

Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju

Velimir Šimunić

Klinika za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb i Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

SAŽETAK Medicinski pomognuta oplodnja (MPO) obuhvaća metode intrauterine inseminacije (IUI), izvantjelesne oplodnje (*in vitro* fertilizacija – IVF) i intracitoplazmatske injekcije spermija (ICSI). Njima se liječi 70 do 80% uzroka neplodnosti, ali one se primjenjuju tek kad svi ostali oblici liječenja ostanu bez uspjeha. MPO–metode mogu biti homologne i heterologne. Vrlo je široki raspon uspješnosti MPO–a, a postizanje kliničke trudnoće i porođaja zdravoga djeteta, bez rizika za majku i dijete, temeljni su ciljevi takvoga liječenja. Glavni čimbenici neuspjeha jesu dob žene i muškarca te niz mogućih epigenetskih štetnih učinaka na plodnost. Uspjeh IUI–ja temelji se na monofolikulogenezi, a uspjeh IVF/ICSI–ja na oplodnji više jajnih stanica. Višekratno je utvrđeno da je optimalan preduvjet uspjeha u IVF–u imati u jednom postupku na raspolaganju šest do 10 oocita. Zato je danas važno individualizirati stimulaciju ovulacije fertilitetnim lijekovima, primjenjivati blaže protokole i izbjegavati hiperstimulaciju jajnika. Neurorizičnost u djece začete IVF–om, povezanu s prijevremenim porođajem višeplođnih trudnoća, može se izbjeći selekcijom kvalitetnih zametaka (blastocista, PGS) i prijenosom u maternicu jednoga zametka ili najviše dva. Dostupnost IVF–a i visokokvalitetan IVF–program mogu ostvariti znatan doprinos natalitetu od 4 do 6%.

KLJUČNE RIJEČI ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija; IVF – *in vitro* fertilizacija; medicinski pomognuta oplodnja; neplodnost; stimulacija ovulacije

Medicinski pomognuta oplodnja (MPO) obuhvaća metode koje liječe dokazanu neplodnost jednoga ili obaju partnera. Njima se liječi 70 do 80% svih uzroka neplodnosti, ali primjenjuju se tek onda kad su sve ostale metode liječenja ostale neuspješne. Obrada, odnosno traženje uzroka neplodnosti, počinje nakon što u jednoj godini zajedničkog života para nije došlo do trudnoće. Obrada i liječenje mogu započeti i ranije, ukoliko to diktiraju podatci iz anamneze ili se radi o graničnoj dobi žene za rađanje (blizu 38 godina).

Medicinska obrada, priprema te liječenje neplodnoga para, obavljaju se prema svim stručnim i znanstvenim spoznajama te preporukama relevantnih stručnih udruga.^{1–3} Obrada uključuje istodobno utvrđivanje plodnosti obaju partnera. Obveza je da te aktivnosti vode kompetentni stručnjaci, a to su: ginekolog specijalist (s najmanje 5 godina iskustva), ginekolog uža specijalist humane reprodukcije te urolog ili endokrinolog s iskustvom iz andrologije (odnosno muške neplodnosti). Kirurško liječenje neplodnosti obavlja se isključivo u tercijarnim zdravstvenim ustanovama. Iznimka su „mali“ endoskopski zahvati (npr. ambulantna „office“ histeroskopija i dijagnostička laparoskopija).^{3,4}

Nakon medicinske obrade, a prema indikacijama, obvezno se odabire **što jednostavnija metoda liječenja**, dokazane uspješnosti, a najmanjeg rizika za pacijenticu

i djecu. Ranije i brže usmjerivanje na složene metode liječenja dopustivo je u žena starijih od 36 godina i u onkofertilitetnim postupcima.

Nakon detaljne anamneze u oba je partnera obvezno prije MPO–a obaviti sljedeće pretrage:

- testovi za hepatitis i HIV,
- utvrditi visinu, tjelesnu masu, indeks tjelesne mase (ITM),
- utvrditi ostale epigenetske rizike i štetne navike,
- isključiti lokalne upale, protutijela na klamidiju.

Posebne medicinske pretrage koje je potrebno obaviti prije provedbe postupka MPO–a prikazane su u tablici 1.

Metode medicinski pomognute oplodnje su homologne i heterologne, tj. mogu se uporabiti gamete neplodnoga para ili je jedna od gameta darovana (donirana).

ARTEFICIJALNA INSEMINACIJA

Homologna inseminacija (engl. *Artificial Insemination by Husband – AIH*) može biti intrauterina inseminacija (IUI) ili intratubarna inseminacija (ITI). Indikacije su iste:

- slab cervikalni čimbenik, stanje nakon operacija cerviksa,

- subfertilan spermogram,
- nepovoljan postkoitalni test (engl. *Post-Coital Test* – PCT)*
- imunosni uzrok neplodnosti,
- nerazjašnjena (idiopatska) neplodnost,
- endometrioza (I. i II. stupanj),
- spolna disfunkcija muškarca.

