozama većim od 45 Gy u odraslih, dok u djece, doze veće od 25 Gy, uzrokuju ireverzibilno oštećenje, a kasnije trudnoće su visokorizične (42).

Neke genetske bolesti, tj. kromosomske abnormalnosti i mutacije gena na spolnim ili autosomnim kromosomima nose povećan rizik za POI. Najčešći genetski uzrok POI je Turnerov sindrom, monosomija X spolnog kromosoma u djevojčica, bilo u klasičnom obliku ili mozaicizmu (43). Nositelji premutacije za sindrom fragilnog X kromosoma imaju 50 do 200 ponavljanja CGG trinukleotidne ekspanzije što se veže uz rizik POI. Normalan broj CGG ponavljanja je do 50 u zdravih, dok oboljeli od sindroma fragilnog X imaju preko 200 ponavljanja. Kod obiteljske anamneze POI učestalost te premutacije je 13% (38). Također, brojni poremećaji transkripcijskih faktora, enzima steroidogeneze i gonadotropnih receptora vežu se uz POI, no nisu dio dijagnostičke obrade, osim u slučajevima mutacija s tipičnim fenotipom (38,43).

Oko 20% žena s POI ima neku autoimunu bolest, najčešće štitnjače, nadbubrežne žlijezde ili gušterače (43). Autoimune bolesti češće su u žena s POI u odnosu na opću populaciju i POI je češća u žena s nekim autoimunim bolestima, no uzročno-posljedične veze nisu sasvim objašnjene. U otkrivanju uzroka POI preporučuje se testiranje nekih protutijela radi otkrivanja subkliničkog hipotiroidizma ili subkliničke, tj. latentne Addisonove bolesti (38).

Dodatno, POI se veže uz neke infekcije – virusima poput mumpsa ili citomegalovirusa, tuberkulozu te izlaganje nekim toksinima (43).

Dijagnostičkom obradom najčešće se ne uspijeva pronaći uzrok POI, dakle idiopatska POI najčešća je vrsta POI (38).

Klinička slika POI raznovrsna je i ovisna o etiologiji bolesti, no u osnovi postoje simptomi i znakovi perimenopauze radi manjka estrogena. Primjerice, adolescentice s Turnerovim sindromom i sindromom fragilnog X prezentirat će se simptomima osnovne bolesti i primarnom amenorejom, dok će jatrogeni POI nakon kemoradioterapije u postpubertalne žene uzrokovati sekundarnu amenoreju i endokrine poremećaje. Starije žene mogu iskusiti razne vazomotorne simptome zbog manjka estrogena poput valova vrućine i noćnog znojenja. Često ne postoje specifični simptomi i znakovi koji bi ukazivali na nejatrogeni POI, odnosno neke se žene prezentiraju samo neplodnošću (43). Osim što smanjuje fertilitet, POI umanjuje kvalitetu života žena jer dolazi do emocionalnih poremećaja, seksualne disfunkcije, vazomotornih simptoma, gubitka koštane mase i povećanja kardiovaskularnog rizika (44). Preporučuje se hormonska nadomjesna terapija, lokalna estrogenska terapija za genitourinarne poremećaje te promjena životnog stila koja može smanjiti rizike koje nosi POI (44).

Općenito, žene s dijagnosticiranom POI imaju male šanse spontane trudnoće i propustile su priliku za očuvanje plodnosti (44). Većina žena s POI je neplodna. Ipak, 5 – 10% žena s POI mogu imati spontane ovulacije, iako najčešće neredovite, te mogu spontano zatrudnjeti i iznijeti dijete, iako uz produljeno vrijeme do začeća u odnosu na žene s normalnom ovarijskom rezervom. Ako dođe do spontane trudnoće, žene s POI nemaju nepovoljnije ishode u odnosu na opću populaciju (43).

Žene s genetskom predispozicijom, nekim bolestima i planiranom gonadotoksičnom terapijom, odnosno one kojima prijeti POI, a koje još uvijek imaju dovoljnu ovarijsku rezervu, kandidati su za očuvanje plodnosti, metodama opisanima u daljnjem tekstu (43).



## 4. Metode očuvanja plodnosti u žena

Standardne metode očuvanja plodnosti u žena zaštita su jajnika tijekom radioterapije, transpozicija jajnika izvan polja zračenja, krioprezervacija embrija i najnovije odobrena krioprezervacija oocita. Eksperimentalne metode su krioprezervacija tkiva jajnika, *in vitro* maturacija i primjena GnRH agonista (6). Aktivno se istražuju i druge metode.

Ukratko, krioprezervacija je proces zamrzavanja i pohrane živih stanica (spolnih stanica, embrija i tkiva) na vrlo niskim temperaturama ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) radi iskorištavanja istih za ostvarenje trudnoće u nekom pogodnom budućem trenutku. Proces hlađenja s  $37^{\circ}\text{C}$  na  $-196^{\circ}\text{C}$  kritičan je jer tijekom više faza snižavanja temperature može doći do ozljeda stanica, primjerice stvaranjem ledenih kristala, i gubitka vijabilnosti. Ako stanica uspješno prođe kroz proces hlađenja, dugoročno čuvanje na temperaturi  $-196^{\circ}\text{C}$  ne ugrožava ju. Iste poteškoće kao kod hlađenja, samo obrnutim redoslijedom, javljaju se kod odmrzavanja, tj. zagrijavanja stanica na tjelesnu temperaturu prije daljnje uporabe. Najvažniji faktori koji utječu na ishod zamrzavanja veličina su uzorka, omjer površine i volumena te količina vode. Krioprotektori su tvari koje smanjuju količinu vode i stvaranje kristala, pri čemu permeabilni ulaze u stanice i štite ih, a nepermeabilni izvana osmotski navlače vodu. Prema brzini i tehnici, razlikuje se sporo, tzv. „slow freezing“ i brzo zamrzavanje, tzv. vitrifikacija. „Slow freezing“ ima više koraka koji traju nekoliko sati i zahtijeva skuplju opremu, dok vitrifikacija traje manje od sekunde, jeftinija je, no koristi visoke koncentracije krioprotektora koji su potencijalno štetni (45).

Sve žene s očekivanim rizikom neplodnosti zbog planirane gonadotoksične terapije trebaju biti pravodobno, što prije, informirane o utjecaju terapije ili novootkrivene bolesti na plodnost. Prema internacionalnim smjernicama nužna je interdisciplinarna suradnja i upućivanje zainteresiranih kandidatkinja za očuvanje plodnosti specijalistima reproduktivne medicine (8). Odluka o metodi očuvanja plodnosti zajednička je i individualno prilagođena, ovisna o mnoštvu čimbenika poput dobi pacijentice, imanju partnera, vrsti bolesti i planiranoj terapiji, procjeni rizika neplodnosti, osobnim stavovima i željama te zakonskoj regulaciji države (46).

Slijedi prikaz standardnih, a zatim eksperimentalnih metoda očuvanja plodnosti.

### 4.1 Zaštita jajnika tijekom zračenja

Zaštita jednog ili obaju jajnika tijekom zračenja abdomena ili zdjelice jedna je od prvih metoda očuvanja plodnosti pri čemu se kao zaštita koristi olovni štitnik. Ova metoda nije pogodna u slučajevima zračenja cijeloga tijela ili slučajevima kad jajnici nužno ulaze u polje zračenja.

Prednosti su jednostavnost, primjena i u prepubertalnih djevojčica te čuvanje reproduktivske i endokrine funkcije (6).

## **4.2 Transpozicija jajnika**

Kada je zdjelica, tj. jajnik nužno unutar planiranog polja zračenja, može se prije početka radioterapije, a obično nakon neoadjuvantne kemoterapije, izvesti kirurška transpozicija jednog ili obaju jajnika izvan zdjelice. Mjesto gdje će se preseliti jajnici ovisi o vrsti maligniteta. U odraslih su glavne indikacije karcinomi cerviksa i rektuma, a u djece rabdiomiosarkomi i sarkomi organa ili tkiva zdjelice. Iako je ova metoda, prema nekoliko studija s dugoročnim praćenjem pacijenata, uglavnom uspješna u očuvanju plodnosti i endokrine funkcije jajnika, u 10 – 14% slučajeva ne uspijeva. Negativna je strana transpozicije jajnika mogućnost relapsa nekih vrsta tumora jer bi se tumorske stanice teoretski mogle lokalno proširiti oko presađenog jajnika, što bi bilo ekvivalentno mikroskopski inkompletnoj kirurškoj resekciji. Ova metoda posebno je korisna za prepubertalne djevojčice koje zbog tumora moraju primiti radioterapiju zdjelice visokim dozama (47).

## **4.3 Krioprezervacija embrija i oocita**

### **4.3.1 Kontrolirana stimulacija ovulacije**

Uvjet za krioprezervaciju embrija ili oocita jest barem jedan ciklus kontrolirane stimulacije jajnika. COS je metoda u kojoj se primjenom egzogenih hormona potiče sinkronizirani rast i razvoj velikog broja folikula što omogućuje više oslobođenih zrelih oocita u jednom ciklusu. Naime, u prirodnom menstrualnom ciklusu, u folikularnoj fazi odabire se samo jedan dominantni folikul, zahvaljujući većoj osjetljivosti na FSH, koji će nastaviti rasti i konačno ovulirati. U COS se egzogeni FSH daje u većim dozama i tijekom duljeg vremena da bi se potaknuo rast više folikula i prikupilo više oocita za postupke MPO. Za sprječavanje prerane ovulacije i novačenje vremena za rast folikula, koriste se GnRH agonisti ili antagonisti koji inhibiraju djelovanje endogenog GnRH i LH skok, smanjujući razine endogenih gonadotropina. Pacijentice se prate ultrazvučno i kada je dosegnut zadovoljavajući broj folikula za konačnu indukciju ovulacije, primjenjuje se humani korionski gonadotropin (hCG) koji oponaša LH skok, a u novijim protokolima, za poticanje konačnog sazrijevanja oocita, mogu se koristiti i GnRH agonisti (6).

U pacijentica s malignom bolešću, prije početka COS važno je utvrditi tip tumora, status hormonskih receptora i stadij bolesti, planirani režim onkološkog liječenja, hitnost početka terapije te ovarijsku rezervu da bi se protokol individualno prilagodio i dao bolji ishod (21,48).

