



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΜΟΝΑΔΑ ΥΠΟΒΟΗΘΟΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Η αξία της μέτρησης των επιπέδων της αντιμυλλέριας ορμόνης και του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων στην πρόβλεψη του αποτελέσματος της εξωσωματικής γονιμοποίηση σε γυναίκες με ενδομητρίωση»

ΜΠΑΧΑΡ ΜΑΝΑΒ
ΙΑΤΡΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2013

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ι. Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Αναπληρωτής καθηγητής κ. Κ.Νταφόπουλος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :

Αναπληρωτής καθηγητής κ. Κ.Νταφόπουλος
Καθηγητής κ. Ι.Ε.Μεσσήνης
Καθηγητής κ. Η.Ζιντζαράς

Ευχαριστώ θερμά όλους τους καθηγητές του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών <<Βιολογία της αναπαραγωγής>> και κυρίως τον καθηγητή κ. Ι Μεσσήνη για την δυνατότητα που μου έδωσε να παρακολουθήσω το πρόγραμμα και για το κίνητρο που δίνει σε μας τους νέους ιατρούς ως επιστήμονας και άνθρωπος. Ευχαριστώ επίσης τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Κ. Νταφόπουλου για την άψογη συνεργασία στην διεκπεραίωση της μελέτης αυτής. Ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ στην υπεύθυνη της μονάδας Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κ. Αναστασία Τζαβέλλα για την πολύτιμη βοήθεια και ανεκτίμητη υποστήριξη της.

Περιεχόμενα

1. ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ.....	6
α) Ορισμός και επιδημιολογία.....	6
β) Εντόπιση	6
γ) Διάγνωση και σταδιοποίηση	6
δ) Παθογένεια.....	7
ε) Παθοφυσιολογία.....	9
στ) Ενδομητρίωση και υπογονιμότητα	10
ζ)Θεραπεία	12
η)Ενδομητρίωση και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή	13
2. ΑΝΤΙΜΥΛΛΕΡΙΑ ΟΡΜΟΝΗ(ΑΜΗ)	15
α) Γενικά	15
β) Ρόλος της ΑΜΗ	17
γ) ΑΜΗ και ωοθηκικές εφεδρείες.....	17
δ) FSH και ΑΜΗ	19
3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΙΚΡΩΝ ΚΟΙΛΟΤΙΚΩΝ ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ(AFC).....	19
α) Γενικά	19
β) AFC και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.....	20
B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	21
1. Πληθυσμός μελέτης.....	21
2. Ορμονικές μετρήσεις.....	22
3. Υπερηχογραφικός έλεγχος.....	22
4. Διαδικασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και παρακολούθηση.....	22
5. Στατιστική ανάλυση	23
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	23
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	30
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	32

Περίληψη

Η ενδομητρίωση είναι μια νόσος των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και ένα από τα κύρια συμπτώματά της είναι η υπογονιμότητα. Πολλές γυναίκες με ενδομητρίωση απευθύνονται σε μονάδες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και υποβάλλονται σε τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης. Η πρόβλεψη του αποτελέσματος της εξωσωματικής γονιμοποίησης είναι υψίστης σημασίας. Τα τελευταία χρόνια δυο δείκτες ωθητικών εφεδρειών, η αντιμυλλέρια ορμόνη (AMH) και η μέτρηση του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων (AFC) χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τον λόγο αυτό. Πολλοί μελετητές όμως πιστεύουν πως οι τιμές των δυο αυτών δεικτών είναι ελαττωμένες σε γυναίκες με ενδομητρίωση.

Σχεδιασμός μελέτης: Προοπτική μελέτη κοορτής.

Σκοπός: Η διερεύνηση της προβλεπτικής αξίας των επιπέδων της αντιμυλλέριας ορμόνης και του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων στο αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης.

Μέθοδος: Οι τιμές της AMH και του AFC της 3^{ης} μέρας εμμήνου ρήσεως καταγράφηκαν από 45 γυναίκες που υπεβλήθησαν σε εξωσωματική γονιμοποίηση στην μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας από τον Ιανουάριο του 2013 έως και τον Ιούλιο του ίδιου έτους. 15 από τις γυναίκες αυτές παρουσίαζαν υπερηχογραφικά διεγνωσμένα ενδομητρίωματα ωθηκών ενώ 30 απευθύνθηκαν στην μονάδα λόγω ανδρικής αιτιολογίας υπογονιμότητα.

Αποτελέσματα: Η στατιστική μας ανάλυση ανέδειξε ελαττωμένες τιμές της AMH ($P=0.026$) και του AFC ($P=0.34$) στις γυναίκες με ενδομητρίωση σε σχέση με την ομάδα μαρτύρων. Επίσης, αποδείξαμε πως υπάρχει ισχυρή συσχέτιση, στατιστικά σημαντική των τιμών της AMH και του AFC με τον αριθμό των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων ($r=0.082$ με $P=0.00$ και $r=0.962$ με $P=0.00$ αντίστοιχα) και με τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων ($r=0.777$ με $P=0.01$ και $r=0.920$ με $P=0.00$ αντίστοιχα). Ενώ η συσχέτιση των τιμών αυτών με τον αριθμό των ώριμων ωαρίων, το ποσοστό γονιμοποίησης και τον αριθμό των εμβρύων διαθέσιμων προς εμβρυομεταφορά είναι λιγότερο ισχυρή.

Συμπεράσματα: Οι τιμές των AMH και AFC είναι ελαττωμένες σε γυναίκες με ενδομητρίωση, σχετίζονται θετικά με παραμέτρους του αποτελέσματος της εξωσωματικής γονιμοποίησης αλλά χρειάζεται να γίνουν μεγαλύτερες μελέτες για να αξιολογήσουμε την προβλεπτική τους αξία.

A.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ

α) Ορισμός και επιδημιολογία

Η ενδομητρίωση είναι μια παθολογική οντότητα, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενδομήτριου ιστού, αδένων και στρώματος εκτός της ενδομητρικής κοιλότητας. Περιγραφείσα για πρώτη φορά το 1860 από τον Karl von Rokitansky, υπολογίζεται πως επηρεάζει το 6%-10% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας(1) και το 35%-50% των υπογόνιμων γυναικών (2), ποσοστά που αντιστοιχούν σε 176 εκατομμύρια γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως (3). Μεγαλύτερος επιπολασμός της νόσου παρατηρείται σε γυναίκες Καυκάσιας φυλής από ότι σε Αφρό-Αμερικανές. Ως σημαντικοί παράγοντες κινδύνου έχουν αναγνωρισθεί ο χαμηλός δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ και το κάπνισμα. (4).

β) Εντόπιση

Η ενδομητρίωση είναι μια ετερογενής νόσος με τυπικές και άτυπες περιτοναϊκές εντοπίσεις που μπορεί να είναι από μονήρεις εστίες 1 cm έως ενδομητριώματα διαμέτρου 10 cm (5). Πιο συχνά εντοπίζεται στις ωθήκες, το Δουγλάσσειο ,το πυελικό περιτόναιο, τους ιερομητρικούς συνδέσμους, τον τράχηλο της μήτρας, τις σάλπιγγες και το ορθοσιγμοειδές(1,9). Ενδομητριώματα ωθηκών είναι παρόντα στο 20-40% των γυναικών με ενδομητρίωση (6)

γ) Διάγνωση και σταδιοποίηση

Η ενδομητρίωση παρουσιάζει ιδιαίτερη ετερογένεια: μπορεί να είναι εντελώς ασυμπτωματική ή να εμφανίζεται με πληθώρα συμπτωμάτων. Τα κύρια συμπτώματα της ενδομητρίωσης είναι η δυσμηνόρροια, η δυσπαρεύνια, το χρόνιο πυελικό άλγος, η ακανόνιστη κοιλιακή αιμόρροια και/ή η υπογονιμότητα (1). Αναφέρονται επίσης μηνορραγίες, δυσχεσία, δυσουρία, χρόνια κόπωση(7,6). Λόγω της ετερογένειάς της και της αδυναμίας εκτέλεσης λαπαροσκόπησης (εξέταση εκλογής) πολύ συχνά διαφεύγει της διάγνωσης. Ένα πλήρες ιατρικό ιστορικό σε συνδυασμό με προσεκτική κλινική εξέταση είναι βασικά εργαλεία στη διαγνωστική προσέγγιση. Συμπτώματα όπως το χρόνιο πυελικό άλγος, η δυσμηνόρροια, η δυσπαρεύνια και κλινικά ευρήματα όπως καθηλωμένη με οπίσθια κλήση μήτρα, ψηλαφητή μάζα εξαρτημάτων,

οζώδης σύσταση, πάχυνση και ευαισθησία του ιερομητρικού συνδέσμου θέτουν την υπόνοια ενδομητρίωσης.

Ο υπερηχογραφικός έλεγχος μπορεί να βοηθήσει στην απεικόνιση συγκριμένης εντοπίσεως ενδομητριομάτων. Ο ρόλος της μαγνητικής τομογραφίας περιορίζεται στην απεικόνιση ενδομητριομάτων διαμέτρου άνω των 4 χιλιοστών. ενώ η μέτρηση στον ορό του καρκινικού δείκτη CEA125, (συνήθως αυξημένη σε ορό γυναικών με ενδομητρίωση) (12) δε θεωρείται διαγνωστική εξέταση. Η τελική διάγνωση τίθεται μόνο με τη λαπαροσκόπηση κατά την οποία ανευρίσκονται σαφείς ενδομητριοσικές εστίες(6,10), και την ιστολογική επιβεβαίωση της προελεύσεως τους (7). Οι εστίες ενδομητρίωσης μπορεί να απεικονίζονται ως ερυθρές ή λευκές βλάβες ή ως κυανές κηλίδες (11). Επιπλέον, η λαπαροσκόπηση παρέχει τη δυνατότητα σταδιοποίησης της νόσου σύμφωνα με σύστημα σταδιοποίησης της Αμερικάνικης Εταιρίας Αναπαραγωγικής Ιατρικής(American Society for Reproductive Medicine). Με βάση τη σταδιοποίηση αυτή η ενδομητρίωση μπορεί να χαρακτηριστεί ως ελάχιστη (στάδιο I), ήπια (στάδιοII), μέτρια (στάδιο III) και σοβαρή (στάδιο IV). Έχει αποδειχτεί βέβαια ότι το στάδιο και η έκταση της νόσου δε σχετίζονται με την συμπτωματολογία, το αποτέλεσμα γονιμοποίησης ή την πιθανότητα υποτροπής της μετά από χειρουργική αφαίρεση των εστιών(3). Απουσία ιστολογικής επιβεβαίωσης, το ποσοστό ψευδώς-θετικού αποτελέσματος της λαπαροσκοπικής απεικόνισης των αλλοιώσεων αγγίζει το 50%, ειδικότερα σε ήπιες και μέτριες μορφές ενδομητρίωσης(9).

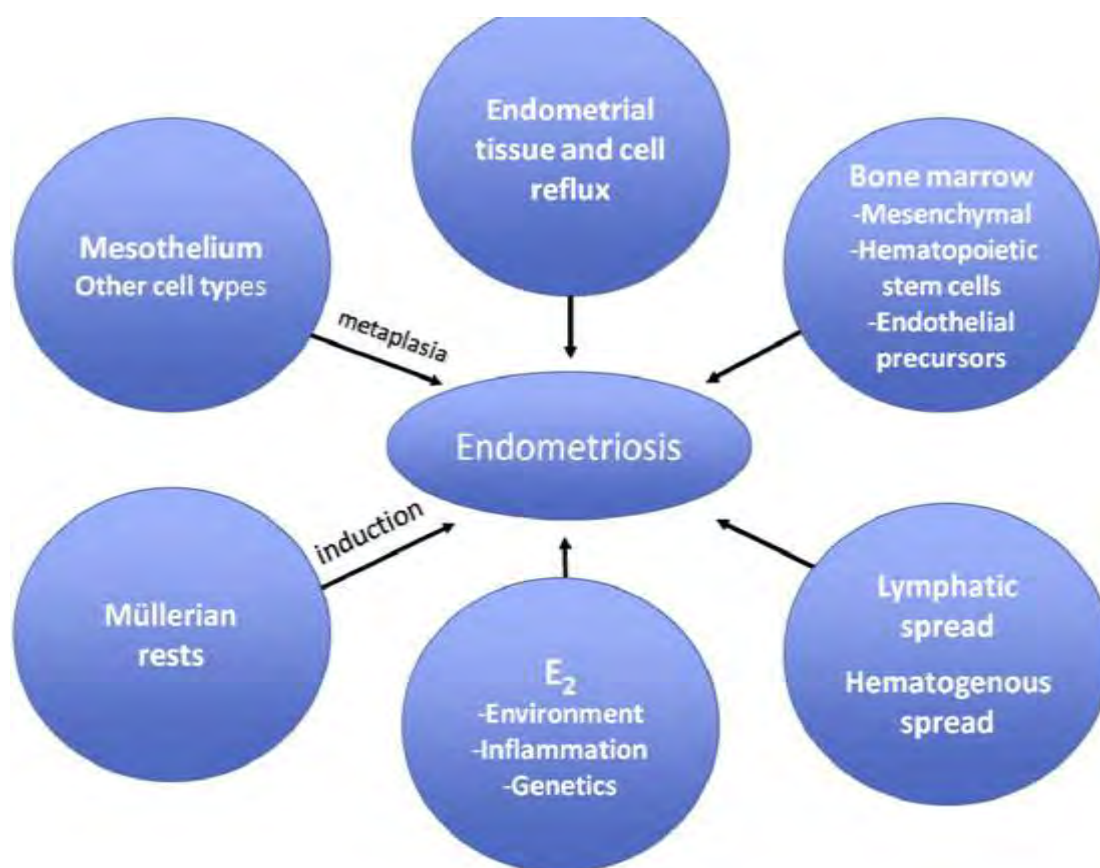
δ) Παθογένεια

Η ενδομητρίωση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος. Έχουν κατά καιρούς προταθεί πολλοί μηχανισμοί για την προέλευση και παθογένεια της, στους οποίους τα τελευταία χρόνια προστίθενται γενετικοί παράγοντες και επιγενετικοί μηχανισμοί. Οι θεωρίες που μέχρι σήμερα έχουν προταθεί χωρίζονται σε δυο μεγάλες κατηγορίες, η μια εκ των οποίων υποστηρίζει την προέλευση του έκτοπου ενδομήτριου ιστού από το ενδομήτριο, ενώ η δεύτερη προτείνει την εκτός ενδομήτριου προέλευση του έκτοπου ιστού(13).

Η κυριότερη και επικρατέστερη από αυτές, περιγράφηκε αρχικά από τον Sampson τη δεκαετία του 1920 και είναι η θεωρία της εμφυτεύσεως, η οποία βασίζεται στην ανάστροφη ροή της εμμήνου ρύσεως(10). Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή βιώσιμος ενδομήτριος ιστός, αντί να εξέλθει από τον τράχηλο υπό τη μορφή εμμήνου ρύσεως, παλινδρομεί μέσω των σαλπίνγων στην περιτοναϊκή κοιλότητα και εμφυτεύεται στην επιφάνεια του περιτοναίου και των πυελικών οργάνων. Το φαινόμενο αυτό υποστηρίζεται από αρκετές μελέτες που συνηγορούν υπέρ της παρουσίας εμμηνορυσιακού αίματος στο περιτοναϊκό υγρό στο 90% υγείων γυναικών με καλή βατότητα σαλπίνγων που υποβάλλονται σε λαπαροσκόπηση κατά την περιεμμηνορυσιακή φάση του κύκλου τους(14).

Στις θεωρίες που προτείνουν εξωμητρική προέλευση της νόσου κυρίαρχη είναι η θεωρία της μετάπλασης του σπλαχνικού επιθηλίου, σύμφωνα με την οποία οι εστίες ενδομητρίωσης είναι αποτέλεσμα μετάπλασης επιθηλιακών κυττάρων του πυελικού περιτοναίου(16). Ενώ τα αίτια αυτής της μετάπλασης παραμένουν άγνωστα, τα EDCs (endocrine disrupting chemicals)

ενοχοποιούνται από αρκετούς ερευνητές(17). Η θεωρία της πρόκλησης βασίζεται στην μετάπλαση περιτοναϊκών κυττάρων σε ενδομητριοειδείς εστίες από ορμονικούς ή ανοσολογικούς παράγοντες που παράγονται από το εκφυλισμένο ενδομήτριο (18,19). Η θεωρία των εμβρυικών υπολειμμάτων υποστηρίζει πως κυτταρικά υπολείμματα των πόρων του Muller ενεργοποιούνται και σχηματίζουν λειτουργικό ενδομήτριο υπό την επίδραση των οιστρογόνων στην αρχή της εφηβείας(20). Η θεωρία αυτή επιβεβαιώνεται από επιδημιολογικές μελέτες που αναφέρονται σε αυξημένη πιθανότητα ενδομητρίωσης σε γυναίκες μετά από ενδομήτρια έκθεση σε διαθυλαλβεστρόλη(21). Μια πρόσφατη μελέτη υποστηρίζει την πιθανότητα διαφοροποίησης αρχέγονων βλαστικών κυττάρων του μυελό των οστών σε ενδομητριοειδή ιστό(15). Οι θεωρίες της εξωμητρικής προέλευσης της ενδομητρίωσης, εξηγούν την εμφάνιση της νόσου σε άτομα χωρίς φυσιολογικό ενδομήτριο ιστό, όπως σε άνδρες και σε γυναίκες με σύνδρομο Rokitansky-Kuster-Hauser(22). Η θεωρία της λεμφικής και αγγειακής μετάστασης βασίζεται στην ιδέα της προέλευσης του έκτοπου ενδομητρίου από λεμφική ή αιματογενή διασπορά ενδομητρίων κυττάρων(23). Η πιο ισχυρή απόδειξη της θεωρίας αυτής προέρχεται από ιστολογικά επιβεβαιωμένες περιπτώσεις εστιών ενδομητρίωσης σε απομακρυσμένα όργανα, μεταξύ των οποίων τα οστά, οι πνεύμονες και ο εγκέφαλος(24).