* neke svjetske udruge isključuju PCT kao mjerodavan pokazatelj

U indiciranim okolnostima indukcija ovulacije za pacijenticu sa SZO I/II anovulacijama – može se dovršiti AIH-om. Preduvjet za arteficialnu inseminaciju su dokazano prohodni jajovodi.^{1,2,6}

Postupak uključuje:

- predviđanje ovulacije – klinički, UZV-om, hormonski,
- standardne metode pripreme sjemeni u embriološkom laboratoriju uz koncentraciju pokretnih spermija, prihranjivanje,
- inseminacija pripravljenog sjemeni transcervikalno u maternicu (IUI) ili početni dio jajovoda (ITI),
- inseminacija se izvodi taktilnom tehnikom, uz pomoć UZV-a ili perfuzijom sjemeni u tubu.

Arteficialna inseminacija se treba obaviti ovisno o indikacijama u:

- 2 prirodna ciklusa,
- 2 ciklusa sa stimulacijom ovulacije (blaži protokoli)*

Nakon četiri AIH-postupka koji su zadovoljavajuće obavljani, a nije došlo do trudnoće, liječenje se nastavlja IVF-om. Ako se stimulacijom ovulacije ne postigne monofolikulogeneza ili bifolikulogeneza i naslućuje se rizik višeploidnosti, postupak se iz AIH-a konvergira u IVF ili se odustaje od postupka.

Kod nerazjašnjene neplodnosti savjetuje se odmah započeti s inseminacijama u stimuliranom ciklusu. Očekivani uspjeh AIH-a po ciklusu, u žena mlađih od 38 godina jest 10–15%, a kumulativno u šest ciklusa 50–55%. Sve su metaanalize utvrdile prednost IUI-ja nad tempiranim odnosom. Stimulirani ciklus daje bolji uspjeh od prirodnog.

Intratubarna inseminacija (ITI). Čini se da intratubarna inseminacija ostvaruje za 2 do 5% bolji rezultat. Dvostruki, ponavljani AIH u jednom ciklusu ne donosi poboljšanje uspjeha.

Rizici AIH-a su:

- odustajanje,
- višeploidne trudnoće,
- hiperstimulacija jajnika (engl. *Ovarian Hyperstimulation Syndrome* – OHSS),
- alergijska reakcija na inseminirano sjeme,
- upala zdjeličnih organa.

Heterologna inseminacija (engl. *Artificial Insemination by Donor* – AID) Darovanim sjemenom liječi

* principi stimulacije ovulacije opisani su u posebnoj poglavlju

TABLICA 1. Posebne medicinske pretrage koje je potrebno obaviti prije provedbe postupka medicinski pomognute oplodnje (MPO)

Žene	Muškarci
utvrditi normalnost spolnih organa – ginekološki pregled, UZV, IS, sono HSG, rtg-pregled, HSG, histeroskopija, laparoskopija	spermogram (eventualno 2 do 3 puta ponoviti)
istražiti menstruacijski ciklus i ovulacije, te funkciju žutoga tijela	u slučaju infertilnog sjemeni • DNK fragmentacija • urološka obradba • mikrodelecija y kromosoma i druge genske nenormalnosti • hormonska obradba
utvrditi folikularnu rezervu jajnika – FSH, E ₂ , AMH, AFC	
utvrditi funkciju štitnjače – preporuka je za razinu serumskoga TSH ≤2,5 mU/L ⁵	

se potpuna neplodnost partnera, azoospermija (sekrecijska). Indikacija za heterolognu inseminaciju (AID) može biti i ponavljani izostanak oplodnje u IVF/ICSI-postupcima zbog oštećene spermatogeneze. Za AID se primjenjuje zamrznuto sjeme darovatelja, za koje je obavezan podroban probir (propisan Zakon i podzakonski akti).²⁷

Uspjeh liječenja AID-om u jednom kontroliranom ciklusu, kreće se između 15 i 25%. Stimulacija ovulacije povisuje uspješnost. Tek kad u četirima ciklusima liječenja AID-om ne dođe do trudnoće, opravdan odabir je izvantjelesna oplodnja doniranim sjemenom – IVF/AID.

Principi AID-a u pripremi bolesnica i tehničari zahvata jednaki su AIH-u.

STIMULACIJA OVULACIJE ZA MPO

Različiti su principi stimulacije ovulacije (SO) za IUI i IVF. Temeljni su ciljevi postići:

- AIH/AID – monofolikularnost (uz ev. 1 kodominantni folikul),
- IVF/ICSI – višefolikularnost (6 do 12 oocita) uz minimalne rizike (nije dokazano da više od 10 oocita nosi bolji uspjeh).

Stimulacija ovulacije treba biti:

- indicirana,
- individualizirana,
- kontrolirana.

Kako bi se ispunili navedeni kriteriji i izbjegla rizičnost primjene fertilitetnih lijekova, obveza je da stimulaciju ovulacije provode uži specijalisti humane reprodukcije. Prosječne dnevne ili ukupne doze fertilitetnih lijekova preporuka su Hrvatskoga društva za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (HDGEHR) HLZ-a, temeljene na znanstvenim dokazima. Danas su najpouzdanija dva biobiljega folikularne pričuve jajnika, antiMüllerova hormona (AMH) i broj

antralnih folikula u oba jajnika (engl. *Antral Follicular Count* – AFC). Ti su biljezi u odličnoj međusobnoj, kao korelaciji i s dobi žene. Nisu pouzdan i izravni pretkazatelj uspjeha IVF-a (slika 1).^{1,8,9} Postupci pripreme i planiranja individualiziranoga SO-a te očekivani odgovor jajnika na SO, na temelju prethodnih nalaza, a izražen očekivanim brojem folikula – oocita, prikazani su u tablicama 2 i 3.¹

Navedeni nalazi, biljezi pričuve jajnika, upućuju samo na kvantitativan odgovor, ali ne koreliraju s kvalitetom i euploidijom oocita. Zato nemaju izravnu prediktivnu vrijednost konačnog uspjeha.^{10,11}

Osim biljega rezerve, za odabir protokola SO-a i doze fertilitetnih lijekova, nužno je voditi računa o dobi žene, prethodnim postupcima i ITM-u.

