

Postupci medicinski pomognute oplodnje

Valenčić, Lea

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:017492>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Lea Valenčić

Postupci medicinski pomognute oplodnje

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za ginekologiju i opstetriciju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u Klinici za ženske bolesti i porode KB Merkur, pod vodstvom doc. dr. sc. Doroteje Pavan Jukić, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

POPIS KRATICA

AFC	broj antralnih folikula (eng. antral follicle count)
AID	unos donorova sjemena (eng. artificial insemination by donor)
AIH	unos partnerova sjemena (eng. artificial insemination by husband)
AMH	anti-Müllerov hormon
BMI	indeks tjelesne mase (eng. body mass index)
E2	estradiol
ET	embrio transfer
FSH	folikulostimulirajući hormon
GIFT	unos gameta u jajovod (eng. gamete intrafallopian transfer)
GnRH	gonadotropin oslobađajući hormon (eng. gonadotropin releasing hormone)
HIV	virus humane imunodeficijencije (eng. human immunodeficiency viruse)
HSG	histerosalpingografija
HZZO	Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje
ICSI	intracitoplazmatska injekcija spermija (eng. intracytoplasmic sperm injection)
IMSI	metoda za morfološki probir spermija (eng. intracytoplasmic morphologically selected sperm injection)
IUI	intrauterina inseminacija
ITI	intratubarna inseminacija
IVF	izvantjelesna oplodnja (eng. in vitro fertilisation)
LH	luteinizirajući hormon
MESA	mikroskopska epididimalna aspiracija spermija
MPO	medicinski pomognuta oplodnja

OHSS	sindrom hiperstimulacije jajnika (eng. ovarian hyperstimulation syndrome)
PCOS	sindrom policističnih jajnika (eng. polycystic ovary syndrome)
PESA	perkutana epididimalna aspiracija spermija
PICSI	metoda probira zrelih spermija (eng. Physiological ICSI)
PID	zdjelična upalna bolest (eng. pelvic inflammatory disease)
PRL	prolaktin
SIS	sonohisterografija (eng. saline infusion sonohysterography)
SO	stimulacija ovulacije
TESA	testikularna aspiracija spermija (eng. testicular sperm aspiration)
TESE	testikularna ekstrakcija spermija – biopsija testisa (eng. testicular sperm extraction)
TET	unos embrija u jajovod (eng. tubal embryo transfer)
TSH	tiroidstimulirajući hormon
UZV	ultrazvuk
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija SZO (eng. World Health Organization)
ZIFT	unos zigote u jajovod (eng. zygote intrafallopian transfer)

Sadržaj:

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD	1
2. NEPLODNOST	2
2.1. Uzroci neplodnosti	3
2.2. Uzroci neplodnosti kod žena	3
2.3. Uzroci neplodnosti kod muškaraca	4
2.4. Dijagnostika neplodnosti	6
3. MEDICINSKI POMOGNUTA OPLODNJA	8
3.1. Povijest razvoja MPO.....	9
3.2. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji	10
3.3. Stimulacija ovulacije (SO)	11
3.4. Artificijelna inseminacija	13
3.4.1. Intrauterina inseminacija (IUI).....	13
3.4.2. Intratubarna inseminacija (ITI)	13
3.4.3. Heterologna inseminacija (AID)	14
3.5. Izvantjelesna oplodnja i embriotransfer (IVF/ET)	15
3.5.1. Razvoj zametka i embriotransfer (ET)	17
3.6. Intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI).....	18
3.7. GIFT, ZIFT, TET	21
3.8. Krioprezervacija	22
3.8.1. Krioprezervacija oocita	23
3.8.2. Krioprezervacija zametaka	24
3.8.3. Krioprezervacija spermija	25
3.9. Komplikacije MPO	26

4. ZAKLJUČAK.....	27
5. ZAHVALE	28
6. POPIS LITERATURE.....	29
7. ŽIVOTOPIS.....	32

SAŽETAK

Postupci medicinski pomognute oplodnje

Lea Valenčić

Medicinski pomognuta oplodnja (MPO) obuhvaća skup metoda za liječenje neplodnosti jednog ili oba partnera. To su kliničke i laboratorijske tehnologije kojima se postiže oplodnja i trudnoća kada svi ostali oblici liječenja postanu neučinkoviti. Neplodnost je postala velik javnozdravstveni i populacijski problem, a glavni uzroci neplodnosti su dob žene i muškarca, odgađanje roditeljstva te brojni čimbenici povezani s načinom života. Razumijevanje regulacije reproduktivnog sustava i napredne metode dijagnosticiranja i liječenja neplodnosti omogućile su brojnim parovima postizanje kliničke trudnoće i rađanje zdravog djeteta. Medicinski pomognuta oplodnja u Hrvatskoj je regulirana zakonom kojim su određeni uvjeti, prava, obveze i odgovornosti svih sudionika tih postupaka. Metode MPO koje se najčešće koriste su IUI - intrauterina inseminacija, ITI - intratubarna inseminacija, IVF - *in vitro* fertilizacija i ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija. Ostali postupci koji se rade su unos gameta, zigote ili embrija u jajovod (GIFT, ZIFT, TET) i krioprezervacija sjemena, jajnih stanica ili zametaka za buduću oplodnju. Metodama MPO liječi se 70 do 80% svih uzroka neplodnosti, a svakom postupku mora prethoditi individualizirani pristup i kvalitetna obrada kako bi se rizici i komplikacije sveli na najmanju moguću razinu.

Ključne riječi: MPO – medicinski pomognuta oplodnja, metode, neplodnost, IUI - intrauterina inseminacija, ITI - intratubarna inseminacija, IVF - *in vitro* fertilizacija, ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija, krioprezervacija

SUMMARY

Methods of medically assisted reproduction

Lea Valenčić

Assisted reproductive technology involves a set of methods to treat the infertility in one or both partners. These are clinical and laboratory technologies that achieve fertilization and pregnancy when all other forms of treatment become ineffective. Infertility has become a major population and public health problem. The main causes of infertility are the high age of female and male partner, delayed parenthood, and a number of lifestyle-related factors. Understanding the regulation of the reproductive system and advanced methods of diagnosing and treating infertility, enables many couples to achieve clinical pregnancies and give birth to a healthy child. In Croatia, medically assisted reproduction is regulated by law, which determines the conditions, rights, obligations and responsibilities of all participants in these procedures. The most commonly used methods of medically assisted reproduction are IUI - intrauterine insemination, ITI - intratubal insemination, IVF - in vitro fertilization and ICSI - intracytoplasmic sperm injection. Other procedures that are performed are the insertion of gametes, zygotes or embryos into the fallopian tube (GIFT, ZIFT, and TET) and cryopreservation of semen, eggs or embryos for future fertilization. ART treats 70 to 80% of all causes of infertility, and each procedure must be preceded by an individualized approach and quality treatment to minimize risks and complications.

Key words: ART – assisted reproductive technology, methods, infertility, IUI - intrauterine insemination, ITI - intratubal insemination, IVF - *in vitro* fertilization, ICSI - intracytoplasmic sperm injection, cryopreservation

1. UVOD

Pojam medicinski pomognute oplodnje (MPO) opisuje kliničke i laboratorijske tehnologije koje se koriste za postizanje trudnoće u neplodnih parova kada je etiološko liječenje nemoguće ili neučinkovito (1). Metodama MPO liječi se 70 do 80% svih uzroka neplodnosti. Oni mogu biti muški, ženski, zajednički i idiopatski. Obrada, odnosno traženje uzroka neplodnosti počinje nakon što par reproduktivne dobi ne uspije ostvariti trudnoću nakon 12 ili više mjeseci redovitih, nezaštićenih spolnih odnosa (2). Procjenjuje se kako je u svijetu 15-17% parova neplodno, što čini značajan udio u reproduktivskom zdravlju i predstavlja neplodnost kao važan javnozdravstveni problem. Neplodnost nije samo bolest pojedinca, već pogađa društvo u cjelini jer je potreba za produženjem vrste dio interesa svake populacije (3).