Tri su vrste protokola koji uključuju agoniste GnRH (GnRHa): dugi, kratki i ultrakratki. GnRHa inicijalno povećavaju sekreciju gonadotropina iz hipofize („flare-up“ efekt), a zatim u drugoj fazi dovode do supresije hipofizne funkcije i gonadotropinske sekrecije internalizacijom receptora („down-regulation“). U dugom se protokolu GnRHa primjenjuju barem dva tjedna prije početka stimulacije da bi se postigla supresija jajnika, sve do injekcije hCG-a. U kratkom se protokolu GnRHa daje od prvog ili drugog dana ciklusa do hCG injekcije, a u ultrakratkom se primjenjuje samo tri dana, počevši od drugog dana ciklusa, pri čemu nastaje samo „flare-up“ efekt, tj. povećanje sekrecije FSH i LH. Cochrane analiza usporedila je ishode i nuspojave dugog i kratkog GnRHa protokola i pokazala da se stope trudnoća i živorođenja (eng. *live birth rate*, LBR) ne razlikuju značajno, iako dugi protokol rezultira nešto većom stopom trudnoća, te da nema dovoljno dokaza za donošenje zaključaka o različitoj učestalosti nuspojava. (49)

Antagonisti GnRH brzo se kompetitivno vežu na hipofizne GnRH receptore i preveniraju stimulirajući učinak endogenog GnRH na stvaranje gonadotropina. GnRH antagonisti imaju neke prednosti u odnosu na agoniste. Za razliku od agonista, uz njihovu se primjenu izbjegava „flare-up“ efekt, hipoestrogenske nuspojave i dugi period „down-regulacije“. Cochrane analiza usporedila je ishode i nuspojave protokola agonistima i antagonistima i zaključila da je učestalost ovarijskog hiperstimulacijskog sindroma (OHSS) značajno niža uz primjenu GnRH antagonista, uz istu LBR (50). U klasičnom protokolu s GnRH antagonistima, egzogeni FSH počinje se primjenjivati drugi ili treći dan ciklusa, a antagonist kada dominantni folikul naraste do veličine 12-14 milimetara, otprilike šesti dan od početka stimulacije. Time se skraćuje vrijeme od početka stimulacije do aspiracije oocita na 14 dana (51). Zbog kraćeg trajanja i manjeg rizika za OHSS, protokolu s antagonistima daje se prednost pred agonistima.

S obzirom na to da je ponekad nužno što prije započeti onkološko liječenje, odgađanje terapije zbog COS nekima je ugrožavajuće i neprihvatljivo. „Random start“ protokoli, temeljeni na spoznaji o kontinuiranom rastu kohorti antralnih folikula tijekom cijelog ciklusa i nevažnosti stanja endometrija u tom trenutku za žene pri očuvanju plodnosti, omogućuju započinjanje COS istoga dana, neovisno o danu menstruacijskog ciklusa (51). Primjenjuju se gonadotropini i antagonisti GnRH, ovisno nalazi li se žena u kasnoj folikularnoj ili lutealnoj fazi te postoji li dominantni folikul (6). Za oponašanje LH skoka također se primjenjuju hCG i GnRHa. Studije

koje su uspoređivale konvencionalni i „random start“ protokol pokazale su jednaku uspješnost – prema broju prikupljenih oocita i broju krioprezerviranih embrija (52).

Specifični protokoli za tumore ovisne o estrogenima osmišljeni su zbog 10 do 20 puta veće razine estrogena tijekom COS u odnosu na fiziološke razine. Naime, visoke razine estrogena mogle bi ubrzati tumorski rast u žena s tumorima osjetljivima na estrogen, poput karcinoma dojke ili endometrija (51). Nažalost, prirodni IVF ciklusi imaju slabe ishode, stoga je COS preporučena i u tih žena, no uz posebne protokole koji smanjuju stvaranje ili djelovanje estrogena (6). Lijekovi koji se pritom koriste su tamoksifen i letrozol.

Letrozol je inhibitor aromataze, CYP450 enzima koji pretvara androgene (androstendion i testosteron) u estrogene (estradiol i estron) u mnogim tkivima, uključujući granulosa stanice. Inhibitori aromataze smanjenjem razine estrogena prekidaju inhibitorno djelovanje na hipotalamus i hipofizu te potiču oslobađanje gonadotropina. Korisnost letrozola poznata je od ranije u indukciji ovulacije kod neplodnih žena s poremećajem ovulacije, a u novije vrijeme pokazao se korisnim u COS žena s tumorima osjetljivima na estrogene (51). Oktay i sur. usporedili su protokole COS u kojima se koristi tamoksifen sam, tamoksifen uz FSH i letrozol uz FSH. Rezultati studije pokazali su da su protokoli letrozol-FSH i tamoksifen-FSH uspješniji prema broju sakupljenih oocita i embrija u odnosu na protokol samo s tamoksifenom. Također su utvrdili da su razine estrogena najniže u protokolu s letrozolom (53). U žena s rakom dojke protokoli s letrozolom ne utječu na rekurentnost bolesti i preživljenje (54). Također, stope trudnoća jednake su kao kod žena u IVF postupcima zbog nemalignih razloga i nema povećanog rizika kromosomskih aberacija i kongenitalnih malformacija (55). Zanimljivo, u konačnoj indukciji ovulacije u žena s rakom dojke na letrozol-FSH protokolu, GnRHa su kao trigeri pokazali veće dobrobiti u odnosu na hCG. GnRHa dovode do većeg broja zrelih oocita i embrija, smanjuju razine estrogena nakon primjene trigeru i smanjuju OHSS rizik, stoga im se daje prednost (56).

Tamoksifen, kao antiestrogenski lijek, također se može koristiti u COS žena s estrogen-pozitivnim tumorima. On je selektivni modulator estrogenskih receptora na koje djeluje kao kompetitivni antagonist u tkivu dojke, iako na neke organe poput maternice djeluje agonistički. Veže se na estrogenske receptore, natječući se s endogenim estradiolom i onemogućujući njegovo vezanje te tako smanjenjem razine estrogena prekida inhibiciju hipotalamusa i hipofize te povećava sekreciju gonadotropina. Daje dobre rezultate u tamoksifen-FSH protokolu, bolje

u odnosu protokol sa samim tamoksifenom, iako uzrokuje veće razine estrogena u odnosu na protokole s letrozolom (51,53).

Velika meta analiza iz 2018. godine pokazala je da malignitet ne utječe na odgovor na stimulaciju jajnika (57). Prije COS u pacijentica s malignomom svakako je potrebno individualizirati protokol za što bolji ishod. U onkoloških bolesnica većina stimulacija se može provesti pomoću protokola s gonadotropinima i GnRH antagonistima, a kad je vrijeme vrlo limitirano koriste se „random-start“ protokoli (48). Odabir COS protokola općenito ovisi i o dobi žene, ovarijskoj rezervi, kao i liječniku i ustanovi gdje se izvodi (6).

Nakon COS slijedi aspiracija zrelih oocita pod kontrolom ultrazvuka, 34 – 36 sati nakon injekcije hCG ili GnRHa, a zatim proces krioprezervacije oocite ako je odabrana metoda krioprezervacije oocita ili se nastavlja fertilizacija pomoću IVF ili ICSI (engl. *intracytoplasmic sperm injection* - ICSI) metode ako je cilj krioprezervacija embrija. Embriji se mogu zamrznuti sporom ili brzom metodom, a iskoristiti za oplodnju nakon preboljene bolesti ili rješenja drugog razloga zbog kojeg je žena morala odgoditi trudnoću i krioprezervirati embrij. Tada se embriji ugriju nazad na tjelesnu temperaturu i prenose u maternicu žene, ili eventualno surogat majke.

#### **4.3.2 Krioprezervacija embrija**

Krioprezervacija embrija „stara“ je metoda potpomognute oplodnje korištena i u očuvanju plodnosti. Prva trudnoća nakon prijenosa odmrznutog embrija (frozen-thawed embryo transfer, FET) zabilježena je 1983. godine, a prva takva trudnoća koja je rezultirala živorođenjem blizanaca dogodila se godinu dana kasnije (45,58). 1996. godine Brown i sur. prvi su primijenili krioprezervaciju embrija radi očuvanja plodnosti žene s karcinomom dojke prije početka kemoterapije (59). Pritom su koristili prirodni IVF ciklus zbog hormonske osjetljivosti karcinoma dojke.

Krioprezervacija embrija složen je proces koji čine COS, aspiracija oocita, IVF, praćenje embriogeneze te konačno zamrzavanje i pohrana embrija na  $-196^{\circ}\text{C}$ . To je trenutno najuspješnija metoda i prva linija očuvanja plodnosti u postpubertalnih žena s dovoljno vremena za COS koje imaju partnera, tj. donora sperme (8).

Embriji se mogu zamrznuti sporim načinom, „slow freezing“, ili vitrifikacijom. Danas vitrifikacija morule (treći dan) ili blastociste (peti ili šesti dan izvantjelesnog razvoja) ima prednost zbog veće stope preživljenja, trudnoća i LBR. Iako se puno govori i strahuje o mogućnosti kontaminacije uzročnicima nekih bolesti preko otvorenog sustava hlađenja tekućim

dušikom u vitrifikaciji, još nije zabilježen ni jedan slučaj prijenosa bolesti. Svakako, preporučuje se upotreba sterilnog tekućeg dušika ili specifičnih sustava u kojima nema direktnog kontakta uzorka s tekućim dušikom. Vitrifikacija je manualni proces ovisan o izvođaču i korištenoj komercijalnoj opremi, stoga se preporučuje standardizacija i automatizacija metode (60).

Nema razlike stope živorođenosti nakon prijenosa odmrznutih i svježih embrija (2,60). Podaci o uspješnosti krioprezervacije embrija u onkoloških bolesnica limitirani su, no prema dosadašnjim istraživanjima čini se da je uspješnost jednaka, ako ne i veća u odnosu na neonkološke neplodne pacijentice. Prema IVF registrima, LBR po zamrznutom embriju je 43% u neplodnih žena mlađih od 35 godina, a prema istraživanju Oktay i sur. krioprezervacije embrija u žena s rakom dojke, ta je stopa kod njih bila 45% (55,61). Dolmans i sur. istražili su stope trudnoća i LBR u žena oboljelih od raka koje su krioprezervirale embrije radi očuvanja plodnosti. Kumulativna stopa trudnoće bila je 66%, a LBR 44% po ženi, slično kao kod prijenosa svježih embrija u neonkoloških neplodnih pacijentica, iako su onkološke pacijentice imale manje kvalitetnih embrija po postupku (62).

Unatoč uspješnosti, postoje i nedostaci krioprezervacije embrija u očuvanju plodnosti. Prvo, uvjet je postojanje partnera, tj. donora sperme, kojeg mnoge adolescentice i mlade žene tog trenutka nemaju. Drugo, proces ukupno zahtijeva određeno vrijeme, ponajviše ovisno o danu menstruacijskog ciklusa i odabranom protokolu COS (od 1 do 6 tjedana) iako su „random start“ protokoli pomogli značajno smanjiti to vrijeme za žene s uznapredovalim i agresivnim tumorima. Treće, COS je problematična u žena s hormonski osjetljivim tumorima, iako je uvođenjem antiestrogenskih lijekova u protokole taj problem izgubio na važnosti. Četvrto, ova metoda nije pogodna za prepubertalne djevojčice jer COS nije primjenjiva na njih. Konačno, postoje brojne zakonske i etičke dvojbe i nesuglasja oko krioprezerviranih embrija u pogledu samog postupka i pohrane, kao i pitanja vlasništva nakon rastave partnera (6).

### **4.3.3 Krioprezervacija oocita**

Krioprezervacija oocita je od 2012. godine, kada je Američko društvo za reproduktivnu medicinu maknulo s nje eksperimentalnu oznaku, postala standardna metoda očuvanja plodnosti (63).

Mogućnost očuvanja plodnosti bez imanja partnera, zamrzavanjem vlastitih oocita, značajno je olakšala donošenje odluka i smanjila stres među ženama s novodijagnosticiranim malignomom

i planiranom gonadotoksičnom terapijom. Prema ASCO smjernicama iz 2018. godine, ta se metoda preporučuje ženama bez partnera, onima koje ne žele koristiti spermije donora te onima čija su etička ili religijska uvjerenja protiv zamrzavanja embrija, a provodi se u specijaliziranim ustanovama (8).