Εικόνα 1

Burney et al, Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. Fertil Steril 2012

ε) Παθοφυσιολογία

Με σκοπό την περιγραφή της παθοφυσιολογίας της ενδομητρίωσης έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί που περιλαμβάνουν τη γενετική προδιάθεση, την οιστρογόνο-εξαρτώμενη φύση της νόσου, την αντίσταση στην προγεστερόνη, συνοδές φλεγμονώδεις διαδικασίες και επιγενετικές ρυθμίσεις. Οι μηχανισμοί αυτοί εξηγούν την μη υποβολή των μηχανισμών παθογένειας στον αυστηρό έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος, την προσκόλληση και εισχώρηση των εστιών ενδομητρίωσης στο περιτοναϊκό επιθήλιο, την εγκατάσταση τοπικής νευροαγγείωσης, και την συνεχή αύξηση και επιβίωση του έκτοπου ενδομήτριου ιστού(25).

Έχει αποδειχτεί πως η επιβίωση των κυττάρων των ενδομητριωσικών εστιών ευνοείται από την υπερέκφραση του αντι-αποπτωτικού γονιδίου BCL-2(26). Επίσης, γονίδια στις περιοχές 10q26 και 7p15 ενοχοποιούνται για γενετικές μεταβολές που υποβοηθούν την εμφύτευση των κυττάρων του ενδομητρίου και συνηγορούν υπέρ του κληρονομικού χαρακτήρα της νόσου(27, 28). Τέλος, γενετικοί παράγοντες φαίνεται πως εμπλέκονται και στη διαταραχή της δράσης των στεροειδών ορμονών στο ενδομήτριο γυναικών με ενδομητρίωση (29)

Ορμονικές μεταβολές που έχει αποδειχτεί ότι συντελούν στην επιβίωση των κυττάρων του ενδομητρίου, στη διεισδυτική τους ικανότητα και ανοσοαντοχή είναι η αυξημένη έκφραση της αρωματάσης και η μειωμένη έκφραση της 17-β υδροξυστεροειδικής δευδρογονάσης(30). Οι μεταβολές αυτές έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της τοπικής συγκέντρωσης της οιστραδιόλης, η οποία με τη σειρά της διεγείρει την παραγωγή προσταγλανδίνης E2 με συνέπεια την περαιτέρω ενίσχυση της δράσης της αρωματάσης(31). Εκτός από την οιστρογόνο-εξαρτώμενη αυτή κατάσταση φαίνεται πως στην παθοφυσιολογία της ενδομητρίωσης εμπλέκεται και η αντίσταση στην προγεστερόνη μέσω της μείωσης της έκφρασης των υποδοχέων της προγεστερόνης στις εστίες ενδομητρίωσης(32).

Επιπλέον σε γυναίκες με ενδομητρίωση παρατηρείται αντίσταση στα κύτταρα φονιάδες (NK cells), διαταραχή της λειτουργίας των μακροφάγων, υπερέκφραση μεταλλοπρωτεασών 3 (MMP-3) στην ωχρινική φάση του κύκλου και των παραγόντων ICAM-1, TGF-β και της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) κατά την έμμηνο ρύση(33) Με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός μικροπεριβάλλοντος που ενισχύει την εμφύτευση των κυττάρων του ενδομητρίου και προστατεύει τις εστίες ενδομητρίωσης από την αντίδραση του ανοσοποιητικού μηχανισμού. Επίσης, στο περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση βρέθηκαν αυξημένες συγκεντρώσεις αυξητικών παραγόντων όπως ο αγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας(VEGF), επιδερμικός αυξητικός παράγοντας(EGF), insulin-like growth factors (IGF) (24), platelet derived growth factor PDEGF (35) οι οποίοι συντελούν στην νευροαγγείωση και αύξηση των εστιών ενδομητρίωσης, καθώς Τέλος, παρατηρείται αύξηση των φαγοκυττάρων και κυτοκινών όπως TNF-a (36), IL-1b, IL-6(37), IL-8 και προσταγλανδινών(38), που υποδηλώνουν την φλεγμονώδη φύση της νόσου.

στ) Ενδομητρίωση και υπογονιμότητα

Η υπογονιμότητα είναι ένα από τα κύρια συμπτώματα της ενδομητρίωσης. Το 30-50% των γυναικών με ενδομητρίωση παρουσιάζει υπογονιμότητα (47), ενώ ο επιπολασμός της ενδομητρίωσης σε ασυμπτωματικές γυναίκες που υποβάλλονται σε λαπαροσκόπηση για διερεύνηση της υπογονιμότητας είναι 9-50%.

Η υπόθεση ότι η ενδομητρίωση προκαλεί υπογονιμότητα ή μειωμένη γονιμοποιητική ικανότητα αποδεικνύεται από δεδομένα που συνδέουν στενά τις δυο αυτές έννοιες, χωρίς όμως μέχρι σήμερα να έχει προταθεί κάποια σαφής αιτιολογική συσχέτιση. Ιστορικά η σχετιζόμενη με την ενδομητρίωση υπογονιμότητα έχει ερμηνευτεί ποικιλοτρόπως(39, 40, 41, 42, 43, 44 45, 46). Πολλοί μηχανισμοί ενοχοποιούνται για την υπογονιμότητα στην ενδομητρίωση, μηχανικοί, μοριακοί, ορμονικοί και ανοσολογικοί.

Η διαταραχή της ανατομικής της πυέλου λόγω των πυελικών συμφύσεων που προκαλούνται από τα ενδομητρίωματα και τις εστίες ενδομητρίωσης παρεμποδίζουν την απελευθέρωση και μετακίνηση των ωοκυττάρων από την ωοθήκη στις σάλπιγγες με τη βοήθεια των κροσσών, ανατομικές δομές που συχνά ανευρίσκονται καθηλωμένες μεταξύ των συμφύσεων σε γυναίκες με ενδομητρίωση(50). Η ανώμαλη σαλπινγομητρική μετακίνηση, έχει επιβεβαιωθεί με υστεροσαλπιγγιογραφία(51).

Οι ορμονικές μεταβολές που παρατηρούνται σε γυναίκες με ενδομητρίωση αποδίδονται καταρχήν σε διαταραχή της λειτουργίας του άξονα υπόφυσης-ωοθηκών και περιλαμβάνουν διαταραχές στην ωοθυλακιογένεση, διαταραχές ωοθυλακιορρηξίας και διαταραχές της ωχρινικής φάσης του κύκλου. Υπάρχουν δεδομένα που συνηγορούν υπέρ ανώμαλης ωοθυλακικής ανάπτυξης, πρόωρων και πολλαπλών αιχμών της LH και ανεπάρκειας ωχρινικής φάσης(50). Μπορεί επίσης να παρατηρηθούν επιμήκυνση της ωοθυλακικής φάσης και καθυστέρηση της αιχμής της LH, με αποτέλεσμα χαμηλά επίπεδα οιστραδιόλης ορού και της εξαρτώμενη από την LH έκκριση προγεστερόνης στην ωχρινική φάση του κύκλου(61).

Λόγω της διαταραχής της φυσιολογικής ωοθυλακιογένεσης που παρατηρείται σε γυναίκες με ενδομητρίωση, ο αριθμός των προωοθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων, η ωοθυλακική ανάπτυξη, το μέγεθος του επικρατούντος ωοθυλακίου, και η παραγόμενη από τα ωοθυλάκια οιστραδιόλη φαίνεται πως είναι μειωμένα (40, 46, 63). Το ωοθυλακικό υγρό των γυναικών με ενδομητρίωση έχει βρεθεί πως έχει χαμηλά επίπεδα, ανδρογόνων, προγεστερόνης και υψηλή ακτιβίνη(39). Αυξητικοί παράγοντες και κυτοκίνες που επίσης εμπεριέχονται στο ωοθυλακικό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση προωθούν τη διατήρηση των ενδομητρίωμάτων, δημιουργώντας έτσι ένα μη ευνοϊκό περιβάλλον για τα ωοθυλάκια(64, 65, 66).

Όσον αφορά τις διαταραχές της ωοθυλακιορρηξίας, μπορεί να έχουν σαν αποτέλεσμα το σύνδρομο άρρηκτου ωχρινοποιημένου ωοθυλακίου. Η ανεπάρκεια ωχρινικής φάσης, που οφείλεται σε μεταβολές της έκκρισης της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης, φαίνεται πως έχει αρνητική επίδραση στη γονιμότητα(62). Ένας άλλος παράγοντας που φαίνεται να ενοχοποιείται για τα αυξημένα ποσοστά υπογονιμότητας στις γυναίκες με ενδομητρίωση είναι η κακή ποιότητα ωαρίων και εμβρύων, με καθυστέρηση στην ανάπτυξη των εμβρύων. Μια πρόσφατη μελέτη δείχνει αυξημένη απόπτωση στα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου που περιβάλλουν το ωοκύτταρο(67). Η

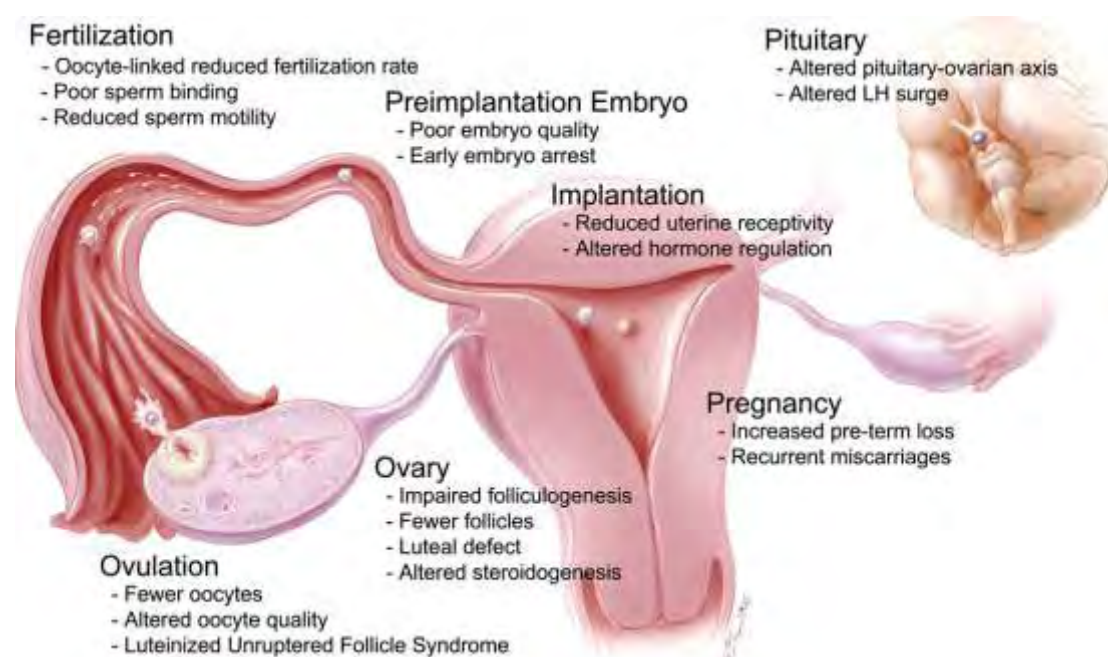
αυξημένη αυτή απόπτωση φαίνεται πως συνδέεται με κακή ποιότητα ωαρίων (68) και παρεμπόδιση της φυσιολογικής ωρίμανσης λόγω της απώλειας της απαραίτητης για το ωοκύτταρο υποστήριξης από τα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου και στέρισης του από ορμόνες και αυξητικούς παράγοντες που φυσιολογικά παρέχονται από αυτό(69). Οι μελέτες αυτές σχετικά με την ποιότητα των ωαρίων σε γυναίκες με ενδομητρίωση επιβεβαιώνονται από αποτελέσματα σε προγράμματα δωρεάς ωαρίων. Έχει παρατηρηθεί πως υπογόνιμες γυναίκες με μέτρια-σοβαρή ενδομητρίωση που λαμβάνουν ωάρια από δωρεά φαίνεται να έχουν φυσιολογική υποδεκτικότητα ενδομητρίου και ποσοστά κύησης. Αντίθετα όταν γυναίκες με ενδομητρίωση δωρίζουν ωάρια σε υγιείς γυναίκες τα ποσοστά κύησης είναι πολύ χαμηλά (70).

Αφιλόξενο έχει αποδειχτεί το περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση και στα γεννητικά κύτταρα των άρρενων. Έχει παρατηρηθεί αυξημένη φαγοκυττάρωση υγριών σπερματοζωαρίων λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης μακροφάγων (72), δυσχερής μετακίνηση των σπερματοζωαρίων στο γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα, (73, 74 75,76), αρνητική επίδραση του περιτοναϊκού υγρού στην ικανότητα πρόσδεσης των σπερματοζωαρίων στη διάφανη ζώνη των ωαρίων(77), βλάβες στο DNA των σπερματοζωαρίων, με παρουσία πολλών κατατμήσεων (78), μειωμένη κινητικότητα λόγω αυξημένης Interleukin-6 (IL-6) στο περιτοναϊκό υγρό(37, 79, 80) και ελαττωμένη προσδετική ικανότητα στο σαλπινγικό επιθήλιο.

Δεδομένα από την εξωσωματική γονιμοποίηση δείχνουν πως τα έμβρυα που σχηματίζονται από τα γεννητικά αυτά κύτταρα είναι ποιοτικά υποβαθμισμένα. Συνοδεύονται από αυξημένο ποσοστό κυτταροπλασματικών κατατμήσεων, σκουρόχρωμο κυτταρόπλασμα (81), μικρότερο αριθμό κυττάρων και αυξημένα ποσοστά μη διαίρεσης (70), με αποτέλεσμα μικρότερο αριθμό μεταφερόμενων εμβρύων(70). Φαίνεται πως για την κακή ποιότητα και την αυξημένη απόπτωση των εμβρυικών κυττάρων ευθύνονται οι κυτοκίνες και οι φλεγμονώδεις παράγοντες που εμπεριέχονται στο περιτοναϊκό υγρό γυναικών με ενδομητρίωση(70) Έχει αποδειχθεί πως ο TNF-α μπορεί να ενεργοποιήσει εξαρτώμενα από κασπάσες σηματοδοτικά μονοπάτια με αποτέλεσμα την αυξημένη κατάτμηση του DNA και απόπτωση των κυττάρων(83).

Οι μεταβολές της λειτουργίας του περιτοναϊκού που αποδίδονται σε αυξημένο όγκο περιτοναϊκού υγρού και αυξημένες συγκεντρώσεις προσταγλανδινών, πρωτεασών, και κυτοκινών, όπως οι IL-1, IL-6, TNF-α καθώς και αγγειογενετικών κυτοκινών, όπως η IL-8 και ο VEGF που παράγονται από τα μακροφάγα επιδρούν αρνητικά στα γεννητικά κύτταρα, στο έμβρυο, στη λειτουργία των σαλπίνγων και στη διαδικασία της γονιμοποίησης(52, 53). Οι μεταβολές αυτές υποδηλώνουν πως η ενδομητρίωση μπορεί να οδηγήσει σε συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση, χωρίς να γνωρίζουμε εάν η φλεγμονή προϋπάρχει ή είναι αποτέλεσμα της ενδομητρίωσης. Αυξημένα IgG και IgA αντισώματα, λεμφοκύτταρα και αυτοαντισώματα έναντι αντιγόνων του ενδομητρίου που ανευρίσκονται αυξημένα στο ενδομήτριο γυναικών με ενδομητρίωση μπορεί να μεταβάλλουν την υποδεκτικότητα του ενδομητρίου και την εμφύτευση του εμβρύου(54). Η μειωμένη υποδεκτικότητα του ενδομητρίου μπορεί ακόμα να οφείλεται σε ελαττωμένη έκφραση της ανβ3 ιντεγκρίνης στο ενδομήτριο κατά την εμφύτευση και σε χαμηλά επίπεδα του ενζύμου που βοηθάει στη σύνθεση της L-selectin(55,). Επίσης, σε γυναίκες με ενδομητρίωση, κατά το στάδιο της εμφύτευσης, παρατηρείται διαταραχή της λειτουργίας των υποδοχέων οιστρογόνων (57), όπως και υπερέκφραση

της αρωματάσης (58, 59), με αποτέλεσμα την αύξηση της τοπικής οιστραδιόλης. Αντίθετα, η δράση της απαραίτητης για την εμφύτευση προγεστερόνης, είναι ελαττωμένη(59). Αντίσταση στην προγεστερόνη λόγω δυσλειτουργίας των προγεστερικών υποδοχέων, ανευρίσκεται στο ενδομήτριο αλλά και στον έκτοπο ενδομήτριο ιστό (60), γεγονός που δεν ευνοεί την εμφύτευση της βλαστοκύστης στο ενδομήτριο. Επομένως, μειωμένα ποσοστά εμφύτευσης μπορεί να οφείλονται στις μεταβολές στα επίπεδα των ορμονών, στην κακή ποιότητα των εμβρύων ή/και στη μειωμένη υποδεκτικότητα του ενδομητρίου.