Jedan od najvećih problema SO-a pa tako i IVF-a, jest niska rezerva i slab odgovor jajnika. Učestalost od 10 do 50% ovisna je o dobi. Kriteriji i čimbenici rizika

za slab odgovor jajnika (engl. *Poor Ovarian Response* – POR) prikazani su na slici 2.

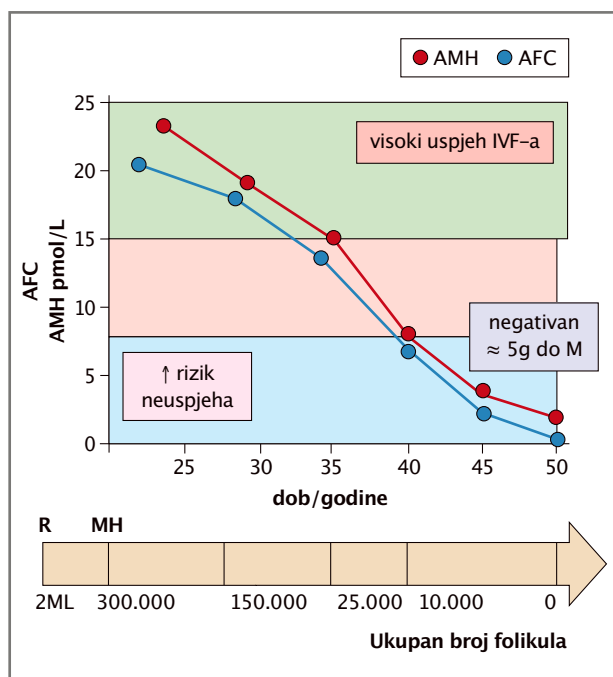
Biljezi pričuve jajnika vrlo su pouzdana pomoć za odabir protokola i doze lijekova za stimulaciju ovulacije (slika 3).

Prediktivna vrijednost biljega pričuve za slab odgovor jajnika i predikciju trudnoća prikazana je na slici 4. Uspjeh IVF-a iskazuje se CPR-om (engl. *Clinical Pregnancy Rate*) i OPR-om (engl. *Ongoing Pregnancy Rate*).

Lijekovi za stimulaciju ovulacije:

- **klofifen-citrat** tablete *per os* (SERM – selektivni modulator estrogenskih receptora)
 - doza i trajanje: 50–150 mg/dan – od 2. ili 3. dana tijekom 5–10 dana,
 - napomena: u 20–30% bolesnica oskudna cervikalna sluz (CS) i tanji endometrij, ne preporučuje se primjena više od 10 ciklusa.
- **letrozol** tablete (rjeđe anastrozol) *per os* (inhibitori aromataze)¹²
 - doza i trajanje: 2,5–5 mg/dan – isto kao klofifen
 - napomena: nema tu indicaciju u svim zemljama, ne povisuje znatno estradiol u krvi, optimalan za onkofertilitetne postupke.
- **tamoksifen** se primjenjuje rijetko (kao zamjena za klomid ili letrozol). Također SERM.

SLIKA 1. Funkcija jajnika: pad pričuve starenjem



TABLICA 2. Priprema i planiranje individualizirane stimulacije ovulacije (SO)

- anamnestički podatci o ciklusu, prethodnom liječenju, dobi žene
- fizikalni pregled, ITM
- hormonska obrada – prema indicacijama, selektivno i racionalno
 - 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
 - antiMüllerov hormon – AMH (nalaze prikazujemo u pmol/L)

TABLICA 3. Očekivani odgovor jajnika na SO na temelju prethodnih nalaza, a izražen očekivanim brojem folikula – oocita¹

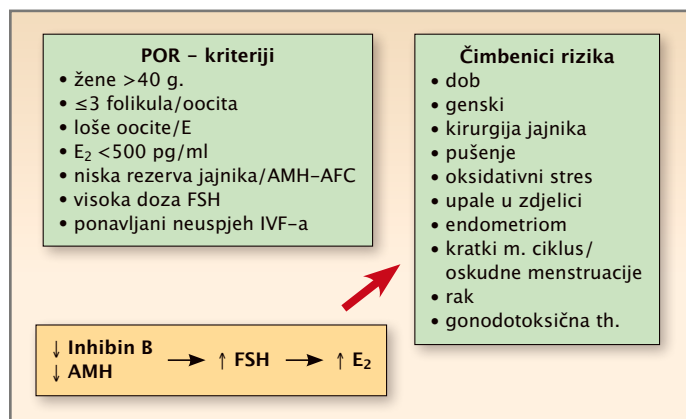
Skupina bolesnica	FSH IU/L	Nalazi AMH-a pmol/L	Nalazi AFC-a 2–10 mm	Očekivani odgovor jajnika na SO
1	3–9	8–20	10–20	normalan 8–12 oocita
2	10–13	4–7	5–8	slab – <i>poor response</i> /PR <4 oocite
3	≥14	<4,0	<4	vrlo slab – izostaje 1 ili 0 oocita
4 PCOS	2–5 (LH >10)	>25	≥20	prenaglašen – <i>high response</i> /HR ≥20 oocita
Biomarkeri pričuve				