U ovoj metodi, žena također prolazi proces COS u kojoj se potiču na rast brojni folikuli, a zatim se aspiriraju zrele oocite koje se krioprezerviraju u stadiju metafaze II (45).

Kao i kod krioprezervacije embrija, analizirajući kliničke ishode, vitrifikacija se pokazala uspješnijom metodom u odnosu na sporo zamrzavanje, premda još uvijek nema dovoljno istraživanja na tom području koji bi dali visoku razinu značajnosti postojećih meta analiza (60). Zbog navedenoga, zadnjih se godina preporučuje da laboratoriji koji koriste sporu tehniku prijeđu na vitrifikaciju.

Prema ASCO, još uvijek nema dovoljno jakih dokaza za donošenje pouzdanih zaključaka o razlici stopa implantacija, trudnoća i LBR kod korištenja svježih i odmrznutih oocita. Četiri randomizirane kontrolirane studije nisu dokazale razlike u uspješnosti, no izvješća američkog Društva za potpomognutu oplodnju pokazuju nižu LBR kod primjene odmrznutih oocita. Još uvijek nema mnogo izvješća o ishodima trudnoća nakon krioprezervacije oocita pri malignim indikacijama, no čini se da je uspjeh usporediv s općom populacijom (61).

Prema Američkom društvu za reproduktivnu medicinu, stope trudnoća 4.5–12% po krioprezerviranoj oociti ukazuju da je za jedno živorođenje potrebno najmanje 10 krioprezerviranih oocita (63). S obzirom na to da je krioprezervacija oocita česta metoda očuvanja plodnosti žena s nemaligim bolestima i ženama koje iz socijalnih indikacija žele odgoditi trudnoću, proučavan je potreban broj oocita kod tih indikacija. Cobo i sur. u istraživanje su uključili 1468 žena koje su zbog navedenih nemalighnih indikacija zamrznuli oocite i analizirali ishode kod 137 žena koje su se vratile upotrijebiti oocite, od čega je čak 120 imalo kao razlog izbjegavanje dobno uzrokovanog smanjenja plodnosti. Dokazali su da je kumulativna stopa živorođenja značajno veća uz krioprezervaciju 10 oocita u odnosu na 5 ili 8 oocita, i u mlađoj i u starijoj dobnoj skupini. Važan zaključak studije je da pri krioprezervaciji 10 oocita žene do 35 godina (u trenutku krioprezervacije) imaju dvostruko veće kumulativne stope živorođenja (60.5%) u odnosu na starije žene (29.7%) (64). Zbog ovakvih rezultata ženama koje odgađaju trudnoću iz elektivnih indikacija treba preporučiti da krioprezerviraju oocite prije 35. godine kako bi povećale šanse za biološkom djecom.

Dosadašnja istraživanja nisu pokazala povećane opstetričke i perinatalne rizike vezane uz krioprezervaciju oocita i embrija, u odnosu na svježe prijenose embrija, iako nedostaje studija s dugoročnim praćenjem takve djece, kao i studija u konkretnim slučajevima očuvanja plodnosti zbog maligniteta i drugih indikacija (60).

Krioprezervacija oocita otvorila je vrata programima donacije oocita i bankama jajnih stanica, pružila mogućnost akumulacije oocita u žena sa slabim odgovorom na stimulaciju i stoji kao rezervni plan očuvanja plodnosti u slučaju nemogućnosti dobivanja uzorka sperme na dan aspiracije oocita (60).

#### **4.4 Krioprezervacija tkiva jajnika i autotransplantacija**

Krioprezervacija tkiva jajnika (engl. *ovarian tissue cryopreservation*, OTC) u većini je zemalja svijeta, osim Danske, Izraela i Norveške, još uvijek smatrana eksperimentalnom (65). Ta metoda očuvanja plodnosti ne zahtijeva stimulaciju jajnika i može biti učinjena bez odgađanja. Također, može biti primijenjena u djece jer ne zahtijeva spolnu zrelost te je trenutno jedina opcija očuvanja plodnosti i funkcije jajnika za prepubertalne onkološke bolesnice. OTC je pogodna i za žene koje nemaju vremena za COS zbog hitnosti onkološke terapije ili one koje ne toleriraju visoke vrijednosti hormona korištenih u COS. Svakako, ova metoda ima potencijala postati standardnom, uz potvrdu daljnjih istraživanja o sigurnosti kod pacijenata oboljelih od leukemije (6,8).

Najčešće indikacije za OTC su hematološke maligne bolesti (Hodgkinov limfom, leukemija) i rak dojke. Od nemalighnih bolesti koje dovode do POI ističu se sistemske bolesti, autoimune bolesti, benigne bilateralne ginekološke bolesti, endometriozna te neke genetske i kromosomske bolesti (65).

Prvu ortotopičnu autotransplantaciju krioprezerviranog jajnika s obnovom funkcije jajnika opisao je Oktay početkom ovoga stoljeća, a transplantacija svježeg i krioprezerviranog tkiva ljudskog jajnika testirana je prije desetak godina na devet parova monozigotnih blizanki, od kojih je u svakom paru jedna sestra blizanka imala POI, a druga nije. Po heterolognoj transplantaciji svježeg tkiva jajnika postignuto je 14 trudnoća i 11 živorođenja u 7 od 9 žena, a zabilježena je i trudnoća nakon transplantacije krioprezerviranog tkiva jajnika. Funkcija jajnika obnovljena je nakon transplantacije svježih i krioprezerviranih presađaka (66).



Ova metoda obuhvaća kirurško odstranjenje jajnika, krioprezervaciju tkiva jajnika ili cijelog jajnika te kasniju ortotopičnu ili heterotopičnu autotransplantaciju. Cilj ovog zahtjevnog postupka jest autotransplantacijom obnoviti endokrinu funkciju jajnika i plodnost (6).

Donnez i Dolmans upozoravaju na važnost utvrđivanja i poštivanja selekcijskih kriterija za ovu metodu. Kandidati bi trebali imati manje od 35 godina, odnosno još uvijek relativno veliku ovarijsku rezervu, dobre šanse petogodišnjeg preživljenja i procijenjen rizik POI barem 50% (2).

Postoje opcije uzimanja dijelova tkiva, odnosno kore jajnika i cijeloga jajnika. Koliko tkiva je potrebno uzeti i pohraniti ovisi o volumenu jajnika i riziku POI, no najčešće se radi o uzimanju dijelova kore jajnika, u kojoj su smješteni folikuli s oocitama, dok se metode krioprezervacije cijelog jajnika i autotransplantacije vaskularnim anastomozama razvijaju (6,65). U slučajevimavrlu malih jajnika u djevojčica, planiranog zračenja cijelog tijela ili zdjelice, indicirana je ooforektomija i krioprezervacija cijelog jajnika. U većini drugih slučajeva laparoskopski se uzimaju se dijelovi kore jajnika (65). U odraslih se žena preporučuje učiniti 4 do 5 korikalnih biopsija veličine 1 cm x 0.5 mm x 1.5 mm (67). Preporučena debljina bioptata je od 1 do 1.5 mm. Površniji uzorci se ne preporučuju jer bi u uzetom bioptatu mogli izostati primordijalni folikuli, koji se nalaze na više od 0.8 mm od mezotela (68).

Tkivo jajnika može se zamrznuti sporim zamrzavanjem ili vitrifikacijom, tehnikama korištenim i pri krioprezervaciji embrija i oocita. Dok se tehnika vitrifikacije embrija i oocita pokazala uspješnijom i sve više zamjenjuje sporo zamrzavanje, pri krioprezervaciji tkiva jajnika najčešće se koristi sporo zamrzavanje. Za sada su opisana samo dva slučaja živorođenja nakon vitrifikacije tkiva jajnika (67). Kada se radi kombinacija *in vitro* maturacije oocita (IVM) i OTC, opisana kasnije, koristi se tehnika vitrifikacije, a u slučaju konvencionalne OTC koristi se sporo zamrzavanje. Kako je OTC relativno nova metoda koju velikim dijelom koriste djeca koja planiraju doći po pohranjen jajnik nakon više godina, a tehnika vitrifikacije za OTC koristi se u malom broju ustanova, pouzdani zaključci o uspješnosti vitrifikacije i usporedba sporog zamrzavanja i vitrifikacije neće biti objavljeni još neko vrijeme (69).

Nakon odmrzavanja, postoje dvije opcije autotransplantacije jajnika. Ortotopična autotransplantacija podrazumijeva vraćanje jajnika u zdjelicu – na preostali jajnik, blizu infundibulopelvičnog ligamenta ili u udubinu između vanjskih i unutarnjih ilijačnih krvnih žila (lat. *fossa ovarica*), a heterotopična transplantacija podrazumijeva pozicioniranje na supkutana mjesta izvan zdjelice – podlakticu ili abdomen (70).

U ortotopičnoj transplantaciji postoji više mogućnosti, tj. mjesta vraćanja tkiva jajnika, koja ovise o prisustvu jajnika i količini tkiva dostupnog za odmrzavanje i reimplantaciju. Ako je jedan jajnik prisutan, odstranjuje se dio njegove kore (1 – 2 cm) da bi se dobio pristup srži i krvnim žilama, na koju se zatim polažu dijelovi odmrznutog tkiva jajnika. Ako žena nema niti jedan jajnik, radi se peritonealni prozor u koji se smješta presadak. Treća opcija je kombinacija prethodne dvije, odnosno u žena koje imaju barem jedan jajnik i dovoljnu količinu krioprezerviranog jajnika, transplantira se dio tkiva na srž djelomice dekorticiranog jajnika, a dio u peritonealni prozor (65).

Prednost ortotopične transplantacije jest mogućnost prirodnog začeća ukoliko su ostvareni i drugi uvjeti poput prohodnih jajovoda, plodnog partnera te obnovljene funkcije jajnika nakon transplantacije. Oporavak funkcije jajnika prati se pomoću folikularnog rasta ili pojave menstruacije te je vrlo uspješan, čak do 95% transplantacija rezultira uspostavom menstrualnih ciklusa i normalnim hormonskim razinama (2,71). Prosječno vrijeme do obnove endokrine funkcije je 4 mjeseca, a jajnik dobro funkcionira prosječno 5 i više godina, ovisno o ovarijskoj rezervi pri OTC (2). Ponavljanim transplantacijama krioprezerviranog tkiva jajnika, ovisno o pohranjenoj količini i dobi pri OTC, može se i značajno više produljiti funkcija jajnika (65). Prva trudnoća nakon OTC i ortotopične autotransplantacije, u pacijentice izliječene gonadotoksičnom kemoterapijom od četvrtog stadija Hodgkinova limfoma, dogodila se 11 mjeseci nakon autotransplantacije i završila živorođenjem 2004. godine (72). Otada se procjenjuje da je preko 130 djece rođeno pomoću metoda OTC i autotransplantacije, od čega su 93 živorođenja opisana u recenziranim časopisima (2,71). Stope trudnoća i LBR pokazuju eksponencijalni rast zadnjih godina (2). Važno je istaknuti da su stope trudnoća i živorođenja veće u žena mlađe dobi pri OTC te da je polovina djece, rođena ovim načinom, prirodno začeta (71). S obzirom na to da se ne zna točan broj autotransplantacija izvedenih u svijetu, stope trudnoća i živorođenja računaju se prema dostupnim objavljenim podacima – za trudnoću iznose od 29 do 41%, a za LBR od 23 do 36% (2). Nedavna istraživanja djece rođene nakon OTC i autotransplantacije ne pokazuju povećan perinatalni rizik niti dosadašnje zdravstvene probleme (71).