Εικόνα 2: Παράγοντες που σχετίζονται με μειωμένη γονιμοποιητική ικανότητα σε γυναίκες με ενδομητρίωση
Julie A. et al. Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility
Cell Tissue Res, 2012

ζ)Θεραπεία

Η φαρμακευτική θεραπεία της ενδομητρίωσης περιλαμβάνει τα προγεσταγόνα, συνδυασμό προγεσταγόνου με οιστρογόνα, τους GnRH αγωνιστές και ανταγωνιστές, τη δαναζόλη και τους αναστολείς της αρωματάσης. Ωστόσο η φαρμακευτική αγωγή δε φαίνεται να βελτιώνει σημαντικά τη γονιμότητα(85)

Η χειρουργική εξαίρεση των ενδομητριωσικών εστιών έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την γονιμότητα σε ενδομητρίωση σταδίου I και II (86), κυρίως όταν συνυπάρχει χρόνιο άλγος (87). Όσον αφορά τα στάδια III και IV οι μελέτες είναι ελλιπείς. Η λειτουργική απεικόνιση των σαλπίγγων και των ωοθηκών στο τέλος της λαπαροσκόπησης φαίνεται πως συνεισφέρει στην πιθανότητα φυσιολογικής σύλληψης μετεγχειρητικά (87). Η λαπαροσκοπική αφαίρεση

ενδομητριωσικών κύστεων διαμέτρου 4 εκ. φαίνεται πως βελτιώνει τη γονιμότητα. (89) Προϋποθέτει βέβαια προσεκτική αναγνώριση των ορίων του έκτοπου ενδομητρίου ιστού, για αποφυγή αφαίρεσης υγιούς ωθηκικού ιστού και κατά προτίμηση απολίνωσης με ράμμα, παρά χρήσης της ηλεκτρικής διαθερμίας για τον έλεγχο της αιμορραγίας. (91) Η λαπαροσκοπική χειρουργική για βαριάς μορφής ενδομητρίωση θα πρέπει να θεωρείται θεραπεία δεύτερης γραμμής μετά από αποτυχία σε πρόγραμμα εξωσωματικής γονιμοποίησης, εκτός και αν η εξωσωματική γονιμοποίηση δεν είναι εφικτή ή η γυναίκα βιώνει σοβαρή συμπτωματολογία (πχ έντονο άλγος). Η συνύπαρξη άλγους πρέπει να λαμβάνεται πάντα υπόψη στην επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής προσέγγισης. Πλεονεκτήματα της χειρουργικής θεραπείας πριν την εξωσωματική γονιμοποίηση είναι η πρόληψη πιθανής ρήξης ενδομητριωσικής κύστης, η διευκόλυνση της ωοληψίας, ο αποκλεισμός κάποιας συνυπάρχουσας κακοήθειας, η αποφυγή πιθανότητας πρόσμιξης του ωοθυλακίου υγρού με περιεχόμενο ενδομητριώματος και η πρόληψη της εξέλιξης της νόσου (90). Τα μειονεκτήματα περιλαμβάνουν το χειρουργικό τραύμα, τις χειρουργικές επιπλοκές, το οικονομικό κόστος και πιθανή ελαττωμένη απόκριση των ωοθηκών στην μετέπειτα πρόκληση ωοθυλακιόρρηξιας(92).

Η εκτίμηση των ωθηκικών εφεδρειών σε υπογόνιμες γυναίκες που πρόκειται να υποβληθούν σε λαπαροσκοπική επέμβαση λόγω ενδομητρίωσης είναι υψίστης σημασίας (91), καθώς τα δεδομένα που συνηγορούν υπέρ της ελάττωσης των ωθηκικών εφεδρειών στις γυναίκες αυτές αυξάνονται συνεχώς (93, 94). Επίσης, πρέπει να αποφεύγονται επανειλημμένες επεμβάσεις καθώς έχει αποδειχτεί πως το ποσοστό επίτευξης κύησης μετά από επανάληψη χειρουργικής επέμβασης είναι χαμηλό και σχεδόν υποδιπλασιάζεται (95).

Ο συνδυασμός φαρμακευτικής και χειρουργικής θεραπείας καθώς και η φαρμακευτική θεραπεία μετεγχειρητικά δε φαίνεται να βελτιώνουν την υπογονιμότητα και άρα δεν συνίσταται.(96) Τέλος, έχει αποδειχτεί πως η υποβολή της γυναίκας σε εξωσωματική γονιμοποίηση δεν αυξάνει την πιθανότητα υποτροπής της ενδομητρίωσης μετεγχειρητικά(97).

η)Ενδομητρίωση και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Όσον αφορά της τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής σε υπογόνιμες γυναίκες με ενδομητρίωση, η σπερματέγχυση αποτελεί μια αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή σε περιπτώσεις ελάχιστης και ήπιας ενδομητρίωσης, με καλή βατότητα των σαλπίνγων (99, 100).Η ενδομήτρια σπερματέγχυση σε συνδυασμό με πρόκληση ωοθυλακιόρρηξιας φαίνεται πως συνοδεύεται από υψηλότερα ποσοστά γονιμοποίησης, με την χρήση των γοναδοτροφίνων να υπερισχύουν έναντι της πρόκλησης με κιτρική κλομιφαίνη(100). Πρέπει φυσικά να λαμβάνεται πάντα υπόψη ο κίνδυνος για πολλαπλή κύηση που ενέχει η πρόκληση ωοθυλακιόρρηξιας και να αποφεύγεται.

Η εξωσωματική γονιμοποίηση προτιμάται της ενδομήτριας σπερματέγχυσης σε σοβαρή μορφή ενδομητρίωσης, σε περιπτώσεις διαταραχής της λειτουργίας των σαλπίνγων, σε προχωρημένη ηλικία της γυναίκας και σε μειωμένη ποιότητα του σπέρματος. Δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα το αν η

πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας από μόνη της βελτιώνει την γονιμότητα σε γυναίκες με ενδομητρίωση καθώς επίσης ελλιπής είναι η βιβλιογραφία όσον αφορά τα πλεονεκτήματα της χρήσης γοναδοτροφινών έναντι της λετροζόλης(101). Το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης φαίνεται πως είναι το ίδιο σε πρωτόκολλα διέγερσης που περιλαμβάνουν καταστολή της υπόφυσης με GnRH αγωνιστές και GnRH ανταγωνιστές(102). Η θεραπεία με GnRH αγωνιστή για 3-6 μήνες πριν την εξωσωματική γονιμοποίηση έχει βρεθεί πως βελτιώνει την πιθανότητα επιτυχίας (103), χωρίς να διευκρινίζεται όμως το στάδιο ενδομητρίωσης. Παρά τις ανησυχίες για την αρνητική επίδραση των ενδομητριωμάτων στην υγεία των ωοθηκών και στις ωοθηκικές εφεδρείες, υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν πως η απόκριση των ωοθηκών στα πρωτόκολλα ωοθυλακιορρηξίας που χρησιμοποιούνται στην εξωσωματική γονιμοποίηση μπορεί να είναι μειωμένη μόνο σε γυναίκες με αφαιρεθέν ενδομητρίωμα(104). Όσον αφορά τα οφέλη της χειρουργικής θεραπείας στο αποτέλεσμα της εξωσωματικής, αυτά δεν έχουν διευκρινιστεί(105, 102).

Οι οδηγίες της ASRM για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας σε γυναίκες με ενδομητρίωση είναι:

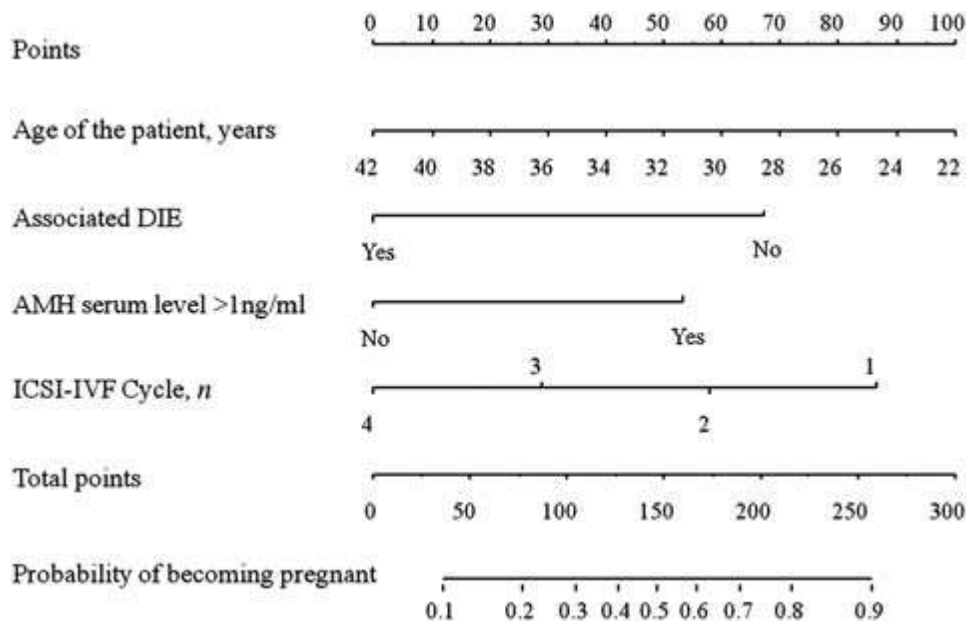
-Σε γυναίκες κάτω των 35 ετών με σταδίου I ή II ενδομητρίωση θεραπεία πρώτης εκλογής θεωρούνται η αναμονή ή η ενδομήτρια σπερματέγχυση(IUI) με ή χωρίς πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας (COH).

-Σε γυναίκες άνω των 35 ετών η θεραπεία πρέπει να είναι πιο επιθετική .Σπερματέγχυση με πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας(IUI+COH) ή εξωσωματική γονιμοποίηση(IVF/ICSI)

-Σε γυναίκες με ενδομητρίωση σταδίου II ή IV η λαπαροσκοπική χειρουργική ή λαπαροτομία μπορεί να είναι ωφέλιμες.

-Σε γυναίκες με ενδομητρίωση σταδίου III/IV που αποτυγχάνουν σύλληψη μετά από χειρουργική επέμβαση ή έχουν προχωρημένη ηλικία, η εξωσωματική γονιμοποίηση είναι μια αποτελεσματική εναλλακτική.

Συνοπτικά, θα λέγαμε πως τα δεδομένα για τη θεραπεία της υπογονιμότητας στην ενδομητρίωση είναι ελλιπή και η ανάπτυξη κάποιου θεραπευτικού σχήματος που θα βελτιώσει την ποιότητα ζωής αλλά και την γονιμοποιητική ικανότητα γυναικών με ενδομητρίωση, παραμένει ακόμα πρόκληση για κλινικούς ιατρούς και ερευνητές. Πρόσφατα έχει δημιουργηθεί ένα νέο σύστημα σταδιοποίησης, ο λεγόμενος δείκτης γονιμότητας(fertility index) στην ενδομητρίωση, ένα απλό και χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη ποσοστού κήσεως σε γυναίκες με ενδομητρίωση, στις οποίες έχει προηγηθεί λαπαροσκοπική σταδιοποίηση της νόσου(88) και το οποίο φαίνεται πως είναι χρήσιμο στη δημιουργία θεραπευτικού πλάνου σε υπογόνιμες γυναίκες με σοβαρή ενδομητρίωση.



Εικόνα 3: Marcos Ballester et al; Nomogram to predict pregnancy rate after ICSI-IVF cycle in patients with endometriosis *Human Reproduction*, 2011

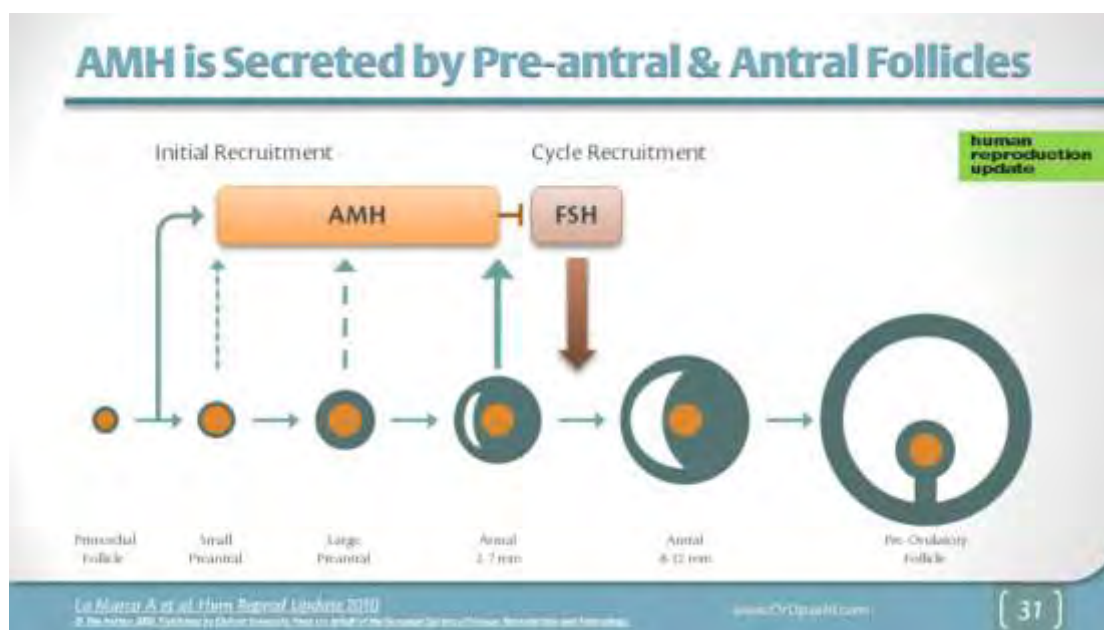
2. ANΤΙΜΥΛΛΕΡΙΑ ΟΡΜΟΝΗ(ΑΜΗ)

α) Γενικά

Η αντιμυλλέρια ορμόνη (ΑΜΗ) είναι μια ομοδιμερή γλυκοπρωτεΐνη που ανήκει στην υπέρ-οικογένεια των αυξητικών παραγόντων TGF- β (transforming growth factor b). Το γονίδιο που την κωδικοποιεί βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19p13.3. Μέχρι πριν λίγα χρόνια οι γνώσεις μας για την ΑΜΗ περιοριζόταν στον ρόλο της στην φυλετική διαφοροποίηση των αρρένων. Γνωρίζουμε ότι παράγεται από τα εμβρυικά κύτταρα Sertoli, στην περίοδο της διαφοροποίησης των όρχεων και προκαλεί υποστροφή των πόρων του Muller. Σε απουσία της, οι πόροι του Muller αναπτύσσονται και σχηματίζουν τη μήτρα, τις σάλπιγγες και το ανώτερο τμήμα του κόλπου(108). Στις ωοθήκες των θήλεων εμβρύων η έκφραση της ΑΜΗ έχει παρατηρηθεί στην 32^η εβδομάδα κύησης(109). Δεν εκφράζεται στα αρχέγονα ωοθυλάκια, ενώ μπορεί να ανιχνευτεί στα κοκκώδη κύτταρα πρωτογενών ωοθυλακίων. Παράγεται κυρίως από τα κοκκώδη κύτταρα των προκοιλοτικών και μικρών κοιλοτικών ωοθυλακίων (110). Η ΑΜΗ συνεχίζει να εκφράζεται στα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια μέχρι να φτάσουν στο μέγεθος και στο στάδιο διαφοροποίησης κατά το οποίο μπορεί να επιλεγούν ως επικρατές

ωοθυλακίο. Στον άνθρωπο αυτό συμβαίνει σε κοιλοτικά ωοθυλάκια διαμέτρου 4-6 χιλιοστών. (110). Επομένως εκφράζεται σε ωοθυλάκια που έχουν στρατολογηθεί αλλά δεν έχουν επιλεγεί ως επικρατή. Φαίνεται πως τα υψηλά επίπεδα AMH πιθανόν να σχετίζονται με την καταστολή της παραγωγής οιστρογόνων και η ραγδαία πτώση της με αυξημένη παραγωγή οιστρογόνων και την επιλογή του επικρατούς ωοθυλακίου. Η AMH δεν εκφράζεται σε ατρητικά ωοθυλάκια ή κύτταρα της θήκης. (111, 108, 112). Με τη χρήση ανοσοιστοχημείας έχει αποδειχτεί

(110) ότι η AMH στα ανθρώπινα κοκκώδη κύτταρα παρουσιάζει μέγιστη έκφραση σε κοιλοτικά ωοθυλάκια διαμέτρου 4 χιλιοστών. Και μια σταδιακή ελάττωση της σε μεγαλύτερα ωοθυλάκια(108). Συνεπώς, η ενδοωοθυλακική συγκέντρωση της AMH παρουσιάζει μια σταδιακή ελάττωση σε υγιή ανθρώπινα ωοθυλάκια όσο αυξάνεται η διάμετρος τους και μια ραγδαία ελάττωση σε ωοθυλάκια διαμέτρου 8-10 χιλιοστών(113). Έχει υπολογιστεί πως 60% της μετρήσιμης AMH παράγεται από ωοθυλάκια διαμέτρου 5.1-8 χιλιοστών, 20-25% από ωοθυλάκια διαμέτρου 2.1-5 χιλιοστών και 15-20% από ωοθυλάκια διαμέτρου 8 χιλιοστών. Η παραγόμενη AMH εκκρίνεται στην συστηματική κυκλοφορία και στο ωοθυλακικό υγρό. Στο ωοθυλακικό υγρό ανθρώπου ανιχνεύτηκε πρώτη φορά το 1993. Η αποκλειστική από τις ωοθήκες παραγωγή της επιβεβαιώνεται από μια μελέτη κατά την οποία φάνηκε πως η AMH δεν ήταν δυνατόν να ανιχνευτεί σε ορό γυναικών που υπεβλήθησαν σε αμφοτερόπλευρη ωοθηκεκτομή, 3-5 ημέρες μετά την επέμβαση. (115).