Metode MPO pomažu ne samo oplodnji jajne stanice, već i transportu spolnih stanica, implantaciji i razvoju trudnoće. Temelj uspjeha svih metoda je pravilno i kontrolirano sazrijevanje jednog ili više jajašaca i kvaliteta postupka u biološkom laboratoriju. Medicinski pomognute metode su: unos partnerova/donorova sjemena u maternicu - intrauterina inseminacija (IUI), unos partnerova/donorova sjemena u jajovod – intratubarna inseminacija (ITI), izvantjelesna oplodnja i prijenos zametka (IVF/ET), mikroinjekcija spermija u citoplazmu jajne stanice (ICSI), unos gameta u jajovod (GIFT), unos zigote ili embrija u jajovod (ZIFT, TET) i smrzavanje jajnih stanica, spermija i zametaka za buduću oplodnju - krioprezervacija. Sve metode mogu se raditi u prirodnom menstrualnom ciklusu ili u ciklusima sa stimuliranom ovulacijom (3). Raspon uspješnosti metoda MPO vrlo je širok, a postizanje kliničke trudnoće i porođaja zdravoga djeteta, temeljni su ciljevi takvoga liječenja (2).

2. NEPLODNOST

Svjetska zdravstvena organizacija - SZO (engl. *World Health Organisation - WHO*) definirala je neplodnost kao bolest reproduktivnog sustava u kojoj par reproduktivne dobi ne uspijeva ostvariti trudnoću nakon 12 ili više mjeseci redovitih, nezaštićenih spolnih odnosa. Nakon tog vremenskog razdoblja, preporuča se započeti s obradom neplodnog para. Procjenjuje se kako je u svijetu 15-17% parova neplodno, što čini značajan udio u reprodukcijском zdravlju i predstavlja neplodnost kao važan javnozdravstveni problem. Neplodnost nije samo bolest pojedinca, već pogađa društvo u cjelini jer je potreba za produženjem vrste dio interesa svake populacije (3). U Hrvatskoj oko 80 000 parova bilježi neplodnost ili umanjenu plodnost, a više od polovine ne traži pomoć liječnika. Godišnje se liječi 10 do 12 tisuća parova te pomoć traže prosječno nakon 2 do 3 godine neplodnosti (4).

Neplodnost može biti primarna i sekundarna. Primarna neplodnost ili sterilitet opisuje se kao stanje u kojem par u reprodukcijскоj dobi ne uspijeva ostvariti trudnoću uz nezaštićene odnose tijekom godinu dana, dok je sekundarni sterilitet nemogućnost postizanja ponovne trudnoće u para koji je već imao barem jednu trudnoću. Subfertilnost ili umanjena plodnost je stanje u kojem par može postići trudnoću bez medicinske pomoći, ali nakon dužeg vremenskog razdoblja nego što je to moguće kod normalno plodnog para. Nemogućnost rađanja živog i za život sposobnog djeteta, u hrvatskom jeziku označava se pojmom infertilitet (3).

Zbog složenosti mehanizama koji su uključeni u oplodnju i brojnih čimbenika koji utječu na mogućnost začeća, prosječna mogućnost zanošenja po ciklusu za normalno plodan par je tek 20% i to se naziva fekundabilnost. Otprilike 50% parova će ostvariti trudnoću u roku 3 mjeseca, 75% za 6 mjeseci, a 85% u roku jedne godine. Treba napomenuti da će otprilike polovica parova ostvariti trudnoću bez ikakvog liječenja u drugoj godini pokušavanja (1).

Da bi došlo do začeća i uspješne trudnoće, muškarac mora proizvoditi dovoljan broj morfološki normalnih spermija koji mogu oploditi jajnu stanicu, dok žena mora imati ovulaciju i normalnu anatomiju reproduktivnog trakta kako bi se zametak mogao implantirati u maternicu i nastaviti razvijati. Komplikacije u bilo kojem segmentu ovog procesa, rezultat će neplodnošću (1).

2.1. Uzroci neplodnosti

Potencijalni uzroci neplodnosti su različiti i uključuju endokrina, anatomska i genetska stanja, kao i određene obrasce ponašanja te način života (5). Neplodnost se može pripisati bilo kojoj abnormalnosti u ženskom ili muškom reproduktivnom sustavu te se incidencija pojedinih uzroka može razlikovati u populacijama. Općenito, uzroci neplodnosti dijele se na ženske, muške, zajedničke te idiopatske. Najčešći uzroci neplodnosti kod muškaraca su neodgovarajuća proizvodnja i/ili transport sjemena, dok su kod žena najčešći problemi ovulacijska disfunkcija te smetnje u transportu i implantaciji (1,3).

Tablica 1. Uzroci neplodnosti i njihova učestalost, prema Williams Gynecology. 3. izd (2016.), McGraw-Hill Education

Etiologija neplodnosti	Učestalost
Muška neplodnost	25%
Poremećaji ovulacije	27%
Tubarni/uterini poremećaji	22%
Ostalo	9%
Nepoznato	17%

2.2. Uzroci neplodnosti kod žena

Uzroci ženske neplodnosti uključuju poremećaje ovulacije (40%), bolesti jajovoda (30%), endometrioze (15%), nerazjašnjene uzroke (10%) te cervikalne i uterine abnormalnosti (5%) (6). Ugrubo, možemo ih podijeliti na uzroke vezane uz disfunkciju ovulacije gdje do ovulacije dolazi prerijetko ili ne dolazi uopće, postoji oštećenje jajnika te periferna ili centralna endokrinopatija, i na poremećaje oplodnje, transporta i implantacije zigote (3).

Kao i kod svakog drugog zdravstvenog stanja, temeljita anamneza i fizički pregled od presudne su važnosti. Osim opće anamneze, potrebna je i ginekološka anamneza koja obuhvaća pitanja u vezi s menstruacijom (menarha, učestalost, trajanje, nedavna promjena intervala ili trajanja, dismenoreja), prethodne trudnoće, pobačaji, prijevremene trudnoće i komplikacije u trudnoći, primjena kontracepcije i trajanje neplodnosti. Također je važna povijest ponavljajućih cista na jajnicima, dijagnoze sindroma policističnih jajnika (PCOS), endometrioze, lejomiona,

spolno prenosivih bolesti ili PID-a (1). Osim toga, bitnu ulogu ima debljina, životne navike i dob žene te svaki od prethodno navedenih čimbenika može utjecati na umanjenu plodnost.

Poznato je da reproduktivna sposobnost žena opada s godinama te je dob majke jedan od najvažnijih čimbenika koji utječu na mogućnost začeća. Prema preporukama, žene starije od 35 godina, trebalo bi obraditi nakon 6 mjeseci pokušavanja začeća, a žene starije od 40 godina podvrgavaju se neposrednoj obradi (7). Veliko prospektivno, kohortno istraživanje Collinsa i suradnika (8), pokazalo je da su dob majke, vrijeme neplodnosti i dijagnoza primarne ili sekundarne neplodnosti važni prognostički čimbenici koji omogućuju vjerojatnost spontanog začeća, kao i potrebu za daljnjom dijagnozom i liječenjem. Osim već navedene, bitne uloge dobi majke, dokazano je da je u skupini žena s manje od 3 godine nerazjašnjene subfertilnosti, trudnoća bila 1,49 puta vjerojatnija od onih s više od 3 godine iste. Pokazalo se da je vrijeme do ostvarivanja trudnoće vrlo važan parametar za određivanje ne samo šanse za trudnoću, već i ishoda trudnoće. Treći važan prognostički čimbenik je informacija je li neplodnost žene primarna ili sekundarna te je dokazano da su šanse za trudnoću 1,38 puta veće kod žena s dijagnozom sekundarne neplodnosti (8).