Heterotopična autotransplantacija metoda je izbora kod žena s opsežnim ožiljnim promjenama u zdjelici zbog radioterapije. Njene prednosti su manja invazivnost, laše praćenje folikularnog rasta i bolja dostupnost u slučaju potrebe odstranjenja jajnika i eventualne sekundarne reimplantacije jer se presadak najčešće transplantira u potkožje podlaktice ili trbušni zid (70). Ova metoda ima diskutabilnu kliničku važnost jer se čini da ne osigurava najbolji okoliš za

jajnik (2,65). Svejedno, nakon heterotopične transplantacije uočena je obnova endokrine funkcije pa je ova metoda potencijalno pogodna za žene koje primarno žele odgoditi menopauzu i njene simptome, no još se traga za najpogodnijim heterotopičnim mjestom (73). Trudnoća nakon heterotopične autotransplantacije nije moguća prirodnim putem, no moguća je postupcima MPO, tj. IVF/ICSI nakon aspiracije oocita iz heterotopičnog jajnika. Stern i sur. su 2013. godine opisali prvu takvu trudnoću (74). Pacijentici je zbog tumora granulosa stanica kirurški uklonjen lijevi jajnik, a kada joj je 4 godine kasnije indicirana desna ooforektomija, odlučila je prije toga krioprezervirati tkivo jajnika. Nakon druge reimplantacije u trbušni zid, COS, aspiracije oocita i ICSI, ostvarena je blizanačka trudnoća. Izvješća o trudnoćama i LBR po heterotopičnoj autotransplantaciji puno su oskudnija u odnosu na ortotopičnu te se uglavnom svode na prikaze slučajeva. Ipak, premda rijetki, postoje slučajevi trudnoća nakon IVF postupka s oocitama prikupljenim iz stimuliranog heterotopičnog jajnika, koji su rezultirali živorođenjem zdrave djece (75).

Jedan od glavnih nedostataka ove metode jest osjetljivost jajnika i folikula na manipulaciju tijekom kirurških zahvata i procesa OTC. Iako svi koraci tijekom OTC i transplantacije mogu doprinijeti propadanju folikula, rano posttransplantacijsko razdoblje pokazalo se najkritičnijim periodom (76). Gavish i sur. u diskusiji svoga rada o aktivaciji folikula objašnjavaju mehanizme posttransplantacijskog smanjenja broja folikula (77). Transplantacija može oštetiti jajnik i uništiti folikule putem ishemijske, oksidativnog stresa i fibroze. Ishemija zasigurno pridonosi gubitku folikula, no nedovoljno objašnjava primijećeni porast broja rastućih folikula uspoređan s propadanjem primordijalnih folikula, s obzirom na dosadašnja saznanja o većoj osjetljivosti na oštećenja kod rastućih, metabolički aktivnih folikula u odnosu na primordijalne. Njihovo istraživanje dokazalo je povećanu aktivaciju i gubitak primordijalnih folikula („burnout“) unutar 3 dana od transplantacije. Da bi se smanjilo propadanje folikula u presatku i produljilo preživljenje presatka, proučavani su razni načini poboljšanja vaskularizacije u presađenom jajniku, poput lokalne primjene angiogenetskih i antiapoptičnih faktora ili primjene antioksidansa za smanjenje oksidativnog stresa, no za sada ništa od navedenoga ne utječe značajno pozitivno na presađak (2,65).

Autotransplantacija nakon krioprezervacije cijelog jajnika novija je eksperimentalna metoda. Kirurško odstranjenje jajnika zajedno s velikim dijelom infundibulopelvičnog ligamenta ( $\geq 5$  cm) radi se laparoskopski ili mini laparotomijom tijekom zahvata zbog druge primarne svrhe. Kroz žile vaskularne peteljke infundira se heparinizirana otopina pa krioprotektor te se intaktni jajnik krioprezervira, najčešće sporom tehnikom (78). Cilj presađivanja cijelog odmrznutog

jajnika jest obnova reproduktivne i endokrine funkcije jajnika uz smanjeno posttransplantacijsko ishemijsko oštećenje i propadanje folikula. Nažalost, ovu metodu prate brojni nedostaci i komplikacije: viši rizik ozljede zamrzavanja, viši rizik rekurentne maligne bolesti unošenjem eventualnih malignih stanica iz krioprezerviranog jajnika, kirurška kompleksnost vaskularnih anastomoza, krvarenje ili tromboza anastomoze te ireverzibilni gubitak jajnika i šanse plodnosti zbog vaskularnih komplikacija (79). 2008. godine opisana je trudnoća nakon svježije transplantacije cijelog jajnika u monozigotnih blizanki, no još uvijek nije došlo do živorođenja nakon autotransplantacije odmrznutog jajnika (79,80).

Pri autotransplantaciji odmrznutog tkiva jajnika ili cijelog jajnika, kada je indikacija za navedenu bila maligna bolest, postoji teoretska mogućnost ponovne pojave raka nakon vraćanja tkiva jajnika s eventualno postojećim rezidualnim malignim stanicama (79). Rizik se procjenjuje prema učestalosti pojave metastaza pojedinih vrsta malignoma u jajnike. Najveći rizik rezidualnih malignih stanica u krioprezerviranom jajniku nosi leukemija, a rizik je mali kod većine limfoma i raka dojke (81). Općenito su metastaze u jajnik rijetke kod većine malignoma žena u reproduktivnoj dobi. Ipak, kada je procijenjeni rizik visok, OTC se ne preporučuje, ili se preporučuje odgađanje OTC nakon prvog ciklusa kemoterapije (82). Trenutno ne postoje zabilježeni slučajevi povrata maligne bolesti uzročno povezani s autotransplantacijom krioprezerviranog tkiva, iako je općenito očekivano da će u nekih onkoloških bolesnica doći do relapsa malignoma radi prirode same bolesti (71). Da bi se rizik smanjio na najmanju moguću mjeru, krioprezervirano tkivo jajnika pregledava se prije krioprezervacije i nakon odmrzavanja histološki, imunohistokemijski i/ili molekularnim metodama (za tumorske markere) u potrazi za rezidualnim malignim stanicama (82). Navedene metode detekcije nisu 100% pouzdane i pacijenticama se mora objasniti potencijalni rizik. Naime, izlječenje nakon onkološke terapije znači da nema kliničke bolesti, no maligne stanice mogu ostati prisutne na subkliničkoj razini, a nije poznato koliko je malignih stanica dovoljno da uzrokuje relaps bolesti (82).

Prethodno opisani rizik relapsa malignoma zbog rezidualnih malignih stanica u autotransplantiranom odmrznutom jajniku pokušava se izbjeći novijim metodama očuvanja plodnosti kao što je *in vitro* maturacija.

## 4.5 In vitro maturacija

In vitro maturacija metoda je očuvanja plodnosti u kojoj se prikupe nezrele oocite iz oocita-kumulus kompleksa malih antralnih folikula nestimuliranog ili minimalno stimuliranog jajnika te se potiču na sazrijevanje u *in vitro* uvjetima, u posebnim kultivacijskim medijima (83).

U ovoj metodi ne postoji rizik relapsa malignoma pa je indicirana u žena s malignomima sklonim metastaziranju u jajnike, primjerice u oboljelih od leukemije, kao i u žena s rakom jajnika te daje drugu opciju očuvanja plodnosti u prepubertalnih djevojčica (2).

Aspiracija nezrelih oocita može biti učinjena *in vivo* iz nestimuliranog ili minimalno stimuliranog jajnika i *ex vivo* u kombinaciji s OTC. Prilikom obrade bioptata tkiva jajnika za OTC, otpuštaju se mali antralni folikuli u srž, odakle se kumulus-oocita kompleksi mogu aspirirati i iskoristiti za IVM. Ovim načinom sakupljaju se i potiču na sazrijevanje oocite koje bi inače propale u standardnom postupku OTC, a maturacijom mogu pružiti dodatnu šansu biološkog roditeljstva (6).

Tako sazrele oocite mogu se koristiti svježe ili krioprezervirati i naknadno upotrijebiti za MPO, tj. IVF/ICSI. Općenito su klinički ishodi lošiji u odnosu na standardne metode MPO, no već je na tisuće djece rođeno nakon oplodnje sa svježim *in vitro* maturiranim oocitama (84). Vitifikacija *in vitro* maturiranih oocita nije se pokazala vrlo efikasnom, pogotovo za prepubertalne djevojčice. Oko 25% oocita odraslih žena uspješno završi IVM, no većina ne preživljava proces odmrzavanja. Uspjeh IVM značajno je niži u prepubertalnih djevojčica. Kod njih se češće nalaze degenerirane oocite i za IVM treba dulje vremena, a konačna stopa uspješne IVM je oko 10%. Zbog ovako slabih rezultata, IVM nije preporučena za djevojčice mlađe od 5 godina. Kod starijih djevojčica i odraslih žena, to je dobra dopunska metoda OTC (85).

Prva trudnoća nakon fertilizacije *in vitro* maturirane oocite i FET-a zabilježena je 2014. godine u pacijentice s rakom jajnika (86). Nakon ooforektomije, aspirirane su nezrele oocite koje su zatim poticane na sazrijevanje IVM tehnikom te oplodene IVF-om nakon čega su embriji krioprezervirani. Nakon izlječenja bolesti, odmrznuti embriji preneseni su u maternicu što je rezultiralo uspješnom trudnoćom i rođenjem živog djeteta. Valja napomenuti da IVM kao metoda ne osigurava endokrinu funkciju jajnika, stoga se trudnoća treba održavati egzogenim hormonima.

Iskustva IVM ljudskih nezrelih oocita u okviru očuvanja plodnosti još su uvijek ograničena, ali u tijeku su brojna istraživanja različitih faktora rasta i sl. s ciljem povećanja efikasnosti ove metode (84).

#### **4.6 Agonisti hormona koji oslobađa gonadotropine**

Kao što je ranije opisano, u žena reproduktivne dobi kemoterapija nosi rizik prijevremene ovarijske insuficijencije. S obzirom na to da POI dovodi do neplodnosti, ali i neugodnih postmenopauzalnih simptoma, povećanog rizika osteoporoze, kardiovaskularnih bolesti i kognitivnih disfunkcija, kvaliteta života žena s POI značajno pati (44). Najčešće korištene metode očuvanja plodnosti u žena, krioprezervacija embrija i oocita, ne rješavaju navedene prateće probleme POI, osim plodnosti. Privremena supresija jajnika GnRH agonistima tijekom kemoterapije proučavana je kao metoda smanjenja gonadotoksičnosti kemoterapije i rizika POI više od 30 godina u prekliničkim i kliničkim istraživanjima (87). Unatoč brojnim istraživanjima o koristi adjuvantne primjene GnRH agonista tijekom kemoterapije, još uvijek nema sporazuma, premda su ju neke zemlje uvrstile u smjernice (8,87).