FSH = pokazatelj većih folikula; AMH = pokazatelj pričuve malih folikula

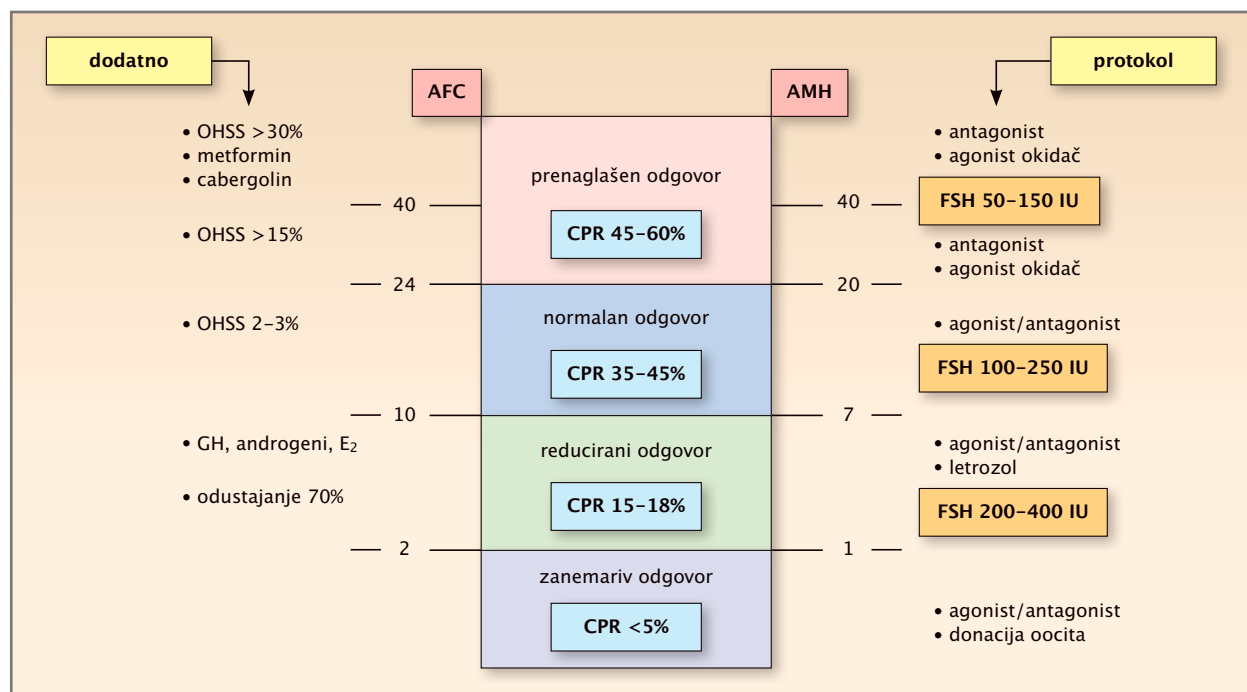
Primjenjuju se sami, uz ovulacijski okidač, u kombinaciji s gonadotropinima.

- **gonadotropni hormoni** – rekombinantni ili pročišćeni urinski,
 - folitropin- α – FSH (Gonal F),
 - folitropin- β – FSH (Puregon),
 - folitropin pročišćeni – HP FSH (Menopur) – ili HP HMG,
 - lutropin- α – LH (Luveris),
 - folitropin- α i lutropin- α – FSG/LH (Pergoveris),
 - korifolitropin- α -depo FSH (Elonva),
 - humani korionski gonadotropin- α – HCG (Ovitrelle),
 - korionski gonadotropin (U) – HCG (Brevactid, Choragon, Pregnyl).

SLIKA 2. Stimulacija ovulacije: slab odgovor jajnika (engl. *poor ovarian response* – POR)