2.3. Uzroci neplodnosti kod muškaraca

Neodgovarajuća proizvodnja i/ili transport sjemena razlog je muške neplodnosti, a može se podijeliti na pregerminalne, germinalne i postgerminalne uzroke. Kod pregerminalnih uzroka poremećaj je u središnjem živčanom sustavu, a posljedica je smanjena razina gonadotropina te posljedično tome, smanjena razina testosterona. Germinalni uzroci temelje se na kromosomskim nepravilnostima, upali, autoimunim zbivanjima i varikokeli te za posljedicu imaju smanjeni broj i kakvoću sjemenih stanica. Postgerminalni uzroci temelje se na smetnji u transportu sjemena (erektilna ili ejakulacijska disfunkcija) te na poremećajima sjemene tekućine.

Bilo koje stanje koje rezultira oštećenjem kvalitete i/ili količine sperme može dovesti do neplodnosti muškaraca. Zatajivanje ili disfunkcija testisa, koji se nazivaju i primarnim hipogonadizmom, najčešći je prepoznatljiv uzrok. Manje su česti uzroci hipotalamičko-hipofizna disfunkcija, koja se naziva i sekundarnim hipogonadizmom te uvjeti koji utječu na

transport sperme. U gotovo polovice slučajeva etiologija ostaje nerazjašnjena (6). Muška neplodnost može uključivati abnormalnosti volumena sjemena kao što su aspermija i hipospermija ili broja spermija kao što su azospermija i oligospermija. Uz to, pokretljivost može biti ograničena, nazvana astenospermija ili struktura sperme može biti abnormalna, što se naziva teratozoospermija. Sukladno tome, terapiju treba planirati tek nakon temeljite evaluacije (1). Iako je loš prediktor ukupne plodnosti muškaraca, analiza sjemena temeljni je test za procjenu plodnosti (6). Svjetska zdravstvena organizacija istaknula je referentne vrijednosti za analizu sjemena (9).

Tablica 2. Uredne vrijednosti spermograma, vrijednosti su definirane prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 2010.)

Parametar	Vrijednost
Volumen (ml)	1,5 (1,4-1,7)
Ukupan broj spermija ($\times 10^6$)	39 (33-46)
Koncentracija ($\times 10^6/\text{ml}$)	15 (12-16)
Ukupna pokretljivost (%)	40 (38-42)
Progresivna pokretljivost (%)	32 (31-34)
Vitalnost (% živih)	58 (55-63)
Morfologija (% normalnih)	4 (3,0-4,0)

Postoji niz drugih faktora koji mogu utjecati na neplodnost, a tiču se oba partnera. To su anamneze spolno prenosivih bolesti, onkoloških bolesti, bolesti iz obiteljske anamneze, kroničnih bolesti, loših životnih navika, posebice pušenja i konzumiranja alkohola, upotreba lijekova itd. (10). Također, sve je više epigenetskih i okolišnih čimbenika, konzervansa i kemikalija u hrani i kozmetičkim proizvodima koji imaju štetno djelovanje i mogu umanjiti plodnost. Kako se učestalost debljine u svijetu i odgađanje rađanja nakon tridesete godine povećava, tako se mijenja i pojavnost pojedinih uzroka neplodnosti (4).

2.4. Dijagnostika neplodnosti

Obrada neplodnog para složen je proces koji uključuje utvrđivanje plodnosti oba partnera. Uz analitički, stručni i etičan pristup, potrebna je i psihološka podrška imajući na umu kako je riječ o zajedničkom problemu dvoje ljudi. Kompletnu obradu neplodnog para mora voditi tim stručnjaka u kojem su ginekolog, specijalist humane reprodukcije te urolog ili androlog. U obradi je potrebno početi od jednostavnijih i neagresivnih metoda, dok složenije treba ostaviti za kasnije. Detaljna anamneza o općem i ginekološkom zdravlju žene, prvi je korak u obradi. Nakon toga slijedi ginekološki pregled i uzimanje citološkog obriska, a zatim slijedi evaluacija plodnosti partnera analizom ejakulata (3). Ako su postavljene indikacije za medicinski pomognutu oplodnju (MPO), u oba je partnera potrebno napraviti sljedeće pretrage: test za hepatitis, HIV i sifilis, izmjeriti visinu, tjelesnu masu i izračunati indeks tjelesne mase (ITM), isključiti lokalne upale i protutijela na klamidiju te utvrditi ostale epigenetske rizike i štetne navike. Posebne medicinske pretrage koje je potrebno obaviti prije provedbe postupka MPO-a prikazane su u Tablici 3. (2).

Tablica 3. Posebne medicinske pretrage koje je potrebno obaviti prije provedbe postupka medicinski pomognute oplodnje (MPO), prema V. Šimunić, Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju, (pregledni članak, 2013.)

Žene	Muškarci
utvrditi normalnost spolnih organa – ginekološki pregled, UZV, SIS, sono HSG, rtg-pregled, HSG, histeroskopija, laparoskopija	spermiogram (eventualno 2 do 3 puta ponoviti)
istražiti menstrualni ciklus i ovulacije, te funkciju žutoga tijela	u slučaju infertilnog sjemena - DNK fragmentacija, urološka obrada, mikrolecija Y kromosoma i druge genske nenormalnosti, hormonska obrada
utvrditi folikularnu rezervu jajnika – FSH, LH, E2, AMH, AFC	
utvrditi funkciju štitnjače – preporuka je za razinu serumskog TSH $\leq 2,5$ mU/L5	

Preporučeni redoslijed liječenja neplodnosti metodama pomognute oplodnje je pasivni postupak (promjena životnih navika), ciljano liječenje i na kraju izvantjelesna oplodnja (IVF). Liječenje treba ranije usmjeriti na IVF ili ICSI kada je riječ o dugotrajnoj neplodnosti, u žene starije od 35. godina, u uznapredovaloj endometriozii i teškoj muškoj neplodnosti. Onkofertilni postupci primarno se usmjeruju na IVF i ICSI (4).

Redoslijed najčešćih oblika liječenja neplodnosti:

- liječenje upala spolnog sustava
- stimulacija i indukcija ovulacije
- kirurško liječenje - mikrokirurgija, laparoskopija, histeroskopija - (oštećenje jajovoda, priraslice, endometriozaa, adenomioze, miom, nenormalnosti maternice)
- inseminacija (IUI, ITI)
- IVF i ICSI

3. MEDICINSKI POMOGNUTA OPLODNJA

Pojam medicinski pomognute oplodnje (MPO) opisuje kliničke i laboratorijske tehnologije koje se koriste za postizanje trudnoće u neplodnih parova kada je etiološko liječenje nemoguće ili neučinkovito (1).

Najčešće primjenjivane metode pomognute oplodnje su (3):

- **IUI** (*intrauterine insemination*) ili **AIH** (*artificial insemination by husband*) – unos partnerova sjemena u maternicu
- **ITI** (*intrauterine insemination*) – unos partnerova sjemena u jajovod
- **AID** (*artificial insemination by donor*) – unos sjemena donora u maternicu ili jajovod
- **IVF/ET** (*in vitro fertilization and embryo transfer*) – izvantjelesna oplodnja i prijenos zametka
- **ICSI** (*intracytoplasmic sperm injection*) – izravna mikroinjekcija spermija u citoplazmu jajne stanice
- **GIFT** (*gamete intrafallopian transfer*) – unos gameta u jajovod
- **ZIFT** (*zygote intrafallopian transfer*), **TET** (*tubal embryo transfer*) – unos zigote ili embrija u jajovod
- **krioprezervacija** – smrzavanje-odmrzavanje jajnih stanica, spermija i zametaka

3.1. Povijest razvoja MPO

Razvoj tehnika za liječenje neplodnosti može se pratiti od razdoblja kada su liječnici počeli znanstveno razmišljati o razlozima neplodnosti. 1677. godine Antonie Philips van Leeuwenhoek prvi je put otkrio spermatozoide mikroskopom. Nazvao ih je životinjama i tvrdio da su važni u stvaranju zametaka. Nakon otkrića spermatozoida, u modernoj je medicini postignut napredak u razumijevanju reproduktivne fiziologije, procesa interakcije spolnih stanica te liječenju i rješavanju problema s neplodnošću (11).