Kako kemoterapija djeluje gonadotoksično na više razina smanjujući ovarijsku rezervu i remeteći hormonsku funkciju, farmakološka zaštita jajnika kompleksna je i zahtjevna. Lambertini i sur. nedavno su opsežno prikazali dosadašnje spoznaje o primjeni GnRHa tijekom kemoterapije (87). Postoji više teorija mogućeg mehanizma protektivnog djelovanja GnRHa na jajnik. GnRHa mogli bi štititi supresijom aktivnosti osi hipotalamus-hipofiza-gonade čime bi se postiglo prepubertalno hormonsko okruženje s mirujućim folikulima otpornijim na kemoterapijski učinak, no studije učinka FSH na folikule u miševa opovrgnule su tu teoriju, iako je moguće da GnRHa drugim učincima smanjuju oštećenje jajnika održavanjem niskih razina FSH. Studije o smanjenju perfuzije jajnika uz primjenu GnRHa i posljedičnim manjim izlaganjem folikula gonadotoksičnim spojevima pokazuju oprečne rezultate. Hipoteze o direktnom utjecaju GnRHa na folikulogenezu, apoptozu i primordijalne zametne stanice nisu potvrđene. Zaključno, do danas nije razjašnjen točan mehanizam protektivnog djelovanja GnRHa na jajnik.

Klinička istraživanja vezana uz primjenu GnRHa provedena su najviše u premenopauzalnih žena s rakom dojke, a zatim u onih s hematološkim malignomima, dok je vrlo malo takvih istraživanja među ženama s drugim tumorima. U žena s rakom dojke provedeno je 14

randomiziranih kliničkih studija u kojima se analizirala POI dijagnosticirana putem perioda amenoreje, a u nekima i dodatno putem mjerenja razine hormona (87).

2011. godine randomizirano otvoreno kliničko istraživanje PROMISE-GIM6 (Prevention of Menopause Induced by Chemotherapy: A Study in Early Breast Cancer Patients–Gruppo Italiano Mammella 6) dokazalo je značajno manju pojavu kemoterapijom inducirane POI nakon privremene supresije jajnika triptorelinom (88). Ova je studija uključila 281 ženu s ranim stadijem raka dojke. Jedna grupa žena primala je samo kemoterapiju (baziranu na antraciklinima, antraciklinima uz taksane, ili ciklofosfamidu), a druga grupa kemoterapiju uz adjuvantni triptorelin. Triptorelin se davao intramuskularno, u dozi 3.75 mg, najmanje jedan tjedan prije početka kemoterapije, a zatim kontinuirano svaka 4 tjedna do završetka kemoterapije. POI je definiran amenorejom i postmenopauzalnim razinama FSH i estradiola nakon godinu dana od završetka kemoterapije. Incidencija POI bila je 25.9% u grupi žena liječenih samo kemoterapijom, a 8.9% u grupi žena koje su dobivale adjuvantni triptorelin. Dakle, pokazalo se da triptorelin značajno smanjuje rizik POI u ovoj populacijskoj skupini.

Druga randomizirana kontrolirana studija, POEMS/S0230 (The Prevention of Early Menopause Study) dokazala je slično smanjenje rizika POI uz upotrebu goserelina (89). Uključeno je 218 žena s hormonski negativnim rakom dojke u ranom stadiju. Jedna grupa žena primala je samo kemoterapiju baziranu na ciklofosfamidu, a druga grupa je uz kemoterapiju primala adjuvantni goserelin. Goserelin se primjenjivao supkutano u dozi od 3.6 mg, od tjedan dana prije početka kemoterapije, a zatim svaka 4 tjedna tijekom njenog trajanja, do završne doze dane dva tjedna prije ili poslije zadnjeg ciklusa kemoterapije. POI se definirao kao amenoreja u prethodnih 6 mjeseci i postmenopauzalne razine FSH dvije godine nakon završene kemoterapije. U završnu analizu uključeno je 135 žena. Incidencija POI bila je 22% u grupi žena liječenih samo kemoterapijom, a 8% u grupi žena koje su dobivale adjuvantni goserelin. Ova studija također je analizirala i razliku stopa trudnoća između dvije grupe te pokazala da je više žena zatrudnjelo u grupi koja je primala goserelin.

Za sada je većina istraživanja u žena s rakom dojke dokazala smanjen rizik POI uz adjuvantnu primjenu GnRHa u kemoterapiji, iako je uzorak često malen i vrijeme praćenja kratko. Od postojeće 4 randomizirane kliničke studije o GnRHa primjeni u žena s limfomom, niti jedna nije pokazala smanjen rizik POI uz adjuvantne GnRHa, a jedina takva mala studija provedena na ženama s rakom jajnika pokazala je njihovu moguću protektivnu ulogu. Postojeće meta analize potvrđuju smanjen rizik POI i veću stopu trudnoća uz primjenu GnRHa (87). ASCO

smjernice iz 2018. godine preporučuju da se GnRHa ponude kao opcija smanjenja rizika POI ženama kojima druge metode očuvanja plodnosti (krioprezervacija embrija/oocita ili OTC) nisu dostupne. GnRHa nisu afirmirani u smislu metode očuvanja plodnosti (8).

## 5. Indikacije za očuvanje plodnosti

Uvođenje sve naprednijih i uspješnijih metoda očuvanja plodnosti, uz paralelne promjene u društvu i medicini, rezultira širenjem indikacija za očuvanje plodnosti na razne populacijske skupine. Onkološke bolesnice prva su skupina kandidata za očuvanje plodnosti i one danas čine najveći udio u indikacijama. Druga, sve češće zastupljena skupina kandidata za očuvanje plodnosti, žene su s nemalnim bolestima kod kojih je potrebna gonadotoksična terapija ili sama priroda i tijek bolesti umanjuju plodnost. Žene koje iz nemedicinskih razloga odluče odgoditi trudnoću na kasniju životnu dob svrstavaju se u grupu socijalnih, tj. elektivnih indikacija (2,6). Ostali potencijalni kandidati osobe su s poremećajem spolnog razvoja, u kojih se neplodnost javlja kao rezultat različitih poremećaja u razvoju gonada, i transrodne osobe, kojima je plodnost uglavnom ugrožena postupcima tranzicije (90).

Savjetovanje o očuvanju plodnosti treba ponuditi svima ženama kojima prijete POI, bilo radi genetske predispozicije, planirane gonadotoksične terapije zbog maligne ili nemaligne bolesti, ili drugih razloga, a koje još uvijek imaju dovoljnu ovarijsku rezervu (43). U nekim područjima medicine već postoji relativno dobra komunikacija između onkologa, hematologa, pedijataru i ostalih uključenih u liječenje sa specijalistima reproduktivne medicine. Primjerice, anketa provedena među specijalistima članovima European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) pokazala je da njih 87% informira pacijente o mogućim posljedicama kemoradioterapije i transplantacije na plodnost, iako na očuvanje plodnosti manje upućuju žene u odnosu na muškarce, pogotovo skupinu starijih žena i prepubertalnih djevojčica. Mnogi ne znaju da postoje ili ne koriste internacionalne smjernice o očuvanju plodnosti (91). Izdane su brojne nacionalne i internacionalne smjernice koje preporučuju da se djevojčice i žene kojima prijete POI zbog gonadotoksične terapije ili same bolesti/stanja upute na savjetovanje o opcijama očuvanja plodnosti kod specijalista u tom području (6,8). Nažalost, tek manji dio onkoloških bolesnica ima priliku razgovarati o reproduktivskom zdravlju sa svojim onkologom, a često nisu ni pravodobno upućene specijalistu reproduktivne medicine. Kako je komunikacija dvosmjernan proces, i pacijent i liječnik odgovorni su za njenu kvalitetu. Da bi se komunikacija poboljšala i postala uspješnijom, nužna je edukacija liječnika uključenih u onkološko liječenje



žena uz poznavanje smjernica, dobar timski rad i otvoreno izražavanje želja i briga u vezi reproduktivnog zdravlja u pacijentica. Nakon postavljanja onkološke dijagnoze važno je što prije raspraviti o metodama očuvanja plodnosti te ako se žena odluči na neku od njih u dogovoru s liječnikom, potrebno je što prije istu započeti radi skraćivanja vremena do početka liječenja bolesti (6).

Bolesti kod kojih očuvanje plodnosti može imati koristi prikazane su u Tablici 2, prema predavanju „Očuvanje vlastite plodnosti“ Hrvoja Vrčića na 8. Hrvatskom kongresu ginekologa i opstetričara 2019. godine (92).

Tablica 2. Bolesti kod kojih očuvanje plodnosti može biti korisno (prema ref. 92)

<b>MALIGNE BOLESTI</b>		<b>AUTOIMUNE I HEMATOLOŠKE BOLESTI</b>
DJEČJA DOB	ODRASLA DOB	
Hodgkin i Non-Hodgkin limfomi	Rak dojke	Sistemska lupus eritematodes
Leukemija	Rak vrata maternice	Reumatoidni artritis
Osteosarkom zdjelice	Gastrointestinalni malignomi	Upalna bolest crijeva
Wilmsov tumor		Progresivna sistemska skleroza
Genitalni rabdomiosarkom		Multipla skleroza
Burkittov limfom		Pemfigus vulgaris
Ewingov sarkom		Aplastična anemija
Neuroblastom		Bolest srpastih stanica

Pedijatrijska populacija veže se uz brojne prepreke u očuvanju plodnosti. Mnoga djeca zbog maligne ili nemaligne bolesti koja zahtijeva gonadotoksičnu terapiju imaju povećan rizik neplodnosti. Stope neplodnosti žena koje su preživjele rak u djetinjstvu kreću se od 16 do 41%, ovisno o osobnim faktorima i terapiji (9). Metode očuvanja plodnosti u prepubertalnih djevojčica, osim zaštite jajnika i transpozicije vezanih uz radioterapiju, ograničene su na OTC, pri čemu nije ustanovljeno koliko bi se tkiva jajnika optimalno trebalo uzeti za krioprezervaciju. Odstranjenje previše tkiva je invazivno i smanjuje mogućnost obnove prirodne reproduktivne funkcije, a opet dovoljno tkiva mora biti uzeto da metoda bude izvediva. Etički i legalni aspekti ovih metoda ionako su kompleksni, a još više u djece. Nužno je da roditelji ili skrbnici daju

informirani pristanak, no, kada je moguće, treba tražiti i pristanak djeteta, posebice u adolescentica (6).

## **5.1 Medicinske indikacije**

### **5.1.1 Maligne bolesti**

Prema Svjetskom izvješću o raku 2014. maligne bolesti značajan su uzrok morbiditeta i mortaliteta u svijetu. Procijenjeno je da je 2012. ukupna incidencija u svijetu bila oko 14 milijuna novih slučajeva raka, a 8 milijuna smrti bilo je vezano uz rak. Od toga je 46% novih slučajeva i 43% smrti vezanih uz rak kod žena. Najčešća sijela novih slučajeva raka u žena su dojka (25.2%), kolon i rektum, pluća, vrat maternice i želudac. Od navedenih, rak dojke ima daleko najveću incidenciju, ali i relativno nisku stopu mortaliteta – manje od jedne trećine stope incidencije, što ga čini i najprevalentnijim rakom. U žena reproduktivne dobi to je najčešća vrsta raka, no incidencija i prevalencija raka prema sijelu značajno variraju ovisno o dobi žene. Djevojčice do 14. godine najčešće obolijevaju od leukemije, tumora središnjeg živčanog sustava, tumora bubrega i limfoma. Najčešća sijela u žena dobi od 15 do 39 godina su dojka, štitnjača, vrat maternice i jajnik, a česte su i leukemije i limfomi (93). Godišnja stopa incidencije raka u svijetu je između 50 i 200 na milijun u djece, a kod adolescenata između 90 i 300 na milijun. U razvijenim zemljama je petogodišnje preživljenje djece oboljele od raka poraslo na preko 80%, što zahtijeva posebnu brigu, napore za smanjenje kasnih posljedica onkološke terapije i dugoročno praćenje takvih pacijenata (94). Također, incidencija i prevalencija raka među ženama reproduktivne dobi u porastu je zahvaljujući povećanoj incidenciji raka i sekundarnih malignih neoplazmi u adolescenata i mladih odraslih, napretku terapijskih ishoda koje je dovelo do smanjenja mortaliteta te trenda odgađanja roditeljstva (95). S obzirom na to da incidencija raka raste s dobi, odgađanje trudnoće i preuzimanje roditeljske uloge znači porast broja žena kojima će se dijagnoza i liječenje raka preklopiti s ostvarivanjem biološkog roditeljstva.