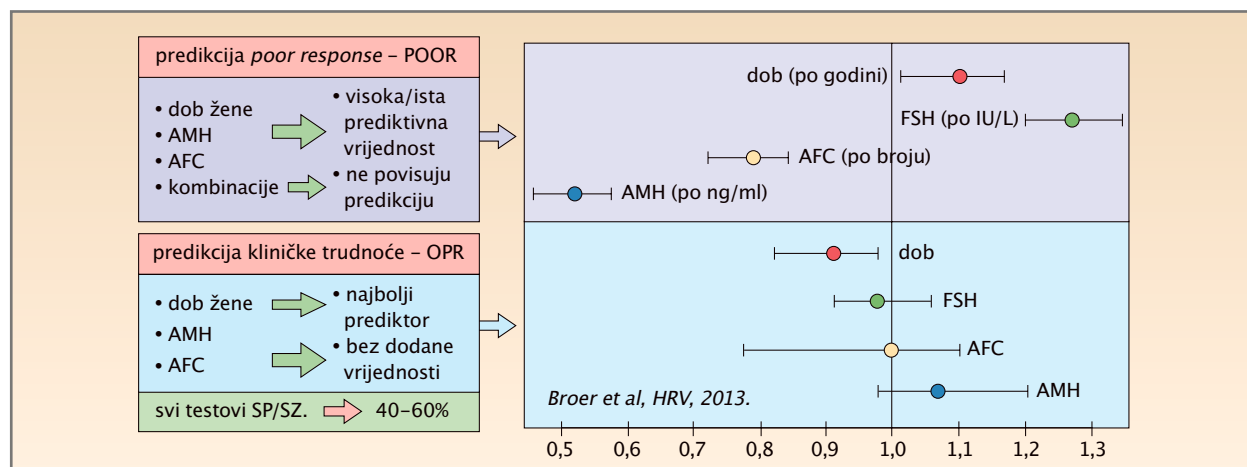


SLIKA 3. Stimulacija ovulacije: protokoli prema biljezima rezerve jajnika – modificirano prema: Nelson SM. *Biomarkers of ovarian response current and future applications*, *Fertil. Steril.* 99/4: 1–16, 2013⁹



OHSS – ovarijska hiperstimulacija; FSH – dnevna doza gonadotropina; GH – hormon rasta (engl. *growth hormone*); CPR – *clinical pregnancy rate*

SLIKA 4. Testovi rezerve jajnika: prediktivna vrijednost¹⁰. IMPORT Study Group: 28 istraživanja / 5705 žena IVF postupci



POR – *poor ovarian response*; OPR – *ongoing pregnancy rate*; SP – specifičnost; SZ – senzibilnost

TABLICA 4. Protokoli stimulacije ovulacije i preporuka za ukupnu dozu gonadotropina (+/- 150 i.j.)

Naziv	Protokol/mogući lijekovi	Cilj broj folikula/oocita	MPO –postupak	Ukupna prosječna doza GN-a	Uspjeh TR-a
prirodni ciklus	bez lijekova	1	• AIH/AID • IVF	-	12–17%
modificirani prirodni ciklus	• HCG • FSH niska doza • antagonisti	1–2	• AIH/AID • IVF	350 i.j.	15–22%
blagi protokol	• klomid • letrozol • FSH niska doza • antagonisti • HCG	2–7	• AIH/AID • IVF	600 i.j.	20–35%
standardni protokol	• FSH viša doza • agonisti/ antagonisti • dodatna terapija? • HCG	7–12	• IVF	1900 i.j.	30–45%

TR – trudnoće (kliničke); GN – gonadotropini (FSH) –prosječno žene <38 godina

Stimulacija folikulogeneze

Početak primjene: između 2. i 7. dana ciklusa.

Trajanje primjene: 6 do 12 dana najčešće, ponekad i dulje, a ovisno o odgovoru jajnika.

Doza: 25–400 i.j. na dan (ponekad uzlazno ili silazno doziranje – *step up/step down*), uobičajeno 100–225 i.j. na dan.

U uporabi su ampule gonadotropina s 50/75 i.j. ili sustavi s dozerom od 300, 600 ili 900 i.j. (pen).

Do danas nije utvrđena statistički značajna prednost pojedinoga pripravka u pogledu učinkovitosti, uspjeha ili rizika.^{1,2,13} Protokoli stimulacije ovulacije i preporuke za ukupnu dozu gonadotropina prikazani su u tablici 4.

Lijekovi za supresiju endogenoga luteinizirajućeg hormona (LH)

Agonisti GnRH-a:

- triptorelin (Decapeptyl amp. 0,1 mg),
- buserelin (Suprefact nazalni sprej),
- leuprolid (Lupron amp. 0,1 mg).

Antagonisti GnRH-a:

- cetoreliks (Cetrotide 0,25 mg/depo 3 mg),
- ganireliks (Orgalutran 0,25 mg).

Postoje dokazi da produljeno davanje klomifen-citrata (klomid) koči LH prije ovulacije. Navedeni lijekovi primjenjuju se svakodnevno ili kao depo-pripravci.

Dodatni, adjuvantni lijekovi:

- metformin,
- dehidroepiandrosteron (DHEA),
- hormon rasta,
- heparin,
- aspirin,

- kortikosteroidi.

O koristi adjuvantnih lijekova u MPO-u ne postoje čvrsti znanstveni dokazi niti jedinstveno mišljenje. Preporuka je da ih treba primjenjivati uz indikaciju i oprez.

Lijekovi za konačno dozrijevanje oocita – ovulacijski okidač:

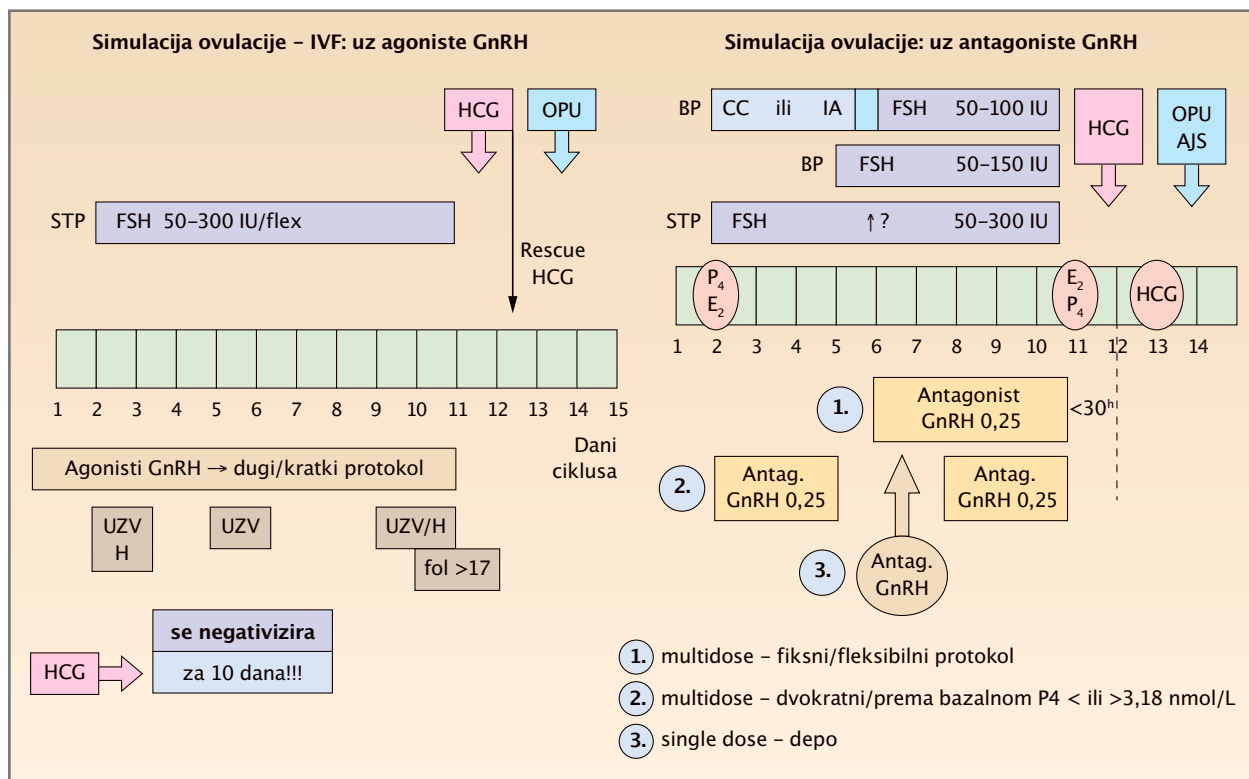
- humani korionski gonadotropin – HCG (5000–10.000 i.j.),
- agonisti GnRH-a – npr. Decapeptyl 0,2 mg/*subcut.* (postoje izvještaji da je dovoljno i 0,1 mg)
 - isti učinak ima Leuprolid 1 mg/*subcut.*
 - samo u ciklusima s **antagonistima** GnRH-a.
 - nužan je dodatak HCG-a 1500 i.j. (za 1–2 dana), tj. na dan aspiracije oocita
- rekombinantni LH.

Lijekovi za pomoć žutom tijelu:^{1,2,14}

- progesteron *per os*
 - mikronizirani (Utrogestan 3 × 200 mg/dan),
 - didrogesteron (Duphaston 2–3 × 10 mg/dan).
- progesteron vaginalno
 - 8% gel (Crinone) – 1 puta na dan,
 - mikronizirani (Utrogestan 3 × 200 mg/dan).
- progesteron *im.* (50 mg/dan),
- humani korionski gonadotropin (HCG) – *im./subcut.*
 - 3–5 puta tijekom faze žutoga tijela (po 1500 i.j.).

Ne postoje dokazi o prednosti bilo kojeg od navedenih pripravaka, a mogu se i kombinirati. Uz HCG je povišen rizik OHSS-a. Ti se lijekovi započinju davati danom ovulacije (aspiracije oocita) i daju 5–10 tjedana. U posebnim indikacijama navedenim se lijekovima dodaje i višednevno estradiol (2–6 mg/dan). Kad je odabir hormonske pomoći žutom tijelu HCG, tada određivanje

SLIKA 5. Principi stimulacije ovulacije uz primjenu agonista ili antagonista GnRH-a



BP – blagi protokol; STP – standardni protokol; HCG – humani korionski gonadotropin; OPU – ovum pick up; AJS – aspiracija jajnih stanica

HCG-a u vrijeme očekivane trudnoće nije vjerodostojno. Tada zbog produljena djelovanja primijenjenog HCG-a rani testovi trudnoće mogu biti lažno pozitivni. Taj hormon ostaje u cirkulaciji i do 10 dana.

Perikonceptijski dodatci dokazane učinkovitosti:

- folna kiselina – vitamin B9 (0,5–1,5 mg/dan)
- željezo (Fe) – posebno uz dokazanu anemiju
- jod i vitamin D – uz očekivani manjak
- pravilna prehrana s dovoljno proteina (npr. mediteranska).

Temeljni znanstveno dokazani principi SO-a:

- nije dokazana prednost paralelnih pripravaka
 - klomid i letrozol,
 - različiti pripravci FSH-a,
 - različiti pripravci HCG-a,
 - agonista GnRH-a nad antagonistima, fleksibilnih nad fiksnim protokolima,
 - različitih pripravaka za pomoć CL-u.
- visoka doza gonadotropina i veliki broj oocita ne postiže bolji uspjeh IVF-a
 - optimalno je 7–10 oocita,
 - tada je euploidnost oocita visoka,
 - optimalna dnevna doza za mlađe žene normalnog odgovora – 100–250 i.j.
 - dnevna doza ≥ 400 i.j. nije opravdana ni u *poor respondera*,
 - ukupna doza ≥ 2500 i.j. vrlo je rijetko opravdana,
 - uz 3 ili manje oocita uspjeh IVF-a je vrlo nizak.