Do prije 50 godina reproduksijska endokrinologija i liječenje neplodnosti bili su u svom početku te opravdano zanemareni zbog skromnih dijagnostičkih i terapijskih mogućnosti (4).

Krajem 1978. godine rođene su dvije zdrave bebe uporabom izvantjelesne oplodnje. U Velikoj Britaniji, Louise Brown bila je prva živa beba koja je proizašla iz *in vitro* fertilizacije (IVF) u prirodnom ciklusu. Nedugo nakon toga, u Indiji, Kanupriya Agarwal bila je druga beba nastala izvantjelesnom oplodnjom i prva na svijetu koja je proizašla iz hormonski induciranoog ciklusa i krioprezerviranog embrija (12).

Danas su izvantjelesna oplodnja (IVF) i druge metode pomognute oplodnje postali glavni način liječenja brojnih neplodnih parova. Metodom ICSI od 1992. godine liječe se dotada potpuno neplodni muškarci, a zamrzavanje zametaka od 1983. znatno pridonosi uspjehu MPO. U razvijenim zemljama djeca začeta metodama pomognute oplodnje čine 5% sve živorođene djece te je do danas IVF-om u svijetu začeto i rođeno preko 6 milijuna djece (4).

U Klinici za ženske bolesti i porode u Zagrebu prvo dijete začeto izvantjelesnom oplodnjom rođeno je 1983. godine te se time Hrvatska, kao 7. zemlja u svijetu, upisala u povijest reproduksijske medicine. Danas se MPO rutinski koriste u ostalim kliničkim i privatnim centrima u Hrvatskoj te se rabe napredne metode za istraživanje, dijagnozu i liječenje neplodnosti. Oko 70% uzroka neplodnosti liječi se IVF-om, a do danas je rođeno više od 40 tisuća djece upravo metodama pomognute oplodnje (4).

3.2. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji

Medicinski pomognuta oplodnja u Hrvatskoj regulirana je zakonom iz 2012. godine kojim su određeni uvjeti, prava, obveze i odgovornosti svih sudionika postupaka MPO. Pravo na medicinski pomognutu oplodnju na teret Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje (HZZO) ima žena do navršene 42. godine života. Postupkom kontrolirane hiperstimulacije može se oploditi najviše 12 jajnih stanica. Dopusćen je unos najviše 2 zametka, a ostali zameci i/ili jajne stanice zamrzavaju se. Liječenje neplodnosti postupcima MPO na teret Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje obuhvaća četiri pokušaja intrauterine inseminacije (IUI) i šest pokušaja izvantjelesne oplodnje (IVF), uz obvezu da dva pokušaja budu u prirodnome ciklusu. Vrste postupaka koje se koriste su intrauterina inseminacija (IUI), izvantjelesna oplodnja (IVF), intracitoplazmatska mikroinjekcija spermija (ICSI), zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka, prijenos spolnih stanica ili zametaka u maternicu i predimplantacijska genetska dijagnostika. Pohranjene spolne stanice, spolna tkiva i zameci čuvaju se u kliničkim bankama u pravilu do pet godina od dana pohranjivanja uz mogućnost produženja (13).

3.3. Stimulacija ovulacije (SO)

Stimulacija ovulacije je postupak kod kojeg se lijekovima potiče jajnik na višestruku folikulogenezu, tj. da u jednom ciklusu proizvede više jajnih stanica. Lijekovima se može kontrolirati vrijeme ovulacije te tako pripremiti pacijenticu za MPO. Istim lijekovima postiže se i indukcija ovulacije koja se odnosi na pacijentice s amenorejom i anovulacijskim ciklusom.

Postupci medicinski pomognute oplodnje mogu se provoditi u prirodnom ili stimuliranom menstruacijskom ciklusu. Prirodni ciklus bolji je izbor za mlade žene jer je jednostavniji i manje opasan. U induciranom ciklusu mijenja se fiziologija folikulogeneze, nastaje više zrelih jajnih stanica što omogućuje bolju izvedbu i veću uspješnost po jednom postupku (3).

Principi stimulacije ovulacije razlikuju se za IUI i IVF. Temeljni ciljevi su postići monofolikularnost, uz jedan kodominantni folikul, za IUI, odnosno višefolikularnost (6 do 12 oocita) za IVF/ICSI. Stimulacija mora biti indicirana, individualizirana i kontrolirana kako bi se rizici i komplikacije sveli na najmanju moguću razinu. Optimalna individualizacija SO-a postiže se odabirom protokola koji se temelje na anamnestičkim i dijagnostičkim podacima prikazanim u Tablici 4. Niska rezerva jajnika te slab odgovor na lijekove jedan je od najvećih problema SO-a pa tako i IVF-a, a dob >40 godina, još je jedan iznimno važan čimbenik za (ne)uspješnost MPO (2,10).

Tablica 4. Priprema i planiranje individualizirane stimulacije ovulacije (SO), prema V. Šimunić, Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju, (pregledni članak, 2013.)

- anamnestički podaci o ciklusu, prethodnom liječenju, dobi žene
- fizikalni pregled, ITM
- hormonska obrada: - FSH, LH, PRL, E2 (bazalne vrijednosti)
- T3, T4, TSH, antitireoidna protutijela
- androgeni, inzulin, IR
- utvrđivanje pričuve: - rezerve jajnika (UZV, hormoni)
- broj antralnih folikula veličine 2–10 mm – *antral follicular count* – AFC
- anti-Müllerov hormon – AMH (pmol/L)

Iako se u prirodnom ciklusu ne koristi niti jedna metoda stimulacije ovulacije, postoji tzv. modificirani prirodni ciklus u kojem postoji prirodna selekcija oocite, ali se za završno dozrijevanje koristi HCG, kao i antagonisti GnRH za prevenciju prijevremenog porasta LH. Za stimulirani ciklus koriste se protokoli koji mogu biti blagi i standardni (konvencionalni). Lijekovi koji se koriste za SO mogu biti peroralni preparati poput klomifen citrata ili inhibitora aromataze (letrozol) i parenteralni preparati – gonadotropini. Gonadotropini mogu biti urinarni visoko pročišćeni te rekombinantni gonadotropini. Klomifen citrat je selektivni modulator estrogenskih receptora (SERM) koji neizravno povećava sekreciju i aktivnost gonadotropina (FSH i LH) (4).

Peroralni lijekovi koriste se tijekom 5 do 7 dana, sami ili uz dodatak niže doze gonadotropina (FSH). Blaga stimulacija može se koristiti samo gonadotropinima u niskoj dozi. Standardni protokoli stimulacije koriste se višom ili maksimalnom dozom gonadotropina. Stimulirani protokoli mogu biti agonistički ili antagonistički, ovisno o tome primjenjuje li se agonist ili antagonist GnRH. Oba se daju u kombinaciji s gonadotropinima. Doza je individualna, ovisna o rezervi jajnika (AMH, FSH, AFC), ali i o drugim prethodno utvrđenim čimbenicima kao što su dob i BMI (2).

3.4. Artificijelna inseminacija

Inseminacija predstavlja proces obrade sjemena i njegovo unošenje u maternicu ili jajovod u spontanom ili induciranom ciklusu. Prema tehnici i zahvatu, inseminacija može biti intrauterina (IUI) ili intratubarna (ITI), a obje se metode mogu koristiti homolognim (AIH - artificial insemination husband) ili heterolognim sjemenom (AID - artificial insemination donor) (4).

3.4.1. Intrauterina inseminacija (IUI)

Temeljni princip ove metode jest povećati gustoću i kvalitetu sjemena u vrijeme ovulacije i izbjeći cervikalni faktor kao moguću zapreku oplodnji. Intrauterina inseminacija je jednostavno i neinvazivno liječenje, prihvatljivije i jeftinije od IVF-a te je prva metoda liječenja pomoću MPO. Indikacije za inseminaciju su idiopatska i imunološka neplodnost, cervikalni faktor neplodnosti, blaga endometrioza, blaga do srednja neplodnost muškarca i spolna disfunkcija muškarca. Kontraindikacije uključuju cervikalnu atreziju, cervicitis, endometritis te obostranu atreziju jajovoda.