Εικόνα 4: Η έκκριση της AMH

β) Ρόλος της AMH

Ο κύριος ρόλος της AMH σε ωοθήκες ποντικών φαίνεται πως είναι η αναστολή των πρώιμων σταδίων ωοθυλακικής ανάπτυξης (116, 117), αφού η απουσία της ενθαρρύνει την μετάβαση των αρχέγονων ωοθυλακίων σε αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια(118). Έχει επίσης αποδειχτεί πως η AMH σε ποντίκια μειώνει την ευαισθησία των ωοθυλακίων στην FSH (119). Όσον αφορά την ανθρώπινη ωοθήκη οι λίγες in vivo και in vitro μελέτες που έχουν γίνει προτείνουν πως η AMH μαζί με την GDF-9 (growth and differentiation factor-9) και την BMP15 (bone morphogenetic protein-15) αναστέλλει την πρόωρη ωοθυλακική ανάπτυξη, δηλαδή τη μετατροπή των αρχέγονων ωοθυλακίων σε πρωτογενή, και μειώνει την ευαισθησία των ωοθυλακίων στην εξαρτώμενη από την FSH διαδικασία στρατολόγησης(116, 117, 120, 121). Ακόμα, ρυθμίζει την στεροειδογένεση στα κοκκώδη κύτταρα, καθώς φαίνεται πως σχετίζεται με τα επίπεδα οιστραδιόλης στο ωοθυλακικό υγρό μικρών κοιλοτικών ωοθυλακίων(123). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται από μια μελέτη που απέδειξε πως πολυμορφισμοί στο γονίδιο της AMH ή στο γονίδιο του υποδοχέα τύπου II της AMH σχετίζονται με τα επίπεδα οιστραδιόλης της ωοθυλακικής φάσης(124).

γ) AMH και ωοθηκικές εφεδρείες

Η μέτρηση της τιμής της AMH που χρησιμοποιείται είναι κυρίως αυτή της συστηματικής κυκλοφορίας. Στις γυναίκες, είναι σχεδόν μη ανιχνεύσιμη κατά τη γέννηση. Τα επίπεδα της αυξάνουν συνεχώς φτάνοντας σε ένα ανώτερο όριο στην εφηβεία.(125). Στη συνέχεια, καθώς τα ωοθηκικά αποθέματα εξαντλούνται, χαρακτηρίζονται από μια σταθερή ελάττωση με την πάροδο της ηλικίας από την ενηλικίωση μέχρι την εμμηνόπαυση, όπου καταλήγουν να μην είναι ανιχνεύσιμα(126, 127). Σε γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια τα επίπεδα της είναι μη ανιχνεύσιμα ή πολύ ελαττωμένα, ανάλογα με τον αριθμό των κοιλοτικών ωοθυλακίων στις ωοθήκες. Αντιθέτως σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών τα επίπεδα αυτά είναι αυξημένα. (128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136)

Η AMH μπορεί να αποτελέσει έναν μοναδικό παράγοντα για τη διερεύνηση της ωοθηκικής λειτουργίας, αφού πολλές μελέτες αποδεικνύουν πως σε αντίθεση με τις φυλετικά στεροειδή, τις γοναδοτροπίνες και πεπτιδία όπως η ανασταλίνη Β, τα επίπεδα της AMH δεν παρουσιάζουν σημαντική διακύμανση κατά τη διάρκεια του κύκλου(137, 138, 139, 140). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από μια μεγάλη προοπτική μελέτη 538 γυναικών που υπεβλήθησαν σε τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (141). Παρόλα αυτά έχουν δημοσιευτεί και μελέτες που αναφέρονται σε σημαντική διακύμανση της AMH με ταχεία πτώση των επιπέδων της στην πρώιμη ωχρινική φάση του κύκλου(142, 143). Μια πρόσφατη πιλοτική μελέτη με 12 γυναίκες αναφέρει διακυμάνσεις της AMH κατά τον έμμηνο κύκλο, με παρουσία υψηλότερων τιμών στην ωοθυλακική φάση(144)

Στην κλινική πράξη, οι διακυκλικές αυτές διακυμάνσεις των επιπέδων της AMH στον ορό θεωρούνται αρκετά χαμηλές. Επιπλέον, τα επίπεδα της AMH δεν φαίνεται να επηρεάζονται σε καταστάσεις όπου η ενδογενής παραγωγή

γοναδοτροφινών αναστέλλεται όπως στη κύηση(145), σε καταστολή της υπόφυσης από GnRH αγωνιστές(146) και λήψη αντισυλληπτικών δισκίων(147, 148, 149). Αυτό σημαίνει πως η μη κυκλική, ανεξάρτητη από την FSH ωοθηκική λειτουργία επιμένει ακόμα και όταν η υποφυσιακή έκκριση της FSH έχει ανασταλεί. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με την άποψη ότι τα επίπεδα της AMH αντικατοπτρίζουν την συνεχή, ανεξάρτητη από την FSH μη κυκλική ανάπτυξη των μικρών ωοθυλακίων στις ωοθήκες.

Έχει αποδειχτεί πως η AMH είναι ένας πολλά υποσχόμενος δείκτης των μειωμένων ωοθηκικών εφεδρειών, καθώς επίσης και των ωοθηκικών δυσλειτουργιών(150). Η απώλεια των ωοθυλακίων έχει αποδειχτεί πως ποικίλει και η χρονολογική ηλικία των ωοθηκών δεν αντιστοιχεί πάντα στην βιολογική και αναπαραγωγική ηλικία τους. Στις μέρες μας ένα αυξανόμενο ποσοστό γυναικών που διανύουν την τρίτη δεκαετία της ζωής τους απευθύνονται σε ειδικά κέντρα για την αντιμετώπιση προβλημάτων υπογονιμότητας. Γεγονός που σημαίνει πως η εξάντληση των ωοθηκικών αποθεμάτων και η εξαρτώμενη από την ηλικία δυσλειτουργία των ωοθηκών αποτελεί μείζον αίτιο της γυναικείας υπογονιμότητας. Επιπλέον υπολογίζεται πως το 10% περίπου των γυναικών στις αρχές της 3^{ης} δεκαετίας της ζωής τους μπορεί να είναι περιεμμηνοπαυσιακές (151). Στην ομάδα υψηλού κινδύνου ανήκουν γυναίκες με ιστορικό επεμβάσεων στις ωοθήκες λόγω λειτουργικών ή ενδομητριωσικών κύστεων, ο αριθμός των οποίων φαίνεται πως αυξάνει συνεχώς. Οι περισσότερες από αυτές τις γυναίκες έχουν κανονικό έμμηνο κύκλο, χωρίς κάποια κλινική συμπτωματολογία, μέχρι την αναστολή της ωοθηκικής λειτουργίας και την παρουσία προβλημάτων γονιμότητας(152).

Σήμερα η AMH χρησιμοποιείται ως ένας αξιόπιστος δείκτης προσυμπτωματικού ελέγχου διαλογής σε γυναίκες με μειωμένες ωοθηκικές εφεδρείες, όπως έχει προταθεί από πολλούς ερευνητές(156). Μεγάλο ενδιαφέρον συγκεντρώνεται γύρω από την χρήση της ως δείκτη υπογονιμότητας (157) και ως προγνωστικό δείκτη εμμηνόπαυσης(158). Τα επίπεδα της AMH θα μπορούσε επίσης να είναι χρήσιμα στην πρόβλεψη ακραίων καταστάσεων ωοθηκικής απάντησης στα διάφορα πρωτόκολλα πρόκλησης ωοθυλακιορρηξίας που χρησιμοποιούνται στη υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, όπως η πτωχή ωοθηκική απάντηση(POR) ή το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών(OHSS)(125, 135, 153). Έχει αποδειχθεί ότι η μέτρηση των επιπέδων της AMH είναι το ίδιο καλός δείκτης όπως ο αριθμός των ωοθυλακίων και τα επίπεδα της οιστραδιόλης ορού την ημέρα χορήγησης της hCG, όσον αφορά την αναγνώριση των γυναικών που πρόκειται να παρουσιάσουν σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών.

Εκτός από την προβλεπτική αξία της AMH στην ωοθηκική απάντηση, αρκετοί συγγραφείς έχουν διαπιστώσει σημαντική θετική συσχέτιση των επιπέδων της AMH με την ποιότητα των ωαρίων και την μορφολογία των εμβρύων. (159; 160, 161, 162). Έχει δημοσιευτεί επίσης μελέτη που συσχετίζουν θετικά τα επίπεδα της AMH ορού με το ποσοστό ζώντος νεογνού μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση(163). Φαίνεται όμως, όπως και ο ίδιος ο συγγραφέας της μελέτης αυτής συμπεραίνει, πως το εύρημα αυτό μπορεί να αποδοθεί στη θετική συσχέτιση των επιπέδων της AMH με τον αριθμό των ωαρίων που λαμβάνονται από την ωοληψία. Τέλος, υπάρχουν και άλλες μελέτες που δεν βρίσκουν καμία συσχέτιση της AMH με το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης(165). Σήμερα η AMH φαίνεται να έχει την ίδια

ακρίβεια και κλινική αξία με την με την μέτρηση του αριθμού των ωοθυλακίων στην πρόβλεψη της πτωχής ωοθηκικής απάντησης και μη κύησης (164).

δ) FSH και AMH

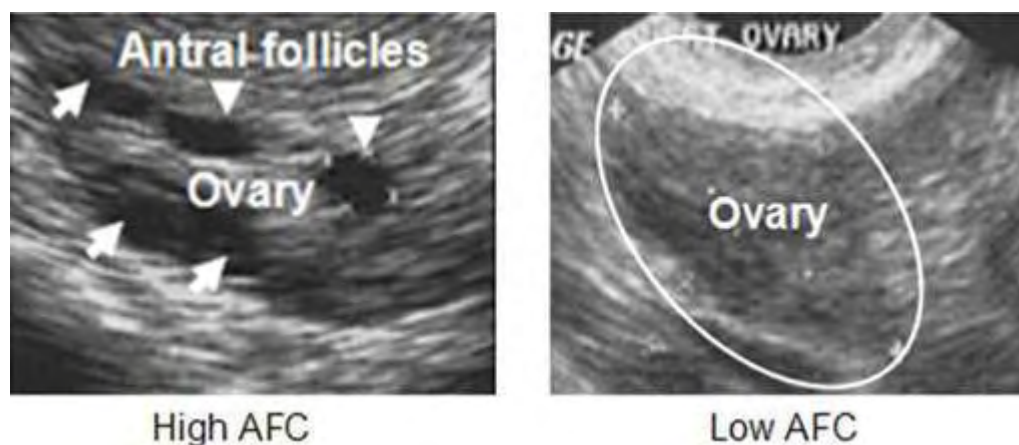
Η υποφυσιακή ορμόνη FSH, στην διακυκλική αύξηση της οποίας έγκειται η αρχική στρατολόγηση των ωοθυλακίων, είναι ένας έμμεσος δείκτης των αρχέγονων ωοθηκικών εφεδρειών. Αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας, λόγω ελάττωσης της inhibin B και πιθανώς της οιστραδιόλης, τα οποία ελαττώνουν την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην οποία έγκειται η απελευθέρωση της FSH από την υπόφυση(166). Η υψηλή τιμή της FSH έμμεσα υποδηλώνει ελάττωση των ωοθηκικών αποθεμάτων και είναι διαγνωστική της εμμηνόπαυσης και της πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας. Το 1988 για πρώτη φορά προτάθηκε η μέτρηση της FSH ορού σε γυναίκες που υποβάλλονταν σε τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης, με σκοπό την πρόβλεψη της ωοθηκικής απάντησης στα πρωτόκολλα ωοθυλακιόρρηξιας(167).Σύντομα όμως διαπιστώθηκαν πολλές αδυναμίες, όπως η ανάγκη μέτρησης της στην πρώιμη ωοθυλακική φάση, η προϋπόθεση άρτιας λειτουργίας άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών και η αδυναμία πρόβλεψης του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών. Έτσι δημιουργήθηκε η ανάγκη εύρεσης ενός καλύτερου προβλεπτικού-προγνωστικού δείκτη, την οποία ήρθε να καλύψει η AMH

3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΙΚΡΩΝ ΚΟΙΛΟΤΙΚΩΝ ΩΟΘΥΛΑΚΙΩΝ(AFC)

α) Γενικά

Στον τέταρτο μήνα εμβρυικής ανάπτυξης τα θήλα εμβρυα περιέχουν περίπου 6-7 εκατομμύρια ωκύτταρα, τα οποία περιβάλλονται από ένα στρώμα πεπλατυσμένων κοκκωδών κυττάρων (168, 169) Λόγω της ταχύτατης απώλειας της πλειονότητας των αρχέγονων αυτών ωοθυλακίων μέσω απόπτωσης στο δεύτερο μισό της εμβρυικής ζωής, στη γέννηση μόνο τα 1-2 εκατομμύρια από αυτά επιβιώνουν(170). Μετά τη γέννηση, ο ρυθμός της απώλειας αυτής επιβραδύνεται και στην εμμηναρχή οι ωοθήκες φαίνεται πως αποτελούνται από περίπου 300,00-400,00 αρχέγονα ωοθυλάκια(168). Ο αριθμός των ωοθυλακίων αυτών σταδιακά ελαττώνεται κατά την διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας, έως την εμμηνόπαυση όπου λιγότερα από 1000 ωοθυλάκια απομένουν στις ωοθήκες και οι ωοθηκικές εφεδρείες εξαντλούνται(171, 172). Όσον αφορά την ποιότητα των ωαρίων ξέρουμε πως και αυτή φθίνει με την αύξηση της ηλικίας, γεγονός που αποδεικνύεται και από τα αυξημένα ποσοστά ανευπλοειδιών, αυτόματων αποβολών και

υπογονιμότητας σε μεγαλύτερες ηλικίες(173). Υπερηχογραφικές μελέτες επιβεβαιώνουν πως ο αριθμός των μικρών κοιλοτικών ωοθυλακίων ελαττώνεται με την πάροδο, της ηλικίας σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας(174, 175, 176, 177) .Εκτός αυτού ελάττωση του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων μπορεί να παρατηρηθεί και σε ανιχνεύσιμες αλλαγές των επιπέδων των ορμονών(176, 177). Γνωρίζουμε ότι ωοθυλάκια διαμέτρου 2 χιλιοστών δύναται να απεικονιστούν υπερηχογραφικά. Ωοθυλάκια διαμέτρου 2-10 χιλιοστών σχετίζονται με το μέγεθος των εφεδρειών των αρχέγονων ωοθυλακίων. μερικά από τα ωοθυλάκια διαμέτρου άνω των 3 χιλιοστών είναι πολύ ευαίσθητα σε γοναδοτροφίνες, ενώ κάποια μπορεί να βρίσκονται στα αρχικά στάδια της ατρησίας. Το AFC ορίζεται ως η υπερηχογραφική μέτρηση του συνόλου του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων διαμέτρου 2-10 χιλιοστών που ανευρίσκονται σε αμφότερες τις ωοθήκες τη χρονική στιγμή της απεικόνισης. Η μέτρηση αυτή πρέπει να πραγματοποιείται στην πρώιμη ωοθυλακική φάση του κύκλου, παρόλο που οι διακυμάνσεις των τιμών της κατά την διάρκεια του κύκλου δεν είναι μεγάλες(180)



Εικόνα 4: Υπερηχογραφική μέτρηση αριθμού κοιλοτικών ωοθυλακίων

β) AFC και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Τα δεδομένα μέχρι σήμερα δείχνουν πως κύριοι επιβαρυντικοί παράγοντες της μείωσης της γονιμοποιητικής ικανότητας σε γυναίκες ηλικίας 30-40 ετών είναι ωοθυλακικοί και ωοθηκικοί παρά το ενδομήτριο. Αυτό επιβεβαιώνεται από μελέτες που αποδεικνύουν πως τα ποσοστά εμφύτευσης και κλινικής κύησης δεν ελαττώνονται σε γυναίκες έως 50 ετών που λαμβάνουν ωάρια από δότριες, σε αντίθεση με γυναίκες στην τρίτη δεκαετία της ζωής τους που υποβάλλονται σε διαδικασίες εξωσωματικής γονιμοποίησης με δικά τους ωάρια(178). Είναι προφανές, πως η ελάττωση της γονιμοποιητικής ικανότητας που επέρχεται με την πάροδο της ηλικίας αντικατοπτρίζει την περιορισμένη εφεδρεία σε ωάρια. Επειδή ο αριθμός των κοιλοτικών ωοθυλακίων σχετίζεται με τον αριθμό των πρωτογενών ωοθυλακίων(181) και συνεπώς με το μέγεθος

των ωοθηκικών εφεδρειών (179), η μέτρηση τους θεωρείται χρήσιμη στην πρόβλεψη των ωοθηκικών αποθεμάτων σε ωοθυλάκια(174). Για αυτόν τον λόγο χρησιμοποιείται σε υπογόνιμες γυναίκες ως απεικονιστικοί προγνωστικοί παράγοντες ωοθηκικών εφεδρειών .

B. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

1.Πληθυσμός μελέτης

Ο πληθυσμός της μελέτης μας αποτελείται από 45 γυναίκες που υπεβλήθησαν σε τεχνικές εξωσωματικής γονιμοποίησης IVF/ICSI στην μονάδα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας από τον Ιανουάριο του 2013 έως τον Ιούλιο του 2013. Η ομάδα μελέτης περιελάμβανε 15 γυναίκες με ενδομητρίωση και η ομάδα μαρτύρων 30 γυναίκες που απευθύνθηκαν στην μονάδα μας λόγω υπογονιμότητας που σχετίζεται με ανδρικό παράγοντα. Η διάγνωση της ενδομητρίωσης στην ομάδα μελέτης έχει τεθεί μετά από υπερηχογραφική απεικόνιση των ενδομητριομάτων λόγω αδυναμίας υποβολής τους σε λαπαροσκόπηση. Επομένως αδύνατη ήταν και η σταδιοποίηση της νόσου με βάση τα κριτήρια της ASRM. Η διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας στην ομάδα ελέγχου έχει τεθεί μετά από λήψη πλήρους ιστορικού, κλινική εξέταση, σπερμοδιαγράμματα, τουλάχιστον δυο σε κάθε περίπτωση και ακριβή εκτίμηση του αριθμού, της μορφολογίας και κινητικότητας των σπερματοζωαρίων κάθε δείγματος σύμφωνα με της οδηγίες της WHO 2010 και τα αυστηρά κριτήρια Kruger από τον εμβρυολόγο του εργαστηρίου μας και καλλιέργεια σπέρματος. Στην ομάδα αυτή αποκλείστηκε πιθανότητα συνυπάρχουσας γυναικείας υπογονιμότητας μετά από πλήρη εργαστηριακό και απεικονιστικό έλεγχο για τον αποκλεισμό συνυπάρχουσας γυναικείας υπογονιμότητας(εργαστηριακός έλεγχος, καλλιέργειες κολπικού υγρού, ορμονικός έλεγχος, ανοσολογικός έλεγχος, υπερηχογραφικός έλεγχος, υστεροσκόπηση και υστεροσαλπιγγογραφία).

Όλες οι γυναίκες ήταν με φυσιολογικό έμμηνο κύκλο 24-35 ημερών, ηλικίας μικρότερης των 38 ετών, με μέσο όρο ηλικίας τα 33 έτη και συγκεκριμένα τα 35.4 έτη για την ομάδα μελέτης και τα 34.5 έτη για την ομάδα ελέγχου. Μέσος όρος δείκτης μάζας σώματος για την ομάδα μελέτης ήταν 23, για την ομάδα ελέγχου 22.9. Τα επίπεδα FSH 3^{ης} μέρας έμμηνου κύκλου ήταν κάτω από 10 IU/L σε όλες τις γυναίκες που συμμετείχαν. Καμία από τις γυναίκες δεν κάπνιζε. Η μέση διάρκεια υπογονιμότητας για την ομάδα μελέτης ήταν τα 3.1

έτη, ενώ για την ομάδα ελέγχου ήταν τα 3.2 έτη. Οι αριθμοί αυτοί δείχνουν πως οι δυο ομάδες δεν διαφέρουν σημαντικά ως προς χαρακτηριστικά που έχουν καθοριστικό ρόλο στην γονιμότητα (ηλικία, ΔΜΣ, κάπνισμα, επίπεδα FSH και διάρκεια υπογονιμότητας). Για την εγκυρότητα της μελέτης μας από τον πληθυσμό ελέγχου αποκλείστηκαν γυναίκες με διαταραχές λειτουργίας του υποθαλάμου, ορμονικές διαταραχές όπως η υπερπρολακτιναιμία και διαταραχές της θυρεοειδικής λειτουργίας, γυναίκες μετά από ωθηκεκτομή και γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών.

2.Ορμονικές μετρήσεις

Την 2^η-3^η ημέρα του εμμήνου κύκλου τους όλες οι γυναίκες υπεβλήθησαν σε αιμολήψια, με σκοπό την μέτρηση των επιπέδων AMH, FSH, LH και E2 ορού. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και οι οροί φυλάχθηκαν σε καταψύκτη στους -80 βαθμούς Κελσίου. Η ανάλυση έγινε με το AMH Gen II ELISA kit.

3.Υπερηχογραφικός έλεγχος

Την 2^η-3^η ημέρα του έμμηνου κύκλου τους πραγματοποιήθηκε κολπικό υπερηχογράφημα με σκοπό τον προσδιορισμό του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων(AFC) στις ωθήκες των γυναικών. Αμφότερες οι ωθήκες απεικονίστηκαν σε επιμήκη και εγκάρσια διατομή και καταγράφηκε το σύνολο του αριθμού ωοθυλακίων διαμέτρου 2-10 χιλιοστών για τον υπολογισμό του AFC.

4.Διαδικασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και παρακολούθηση

Όλες οι γυναίκες υπεβλήθησαν σε πρωτόκολλα πρόκλησης πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας με γοναδοτροφίνες και καταστολή της υποφυσιακής παραγωγής γοναδοτροπινών με είτε με GnRH ανταγωνιστή(60%), είτε με GnRH αγωνιστή(40%). Η παρακολούθηση των γυναικών πραγματοποιήθηκε με μέτρηση της οιστραδιόλης ορού, υπερηχογραφική μέτρηση του αριθμού και της διαμέτρου των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων, καθώς επίσης και του πάχους του ενδομητρίου. Ακολούθησε χορήγηση της β-χοριακής γοναδοτροπίνης πραγματοποιήθηκε όταν η τιμή της οιστραδιόλης ορού και υπερηχογραφική απεικόνιση τουλάχιστον ενός ωοθυλακίου διαμέτρου 18 χιλιοστών. Η ωοληψία προγραμματίστηκε να γίνει 36 ώρες μετά την χορήγηση της β-χοριακής γοναδοτροπίνης. Πραγματοποιήθηκε υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση διακολπική ωολήψια και εν συνεχεία ακολούθησε η εξωσωματική γονιμοποίηση. Η μικρογονιμοποίηση(ICSI) προτιμήθηκε σε 24

περιστατικά(53,3%), ενώ για τα υπολοιπα 21(46.7%) έγινε η κλασική εξωσωματική γονιμοποίηση(IVF). Δεν υπήρχε καμία ακύρωση κύκλου είτε λόγω μη ανταπόκρισης, είτε λόγω υπερβολικής απάντησης των ωοθηκών στις εξωγενώς χορηγούμενες γοναδοτροφίνες.

5. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS(IBM SPSS statistics 20 για windows 7). Ως αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης ορίστηκε το ποσοστό γονιμοποίησης λόγω χρονικής αδυναμίας συγκέντρωσης αποτελεσμάτων για την κλινική κύηση(CP) και το ποσοστό ζώντος νεογνού(LBR). Αρχικά υπολογίστηκαν οι μέσοι όροι των γενικών χαρακτηριστικών των δυο ομάδων(ηλικία, ΔΜΣ, FSH 3^{ης} μέρας, AMH και AFC) καθώς επίσης και οι μέσοι όροι του αριθμού των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων, των ληφθέντων ωαρίων, των ώριμων MII ωαρίων, του ποσοστού γονιμοποίησης και ο αριθμός των διαθέσιμων προς εμβρυομεταφορά εμβρύων. Στη συνέχεια έγινε σύγκριση των τιμών και παραμέτρων αυτών με t-test για ανεξάρτητα δείγματα. Έπειτα υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης της AMH και του AFC με όλες αυτές τις παραμέτρους για την ομάδα των γυναικών με ενδομητρίωση και απεικονίστηκε διαγραμματικά.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν προέκυψε πως η μέση τιμή της AMH 3^{ης} ημέρας εμμηνου ρήσεως για την ομάδα γυναικών με ενδομητρίωμα ήταν 13,35 με τυπική απόκλιση 8,48, ενώ για την δεύτερη ομάδα η αντίστοιχη τιμή ήταν 24,71 με τυπική απόκλιση 18,02. Η μέση τιμή της μέτρησης του αριθμού των ωοθυλακίων στην πρώτη ομάδα ήταν 9,6 με τυπική απόκλιση 4,56 και για την δεύτερη ομάδα 14,2 με τυπική απόκλιση 4,91. Η μέση τιμή της FSH ορού 2^{ης}-3^{ης} μέρας τω γυναικών με ενδομητρίωμα ήταν 7,67 με τυπική απόκλιση 1,67, ενώ στη δεύτερη ομάδα ήταν 7,09 με τυπική απόκλιση 1,94. Τέλος η μέση τιμή της LH για μεν την πρώτη ομάδα ήταν 4,41 με τυπική απόκλιση 0,93 για δε την δεύτερη ομάδα 5,91 με τυπική απόκλιση 1,67.

Η διαφορά των δυο ομάδων όσον αφορά την ηλικία των γυναικών δεν είναι στατιστικά σημαντική με $P=0.78$ ενώ τα BMI των δυο ομάδων δεν φαίνεται να διαφέρουν σημαντικά $P=0.96$.

Η σύγκριση των δυο ομάδων για τις τιμές της AMH πραγματοποιήθηκε με t-test για ανεξάρτητα δείγματα και βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά με $P=0,026$, και CI 95% (-21.2,-1.42).

Το AFC φαίνεται επίσης να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες με $P=0.034$ και CI 95%(-7.67,-1.52).

Οι τιμές της FSH στις δυο ομάδες δεν φαίνεται να έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά, $P=0.12$ με CI 95%(-0.6,1.7).

Πίνακας 1 Γενικά χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης και σύγκριση

	Ενδομητρίωση	Ομάδα ελέγχου	P value
Ηλικία	35.6(2.58)	34.5(4.04)	0.78
ΔΜΣ	23.02(1.17)	22.98(2.04)	0.96
ΑΜΗ	13.35(8.48)	24.71(18.02)	0.026
FSH	7.67(1,67)	7.09(1.94)	0.12
AFC	9,6(4.56)	14.2(4.91)	0.034

Η πρώτη παράμετρος που μετρήσαμε σχετική με το αποτέλεσμα της εξωσωματικής ήταν τα ωοθυλάκια που αναπτύχθηκαν υπό την επίδραση της εξωγενώς χορηγούμενης FSH στις δυο ομάδες που μελετήσαμε. Στην ομάδα των γυναικών με ενδομητρίωμα ο μέσος όρος των ωοθυλακίων που αναρροφήθηκαν κατά τη διάρκεια της ωοληψίας ήταν 6, με μια τυπική απόκλιση των τιμών 2,4. Στη δεύτερη ομάδα ο μέσος όρος των ωοθυλακίων που αναρροφήθηκαν ήταν 10,3 με μια τυπική απόκλιση 3,3. Η δεύτερη παράμετρος που μετρήθηκε ήταν ο αριθμός των ωαρίων που λήφθηκαν, ο οποίος για την ομάδα μελέτης ήταν 4,75 με τυπική απόκλιση 2,5, για την ομάδα ελέγχου ήταν 6,6 με τυπική απόκλιση 3,05. Ο μέσος όρος ώριμων MII ωαρίων που λήφθηκαν για την πρώτη ομάδα ήταν 2,6 με τυπική απόκλιση 0,82 ενώ για την δεύτερη ομάδα 3,4 με τυπική απόκλιση 2,2. Ο μέσος όρος του ποσοστού γονιμοποίησης για την ομάδα μελέτης ήταν 14% με τυπική απόκλιση 12,5, ενώ για την ομάδα ελέγχου 64,6% με τυπική απόκλιση 22,9. Τέλος ο μέσος όρος του αριθμού εμβρύων διαθέσιμων για μεταφορά ήταν για την πρώτη ομάδα 0,8 με τυπική απόκλιση 0,77 και για την δεύτερη ομάδα 1,3 με τυπική απόκλιση 1,1.

Συγκριτικά θα λέγαμε πως ο αριθμός των ωοθυλακίων που αναρροφήθηκαν είναι σχεδόν διπλάσια στην ομάδα ελέγχου. Διαφορά στατιστικά σημαντική, $P=0.001$ με CI 95%(-6.52,-2.47)

Η διαφορά των δυο ομάδων στον αριθμό των ωαρίων που λήφθηκαν από την ωοληψία είναι οριακά στατιστικά μη σημαντική με $P=0.059$ και CI 95%(-3.66,0.069) ενώ, στον αριθμό των ώριμων ωαρίων η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική με $P=0.236$.

Τέλος, η διαφορά τους όσον αφορά το ποσοστό γονιμοποίησης είναι στατιστικά πολύ σημαντικό με $P=0.00$ και η διαφορά τους στον αριθμό των εμβρύων διαθέσιμων για εμβρυομεταφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική με $P=0.128$.

Πίνακας 2: Αποτελέσματα εξωσωματικής γονιμοποίησης και σύγκριση

	Ενδομητρίωση	Ομάδα ελέγχου	P value
Ωοθυλάκια	6(2.4)	10.3(3.3)	0.001
Ωάρια	4,75(2.5)	6.6(3.05)	0.059
M II ωάρια	2,6(0.82)	3.4(2.2)	0.236
Γονιμοποίηση(%)	14(12.5)	64.6(22.9)	0.000
Έμβρυα μεταφορά	προς 0.8(0.77)	1.3(1.1)	0.128

Συνοπτικά, λοιπόν θα λέγαμε πως από τις παραμέτρους που θα μπορούσαν να θεωρηθούν αποτέλεσμα της εξωσωματικής, ο αριθμός των ωοθυλακίων και το ποσοστό γονιμοποίησης είναι αυτά που διαφέρουν στατιστικά στις δυο ομάδες.

Με σκοπό να μελετηθεί εάν η AMH και το AFC σε γυναίκες με ενδομητρίωση σχετίζονται με το αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισής τους με κάθε μια από την παράμετρο που μετρήσαμε χωριστά.

Ο συντελεστής συσχέτισης της AMH και του αριθμού των ωοθυλακίων βρίσκουμε πως $r = 0.892$ για $P = 0.000$. Ο συντελεστής συσχέτισης της AMH με των αριθμό των ληφθέντων ωαρίων είναι $r = 0.777$ με $P = 0.01$.

Ο συντελεστής συσχέτισης της AMH με των αριθμό των ώριμων ωαρίων που λήφθησαν είναι $r = 0.449$ με $P = 0.93$. Ο συντελεστής συσχέτισης της AMH με το ποσοστό γονιμοποίησης είναι $r = 0.599$ με $P = 0.018$.

Τέλος ο συντελεστής συσχέτισης της AMH με των αριθμό των εμβρύων διαθέσιμων προς μεταφορά είναι για την ομάδα με ενδομητρίωση $r = 0.564$ με $P = 0.029$.

Ο συντελεστής συσχέτισης του AFC με των αριθμό των αναρροφηθέντων ωοθυλακίων είναι $r = 0.962$ με $P = 0.00$. Ο συντελεστής συσχέτισης του AFC με των αριθμό των ωαρίων που λήφθησαν είναι $r = 0.920$ με $P = 0.00$.

Ο συντελεστής συσχέτισης του AFC με των αριθμό των ώριμων ωαρίων είναι $r = 0.645$ με $P = 0.009$. Ο συντελεστής συσχέτισης του AFC με το ποσοστό γονιμοποίησης είναι $r = 0.736$ με $P = 0.002$.

Τέλος ο συντελεστής συσχέτισης για του AFC με τον αριθμό ωαρίων διαθέσιμων προς γονιμοποίηση είναι $r = 0.513$ με $P = 0.051$.