- agonisti GnRH-a i antagonisti GnRH-a** u svim protokolima postižu bolje rezultate nego SO samim FSH-om (bez analoga)
 - viša je uspješnost – CPR-a (*Clinical Pregnancy Rate*),
 - manje odustajanja,
 - uz antagoniste je manje odustajanja nego uz agoniste.
- niži rizik OHSS-a postiže se**
 - propisanom pripremom bolesnica za SO,
 - nižom dozom FSH-a,
 - step up*/ili *step down* protokolima,
 - koterapijom metforminom,
 - koterapijom antagonistima,
 - bez HCG-a u SO-u i fazi žutoga tijela,
 - coasting* 1–3 dana (nikako ne dulje od 5 dana).

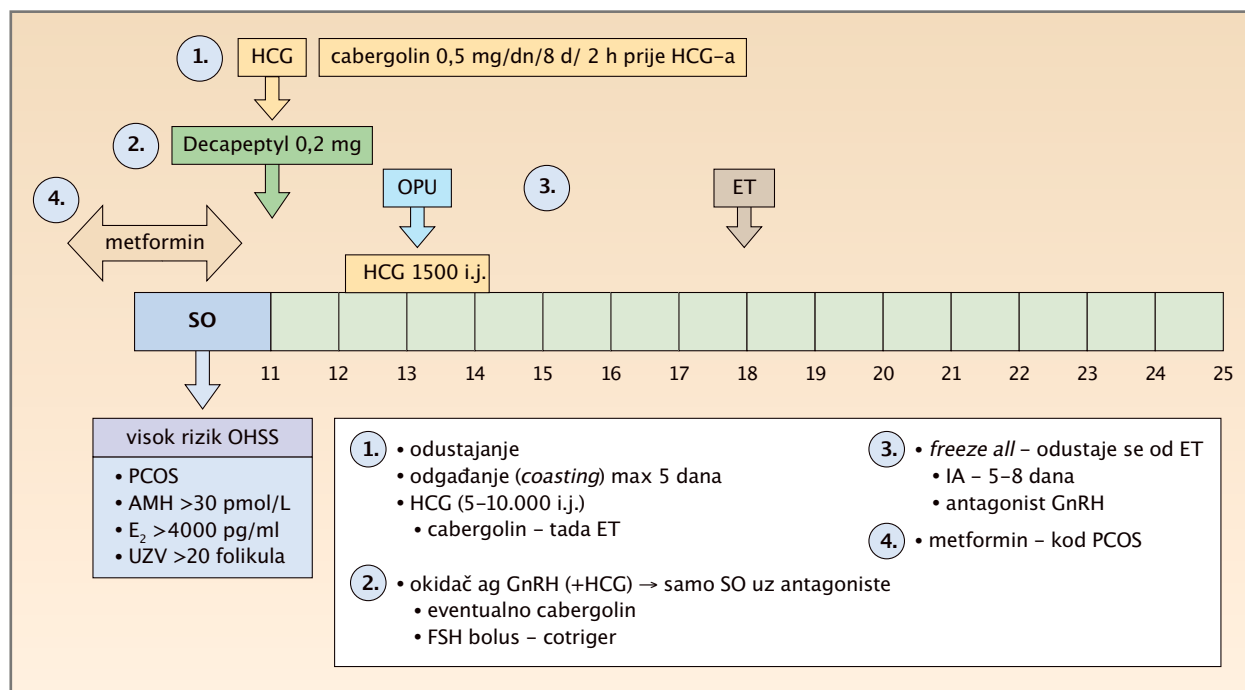
Ti su principi posebno učinkoviti u bolesnica s policističnim jajnicima (engl. *Polycystic Ovary Syndrome* – PCOS), odnosno hiperrespondera.^{15–18}

Za sprječavanje endogenog porasta LH i prijevremene luteinizacije, uz fertilitetne lijekove koriste se agonisti GnRH (dugi ili kratki protokol) ili antagonisti GnRH (slika 5).

PROTOKOLI ZA STIMULACIJU OVULACIJE (SO) ZA MPO/IVF

Fertilitetni lijekovi za SO počinju se davati 2. ili 3. dan menstruacijskoga ciklusa (početak „FSH-prozora“). Doza se odabire prema već navedenim kriterijima.