Priprema sjemena radi se ispiranjem kako bi se odstranili nepokretni spermiji i štetni upalni čimbenici koji mogu utjecati na oplodnju. Time se poboljšava kvaliteta i oplodni potencijal spermija. Pripremljeni se uzorak pomoću tankog, fleksibilnog katetera unosi u šupljinu maternice za vrijeme predviđene ili stimulirane ovulacije. Nakon stimuliranog procesa, provodi se terapija progesteronom kao potpora žutom tijelu. Stimulirani IUI učinkovitiji je od IUI bez fertilnih lijekova, ali nosi rizik od višeploidne trudnoće. Uspješnost ove metode ovisi o dobi partnera i uzrocima neplodnosti (1,4,14).

3.4.2. Intratubarna inseminacija (ITI)

Intratubarna inseminacija je metoda kojom se, u vrijeme ovulacije, kateterom unosi pripravljeno sjeme u jajovode. Sjeme se unosi retrogradno transuterino, pod kontrolom ultrazvuka ili histeroskopa. Primjenjuje se nakon neuspjeha intrauterine inseminacije (IUI), a važan preduvjet je prodohan barem jedan jajovod. Indikacije i priprema sjemena iste su kao i kod IUI (3).

3.4.3. Heterologna inseminacija (AID)

Kod ovog postupka koristi se sjeme davaoca (donora) koje je prošlo potrebnu kontrolu i utvrđivanje osobina davaoca. Preduvjet su prohodni jajovodi (barem jedan), a inseminacija se može učiniti intrauterino ili intratubarno. Indikacije za heterolognu inseminaciju su potpuna azoospermija u partnera, epididimis i testis partnera bez produkata spermatogeneze i izbjegavanje nasljednih i imunoloških bolesti. Inseminacija se može učiniti u prirodnom ili induciranom ciklusu te sa svježim ili odmrznutim sjemenom. Za ovu metodu nužan je pismeni pristanak oba partnera, a sjemenom davaoca dopušteno je postići najviše 3 trudnoće. Sva ostala načela su etički i zakonski utemeljena prema Zakonu o medicinski pomognutoj oplodnji (3,13).

3.5. Izvantjelesna oplodnja i embriotransfer (IVF/ET)

Izvantjelesna oplodnja - IVF (eng. *in vitro* fertilization) temeljna je metoda medicinski pomognute oplodnje. To je postupak spajanja gameta izvan tijela, u embriološkom laboratoriju, i naknadno unašanje embrija u maternicu (embriotransfer). IVF

metoda podijeljena je u nekoliko etapa: priprema i obrada pacijenata, indukcija ovulacije, kontrola rasta više folikula, aspiracija zrelih jajnih stanica, priprema jajnih stanica i sjemena u laboratoriju, oplodnja i kontrola zametka, prijenos zametka (ET), kontrola funkcije i pripomoć žutom tijelu (3,4). Neki su koraci prethodno objašnjeni, a o nekima će biti više govora kasnije.

Postupak IVF-a može se izvesti pomoću vlastitih ili donorskih gameta te sa svježim ili krioprezerviranim jajnim stanicama i spermijima (15).

Posebne pretrage koje je potrebno učiniti prije početka IVF liječenja prikazane su u Tablici 3.

Indikacije za IVF su: oštećeni ili neprohodni jajovodi, poremećaj ovulacije, endometrioza, miomi maternice, prethodna sterilizacija ili uklanjanje jajovoda, priraslice, abnormalnost sjemena i oštećenje spermatogeneze, idiopatska neplodnost, onkološki proces i genetski poremećaji (15).

Ciklus IVF-a započinje stimulacijom jajnika. Rast folikula prati se transvaginalnim ultrazvukom, a promjene u ciklusu prate se razinom estrogena u krvi. U modificiranom prirodnom ciklusu daje se antagonist GnRH da bi se spriječilo oslobađanje LH, a kad vodeći folikul dosegne zrelu veličinu, medikamentozno se inducira ovulacija pomoću injekcije humanog korionskog gonadotropina (hCG). HCG se također daje u stimuliranom ciklusu nakon što se utvrdi zrelost folikula. Za 34 do 36 sati jajne se stanice aspiriraju iz jajnika pomoću transvaginalnog ultrazvuka i na njega pričvršćene igle kojom se prodire u svaki folikul. Tijekom aspiracije identificira se broj i kvaliteta jajnih stanica što su odlučujući čimbenici za uspjeh fertilizacije (3,16).

Priprema jajnih stanica u laboratoriju počinje izoliranjem iz folikularne tekućine dobivene aspiracijom folikula. Isprana jajna stanica s koje je djelomično uklonjen sloj granulosa stanica pohranjuje na hranjivi medij u inkubator, barem 1 sat prije oplodnje kako bi do kraja dozrijela (4). Uzorak sjemena priprema se pročišćavanjem i odvajanjem pokretnih i kvalitetnijih spermija, a detaljniji postupak opisan je u sljedećem poglavlju.

Nakon 1 do 4 sata jajne se stanice oplođuju pripremljenim spermijima. Oplodnja se može učiniti na 3 načina ovisno o obliku poremećaja količine i kvalitete spermija: inseminacijom u 1 mL hranjivog medija sa 150 000 do 200 000 spermija po oociti, inseminacijom u volumenu kapljice od 25 μ L sa 5 000 do 10 000 spermija po oociti – mikrodropsna tehnika i metodom ICSI, inseminacijom jednog spermija u oocitu (3).

18-20 sati nakon oplodnje, 2 pronukleusa i 2 polarna tjelešca u jajnoj stanici, znak su uspješne fertilizacije. Zameci se stavljaju na novi hranjivi medij gdje se počinju brazdati te se drugog, trećeg ili petog dana nakon aspiracije mogu prenijeti u maternicu ili zamrznuti (4).

3.5.1. Razvoj zametka i embriotransfer (ET)

U oplodenoj jajnoj stanici mogu se vidjeti dva pronukleusa (muški i ženski) što je dokaz uspjele fertilizacije. Jajne stanice s jednim ili više od 2 pronukleusa genetski su neodgovarajuće i ne prenose se u maternicu. Oplodene jajne stanice stavljaju se u poseban medij za rani razvoj zametka i polažu u inkubator gdje ostaju sljedeća dva do tri dana. 36 do 48 sati nakon oplodnje počinje brazdanje (dioba). Drugi dan nastaje 4-stanični, a treći dan 8-stanični embrij (3,4,17).

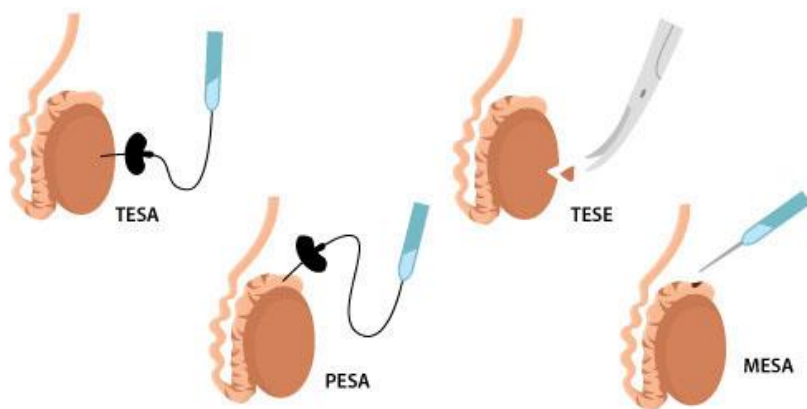
Pravilan odabir zametka s najvećim potencijalom implantacije izrazito je bitan za uspjeh IVF-a. Nekoliko je kriterija za odabir najboljeg zametka: orijentacija nukleola u pronukleusu, stupanj razvoja zametka, građa zametka i razvoj blastociste. Najbolji su zameci s pravilnim blastomerama, brzom dinamikom razvoja i bez fragmentacije u perivitelinom prostoru te kao takvi imaju najveći potencijal za uspješnu trudnoću (3,4,17).