Produljenje preživljenja djevojčica i mladih žena s rakom uz napredak reproduktivne medicine povećavaju interes za očuvanjem plodnosti (84). Već je opisano kako kemoterapija, radioterapija, neki kirurški zahvati u okviru liječenja maligne bolesti, a i neke vrste malignih bolesti same po sebi smanjuju plodnost. Nakon postavljanja dijagnoze liječnici i pacijenti uglavnom su usmjereni na što učinkovitiju terapiju i često zaboravljaju razgovarati o rizicima neplodnosti. Radi ostvarenja dobre kvalitete života u djece i žena koje prežive i izliječe malignu

bolest, nužno je na vrijeme, a to znači čim prije nakon postavljene dijagnoze maligne bolesti, sa ženama reproduktivne dobi i djevojčicama zajedno s njihovim skrbnicima raspraviti o utjecaju onkološke terapije na plodnost te zainteresirane kandidate uputiti specijalistima reproduktivne medicine (8,84).

Metode očuvanja plodnosti u onkoloških bolesnicama zasnovane su na uspjehu tih metoda u okviru MPO zbog neplodnosti drugih uzroka. Iskustva tih metoda u okviru očuvanja plodnosti žena s malignom bolešću još su relativno svježa (84). Trenutno odobrene, standardne metode očuvanja plodnosti jesu krioprezervacija oocita i krioprezervacija embrija, od kojih je vitifikacija oocita na prvom mjestu po učestalosti među onkološkim bolesnicama. U prepubertalnih djevojčica i žena koje ne mogu odgoditi početak terapije, ili ne toleriraju hormonske razine tijekom COS, jedina opcija očuvanja plodnosti je OTC, u većini zemalja još uvijek eksperimentalna metoda (2).

Neke od najčešćih malignih bolesti u djece i odraslih žena koje su indikacija za očuvanje plodnosti prikazane su u Tablici 2.

Konačna odluka hoće li žena iskoristiti neku od metoda očuvanja plodnosti ovisi o prognozi bolesti, procijenjenom riziku neplodnosti te individualnim čimbenicima i željama (96). Neke specifičnosti vezane uz onkofertilitetnu medicinu opisane su kroz prijašnji tekst u sklopu opisa POI i metoda očuvanja plodnosti.

### **5.1.2 Nemaligne bolesti**

Razne nemaligne bolesti i stanja koja uzrokuju POI također su indikacije za očuvanje plodnosti u žena, iako manje zastupljena (2,43). Prema Donnez i Dolmans, to su mnoge autoimune i hematološke bolesti koje ponekad zahtijevaju kemoterapiju, radioterapiju ili transplantaciju koštane srži, bilateralni benigni tumori jajnika, teške rekurentne ovarijske endometrioze, rekurentne torzije jajnika, Turnerov sindrom i obiteljska anamneza POI.

Autoimune i reumatske bolesti same po sebi mogu smanjiti ovarijsku rezervu, a terapija ciklofosfamidom u aktivnoj bolesti, pogotovo nakon ponavljanih primjena, značajno povisuje rizik POI. Od ove skupine bolesti najviše iskustva s očuvanjem plodnosti ima u sistemskom lupusu. U žena s lupusom, dokazano je da COS nosi visoki rizik egzacerbacije bolesti, a GnRHa primjena uz terapiju ciklofosfamidom pokazala je protektivni učinak i uz nju je egzacerbacija niskorizična. Osim kod sistemskog lupusa, očuvanje plodnosti moglo bi biti korisno i u žena s reumatoidnim artritismom, progresivnom sistemskom sklerozom, upalnim bolestima crijeva,

običnim pemfigusom, multiplom sklerozom itd. (92). Preporuke su da se u žena s autoimunim bolestima uz terapiju ciklofosfamidom primjenjuju GnRHa, a opcija očuvanja plodnosti je i OTC ako je ovarijska rezerva dobra, te pod posebnim uvjetima krioprezervacija oocita (96).

Osim u malignim bolestima, kemoterapija povezana s transplantacijom krvotvornih matičnih stanica indicirana je i u nekim benignim hematološkim bolestima s teškom multiorganskom disfunkcijom – talasemiji, srpastoj anemiji, aplastičnoj anemiji, Fanconijevoj anemiji i mijeloproliferativnim sindromima. Njihovu potencijalnu gensku terapiju također prati primjena visokih doza alkilirajućih lijekova. U kemoterapijskim režimima s visokim dozama ciklofosfamida, busulfana i/ili zračenjem cijelog tijela rizik POI prelazi 80%. Također, ponavljane transfuzije akumulacijom željeza mogu izazvati oksidativni stres s oštećenjem središnjeg živčanog sustava i jajnika te posljedičnu POI (11). Kod prepubertalnih djevojčica, čija benigna hematološka bolest zahtijeva transplantaciju krvotvornih matičnih stanica, indicirana je OTC kao jedina metoda očuvanja plodnosti. Ove bolesti čine većinu indikacija za OTC. U adolescentica i odraslih žena pri ovoj indikaciji najčešće se vitifikacijom krioprezerviraju oocite (11).

Ginekološke bolesti čine velik udio u indikacijama među nemalignim bolestima. Endometriomi, rekurentne ciste na jajniku i tumori jajnika granične malignosti („borderline“ tumori) uglavnom smanjuju ovarijsku rezervu zbog ponavljanih operacija na jajnicima (11). Zbog navedenoga, operacije na jajnicima žena s benignim bolestima trebaju biti poštodne. Endometriomi pogoduju nastanku lokalne upalne reakcije u jajniku koja potiče „burnout“ folikula što uz kirurške zahvate značajno smanjuje ovarijsku rezervu i povisuje rizik POI pa se u žena s rekurentnim endometriomima preporučuje očuvanje plodnosti (2). Pritom se u obzir treba uzeti težina bolesti, prijašnje operacije, rekurentnost i zahvaćanje jajnika ili peritoneuma. Prva opcija je COS sa vitifikacijom oocita ili embrija, iako su ove metode pokazale manju učinkovitost u žena koje su već operirale endometriome (11).

Kromosomske abnormalnosti, najčešće X spolnog kromosoma, čine oko 10% među uzrocima POI, no s obzirom na kasno postavljanje dijagnoze većina ovih žena propustila je priliku za očuvanje plodnosti. U žena s Turnerovim sindromom i dobrom funkcijom jajnika predlaže se krioprezervacija oocita, a u prepubertalnih djevojčica OTC, iako su trudnoće žena s Turnerovim sindromom rizične i etički upitne. Žene s obiteljskom anamnezom POI bez specifičnog genetskog poremećaja također su pod rizikom te neka društva savjetuju da im se preporučí krioprezervacija oocita (11). Različiti poremećaji transkripcijskih faktora, enzima

steroidogeneze i gonadotropnih receptora vežu se uz POI, no nisu dio standardne dijagnostičke obrade, osim u slučajevima mutacija s tipičnim fenotipom (38,43).

Unatoč sve više istraživanja i dokaza u prilog koristi očuvanja plodnosti u žena s navedenim nemalignim bolestima, one rijetko bivaju upućenima specijalistima reproduktivne medicine, vjerojatno zbog slabe informiranosti medicinskih timova (11).

## 5.2 Socijalne indikacije

Žene koje žele odgoditi trudnoću i zaštititi svoju plodnost od dobno uzrokovanog smanjenja ovarijske rezerve krioprezervacijom oocita ili tkiva jajnika zapravo su grupa zdravih žena, a čine najveću grupu žena koje traže očuvanje plodnosti (2). Stoga je prijedlog da se pri ovoj tzv. elektivnoj ili socijalnoj indikaciji u stranoj literaturi i općenito koristi termin „AGE banking“ (engl. *anticipated gamete exhaustion*), jer bolje opisuje samu namjenu među tim ženama (3). „Nemedicinska“ indikacija nije prigodan izraz jer bi se zamrzavanje oocita u ovih žena moglo smatrati vrstom prevencije. Još uvijek nema sporazuma oko termina pa se mogu pronaći različite varijacije.

Dob u kojoj žene po prvi put pokušaju zatrudnjeti raste unazad 40 godina (2). Poznato je da plodnost u žena postepeno pada starenjem, početkom i sredinom tridesetih sve značajnije (97). Raznovrsni su razlozi odgađanja roditeljstva. Neke žene nisu u stabilnoj emocionalnoj vezi, odnosno nemaju partnera, neke imaju financijske razloge, a neke žele prvo ostvariti poslovnu karijeru. Nedavna studija pokazala je da su žene orijentirane na karijeru sklonije planiranju trudnoće i polažu više povjerenja u MPO da će im pomoći ostvariti trudnoću u kasnijoj dobi te imaju manje etičkih dilema oko postupaka MPO (98). Žene koje traže krioprezervaciju oocita radi odgađanja trudnoće najčešće su visoko obrazovane, zaposlene, u srednjim i kasnim tridesetim godinama. Dosadašnji rezultati istraživanja temeljenih na anketama pokazuju da žene uglavnom oocite pohranjuju između 36 i 38 godina (12). Istraživanja su dokazala da je uspjeh vitifikacije oocita značajno ovisan o dobi te savjetuju žene koje žele odgoditi trudnoću i roditeljstvo da pohrane oocite što mlađe (64).

Nedavna velika multicentrična retrospektivna studija pokazala je stopu iskoristivosti oocita 12,1%, pri čemu žene prosječno pohranjuju oocite s 37,6 godina, a iskoriste ih s 39,9 godina, dakle najčešće dvije godine nakon pohrane. Također, kumulativna vjerojatnost živorođenja značajno je viša u žena mlađih od 36 godina u odnosu na starije od 36, uz to bolje ishode, što je više prikupljenih oocita (99).

U Europi neke zemlje zakonski zabranjuju krioprezervaciju oocita iz nemedicinskih razloga (Austrija, Malta, Francuska), a neke odobravaju, ali postavljaju gornju dobnju granicu (Belgija – 45 godina, Njemačka – 49 godina). Niti jedna država ne financira krioprezerviranje oocita iz nemedicinskih razloga (12).

Žene koje odluče krioprezervirati oocite i odgoditi trudnoću treba u savjetovanju upozoriti da ova metoda ne garantira uspjeh već povećava šanse, da ima svoje rizike u tijeku COS te da je trudnoća u starijoj životnoj dobi općenito rizičnija za majku i dijete, te bi trebalo imati informirani pristanak (92). Socijalno zamrzavanje oocita praćeno IVF-om i FET-om nudi mogućnost biološkog roditeljstva u kasnijoj dobi i smanjuje rizik kromosomskih abnormalnosti povezanih s aneuploidijom oocite. S druge strane, rizici te metode za ženu stariju od 35 godina su OHSS, komplikacije punkcije jajnika, mogući rizik za maligne bolesti, gestarijski dijabetes, preklampsije, višepodne trudnoće, prijevremeni porod, gestoze i carski rez. Rizici za potomstvo su prijevremeno rođenje i moguće prirodene anomalije (92).