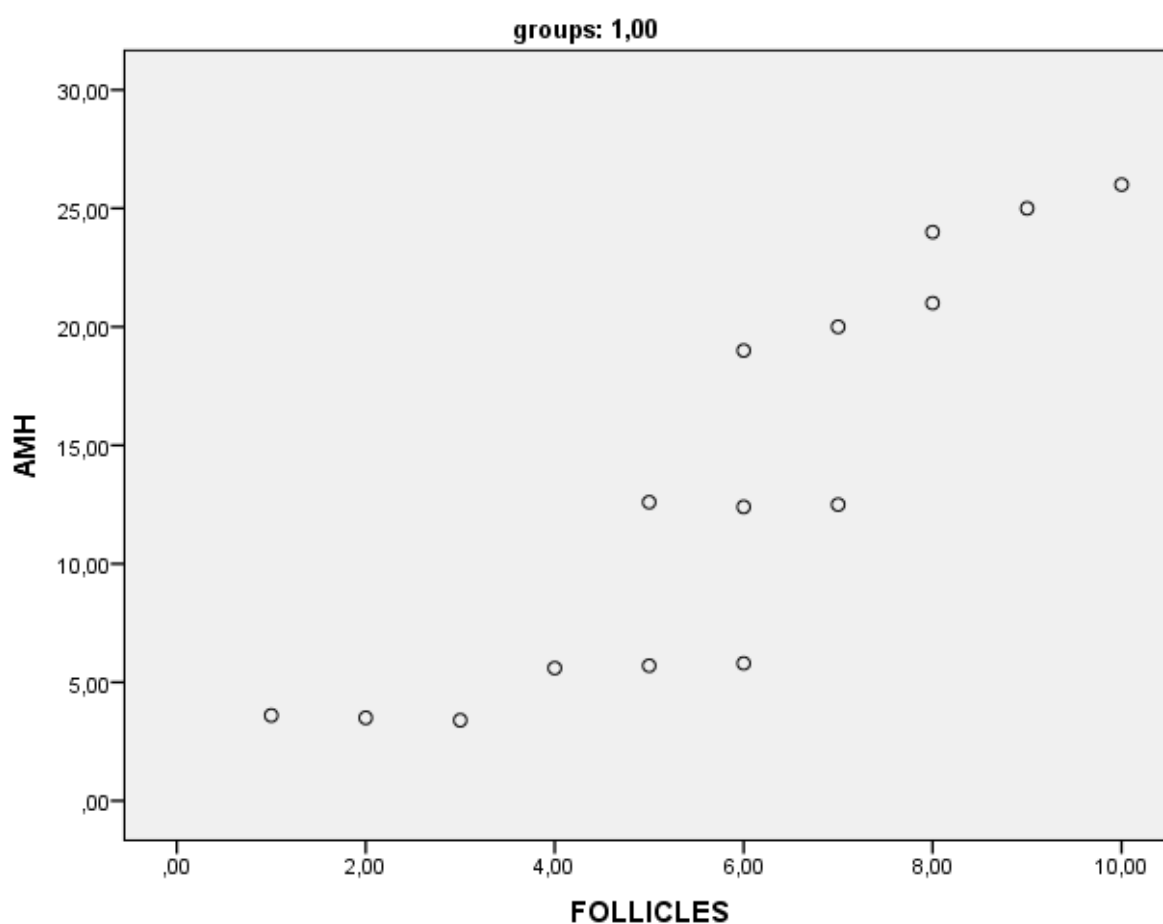
Τα αποτελέσματα φαίνονται συγκεντρωτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3 Τιμές του συντελεστή συσχέτισης r

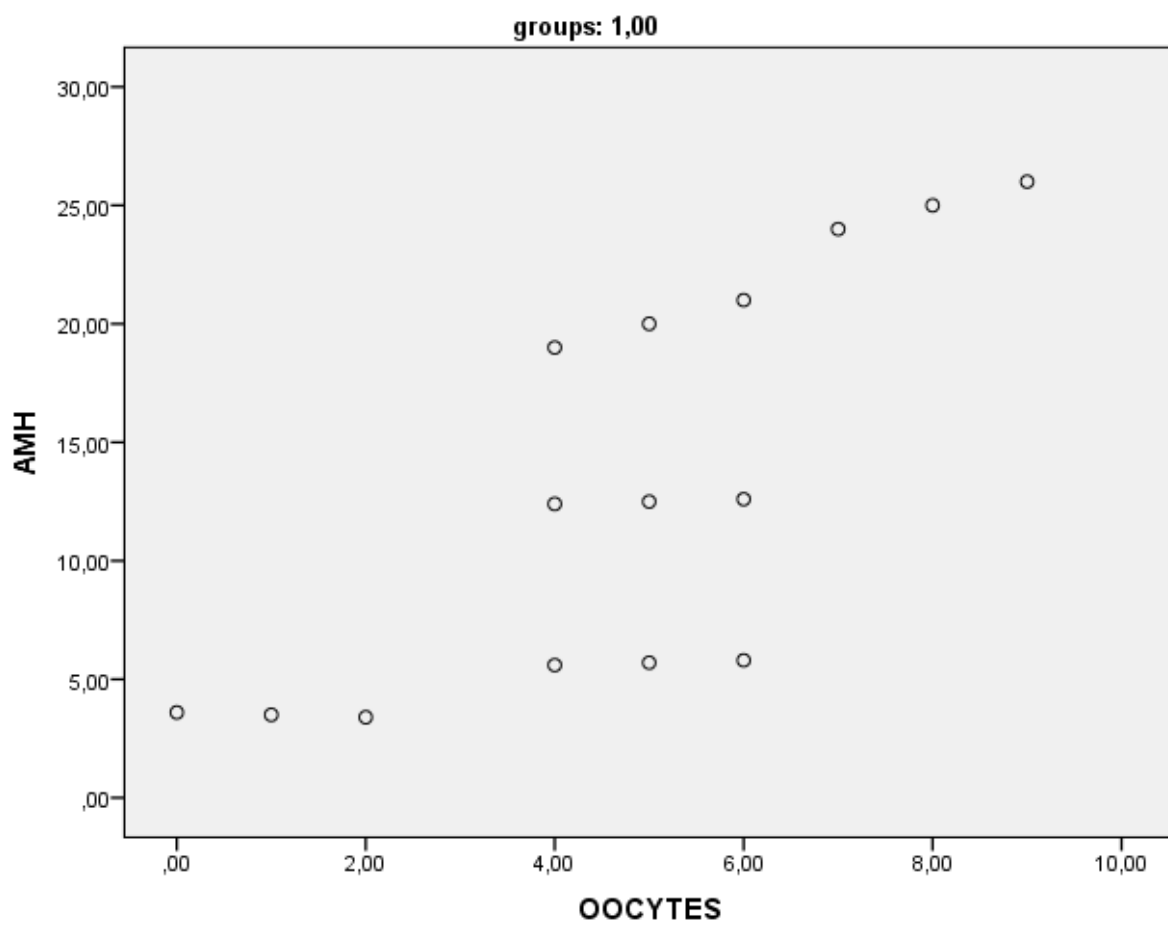
	ωοθυλάκια	ωάρια	M II ωάρια	γονιμοποίηση	εμβρυομεταφορά
AMH	0.892(0.000)	0.777(0.01)	0.449(0.93)	0.599(0.018)	0.564(0.029)
AFC	0.962(0.00)	0.920(0.000)	0.645(0.009)	0.763(0.002)	0.513(0.051)

Παρατηρούμε λοιπόν πως στην ομάδα των γυναικών με ενδομητρίωση η AMH και το AFC έχουν στατιστικά σημαντική και πολύ ισχυρή συσχέτιση με τον αριθμό των ωοθυλακίων που αναρροφήθηκαν και τον αριθμό των ωαρίων που λήφθησαν. Ενώ ασθενής έως μέτρια είναι η συσχέτισή τους με τις άλλες παραμέτρους.

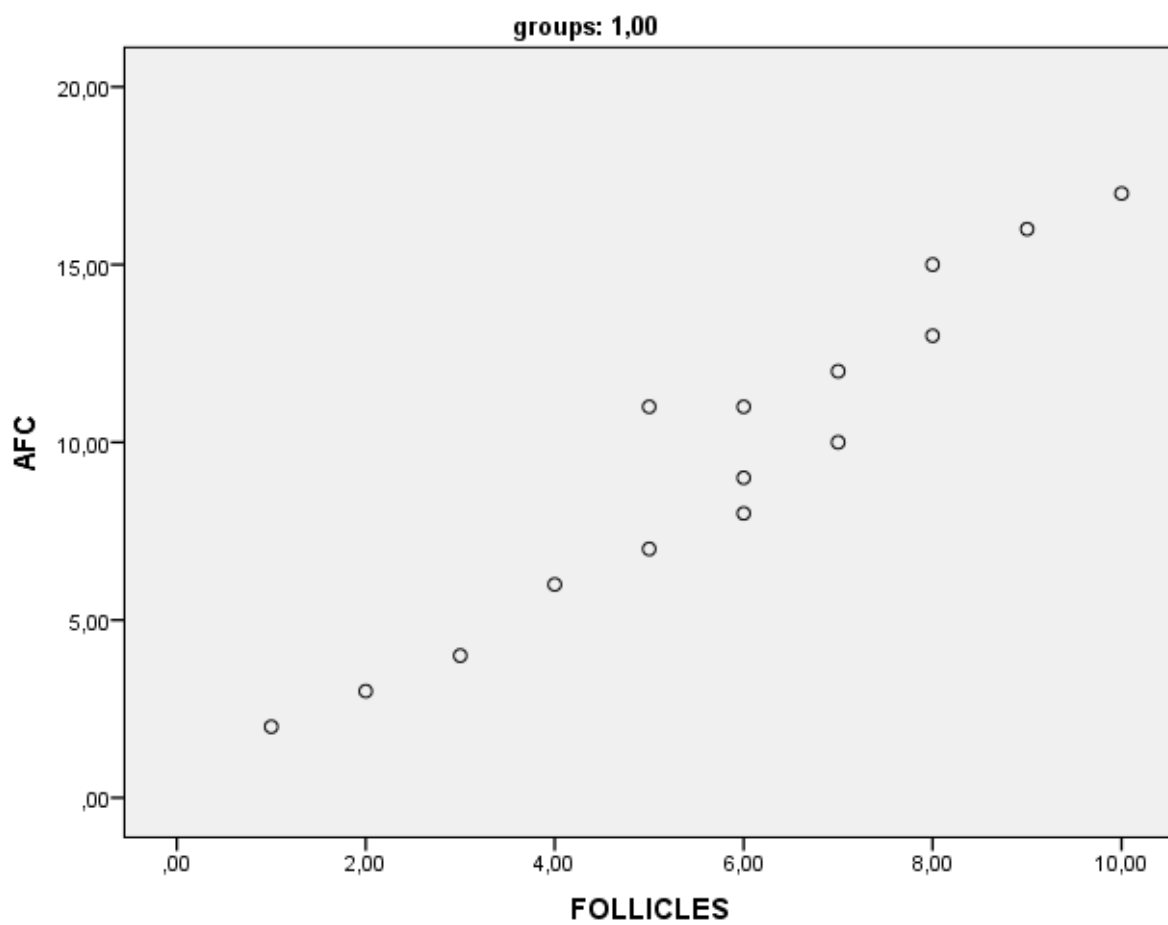
Τα αποτελέσματα αυτά απεικονίζονται σχηματικά με τα εξής διαγράμματα:



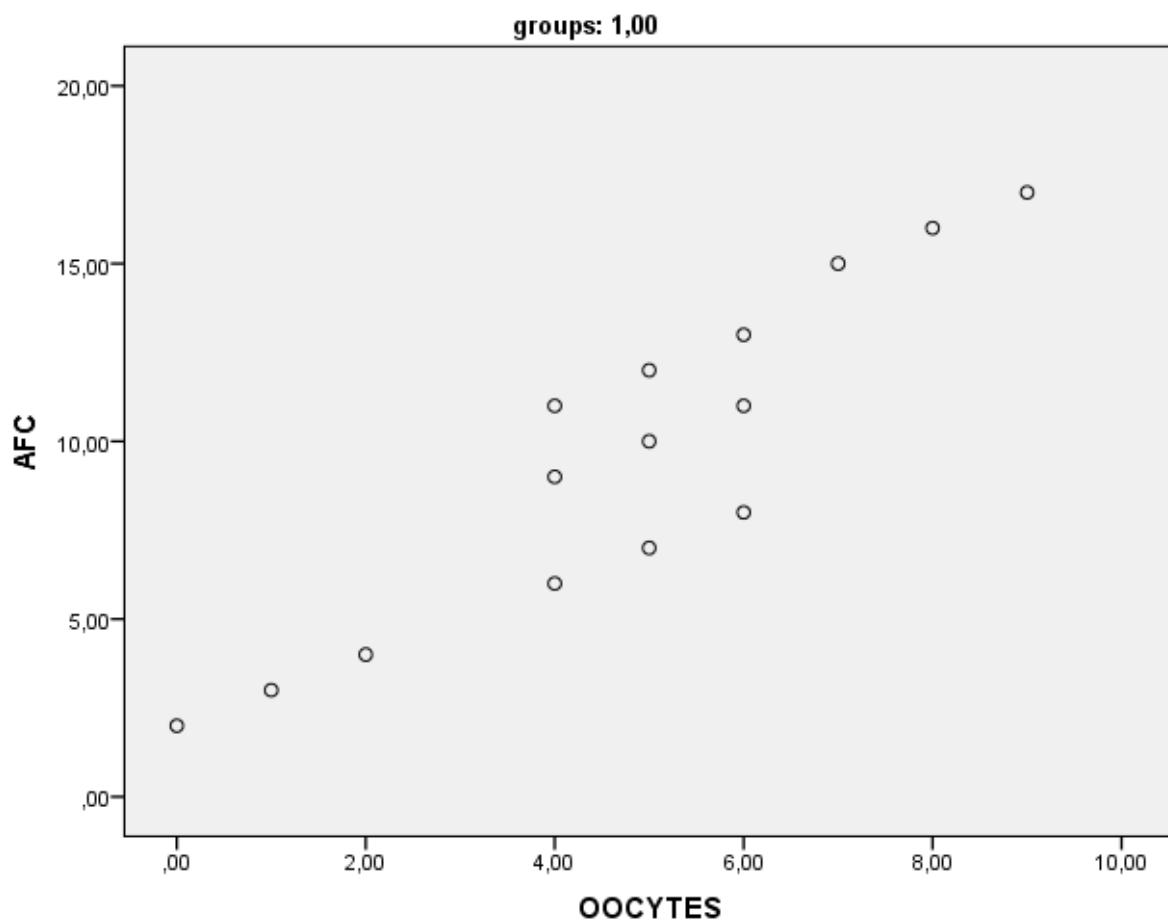
Διάγραμμα 1: Συσχέτιση της AMH με τον αριθμό αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων



Διάγραμμα 2: Συσχέτιση της AMH με τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων



Διάγραμμα 3: Συσχέτιση του AFC με τον αριθμό των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων



Διάγραμμα 4: Συσχέτιση του AFC με τον αριθμό των ληφθέντων ωαρίων

Με σκοπό να εκτιμηθεί η προβλεπτική αξία των τιμών της AMH και του AFC στο αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε γυναίκες με ενδομητρίωση έγινε προσπάθεια απεικόνισης των μεταβλητών σε καμπύλη ROC. Λόγω του μικρού αριθμού γυναικών όμως ήταν αδύνατη.

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πρόβλεψη του αποτελέσματος της IVF δίνει τη δυνατότητα στον ιατρό να ενημερώσει πλήρως τον ασθενή για την πρόγνωση, να λάβει υπόψη του πιθανότητα δωρεάς γαμετών ή υιοθεσίας. Η πρόβλεψη της ωθηκικής απάντησης μπορεί να βοηθήσει στη επιλογή κατάλληλου πρωτοκόλλου ωθουλακιορρηξίας ,επιτυγχάνοντας καλύτερα αποτελέσματα τόσο σε πτωχές απαντήτριες, όσο και σε γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο για σύνδρομο υπερδιέγερσης ωθηκών

Τα τελευταία χρόνια η AMH και το AFC χρησιμοποιούνται ευρύτατα σε προγράμματα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής για την πρόβλεψη της ωθηκικής απάντησης στα διάφορα πρωτόκολλα πρόκλησης ωθουλακιορρηξίας και ως προγνωστικοί δείκτες του αποτελέσματος της εξωσωματικής. Τα δεδομένα μέχρι σήμερα δείχνουν πως οι δείκτες αυτοί ενώ αποτελούν αντανάκλαση των ωθηκικών εφεδρειών και μπορούν να προβλέψουν την ωθηκική απάντηση, δεν μπορούν να προβλέψουν τα ποσοστά κύησης και ζώντος νεογνών.