Embriotransfer se obavlja drugog, trećeg ili petog dana nakon aspiracije oocita, odnosno oplodnje. To znači da embrij može biti u stadiju, 4 stanice, 8 stanica ili blastociste. Za uspješniji embriotransfer bitno je obaviti UZV pregled, izmjeriti debljinu sluznice maternice i utero-cervikalni kut. Oprema za ET sastoji se od kanile kroz koju prolazi silikonski ili teflonski kateter. Pod mikroskopom se u kateter aspiriraju zameci (najviše 2) tako da se između njih nalaze 2 mjehurića zraka. Sterilnost katetera od presudne je važnosti. Pod kontrolom ultrazvuka, zameci se istiskuju u materiče 2 cm ispod fundusa. Nakon embriotransfera obavezno je pregledati kateter pod mikroskopom. Za uspješnije rezultate, preporuča se koristiti mekani kateter, obaviti zahvat embriotransfera unutar 2 minute i polagano izvlačiti kateter uz minimalni negativni tlak. Optimalni volumen istisnutog medija mora biti 10-20 μL (<60 μL stvara rizik od ektopične trudnoće), a mirovanje nakon zahvata 30 minuta. Zbog insuficijencije žutog tijela u postupku IVF-a, nakon uspješnog embriotransfera koristi se hormonska pripomoć žutom tijelu – progesteron koji se može dati oralno, vaginalno ili intramuskularno (3,4,17).

3.6. Intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI)

ICSI je metoda izvantjelesne oplodnje u kojoj se jedan spermij izravno uvodi u citoplazmu jajne stanice. To je metoda kojom se liječi teža muška neplodnost i smatra se jednim od najvećih tehnoloških dostignuća u pomognutoj oplodnji. ICSI metoda je izbora u pacijenata s oligoastenoteratozoospermijom, u slučajevima azoospermije te kada se spermiji dobivaju urološkim mikrokirurškim postupcima – aspiracijom spermija izravno iz testisa ili epididimisa. Također, koristi se nakon neuspješne IVF oplodnje, za oplodnju jajnih stanica koje su prethodno bile smrznute te primarno kod onkofertilnih postupaka (4).

Mikrokirurške metode aspiracije spermija su: perkutana epididimalna aspiracija spermija (PESA), mikroskopska epididimalna aspiracija spermija (MESA), testikularna aspiracija spermija (TESA) i testikularna ekstrakcija spermija – biopsija testisa (TESE). Spermiji iz ejakulata ili mikrokirurških postupaka podliježu posebnoj obradi i odabiru najkvalitetnijeg spermija za ICSI (4).



Slika 1. Prikaz mikrokirurških metoda aspiracije spermija (18)

ICSI je mikrokirurški postupak oplodnje, stoga je za njegovo izvođenje potrebna visokotehnološka oprema. Nužan je invertni mikroskop s faznim kontrastom i sustavom mikromanipulatora koji omogućavaju mikroskopske pomake dviju staklenih mikropipeta: jedna za držanje jajne stanice i druga za injiciranje spermija unutar stanice. Spermij se mikropipetom injicira u središte jajne stanice i novonastali zametak čuva se u IVF laboratoriju 48 do 72 sata kada se unosi u maternicu (3).

Indikacije za ICSI postupak (4):

- <5 milijuna spermija/mL ejakulata
- <4% spermija normalne građe
- <2 milijuna pokretnih spermija u ejakulatu
- izostanak oplodnje u prethodnom IVF postupku

Odabir jajne stanice

Zrela jajna stanica obavijena je zonom pellucidom izvan koje se nalazi nekoliko redova granuloza stanica koje čine koronu radiatu te periferno stanice kumulusa ooforusa čiji je izvanstanični matriks sastavljen od hijaluronske kiseline. Stupanj zrelosti jajne stanice procjenjuje se na temelju morfologije kumulusa ooforusa i korone radiate. 95% zrelih jajnih stanica ima izbačeno prvo polarno tjelešće što znači da su i fiziološki zrele za oplodnju. Za neinvazivno određivanje kvalitete jajnih stanica koristi se polarizacijski mikroskop kojim je moguće izmjeriti gustoću strukture diobenog vretena i zone pellucide (3,4,19).

Odabir spermija

Da bi se izbjegla subjektivnost embriologa kod odabira „najboljeg spermija“ razvijena je nova, neinvazivna metoda za odabir spermija. Dokazana je povezanost između nezrelih spermija i kromosomskih disomija, stoga se odabiru samo zreli spermiji sa specifičnim receptorima za vezanje na hijaluronsku kiselinu na membrani jajne stanice. Postupak odabira zrelih spermija zove se PICS (Physiological ICSI) i koristi Petrijeve zdjelice u kojima je hijaluronan na koji se dodaju spermiji. Među vezanim, zrelim spermijima odabiru se morfološki najbolji s kojima se onda učini ICSI. Metoda za odabir morfološki najboljih spermija zove se

IMSI (intracytoplasmic morphologically selected sperm injection) kojom se ocjenjuju pojedini dijelovi spermija pomoću invertnog mikroskopa pri povećanju od 6000 puta. Primjene ovih metoda za selekciju spermija rezultiraju većim brojem uspješnih trudnoća i manjim brojem kromosomskih abnormalnosti (3,4,19).



Slika 2. Intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI) (20)

3.7. GIFT, ZIFT, TET

GIFT (gamete intrafallopian transfer), ZIFT (zygote intrafallopian transfer) i TET (tubal embryo transfer) modificirane su metode IVF-a kojima se u jajovode unose gamete ili zametak. Indikacije za ovakve metode su subfertilan suprug, endometrioza te idiopatska i imunološka neplodnost, a preduvjet je stimulacija ovulacije i barem jedan prohodni jajovod. Za razliku od IVF-a gdje se spermiji i zameci unose kateterom u maternicu, kod ovih metoda unose se laparoskopski u jajovode te se cijeli postupak radi u općoj anesteziji (3).

Kod GIFT metode, jajne stanice se aspiriraju i zajedno s pripremljenim sjemenom stavljaju u kateter, a zatim laparoskopski unose u jajovod gdje će se oplodnja dogoditi na prirodan način. Budući da se jajašca i spermiji unose u jajovode prije začeća, ne može se znati je li uistinu došlo do oplodnje. Kako bi se povećale šanse za oplodnju, unosi se veći broj jajnih stanica što sa sobom nosi rizik od višeplodne trudnoće. ZIFT metoda slična je GIFT metodi, samo što se nakon aspiracije jajnih stanica, oplodnja odvija u laboratoriju te se unutar 24 sata zametak unosi u jajovod. To omogućuje potvrđivanje oplodnje i unos samo jednog zametka. TET metoda vrlo je slična ZIFT metodi, a jedina razlika je što se oplođena jajna stanica unosi u jajovod 48 sati nakon oplodnje u stadiju s 2 ili 4 blastomere (21,22).

3.8. Krioprezervacija

Krioprezervacija je postupak smrzavanja sjemena, jajnih stanica ili zametaka kako bi se očuvali i pohranili za moguću upotrebu u budućnosti. Također, krioprezervacija se može učiniti kod ljudi s dijagnosticiranim karcinomom kako bi se očuvala plodnost prije liječenja. Razvojem različitih tehnika krioprezervacije, povećale su se stope uspjeha MPO širom svijeta, a sve je više napredovala krioprezervacija oocita koja je do nedavno imala vrlo slabe rezultate u kasnijem postupku izvantjelesne oplodnje (23). Iako postoje teorijski rizici, zamrzavanje spermija, jajnih stanica i zametaka vrlo je sigurno. Nema dokumentiranih slučajeva prijenosa zaraznih bolesti, niti se čini da su rizici od urođenih oštećenja, kromosomskih anomalija ili komplikacija u trudnoći povećani u usporedbi s korištenjem svježih spermija, jajnih stanica ili zametaka (24). Iako je krioprezervacija izvorno bila rezervirana za žene s medicinskim indikacijama i bez drugih mogućnosti za ostvarivanje trudnoće, sve se češće danas koristi iz „socijalnih razloga“ za odgodu roditeljstva (25).