Ova indikacija tema je brojnih rasprava u društvu i znanosti. Zanimljivo, neke velike kompanije, npr. Google, Facebook i Apple, pokrivaju troškove krioprezervacije oocita u ženskih zaposlenica koje žele odgoditi trudnoću iz socijalnih indikacija. Manjak realnih indikacija za pohranu oocita i niska stopa vraćanja po oocite najviše utječu na financijsku isplativost, no ne smije se zanemariti psihološki i društveni aspekt ovakve mogućnosti (12).

## 6. Zaključak

Očuvanje plodnosti u žena relativno je nova, brzonapredujuća disciplina u medicini. Napredci u liječenju malignih i nemalignih bolesti omogućili su dulje preživljenje mnogih žena koje nakon izlječenja bolesti žele ostvariti svoje reproduksijske želje i planove te imati što bolju kvalitetu života. Da bi se to ostvarilo, potrebno je na vrijeme misliti o dugoročnim učincima gonadotoksične terapije i postupaka liječenja koji umanjuju plodnost te žene savjetovati ili ih uputiti na savjetovanje o očuvanju plodnosti specijalistima reproduksijske medicine. U odraslih žena najčešće korištene metode su krioprezervacija oocita i embrija, od kojih obje za uspjeh zahtijevaju prethodnu kontroliranu stimulaciju jajnika. Kontrolirana stimulacija jajnika problematična je u mnogih žena s malignomima jer zahtijeva određeno vrijeme za provođenje, što odgađa početak onkološke terapije, a rizična je u žena s hormonski osjetljivim tumorima. Protokole stoga treba individualizirati. U prepubertalnih djevojčica ne može se provoditi stimulacija jajnika pa je njima jedina dostupna metoda eksperimentalna – krioprezervacija tkiva jajnika, ili čak cijelog jajnika, s autotransplantacijom. Najveći strah kod primjene te metode je mogućnost prijenosa rezidualnih malignih stanica autotransplantacijom, ali s obzirom na niskorizičnost rekurencije bolesti i dosadašnje uspjehe mnogi misle kako je vrijeme da ona prestane biti smatrana eksperimentalnom. Nema sporazuma o koristi primjene GnRH agonista tijekom kemoterapije u smislu očuvanja plodnosti, no njihova se primjena preporučuje radi smanjenja rizika POI u žena s rakom dojke. In vitro maturacija nezrelih oocita novija je istraživana mogućnost, no potrebno je još istraživanja i unaprjeđenja te metode da bi se primjenjivala u očuvanju plodnosti djece i žena. Vitifikacija oocita u zdravih žena koje žele odgoditi trudnoću iz drugih osobnih razloga, a zaštititi svoju plodnost od dobno uzrokovanog smanjenja ovarijske rezerve, tema je brojnih rasprava. Zaključno, metode očuvanja plodnosti rezultirale su već velikim brojem živorođene djece u žena koje bi bez njihovog korištenja ostale neplodne zbog bolesti same ili gonadotoksične terapije, no potrebna su daljnja istraživanja i dugoročna praćenja tih žena i djece zbog specifičnosti njihovih indikacija te daljnja unaprjeđenja temeljena na novim spoznajama, kao i edukacija liječnika za savjetovanje i upućivanje prikladnih kandidata.

## **7. Zahvale**

Zahvaljujem mentoru, prof.dr.sc Hrvoju Vrčiću na usmjeravanju i pomoći pri pisanju ovog rada.

Zahvaljujem cijeloj obitelji, svim prijateljima i Filipu na neprekidnoj potpori, stalnom ohrabrivanju i razumijevanju tijekom cijelog školovanja.



## 8. Popis literature

1. Gosden RG. Fertility preservation: Definition, history, and prospect. *Semin Reprod Med.* 2009;27(6):433–7.
2. Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women. *N Engl J Med.* 2017;377(1):1657–65.
3. Stoop D, Van Der Veen F, Deneyer M, Nekkebroeck J, Tournaye H. Oocyte banking for anticipated gamete exhaustion (AGE) is a preventive intervention, neither social nor nonmedical. *Reprod Biomed Online [Internet].* 2014;28(5):548–51. Available from: [https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483\(14\)00059-5/fulltext](https://www.rbmojournal.com/article/S1472-6483(14)00059-5/fulltext)
4. Duncan FE, Brannigan RE, Woodruff TK. Fertility Preservation. In: Yen & Jaffe's *Reproductive Endocrinology: Seventh Edition.* Seventh Ed. Elsevier; 2014. p. 791–821.
5. Armstrong GT, Chen Y, Yasui Y, Leisenring W, Gibson TM, Mertens AC, et al. Reduction in Late Mortality among 5-Year Survivors of Childhood Cancer. *N Engl J Med.* 2016;374(9):833–42.
6. Duncan FE, Feinberg E, Brannigan RE, Edmonds M, Ataman L, Woodruff TK. Fertility Preservation. In: Yen & Jaffe's *Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: Eighth Edition.* Eighth Ed. Elsevier; 2018. p. 857–86.
7. Woodruff TK. Oncofertility: a grand collaboration between reproductive medicine and oncology. *Reproduction.* 2015;150(3):1–10.
8. Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, Quinn GP, Joyce R. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2018;36(19):1994–2001.
9. Johnson EK, Finlayson C, Rowell EE, Gosiengfiao Y, Pavone ME, Lockart B, et al. Fertility Preservation for Pediatric Patients: Current State and Future Possibilities. *J Urol.* 2017;198(1):186–94.
10. Wallace WHB, Kelsey TW, Anderson RA. Fertility preservation in pre-pubertal girls with cancer: The role of ovarian tissue cryopreservation. *Fertil Steril.* 2016;105(1):6–12.
11. Condorelli M, Demeestere I. Challenges of fertility preservation in non-oncological diseases. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(5):638–46.
12. Alteri A, Pisaturo V, Nogueira D, D'Angelo A. Elective egg freezing without medical indications. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(5):647–52.
13. Maheshwari A, Fowler P, Bhattacharya S. Assessment of ovarian reserve - Should we perform tests of ovarian reserve routinely? *Hum Reprod.* 2006;21(11):2729–35.
14. Broer SL, Broekmans FJM, Laven JSE, Fauser BCJM. Anti-Müllerian hormone: Ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update.* 2014;20(5):688–701.
15. Jeppesen J V., Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K, et al. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod.* 2013;19(8):519–27.
16. Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al.

- Comparison of inter-and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod.* 2010;25(1):221–7.
17. Jung S, Allen N, Arslan AA, Baglietto L, Brinton LA, Eggleston BL, et al. Demographic, lifestyle, and other factors in relation to antimüllerian hormone levels in mostly late premenopausal women. *Fertil Steril.* 2017;107(4):1012–22.
  18. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WHB. A validated model of serum Anti-Müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS One.* 2011;6(7):1–7.
  19. Kruszynska A, Slowinska-Srzednicka J. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Prz Menopauzalny.* 2017;16(2):47–50.
  20. Iwase A, Osuka S, Goto M, Murase T, Nakamura T, Takikawa S, et al. Clinical application of serum anti-Müllerian hormone as an ovarian reserve marker: A review of recent studies. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018;44(6):998–1006.
  21. Nyboe Andersen A, Nelson SM, Fauser BCJM, García-Velasco JA, Klein BM, Arce JC, et al. Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. *Fertil Steril.* 2017;107(2):387–96.
  22. Keane K, Cruzat VF, Wagle S, Chaudhary N, Newsholme P, Yovich J. Specific ranges of anti-Müllerian hormone and antral follicle count correlate to provide a prognostic indicator for IVF outcome. *Reprod Biol.* 2017;17(1):51–9.
  23. Panchal S, Nagori C. Comparison of anti-müllerian hormone and antral follicle count for assessment of ovarian reserve. *J Hum Reprod Sci.* 2013;5(3):274.
  24. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril.* 2011;95(1):170–5.
  25. Gracia CR, Sammel MD, Freeman E, Prewitt M, Carlson C, Ray A, et al. Impact of cancer therapies on ovarian reserve. *Fertil Steril.* 2012;97(1):134–40.
  26. Lie Fong S, Lugtenburg PJ, Schipper I, Themmen APN, De Jong FH, Sonneveld P, et al. Anti-müllerian hormone as a marker of ovarian function in women after chemotherapy and radiotherapy for haematological malignancies. *Hum Reprod.* 2008;23(3):674–8.
  27. Anderson RA, Wallace WHB. Antimüllerian hormone, the assessment of the ovarian reserve, and the reproductive outcome of the young patient with cancer. *Fertil Steril.* 2013;99(6):1469–75.
  28. Anderson RA, Rosendahl M, Kelsey TW, Cameron DA. Pretreatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *Eur J Cancer.* 2013;49(16):3404–11.
  29. Dunlop CE, Anderson RA. Uses of anti-Müllerian hormone (AMH) measurement before and after cancer treatment in women. *Maturitas.* 2015;80(3):245–50.
  30. Dillon KE, Sammel MD, Ginsberg JP, Lechtenberg L, Prewitt M, Gracia CR. Pregnancy After Cancer: Results From a Prospective Cohort Study of Cancer Survivors. *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60:2001–6.
  31. Peigné M, Decanter C. Serum AMH level as a marker of acute and long-term effects of chemotherapy on the ovarian follicular content: A systematic review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12(1).

32. Wong QHY, Anderson RA. The role of antimüllerian hormone in assessing ovarian damage from chemotherapy, radiotherapy and surgery. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2018;25(6):391–8.
33. Dillon KE, Sammel MD, Prewitt M, Ginsberg JP, Walker D, Mersereau JE, et al. Pretreatment antimüllerian hormone levels determine rate of posttherapy ovarian reserve recovery: Acute changes in ovarian reserve during and after chemotherapy. *Fertil Steril.* 2013;99(2):477–84.
34. Grisendi V, Spada E, Argento C, Plebani M, Milani S, Seracchioli R, et al. Age-specific reference values for serum FSH and estradiol levels throughout the reproductive period. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(6):451–5.
35. Gleicher N. How Do AMH and FSH Affect Fertility? [Internet]. 2018 [cited 2019 May 5]. Available from: <https://www.centerforhumanreprod.com/infertilityedu/causes/anti-mullerian-hormone/fsh/>
36. Gleicher N. POA Diagnosis - Premature Ovarian Aging Diagnosis [Internet]. 2019 [cited 2019 May 5]. Available from: <https://www.centerforhumanreprod.com/dor/poa-diagnosis/>
37. Gleicher N. What is Premature Ovarian Aging (POA)? [Internet]. 2018 [cited 2019 May 5]. Available from: <https://www.centerforhumanreprod.com/infertilityedu/causes/poa/>
38. Spath MA, Braat DDM. Iatrogenic and non-iatrogenic causes of female fertility loss that may indicate fertility preservation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019;98(5):559–62.
39. Bedoschi G, Navarro PA, Oktay K. Chemotherapy-induced damage to ovary: Mechanisms and clinical impact. *Futur Oncol.* 2016;12(19):2333–44.
40. Durlinger A, Kramer P, Karels B, De Jong FH, Uilenbroek J, Grootegoed J. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology.* 1999;140(12):5789–96.
41. Wallace WHB, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod.* 2003;18(1):117–21.
42. Teh WT, Stern C, Chander S, Hickey M. The Impact of Uterine Radiation on Subsequent Fertility and Pregnancy Outcomes. *Biomed Res Int.* 2014;2014(482968).
43. Chae-Kim J, Gavrilova-Jordan L. Premature Ovarian Insufficiency: Procreative Management and Preventive Strategies. *Biomedicines.* 2018;7(1):2.
44. Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, et al. ESHRE Guideline: Management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod.* 2016;31(5):926–37.
45. Ata B, Chian RC, Tan SL. Cryopreservation of oocytes and embryos for fertility preservation for female cancer patients. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2010;24(1):101–12.
46. Lambertini M, Del Mastro L, Pescio MC, Andersen CY, Azim HA, Peccatori FA, et al. Cancer and fertility preservation: International recommendations from an expert meeting. *BMC Med.* 2016;14(1):1–16.
47. Irtan S, Orbach D, Helfre S, Sarnacki S. Ovarian transposition in prepubescent and adolescent girls with cancer. *Lancet Oncol.* 2013;14(13):601–8.
48. Kim SS. Ovarian stimulation for fertility preservation in women diagnosed with cancer. *Fertil Steril.* 2018;110(7):1269–70.