Η μελέτη αυτή επικεντρώνεται σε γυναίκες με ενδομητρίωση και διερευνά την προγνωστική αξία των δεικτών AMH και AFC στο αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Τα δεδομένα μέχρι σήμερα για τις τιμές των AMH και AFC σε γυναίκες με ενδομητρίωση είναι αντικρουόμενα. Δυο πρόσφατες μετά-αναλύσεις δείχνουν μειωμένα επίπεδα AMH μετεγχειρητικά σε υπογόνιμες γυναίκες με ενδομητρίωση, υποδηλώνοντας έτσι πιθανή χειρουργική καταστροφή ωθηκικού ιστού, απώλεια ωθουλακίων, μειωμένες ωθηκικές εφεδρείες και υποδεέστερη απόκριση στα πρωτόκολλα ωθηκικής διέγερση (181, 93).Από την άλλη μεριά υπάρχουν ερευνητές που υποστηρίζουν πως ακόμα και η παρουσία ενδομητριωσικού ιστού από μόνη της έχει ως αποτέλεσμα ελάττωση των επιπέδων των AMH και AFC, κυρίως σε σοβαρή μορφή ενδομητρίωσης(182,183). Μια επίσης πρόσφατη ανασκόπηση και μετά-ανάλυση 27 μελετών αποδεικνύει πως η ενδομητρίωση σταδίου I και II δεν επηρεάζει τη εμφύτευση, τα ποσοστά κλινικής κύησης και το ποσοστό ζώντων νεογνών μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση. Έχει όμως αρνητική επίδραση στη ποιότητα των ωαρίων και στα ποσοστά γονιμοποίησης. Ενώ η παρουσία σοβαρής ενδομητρίωσης σταδίου III και IV έχει αποδειχτεί πως ελαττώνει τα ποσοστά εμφύτευσης και κλινικής κύησης(184).

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν πως:

- Στην ομάδα των γυναικών με ενδομητρίωση οι τιμές των AMH και AFC είναι χαμηλότερες σε σχέση με την ομάδα μαρτύρων, με διαφορές στατιστικά σημαντικές.
- Στην ομάδα γυναικών με ενδομητρίωση οι τιμές των AMH και AFC αποδείχθηκε πως σχετίζονται θετικά και μάλιστα πολύ ισχυρά με τον αριθμό των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων και τον αριθμό των αναρροφηθέντων ωαρίων, με στατιστικά σημαντική συσχέτιση, ενώ σχετίζονται ασθενώς με το ποσοστό γονιμοποίησης και τον αριθμό εμβρύων διαθέσιμων προς μεταφορά.
- Όσον αφορά την προβλεπτική τους αξία στο αποτέλεσμα της εξωσωματικής γονιμοποίησης, χρειάζεται να γίνουν μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό γυναικών ώστε να καταλήξουμε σε συμπεράσματα στατιστικά σημαντικά.

Τα δυνατά σημεία της μελέτης μας είναι το ότι τα γενικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού μελέτης μας (ηλικία, ΔΜΣ, κάπνισμα και διάρκεια υπογονιμότητας), δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις τόσο σε κάθε ομάδα χωριστά, όσο και ανάμεσα στις δυο ομάδες. Επίσης η επιλογή της αιτίας υπογονιμότητας της ομάδας μαρτύρων, με σκοπό την σύγκριση γυναικών της ομάδας μελέτης με υγιής και υπό άλλες συνθήκες γόνιμες γυναίκες είναι σημαντικό. Τέλος ο αποκλεισμός από τον πληθυσμό μελέτης με αναμενόμενες μεταβολές στις τιμές της AMH και του αριθμού των κοιλοτικών ωοθυλακίων έγινε με σκοπό πιο έγκυρα αποτελέσματα.

Οι αδυναμίες της μελέτης μας ήταν ο μικρός αριθμός δείγματος πληθυσμού, η μη λαπαροσκοπική σταδιοποίηση των γυναικών με ενδομητρίωση καθώς και η μη δυνατότητα μελέτης τους με βάση το ιστορικό προηγούμενης επέμβασης στις ωοθήκες. Λόγω του μικρού αριθμού συμμετεχόντων στην μελέτη ήταν αδύνατος ο ακριβής υπολογισμός της προβλεπτικής αξίας των AMH και AFC στο αποτέλεσμα της εξωσωματικής σε γυναίκες με ενδομητρίωση. Για αυτό το λόγο χρειάζεται να γίνουν μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό γυναικών, μετά από λαπαροσκοπική σταδιοποίηση της νόσου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:235–58.
2. Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, Spiessens C, Timmerman D, D'Hooghe T. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil Steril* 2009;92:68–74.
3. Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril* 2010;94:1609–15.
4. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol* 2004;160:784–96.
5. Al-Fozan H, Tulandi T. Left lateral predisposition of endometriosis and endometrioma. *Obstet Gynecol* 2003;101:164–6.
6. Vercellini P, Chapron C, De Giorgi O, Consonni D, Frontino G, Crosignani PG. Coagulation or excision of ovarian endometriomas? *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:606–610.
7. Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, d'Hooghe T, de Cicco Nardone F, de Cicco Nardone C, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril* 2011;96:366–73.e8.
8. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005;20(10):2698–704.
9. Wykes, C. B., Clark, T. J. & Khan, K. S. (2004a) Accuracy of laparoscopy in the diagnosis of endometriosis: a systematic quantitative review. *Bjog*, 111, 1204-12.
10. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14:442–69.
11. Jansen RP. Minimal endometriosis and reduced fecund ability: prospective evidence from an artificial insemination by donor program. *Fertil Steril*.1986;46:141–3.
12. Pittaway DE. CA-125 in women with endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1989;16:237–248
13. Richard O. Burney, Linda C. Giudice. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2012;98:511–9.
14. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj SG, Talbert LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984;64:151–4
15. Sasson IE, Taylor HS. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1127:106–15.
16. Iwanoff N. Dusiges cystenhaltiges uterusfibromyom compliciert durch sarcom und carcinom. (Adenofibromyoma cysticum sarcomatodes carcinomatosum). *Monatsch Geburtshilfe Gynakol* 1898;7:295–300.
17. Crain DA, Janssen SJ, Edwards TM, Heindel J, Ho SM, Hunt P, et al. Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. *Fertil Steril* 2008;90:911–40.
18. Levander G, Normann P. The pathogenesis of endometriosis; an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1955;34:366–98.
19. Merrill JA. Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol* 1966;94:780–90.

20. Russell W. Aberrant portions of the mullerian duct found in an ovary. Ovarian cysts of mullerian origin. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1899;10:8.
21. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Michels KB, Hunter DJ. In utero exposures and the incidence of endometriosis. *Fertil Steril* 2004;82:1501–8.
22. Rosenfeld DL, Lecher BD. Endometriosis in a patient with Rokitansky- Kuster-Hauser syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1981;139:105.
23. Sampson JA. Metastatic or embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the venous circulation. *Am J Pathol* 1927;3:93–110.
24. Jubanyik KJ, Comite F. Extrapelvic endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:411–40.
25. Richard O. Burney, Linda C. Giudice. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis (*Fertil Steril* 2012;98:511–9.
26. Jones RK, Searle RF, Bulmer JN. Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod* 1998;13:3496–502.
27. Treloar SA, Wicks J, Nyholt DR, Montgomery GW, Bahlo M, Smith V, et al. Genome-wide linkage study in 1,176 affected sister pair families identifies a significant susceptibility locus for endometriosis on chromosome 10q26. *Am J Hum Genet* 2005;77:365–76.
28. Painter JN, Anderson CA, Nyholt DR, Macgregor S, Lin J, Lee SH, et al. Genome-wide association study identifies a locus at 7p15.2 associated with endometriosis. *Nat Genet* 2011;43:51–4.
29. Wu Y, Strawn E, Basir Z, Wang Y, Halverson G, Jailwala P, et al. Genomic alterations in ectopic and eutopic endometria of women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2006;62:148–59.
30. Zeitoun K, Takayama K, Sasano H, Suzuki T, Moghrabi N, Andersson S, et al. Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:4474–80.
31. Noble LS, Takayama K, Zeitoun KM, Putman JM, Johns DA, Hinshelwood MM, et al. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82: 600–6.
32. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, et al. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol* 2006;248:94–103.
33. Lucidi RS, Witz CA, Chrisco M, Binkley PA, Shain SA, Schenken RS. A novel in vitro model of the early endometriotic lesion demonstrates that attachment of endometrial cells to mesothelial cells is dependent on the source of endometrial cells. *Fertil Steril* 2005;84:16–21.
34. Giudice LC, Dsupin BA, Gargosky SE, Rosenfeld RG, Irwin JC. The insulinlike growth factor system in human peritoneal fluid: its effects on endometrial stromal cells and its potential relevance to endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:1284–93.
35. Halme J, White C, Kauma S, Estes J, Haskill S. Peritoneal macrophages from patients with endometriosis release growth factor activity in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:1044–9.
36. Eisermann J, Gast MJ, Pineda J, Odem RR, Collins JL. Tumor necrosis factor in peritoneal fluid of women undergoing laparoscopic surgery. *Fertil Steril* 1988;50:573–9.
37. Harada T, Yoshioka H, Yoshida S, Iwabe T, Onohara Y, Tanikawa M, et al. Increased interleukin-6 levels in peritoneal fluid of infertile patients with active endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:593–7.

38. WuMH, Sun HS, Lin CC, Hsiao KY, Chuang PC, Pan HA, et al. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis. *MolHumReprod* 2002;8:1103–10.
39. Cahill DJ, Hull MG. Pituitary-ovarian dysfunction and endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6:56–66
40. Doody MC, Gibbons WE, Buttram VC Jr. Linear regression analysis of ultrasound follicular growth series: evidence for an abnormality of follicular growth in endometriosis patients. *Fertil Steril* 1988; 49:47–51
41. Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6:67–74
42. Groll M. Endometriosis and spontaneous abortion. *Fertil Steril* 1984; 41:933–935
43. Hahn DW, Carraher RP, Foldesy RG, McGuire JL. Experimental evidence for failure to implant as a mechanism of infertility associated with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:1109–1113
44. Hull MG, Williams JA, Ray B, McLaughlin EA, Akande VA, Ford WC. The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis-associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa. *Hum Reprod* 1998; 13:1825–1830
45. Tanbo T, Omland A, Dale PO, Abyholm T. In vitro fertilization/embryo transfer in unexplained infertility and minimal peritoneal endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1995; 74:539–543
46. Tummon IS, Maclin VM, Radwanska E, Binor Z, Dmowski WP. Occult ovulatory dysfunction in women with minimal endometriosis or unexplained infertility. *Fertil Steril* 1998; 50:716–720
47. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27:441–447
48. Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Marshall LM, Hunter DJ. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am J Epidemiol* 2004;160: 784–96.
49. Verkauf BS. Incidence, symptoms, and signs of endometriosis in fertile and infertile women. *J Fla Med Assoc* 1987;74:671–5.
50. Schenken RS. Treatment of human infertility: the special case of endometriosis. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, editors. *Reproductive endocrinology, surgery and technology*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1996: 2122–39.
51. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Gatje R, Muller A, Rody A, Dobert N, Menzel C, Grunwald F, Siebzehnrubl E, et al (2005) Diminished pregnancy rates in endometriosis due to impaired uterotubal transport assessed by hysterosalpingoscintigraphy. *BJOG* 112:1391–1396
52. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR, et al. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod* 2002;17:426–31.
53. Pizzo A, Salmeri FM, Ardita FV, Sofo V, Tripepi M, Marsico S. Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. In: *Gynecol Obstet Invest*. Vol. 54. Switzerland: 2003 S. Karger AG, Basel; 2002:82–7.
54. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2001;75:1–10.
55. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, et al. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:643–9.

56. Genbacev OD, Prakobphol A, Foulk RA, Krtolica AR, Ilic D, Singer MS, et al. Trophoblast L-selectin-mediated adhesion at the maternal-fetal interface. *Science* 2003;299:405–8.
57. Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS Jr (1988) Immunohistochemical analysis of human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 67:334–340
58. Attar E, Bulun SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum Reprod Update* 2006; 12:49–56
59. Bulun SE, Cheng YH, Yin P, Imir G, Utsunomiya H, Attar E, Innes J, Julie Kim J. Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 248:94–103
60. Giudice LC, Telles TL, Lobo S, Kao L. The molecular basis for implantation failure in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955:252–264
61. Cahill DJ, Wardle PG, Maile LA, Harlow CR, Hull MG. Ovarian dysfunction in endometriosis-associated and unexplained infertility. *J Assist Reprod Genet* 1997;14:554–7.
62. Cunha-Filho JS, Gross JL, Bastos de Souza CA, Lemos NA, Giugliani C, Freitas F, et al. Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:117–21.
63. Cahill DJ, Wardle PG, Maile LA, Harlow CR, Hull MG (1995) Pituitary ovarian dysfunction as a cause for endometriosis-associated and unexplained infertility. *Hum Reprod* 10:3142–3146
64. Abae M, Glassberg M, Majercik MH, Yoshida H, Vestal R, Puett D. Immunoreactive endothelin-1 concentrations in follicular fluid of women with and without endometriosis undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1994; 61:1083–1087
65. Bahtiyar MO, Seli E, Oral E, Senturk LM, Zreik TG, Arici A. Follicular fluid of women with endometriosis stimulates the proliferation of endometrial stromal cells. *Hum Reprod* 1998; 13:3492–3495
66. Pellicer A, Albert C, Garrido N, Navarro J, Remohi J, Simon C. The pathophysiology of endometriosis-associated infertility: follicular environment and embryo quality. *J Reprod Fertil Suppl* 2000; 55:109–119
67. Díaz-Fontdevila M, Pommer R, Smith R. Cumulus cell apoptosis changes with exposure to spermatozoa and pathologies involved in infertility. *Fertil Steril* 2009; 91:2061–2068
68. Nakahara K, Saito H, Saito T, Ito M, Ohta N, Takahashi T, Hiroi M. The incidence of apoptotic bodies in membrana granulosa can predict prognosis of ova from patients participating in in vitro fertilization programs. *Fertil Steril* 1997; 68:312–317
69. Russell DL, Robker RL. Molecular mechanisms of ovulation: co-ordination through the cumulus complex. *Hum Reprod Update* 2007;13:289–312
70. Garrido N, Navarro J, Garcia-Velasco J, Remoh J, Pellice A, Simon C. The endometrium versus embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Hum Reprod Update* 2000; 8:95–103
71. Cunha-Filho JS, Gross JL, Lemos NA, Brandelli A, Castillos M, Passos EP. Hyperprolactinemia and luteal insufficiency in infertile patients with mild and minimal endometriosis. *Horm Metab Res* 2000; 33:216–220
72. Muscato JJ, Haney AF, Weinberg JB. Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: a possible cause of infertility in endometriosis. *Obstet Gynecol Surv* 1983; 38:177–178
73. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Gatje R, Muller A, Rody A, Dobert N, Menzel C, Grunwald F, Siebzehnruhl E, et al. Diminished pregnancy rates in

- endometriosis due to impaired uterotubal transport assessed by hysterosalpingoscintigraphy. *BJOG* 2005; 112:1391–1396
74. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Wiegratz I, Schlichter S, Menzel C, Doebert N, Gruenwald F, Vogl TJ, Gaetje R, et al. Uterotubal transport disorder in adenomyosis and endometriosis—a cause for infertility. *BJOG* 2006; 113:902–908
 75. Kissler S, Zangos S, Wiegratz I, Kohl J, Rody A, Gaetje R, Doebert N, Wildt L, Kunz G, Leyendecker G, et al. Utero-tubal sperm transport and its impairment in endometriosis and adenomyosis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1101:38–48
 76. Leyendecker G, Kunz G, Wildt L, Beil D, Deininger H. Uterine hyperperistalsis and dysperistalsis as dysfunctions of the mechanism of rapid sperm transport in patients with endometriosis and infertility. *Hum Reprod* 1996; 11:1542–1551
 77. Coddington CC, Oehninger S, Cunningham DS, Hansen K, Sueldo CE, Hodgen GD. Peritoneal fluid from patients with endometriosis decreases sperm binding to the zona pellucida in the hemizona assay: a preliminary report. *Fertil Steril* 1992; 57:783–786
 78. Mansour G, Abdelrazik H, Sharma RK, Radwan E, Falcone T, Agarwal A. L-carnitine supplementation reduces oocyte cytoskeleton damage and embryo apoptosis induced by incubation in peritoneal fluid from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2009; 91:2079–2086
 79. Iwabe T, Harada T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53:19–25
 80. Yoshida S, Harada T, Iwabe T, Taniguchi F, Mitsunari M, Yamauchi N, Deura I, Horie S, Terakawa N. A combination of interleukin-6 and its soluble receptor impairs sperm motility: implications in infertility associated with endometriosis. *Hum Reprod* 2004; 19:1821–1825
 81. Brizek CL, Schlaff S, Pellegrini VA, Frank JB, WorriLOW KC. Increased incidence of aberrant morphological phenotypes in human embryogenesis—an association with endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12:106–112
 82. Jana SK, K NB, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Upper control limit of reactive oxygen species in follicular fluid beyond which viable embryo formation is not favorable. *Reprod Toxicol* 2010; 29:447–451
 83. Hu X. Proteolytic signaling by TNF alpha: caspase activation and IkappaB degradation. *Cytokine* 2003; 21:286–294
 84. Lao VV, Herring JL, Kim CH, Darwanto A, Soto U, Sowers LC. Incorporation of 5-chlorocytosine into mammalian DNA results in heritable gene silencing and altered cytosine methylation patterns. *Carcinogenesis* 2009; 30:886–893
 85. American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997;67:817–21.
 86. Jacobson TZ, Duffy JM, Barlow D, et al. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;(1):CD001398
 87. Koninckx PR, Moor PD, Brosens IA. Diagnosis of the luteinized unruptured follicle syndrome by steroid hormone assays on peritoneal fluid. *BJOG* 1980; 87:929–934
 88. Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: the new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril* 2010;94:1609–15.
 89. Hart RJ, Hickey M, Maouris P, et al. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomas. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(2):CD004992.
 90. Garcia-Velasco JA, Somigliana E. Management of endometriomas in women requiring IVF: to touch or not to touch. *Hum Reprod* 2009;24: 496–501.