Smrzavanje gameta i zametaka može se učiniti na dva načina, metodom vitrifikacije, naglo u tekućem dušiku ili kontroliranim sporim zamrzavanjem pomoću bioloških zamrzivača, nakon čega se pohranjuju u posudama s tekućim dušikom na -196 C. Bitna razlika je u tome što se metodom vitrifikacije izbjegavaju dehidracija i stvaranje kristalića leda unutar stanica koji nastaju sporim zamrzavanjem te koji mogu oštetiti dijelove stanice. Također, vitrifikacijom se postiže bolje preživljavanje te veći stupanj implantacija i trudnoća zbog čega se upravo ta metoda pokazala kao uspješnija i poželjnija (4).

3.8.1. Krioprezervacija oocita

Krioprezervacija oocita najčešće se radi kod mladih žena koje će se podvrgnuti operacijama ili pak postupcima koji mogu utjecati na njihovu buduću plodnost, poput kemoterapije. Međutim, koristi se i za parove koji ne žele zamrznuti embrije zbog zabrinutosti oko njihovog preživljavanja tijekom smrzavanja i odmrzavanja ili dileme što učiniti s preostalim embrijima nakon što ostvare obitelj (24).

Iako krioprezervacija oocita u početku nije imala dobre rezultate te se dugo koristila samo kao eksperimentalna metoda, nedavna istraživanja pokazuju bolje konačne ishode. Stope IVF trudnoća postignute metodom vitrifikacije oocita slične su onima postignutim sa svježim oocitama (23,26).

Prema metaanalizi iz 2016.godine koja uspoređuje dvije vrste krioprezervacije u MPO, vitrifikacija se pokazala kao najbolja strategija za krioprezervaciju svih razvojnih stadija od zrelih oocita pa do zametaka u fazi blastociste. Kako ova tehnika značajno povećava stope kriopreživljavanja oocita i embrija u usporedbi s polaganim zamrzavanjem, dovela je do poboljšanja kliničkih ishoda te je postala održiva opcija za pacijente koji žele očuvati plodnost (27).

Doniranje oocita jedna je od posljednjih opcija u IVF liječenju za neplodne parove. Kod doniranja svježih oocita postoje poteškoće u sinkronizaciji ciklusa te sam proces može dugo potrajati. Izvješća o doniranju oocita pomoću sporog zamrzavanja su rijetka i premda su rezultati ohrabrujući, ishodi još nisu usporedivi s liječenjem svježim oocitama. Vitrifikacija, s druge strane, pruža visoke stope preživljavanja (90%) donorskih oocita i usporedivu oplodnju, razvoj embrija, implantaciju i trudnoću sa svježim doniranim oocitama. Osim izvrsnih rezultata, jednostavnost korištenja za davaoce i primaoce, veća učinkovitost i niži troškovi te izbjegavanje problema sinkronizacije, prednosti su ove metode (28).

3.8.2. Krioprezervacija zametaka

Glavni razlozi za kriopohranu zametaka su očuvanje plodnosti i smanjenje višeplođnih trudnoća nakon izvantjelesne oplodnje. Dodatni zametci nakon IVF-a mogu se zamrznuti i pohraniti za buduće pokušaje prijenosa u maternicu, koji su tada jednostavniji, jeftiniji i manje invazivni od početnog IVF ciklusa, zato što nije potrebna ponovna stimulacija jajnika ili vađenje jajnih stanica. Jednom zamrznuti, embriji se čuvaju u skladu sa zakonskim odredbama, a zabilježeno je i živorođenje pomoću embrija zamrznutih gotovo 20 godina. Međutim, ne prežive svi embriji proces smrzavanja i odmrzavanja, a stopa nataliteta je nešto niža s prijenosom kriopohranjenih embrija, nego sa svježim. Smrzavanje se može učiniti metodom sporog smrzavanja ili vitrifikacijom. Vitrifikacija se smatra poželjnijom metodom jer ne uzrokuje dehidraciju stanice i oštećenje kristaliciima leda (24).

Prema Zakonu o medicinski pomognutoj oplodnji, preostali zametci nakon IVF-a, čuvaju se na teret HZZO-a do pet godina. Nakon isteka roka od pet godina zametci se uz pristanak mogu darovati ili bračni par može produžiti čuvanje zametaka daljnjih pet godina, uz plaćanje troškova čuvanja (13).

Iako se zamrzavanje zametaka provodi uspješno, mnoga etička i pravna pitanja još uvijek nisu riješena – npr. razvod bračnog para, smrt jednog partnera, neželjeni višak zamrznutih zametaka (4).

3.8.3. Krioprezervacija spermija

Krioprezervacija spermija važan je segment liječenja MPO-om. Neki od razloga za zamrzavanje spermija su: darivanje sjemena za IUI (AID, IVF, ICSI), očuvanje osobne plodnosti zbog - dobi, liječenja zloćudnih bolesti, ozljeda kralježnice, promjenjive plodnosti, disfunkcijskih problema, rizičnosti na radnom mjestu, anatomske i idiopatske muške neplodnosti itd (4).

Onkološke bolesti česta su indikacija za krioprezervaciju spermija i očuvanje plodnosti. Karcinom testisa i Hodgkinova bolest najčešće su zloćudne bolesti u muškaraca kod kojih se koriste ove metode. Kemoterapija i radijacijsko liječenje oštećuju germinativne stanice i smanjuju broj, motilitet, morfologiju i DNA integritet spermija te mogu izazvati azoospermiju koja može biti nepovratna (29). Utvrđeno je da 15% - 30% muškaraca ostaje sterilno nekoliko mjeseci pa čak i godina nakon izlječenja karcinoma (30). Mnogi pacijenti s trajnom azoospermijom nakon liječenja, koji prethodno nisu zamrznuli sjeme, mogu se uspješno liječiti ICSI-om i testikularnom ekstrakcijom spermija (TESE) – biopsijom testisa. Međutim, trebaju biti svjesni potencijalnih genetskih rizika i niskih stopa trudnoće. Zbog toga se smrzavanje spermija preporuča svim mlađim onkološkim pacijentima prije početka liječenja (29). Potrebno je pohraniti barem 4-5 ejakulata te odmah utvrditi plodnost uzorka.

3.9. Komplikacije MPO

Glavni cilj MPO je rođenje zdravog, donošenog djeteta, bez rizika za majku. Iako su sve preporuke usmjerene na otklanjanje komplikacija, oko 20% trudnoća završi neizbježnim spontanim pobačajem. Najčešća, potencijalno opasna po život komplikacija je sindrom hiperstimulacije jajnika (OHSS). OHSS je karakteriziran uvećanjem jajnika, povećanom propusnosti krvnih žila, gastrointestinalnim i respiratornim smetnjama, a uključuje i zatajenje bubrega, oliguriju, hemokoncentraciju i tromboemboliju. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) procjenjuje da je učestalost ozbiljnog OHSS-a 0,2 do 1% kod svih stimuliranih ciklusa (31). Ostale komplikacije MPO su višeploidne trudnoće, ektopična trudnoća, spontani pobačaj, prijevremeni porođaj i niska porođajna težina (1,15).