49. Siristatidis CS, G B, Maheshwari A, Gibreel A, Bhattacharya S. Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(11).
50. Al-inany H, Youssef M, Ayeleke R, Brown J, Lam W, Broekmans F. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(4):1–3.
51. Bénard J, Duros S, El Hachem H, Sonigo C, Sifer C, Grynberg M. Freezing oocytes or embryos after controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients: The state of the art. *Futur Oncol.* 2016;12(14):1731–41.
52. Muteshi C, Child T, Ohuma E, Fatum M. Ovarian response and follow-up outcomes in women diagnosed with cancer having fertility preservation: Comparison of random start and early follicular phase stimulation - cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018;230:10–4.
53. Oktay K, Buyuk E, Libertella N, Akar M, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients: A prospective controlled comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrozole for embryo cryopreservation. *J Clin Oncol.* 2005;23(19):4347–53.
54. Kim J, Turan V, Oktay K. Long-term safety of letrozole and gonadotropin stimulation for fertility preservation in women with breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1364–71.
55. Oktay K, Turan V, Bedoschi G, Pacheco FS, Moy F. Fertility preservation success subsequent to concurrent aromatase inhibitor treatment and ovarian stimulation in women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2015;33(22):2424–9.
56. Oktay K, Türkçüoğlu I, Rodriguez-Wallberg KA. GnRH agonist trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reprod Biomed Online.* 2010;20(6):783–8.
57. Turan V, Quinn MM, Dayioglu N, Rosen MP, Oktay K. The impact of malignancy on response to ovarian stimulation for fertility preservation: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2018;110(7):1347–55.
58. Zeilmaker GH, Alberda AT, van Gent I, Rijkmans CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril.* 1984;42(2):293–6.
59. Brown JR, Modell E, Obasaju M, Ying YK. Natural cycle in-vitro fertilization with embryo cryopreservation prior to chemotherapy for carcinoma of the breast. *Hum Reprod.* 1996;11(1):197–9.
60. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update.* 2017;23(2):139–55.
61. Smith KL, Gracia C, Sokalska A, Moore H. Advances in Fertility Preservation for Young Women With Cancer. In: *American Society of Clinical Oncology Educational Book.* American Society of Clinical Oncology; p. 27–37.
62. Dolmans MM, Hollanders de Ouderaen S, Demylle D, Pirard C. Utilization rates and results of long-term embryo cryopreservation before gonadotoxic treatment. *J Assist Reprod Genet.* 2015;32(8):1233–7.
63. The Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive. Mature oocyte cryopreservation: A guideline. *Fertil Steril.*

- 2013;99(1):37–43.
64. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril*. 2016;105(3):755–64.
  65. Dolmans MM, Manavella DD. Recent advances in fertility preservation. *J Obstet Gynaecol Res*. 2019;45(2):266–79.
  66. Silber SJ, Derosa M, Pineda J, Lenahan K, Grenia D, Gorman K, et al. A series of monozygotic twins discordant for ovarian failure: Ovary transplantation (cortical versus microvascular) and cryopreservation. *Hum Reprod*. 2008;23(7):1531–7.
  67. Donnez J, Dolmans MM. Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(8):1167–70.
  68. Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: A review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1503–13.
  69. Meirov D, Roness H, Kristensen SG, Andersen CY. Optimizing outcomes from ovarian tissue cryopreservation and transplantation; Activation versus preservation. *Hum Reprod*. 2015;30(11):2453–6.
  70. Sonmezer M, Oktay K. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2010;24(1):113–26.
  71. Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG, Bay-Bjørn AM, Ernst E, Yding Andersen C. Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(4):561–70.
  72. Donnez J, Demylle D, Jadoul P, Pirad C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004;364:1405–10.
  73. Kim SS. Revisiting the role of heterotopic ovarian transplantation: Futility or fertility. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(2):141–5.
  74. Stern CJ, Gook D, Hale LG, Agresta F, Oldham J, Rozen G, et al. First reported clinical pregnancy following heterotopic grafting of cryopreserved ovarian tissue in a woman after a bilateral oophorectomy. *Hum Reprod*. 2013;28(11):2996–9.
  75. Tammiste T, Kask K, Padrik P, Idla K, Rosenstein K, Jatsenko T, et al. A case report and follow-up of the first live birth after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue in Eastern Europe. *BMC Womens Health*. 2019;19:65.
  76. Dolmans M-M, Martinez-Madrid B, Gadisseux E, Guiot Y, Yuan WY, Torre A, et al. Short-term transplantation of isolated human ovarian follicles and cortical tissue into nude mice. *Reproduction*. 2007;134(2):253–62.
  77. Gavish Z, Spector I, Peer G, Schlatt S, Wistuba J, Roness H, et al. Follicle activation is a significant and immediate cause of follicle loss after ovarian tissue transplantation. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(1):61–9.
  78. Jadoul P, Donnez J, Dolmans MM, Squifflet J, Lengele B, Martinez-Madrid B. Laparoscopic ovariectomy for whole human ovary cryopreservation: technical aspects. *Fertil Steril*. 2007;87(4):971–5.
  79. Salama Mahmoud, Woodruff TK. New advances in ovarian autotransplantation to restore

- fertility in cancer patients. *Cancer Metastasis Rev.* 2015;34(4):807–22.
80. Silber SJ, Grudzinskas G, Gosden RG. Successful Pregnancy after Microsurgical Transplantation of an Intact Ovary. *N Engl J Med.* 2008;359(24):2617–8.
  81. Bastings L, Beerendonk CCM, Westphal JR, Massuger LFAG, Kaal SEJ, van Leeuwen FE, et al. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in cancer survivors and the risk of reintroducing malignancy: A systematic review. *Hum Reprod Update.* 2013;19(5):483–506.
  82. Ayik H, goksu erol yasemin, aydin armagan. Autotransplantation of Cryopreserved/Thawed Ovarian Tissue: Overview of Methods and Challenges. *Sak Med J.* 2019;9(1):1–10.
  83. Smitz, J.E., Thompson, J.G. and Gilchrist RB. The promise of In vitro maturation in assisted reproduction and fertility preservation. *Semin Reprod Med.* 2011;29:24–37.
  84. De Vos M, Smitz J, Woodruff TK. Fertility preservation in women with cancer. *Lancet.* 2014;384:1302–10.
  85. Fasano G, Dechène J, Antonacci R, Biramane J, Vannin AS, Van Langendonck A, et al. Outcomes of immature oocytes collected from ovarian tissue for cryopreservation in adult and prepubertal patients. *Reprod Biomed Online.* 2017;34(6):575–82.
  86. Prasath EB, Chan MLH, Wong WHW, Lim CJW, Tharmalingam MD, Hendricks M, et al. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. *Hum Reprod.* 2014;29(2):276–8.
  87. Lambertini M, Horicks F, Del Mastro L, Partridge AH, Demeestere I. Ovarian protection with gonadotropin-releasing hormone agonists during chemotherapy in cancer patients: From biological evidence to clinical application. *Cancer Treat Rev.* 2019;72:65–77.
  88. Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, et al. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: A randomized trial. *JAMA.* 2011;306(3):269–76.
  89. Moore HCF, Unger JM, Phillips KA, Boyle F, Hitre E, Porter D, et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. *Obstet Gynecol Surv.* 2015;70(6):392–3.
  90. Smith B, Duncan FE, Ataman L, Smith K, Quinn GP, Chang R, et al. The National Physicians Cooperative: Transforming fertility management in the cancer setting and beyond. *Futur Oncol.* 2018;14(29):3059–72.
  91. Alexandroni H, Shoham G, Levy-Toledano R, Nagler A, Mohty M, Duarte R, et al. Fertility preservation from the point of view of hematopoietic cell transplant specialists—a worldwide-web-based survey analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2019;
  92. Vričić H. 8.Hrvatski kongres ginekologa i opstetričara 16-19 svibnja 2019. Vodice. Očuvanje vlastite plodnosti.
  93. International Agency for Research on Cancer.The Global Cancer Observatory (GCO) [Internet]. 2018 [cited 2019 May 20]. Available from: [http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=cancer&mode\\_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&nb\\_items=10&g](http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=cancer&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&g)
  94. Stewart B, Wild C. World Cancer Report 2014. Vol. 22, International Agency for Research on

Cancer. 2014. 16–22 p.

95. Johnson R. Innovative fertility preservation strategies and programs for young adults with cancer. *Clin Oncol Adolesc Young Adults*. 2016;6:1–9.
96. Schüring AN, Fehm T, Behringer K, Goeckenjan M, Wimberger P, Henes M, et al. Practical recommendations for fertility preservation in women by the FertiPROTEKT network. Part I: Indications for fertility preservation. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;297(1):241–55.
97. Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol*. 2004;103(1):51–6.
98. Simoni MK, Mu L, Collins SC. Women’s career priority is associated with attitudes towards family planning and ethical acceptance of reproductive technologies. *Hum Reprod*. 2017;32(10):2069–75.
99. Cobo A, García-Velasco J, Domingo J, Pellicer A, Remohí J. Elective and Onco-fertility preservation: Factors related to IVF outcomes. *Hum Reprod*. 2018;33(12):1–10.

## 9. Životopis

Rođena sam 5.8.1994. godine u Zagrebu gdje sam završila osnovnu školu i V. gimnaziju. 2013. godine upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Zbog odličnog uspjeha na prvoj godini studija dodijeljena mi je Dekanova nagrada, a od četvrte godine studija sam stipendistica Grada Zagreba za izvrsnost. Tijekom studija sudjelovala sam kao demonstrator na nastavi anatomije, histologije te pedijatrije. Područja interesa u medicini su mi interna medicina, posebno endokrinologija, pedijatrija i reproduktivna medicina. Tijekom studija bila sam aktivni član Studentske pedijatrijske sekcije te, tijekom šeste godine, volonter Hrvatskog Saveza za rijetke bolesti. Govorim engleski i njemački jezik. U slobodno vrijeme volim planinariti i putovati.