91. Pellicano M, Bramante S, Guida M, Bifulco G, Di Spiezio S, Sardo A, Cirillo D, Nappi C. Ovarian endometrioma: postoperative adhesions following bipolar coagulation and suture. *Fertil Steril* 2008;89:796-799.
92. Somigliana E, Infantino M, Benedetti F, Arnoldi M, Calanna G, Ragni G. The presence of ovarian endometriomas is associated with a reduced responsiveness to gonadotropins. *Fertil Steril* 2006;86:192–196.
93. Somigliana E, Berlanda N, Benaglia L, Vigano P, Vercellini P, Fedele L. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antiMullerian hormone level modifications. *Fertil Steril* 2012; 98:1531–1538.
94. Streuli I, de Ziegler D, Gayet V, Santulli P, Bijaoui G, de Mouzon J, Chapron C. In women with endometriosis anti-Mullerian hormone levels are decreased only in those with previous endometrioma surgery. *Hum Reprod* 2012;27:3294-3303
95. Vercellini P, Pietropaolo G, De Giorgi O, Daguati R, Pasin R, Crosignani PG. Reproductive performance in infertile women with rectovaginal endometriosis: is surgery worthwhile? *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1303-1310.
96. Furness S, Roberts H, Marjoribanks J, et al. Hormone therapy in postmenopausal women and risk of endometrial hyperplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(2):CD000402.
97. D'Hooghe TM. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertil Steril* 1997;68(4):613–25.
98. Tummon IS, Asher LJ, Martin JS, et al. Randomized controlled trial of superovulation and insemination for infertility associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil Steril* 1997;68(1):8–12.
99. Costello MF; Sjoblom P; Shrestha SM, 2004, 'Use of Doppler Ultrasound Imaging of the Ovary during IVF Treatment as a Predictor of Success', in *The Infertility Manual*, edn. 2, Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, pp. 344 – 352
100. Aygen MA, Atakul T, Oner G, Ozgun MT, Sahin Y, Ozturk F. A prospective trial comparing letrozole versus gonadotropins for ovulation induction in patients with histologically documented endometriosis. *Hum Reprod* 2010;25(S1):6.
101. Benschop L, Farquhar C, Van der Poel N, Heineman MJ. Interventions for women with endometrioma prior to assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;11:CD008571.
102. Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. Long-term pituitary downregulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006:CD004635.
103. Yu HT, Huang HY, Soong YK, Lee CL, Chao A, Wang CJ. Laparoscopic ovarian cystectomy of endometriomas: surgeons' experience may affect ovarian reserve and live-born rate in infertile patients with in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;152:172-175.
104. Bianchi PH, Pereira RM, Zanatta A, Alegretti JR, Motta EL, Serafini P C. Extensive excision of deep infiltrative endometriosis before in vitro fertilization significantly improves pregnancy rates. *J Minim Invasive Gynecol* 2009;16:174-180
105. Francesca Raffi, Mostafa Metwally, and Saad Amer The Impact of Excision of Ovarian Endometrioma on Ovarian Reserve: A Systematic Review and Meta-Analysis *J Clin Endocrinol Metab*, September 2012, 97(9):3146–3154

106. HM Harb,^a ID Gallos,^a J Chu,^a M Harb,^b A Coomarasamy. The effect of endometriosis on in vitro fertilisation outcome: a systematic review and meta-analysis *BJOG* 2013; DOI: 10.1111/1471-0528.12366
107. Munsterberg A, Lovell-Badge R. Expression of the mouse anti-Mullerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation. *Development* 1991;113:613–624.
108. Rajpert-De Meyts E, Jorgensen N, Grae m N, Muller J, Cate RL, Skakkebaek NE. Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3836–3844.
109. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP, Visser JA, Kramer P, Fauser BC, Themmen AP. Anti-Mullerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 2004; 10:77–83.
110. Ueno S, Kuroda T, Maclaughlin DT, Ragin RC, Manganaro TF, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance in the adult rat ovary during various stages of the estrous cycle. *Endocrinology* 1989;125:1060–1066.
111. Hirobe S, He WW, Gustafson ML, MacLaughlin DT, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance gene expression in the cycling rat ovary correlates with recruited or graafian follicle selection. *Biol Reprod* 1994; 50:1238–1243
112. Andersen CY, Schmidt KT, Kristensen SG, Rosendahl M, Byskov AG, Ernst E. Concentrations of AMH and inhibin-B in relation to follicular diameter in normal human small antral follicles. *Hum Reprod* 2010;25:1282–1287.
113. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K, Raine-Fenning N, Campbell BK, Yding Andersen C. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection *Molecular Human Reproduction*, Vol.19, No.8 pp. 519–527, 2013
114. La Marca A, De Leo V, Giulini S, Orvieto R, Malmusi S, Giannella L, Volpe A. Anti-Mullerian hormone in premenopausal women and after spontaneous or surgically induced menopause. *J Soc Gynecol Investig* 2005b;12:545–548.
115. Themmen AP. Anti-Mu“llerian hormone: its role in follicular growth initiation and survival and as an ovarian reserve marker. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:18–21.
116. Visser JA, Themmen AP. Anti-Mu“llerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005;234:81–86.
117. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kuman TR, Matzuk MM, Rose UM, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA et al. Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142:4891–4899.
118. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mu“llerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999;140:5789–5796.
119. Gruijters MJ, Visser JA, Durlinger AL et al. Anti-Mullerian hormone and its role in ovarian function. *Mol Cell Endocrinol* 2003;211;85-90
120. Knight PG, Glistler C. TGF-b superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006;132:191–206.
121. Visser JA, Durlinger AL, Peters IJ, van den Heuvel ER, Rose UM, Kramer P, de Jong FH, Themmen AP. Increased oocyte degeneration and follicular atresia during the estrous cycle in anti-Mu“llerian hormone null mice. *Endocrinology* 2007;148:2301–2308.

122. Andersen CY, Byskov AG. Oestradiol and regulation of anti-Mullerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:4064–4069.
123. Kevenaar ME, Themmen AP, Laven JS, Sonntag B, Fong SL, Uitterlinden AG, de Jong FH, Pols HA, Simoni M, Visser JA. Anti-Mullerian hormone and anti-Mullerian hormone type II receptor polymorphisms are associated with follicular phase estradiol levels in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007;22:1547–1554.
124. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, Hasegawa Y, Noto RA, Schoenfeld D, MacLaughlin DT. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:571–576.
125. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ et al. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005;83:979-987
126. de Vet A, Laven JSE, de Jong FH et al. Anti-Mullerian Hormone serum levels: A putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002;77:357-362
127. Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertil Steril* 2002;77:141–146.
128. Pigny P, Merlen E, Robert Y, Cortet-Rudelli C, Decanter C, Jonard S, Dewailly D. Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5957–5962.
129. La Marca A, Orvieto R, Giulini S, Jasonni VM, Volpe A, De Leo V. Mullerian-inhibiting substance in women with polycystic ovary syndrome: relationship with hormonal and metabolic characteristics. *Fertil Steril* 2004b;82:970–972.
130. Laven JS, Mulders AG, Visser JA, Themmen AP, De Jong FH, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone serum concentrations in normoovulatory and anovulatory women of reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:318–323.
131. Mulders AG, Laven JS, Eijkemans MJ, de Jong FH, Themmen AP, Fauser BC. Changes in anti-Mullerian hormone serum concentrations over time suggest delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility. *Hum Reprod* 2004;19:2036–2042.
132. Eldar-Geva T, Margalioth EJ, Gal M, Ben-Chetrit A, Algur N, Zylber-Haran E, Brooks B, Huerta M, Spitz IM. Serum anti-Mullerian hormone levels during controlled ovarian hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Hum Reprod* 2005b;20:1814–1819.
133. Piltonen T, Morin-Papunen L, Koivunen R, Perheentupa A, Ruokonen A, Tapanainen JS. Serum anti-Mullerian hormone levels remain high until late reproductive age and decrease during metformin therapy in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20:1820–1826.
134. La Marca A, Pati M, Orvieto R, Stabile G, Carducci Artensio A, Volpe A. Serum Anti-Mullerian Hormone levels in women with secondary amenorrhea. *Fertil Steril* 2006a;85:1547–1549.
135. Wachs DS, Coffler MS, Malcom PJ, Chang RJ. Serum anti-mullerian hormone concentrations are not altered by acute administration of follicle stimulating hormone in polycystic ovary syndrome and normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1871–1874.

136. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057–4063.
137. La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S, Volpe A. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 2007;22:766–771.
138. Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy Ch, Englert Y. Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007;22:1837–1840.
139. Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2008;90:395–400.
140. Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, Mitchell P, Ambrose P, Fleming R. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod* 2009; Jan 10 [Epub ahead of print].
141. Wunder DM, Guibourdenche J, Birkhäuser MH, Bersinger NA. Anti-Müllerian hormone and inhibin B as predictors of pregnancy after treatment by in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2008; [Epub ahead of print].
142. Streuli I, Fraise T, Chapron C, Bijaoui G, Bischof P, de Ziegler D. Clinical uses of anti-Müllerian hormone assays: pitfalls and promises. *Fertil Steril* 2009;91:226–230.
143. Hadlow N, Longhurst K, McClements A, Natalwala J, Brown SJ, Matson P. Variation in antimüllerian hormone concentration during the menstrual cycle may change the clinical classification of the ovarian response. *Fertil Steril* 2013;99:1791–7.
144. La Marca A, Giulini S, Orvieto R, De Leo V, Volpe A. Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Hum Reprod* 2005a;20:1569–1572.
145. Arbo E, Vetori DV, Jimenez MF, Freitas FM, Lemos N, Cunha-Filho JS. Serum anti-Müllerian hormone levels and follicular cohort characteristics after pituitary suppression in the late luteal phase with oral contraceptive pills. *Hum Reprod* 2007;22:3192–3196.
146. Mohamed KA, Davies WA, Lashen H. Antimüllerian hormone and pituitary gland activity after prolonged down-regulation with goserelin acetate. *Fertil Steril* 2006;86:1515–1517
147. Somunkiran A, Yavuz T, Yucel O, Ozdemir I. Anti-Müllerian hormone levels during hormonal contraception in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;134:196–201.
148. Streuli I, Fraise T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D. Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil Steril* 2008;90:395–400.
149. Visser JA, de Jong FH, Laven JS and Themmen AP (2006) Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 131,1–9
150. Nikolaou D, Templeton A. Early ovarian ageing: a hypothesis: detection and clinical relevance. *Hum Reprod* 2003;18:1137–1139.
151. Burger HG, Robertson DM, Baksheev L, Collins A, Csemiczky G, Landgren BM. The relationship between the endocrine characteristics and the

- regularity of menstrual cycles in the approach to menopause. *Menopause* 2005;12:267–274
152. Tremellen KP, Kolo M, Gilmore A, Lekamge DN. Anti-mullerian hormone as a marker of ovarian reserve. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2005;45:20–24.
 153. Ebner T, Sommergruber M, Moser M, Shebl O, Schreier-Lechner E, Tews G. Basal level of anti-Mullerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod* 2006;21:2022–2026.
 154. Ficicioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakacak Z. Early follicular antimullerian hormone as an indicator of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2006;85:592–596.
 155. van Rooij IA, Broekmans FJ, Scheffer GJ, Looman CW, Habbema JD, de Jong FH, Fauser BJ, Themmen AP, te Velde ER. Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril* 2005;83:979–987.
 156. Broekmans FJ, Visser JA, Laven JS, Broer SL, Themmen AP, Fauser BC. Anti-Mullerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metab* 2008;19:340–347.
 157. Majedah Al-Azemi¹, Stephen R. Killick², Sheila Duffy¹, Clare Pye¹, Bassem Refaat¹, Natalie Hill¹ and William Ledger¹. Multi-marker assessment of ovarian reserve predicts oocyte yield after ovulation induction, *Hum Reprod*, 2011 Feb;26(2):414-22
 158. Hazout A, Bouchard P, Seifer DB et al. Serum antimullerian hormone/mullerian-inhibiting substance appears to be a more discriminatory marker of assisted reproductive technology outcome than follicle-stimulating hormone, inhibin B, or estradiol. *Fertil Steril* 2004;82:1323-1329
 159. Ebner T, Sommergruber M, Moser M et al. Basal level of anti-Mullerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod* 2006;21:2022-2026
 160. Silberstein T, MacLaughlin DT, Shai I, Trimarchi JR, Lambert-Messerlian G, Seifer DB, Keefe DL, Blazar AS. Mullerian inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology. *Hum Reprod* 2006;21:159–163.
 161. Cupisti S, Dittrich R, Mueller A, Strick R, Stiegler E, Binder H, Beckmann MW, Strissel P. Correlations between anti-Mullerian hormone, inhibin B, and activin A in follicular fluid in IVF/ICSI patients for assessing the maturation and developmental potential of oocytes. *Eur J Med Res* 2007;12:604–608.
 162. Nelson SM, Yates RW, Lyall H, Jamieson M, Traynor I, Gaudoin M, Mitchell P, Ambrose P, Fleming R. Anti-Mullerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod* 2009; Jan 10 [Epub ahead of print].
 163. Broer SL, Mol BW, Hendriks D, Broekmans FJ. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2008; [Epub ahead of print].
 164. Wen-Qin Lin & Ling-Nv Yao & Dong-Xue Zhang & Wei Zhang & Xiao-Jing Yang & Rong Yu. The predictive value of anti-mullerian hormone on embryo quality, blastocyst development, and pregnancy rate following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET), *J Assist Reprod Genet* (2013) 30:649–655
 165. Klein NA, Houmard BS, Hansen KR, Woodruff TK, Sluss PM, Bremner WJ, Soules MR. Age-related analysis of inhibin A, inhibin B, and activin a relative to the intercycle monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal ovulatory women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2977-81

166. Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis LM, Liu HC, et al. The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1988;50:298–307.
167. Block E. A quantitative morphological investigation of the follicular system in newborn female infants. *Acta Anat (Basel)* 1953;17:201-206
168. Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1963;158:417-433
169. Markstrom E, Svensson EC, Shao R et al. Survival factors regulating ovarian apoptosis – dependence on follicle differentiation. *Reproduction* 2002;123:23-30
170. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992;7:1342-1346
171. Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC et al. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum Reprod* 2008;23:699-708
172. Thum MY, Abdalla HI, and Taylor D. Relationship between women's age and basal follicle stimulating hormone levels with aneuploidy risk in in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril* 2008;90:315-321
173. Broekmans FJ, Faddy MJ, Scheffer G et al. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. *Menopause* 2004;11:607-614
174. Ruess ML, Kline J, Santos R, Levin B, Timor-Tritsch I. Age and the ovarian follicle pool assessed with transvaginal ultrasonography. *AmJ Obstet Gynecol* 1996;174:624–7.
175. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. *Fertil Steril* 1999;72:845–51.
176. Kline J, Kinney A, Kelly A, Reuss ML, Levin B. Predictors of antral follicle count during the reproductive years. *Hum Reprod* 2005;20: 2179–89. CDC (Centers for Disease Control) Assisted Reproductive Technology Success Rates, 2000.
177. Toner JP, Grainger DA and Frazier LM. Clinical outcomes among recipients of donated eggs: an analysis of the U.S. national experience, 1996–1998. *Fertil Steril* 2002; 78,1038–1045
178. Gougeon-A, Echiohard-, and Thalabard-JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early- growing follicles in aging women. *Biol-Reprod* 1994;50:653-663
179. Pache TD, Wladimiroff JW, de Jong FH, Hop WC, Fauser BC. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertil Steril*.1990;54(4):638–42
180. Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC, Charleston JS, Soules MR, Klein NA. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum Reprod*. 2008;23(3):699–708.
181. 182.Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Sep;97(9):3146-54. doi: 10.1210/jc.2012-1558. Epub 2012 Jun 20. Review.
182. 183.Uncu G, Kasapoglu I, Ozerkan K, Seyhan A, Oral Yilmaztepe A, Ata B. Prospective assessment of the impact of endometriomas and their

removal on ovarian reserve and determinants of the rate of decline in ovarian reserve. *Hum Reprod.* 2013 Aug;28(8):2140-5

183. Shebl O, Ebner T, Sommergruber M, Sir A, Tews G. Anti muellerian hormone serum levels in women with endometriosis: a case-control study. *Gynecol Endocrinol.* 2009 Nov;25(11):713-6
184. Harb H, Gallos I, Chu J, Harb M, Coomarasamy A. The effect of endometriosis on in vitro fertilisation outcome: a systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2013 Oct;120(11):1308-20