4. ZAKLJUČAK

Instinkt roditeljstva jedna je od najmoćnijih želja koja postoji u svim živim bićima te nemogućnost ostvarivanja obitelji može negativno utjecati na fizičko, psihičko i socijalno zdravlje para. Neplodnost se oduvijek smatrala društvenom stigmom, ali je napredak tehnologije i postupaka medicinski pomognute oplodnje omogućio brojnim parovima ostvarivanje roditeljske uloge i rješavanje problema neplodnosti koji su se nekada smatrali nemogućim. Najčešće primjenjivane metode pomognute oplodnje su intrauterina inseminacija (IUI), *in vitro* fertilizacija (IVF) i intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI) kojima se liječi većina uzroka neplodnosti. Uspješnost trudnoća postignutih MPO sve više raste, a nove tehnologije dijagnosticiranja i liječenja neplodnih parova, kao i razumijevanje molekularne kontrole razmnožavanja, impresivne su. Svako liječenje neplodnosti mora biti u potpunosti individualizirano i započeto nakon temeljite i kvalitetne obrade, a za svaku metodu pomognute oplodnje trebaju postojati točne indikacije. Usprkos brojnim etičkim pitanjima vezanim uz MPO, razvoj novih tehnologija na tom polju unaprijedio je kvalitetu života i zdravstvenu skrb brojnim neplodnim parovima.

5. ZAHVALE

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Doroteji Pavan Jukić na savjetima i pomoći pri izradi ovog rada.

Najveće hvala mojoj obitelji, dečku i prijateljima na bezuvjetnoj ljubavi, podršci i razumijevanju tijekom cijelog školovanja.

6. POPIS LITERATURE

1. Hoffman BL. . Williams. Gynecology. 3.izd. New York: McGraw-Hill Education; 2016.
2. Šimunić V. Pregledni članak. Sv. 19, Medix : specijalizirani medicinski dvomjesečnik. C.T. - Poslovne informacije; 2013.
3. Šimunić V i suradnici. Ginekologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001.
4. Šimunić V i suradnici. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost, Medicinski pomognuta oplodnja IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012.
5. McLaren JF. Infertility Evaluation. Sv. 39, Obstetrics and Gynecology Clinics of North America. Obstet Gynecol Clin North Am; 2012. str. 453–63.
6. Jose-Miller AB, Boyden JW, Frey KA. Infertility. Sv. 75, American Family Physician. 2007.
7. McLaren JF. Infertility Evaluation. Sv. 39, Obstetrics and Gynecology Clinics of North America. 2012. str. 453–63.
8. Collins JA, Burrows EA, Willan AR. The prognosis for live birth among untreated infertile couples. Fertil Steril. 1995;64(1):22–8.
9. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen FIFTH EDITION. 2010.
10. De Sutter P. Rational diagnosis and treatment in infertility. Sv. 20, Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology. Baillière Tindall; 2006. str. 647–64.
11. Sharma RS, Saxena R, Singh R. Infertility & assisted reproduction: A historical & modern scientific perspective. Sv. 148, Indian Journal of Medical Research. Wolters Kluwer Medknow Publications; 2018. str. 10–4.
12. Ferber S, Marks NJ, Mackie V. IVF and Assisted Reproduction: Global Visions, Local Stories. U: IVF and Assisted Reproduction. Springer Singapore; 2020. str. 1–26.
13. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji - Zakon.hr [Internet]. [citirano 26. travanj 2021.]. Dostupno na: <https://www.zakon.hr/z/248/Zakon-o-medicinski-pomognutoj-oplodnji>

14. Aboulghar M, Baird DT, Collins J, Evers JLH, Fauser BCJM, Lambalk CB, i ostali. Intrauterine insemination. *Hum Reprod Update*. 2009;15(3):265–77.
15. In vitro fertilization (IVF) - Mayo Clinic [Internet]. [citirano 15. lipanj 2021.]. Dostupno na: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/in-vitro-fertilization/about/pac-20384716>
16. Choe J, Archer JS, Shanks AL. In Vitro Fertilization. *StatPearls*. StatPearls Publishing; 2021.
17. Maćaš E. *MEDICINSKI POMOĞNUTA OPLODNJA U ĆOVJEKA*. Zagreb: Hinus; 2004. 133 str.
18. MESA / TESE and PESA / TESA | Sunfert International Fertility Centre [Internet]. [citirano 15. lipanj 2021.]. Dostupno na: <https://www.sunfert.com/mesa-tese-and-pesa-tesa/>
19. PICSI | Europe IVF [Internet]. [citirano 14. lipanj 2021.]. Dostupno na: <https://europeivf.com/hr/method/picsi/>
20. ICSI, IVF Procedure | Vermont Fertility Clinic [Internet]. [citirano 15. lipanj 2021.]. Dostupno na: <https://www.nrmvt.com/fertility-services/in-vitro-fertilization/intra-cytoplasmic-sperm-injection-icsi/>
21. GIFT and ZIFT Treatments for Infertility [Internet]. [citirano 10. lipanj 2021.]. Dostupno na: <https://www.webmd.com/infertility-and-reproduction/gift-and-zift>
22. Gamete and Zygote Intrafallopian Transfer (GIFT and ZIFT) for Infertility | Michigan Medicine [Internet]. [citirano 10. lipanj 2021.]. Dostupno na: <https://www.uofmhealth.org/health-library/hw202763>
23. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: Where are we now? *Hum Reprod Update*. 2016;22(4):440–9.
24. Assisted Reproductive Technology A Guide for Patients PATIENT INFORMATION SERIES AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. 2015.
25. Baldwin K, Culley L, Hudson N, Mitchell H, Lavery S. Oocyte cryopreservation for social reasons: Demographic profile and disposal intentions of UK users. *Reprod Biomed Online*. 2015;31(2):239–45.

26. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2006;86(1):70–80.
27. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, Labarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, i ostali. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in art: Systematic review and meta-Analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 2017;23(2):139–55.
28. Cobo A, Remohí J, Chang CC, Nagy ZP. Oocyte cryopreservation for donor egg banking. *U: Reproductive BioMedicine Online*. Elsevier; 2011. str. 341–6.
29. Meseguer M, Garrido N, Remohí J, Pellicer A, Simón C, Martínez-Jabaloyas JM, i ostali. Testicular sperm extraction (TESE) and ICSI in patients with permanent azoospermia after chemotherapy*. *Hum Reprod*. 2003;18(6):1281–5.
30. Schrader M, Müller M, Straub B, Miller K. The impact of chemotherapy on male fertility: A survey of the biologic basis and clinical aspects. Sv. 15, *Reproductive Toxicology*. *Reprod Toxicol*; 2001. str. 611–7.
31. Binder H, Dittrich R, Einhaust F, Krieg J, Müller A, Strausst R, i ostali. Update on ovarian hyperstimulation syndrome: Part 1 - Incidence and pathogenesis. Sv. 52, *International Journal of Fertility and Women's Medicine*. *Int J Fertil Womens Med*; 2007. str. 11–26.

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 17. listopada 1995. godine u Varaždinu. Osnovnu i srednju školu, kao i osnovnu glazbenu školu, završila sam u Ivancu te sam 2014. godine upisala studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Volonterskim radom bavila sam se od srednje škole u organizaciji Gradskog društva Crvenog križa Ivanec, a nastavila sam i na fakultetu u Krijesnici – udruzi za pomoć djeci i obiteljima suočenim s malignim bolestima. Od 2018. godine aktivna sam članica udruge StEPP (Studentska Ekipe Prve Pomoći) s kojom sam imala priliku provoditi edukacije iz područja hitne medicine za studente medicine i stomatologije kao i sudjelovati u provedbi javnozdravstvene nacionalne kampanje „Oživi me“, u suradnji sa Zakladom Hrvatska kuća srca. 2019. godine s kolegama sam provodila edukativni neuroznanstveni projekt „Radionice s Neurićima“ u sklopu kojeg smo održavali brojne radionice u osnovnim i srednjim školama, na fakultetima Sveučilišta u Zagrebu kao i na brojnim javnozdravstvenim i nacionalnim manifestacijama. Tijekom 2020. i 2021. godine volontirala sam na različitim jedinicama s ciljem doprinosa sprječavanju i suzbijanju pandemije COVID-19.