SLIKA 6. Protokoli pri visokom riziku za OHSS



IA – inhibitori aromataze; ET – embrio transfer; OHK – oralna hormonska kontracepcija; AF – antralni folikuli; fol – folikul; E2V – estradiol-valerat)

Svi protokoli SO-a zahtijevaju propisanu kontrolu ciklusa, koja može ili mora sadržavati:

- **bazalno određivanje hormona** – E2, P4
- **serijsko mjerenje folikula** UZV-om, koje određuje
 - broj folikula koji zriju,
 - prosječan promjer,
 - volumen – sono-AVC ili izračun,
 - prokrvljenost,
 - debljina, volumen i obilježja endometrija.
- **serijsko ili preovulacijsko određivanje E2, P4, LH**
 - E2 po 1 zrelom folikulu 150–200 pg/mL,
 - E2 ≥4000 pg/mL – rizik za OHSS,
 - P4 povišen (>3,2 nmol/L) – nepovoljan znak luteinizacije.
- **veličina folikula** (uz povoljnu razinu hormona) indicira:
 - 13–15 mm, počinje se s antagonistima GnRH-a,
 - 17–18 mm (2–3 folikula) – daje se ovulacijski okidač nakon kojega je za ≈ 36 h ovulacija.

Postoje četiri mogućnosti značajnog smanjenja rizika za sindrom hiperstimulacije jajnika (engl. *Ovarian Hyperstimulation Syndrome* – OHSS). Pasivni principi su odustajanje od daljeg postupka ili odgađanje primjene HCG-a (uz prestanak stimulacije) do zadovoljavajućeg pada razine estradiola. Odgoda HCG-a ne treba biti dulja od tri dana. Rizik OHSS-a moguće je značajno smanjiti ukoliko se kao okidači maturacije koriste agonisti GnRH-a (samo u ciklusima u kojima su prethodno korišteni antagonisti GnRH-a). Rizik se može smanjiti i primjenom cabergolina, metformina (bolesnice s PCOS-om) ili odustajanjem od ET-a (*freeze all* – zamrzavanje svih embrija / oocyte metodom) (slika 6).

Predpostupak za SO. Primjenjuje se radi programiranja ciklusa, izbjegavanja rada vikendom ili poboljšanja rezultata (slika 7). Predpostupak inhibira endogeni FSH i sinkronizira antralne folikule. Odabir provjerene učinkovitosti može biti:

- daju se u ciklusu prije SO-a za IVF-ciklus
- oralna hormonska kontracepcija – 1 do 2 ciklusa
- estradiol – 4 mg na dan/6–10 dana
- progestageni – 6–10 dana.

Preporuka HDGEHR-a za optimalnu početnu dozu gonadotropina (FSH) u SO-u prikazane su u tablici 5.

Najčešći preporučljivi protokoli za SO pri MPO-u

Preporuke HDGEHR-a jesu:

- prirodni ciklus
 - AIH/AID za 50% pacijentica,
 - IVF/ICSI za 10–15% pacijentica.
- blagi protokoli
 - AIH/AID za 40% pacijentica,
 - IVF/ICSI za 20% pacijentica.
- standardni protokoli
 - AIH/AID za 10% pacijentica,
 - IVF/ICSI za 65–70% pacijentica.

Obilježja protokola za SO

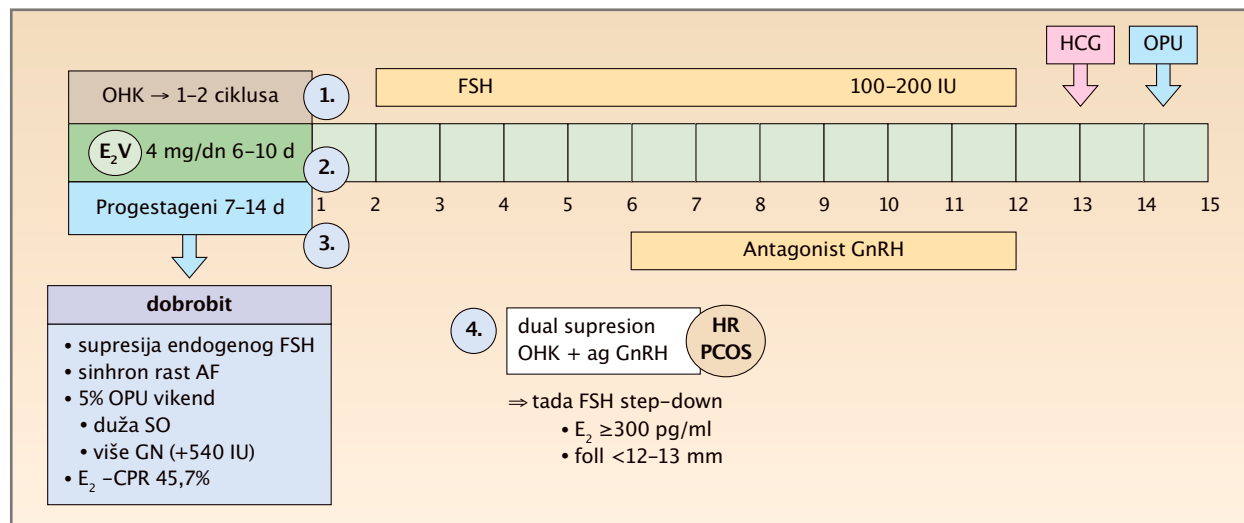
1. Blagi protokoli

- a) klomifen-citrat 50–100 mg/dan – 5–10 dana,
- b) letrozol 2,5–5,0 mg/dan – 5–10 dana.

Moguće kombinacije uz:

- FSH niske doze – 3–4 dana,
 - antagoniste GnRH-a fleksibilno – 3–4 dana,
 - HCG – okidač ovulacije.
- c) FSH niske doze (50–150 i.j. na dan) od 5./6. dana ciklusa tijekom 4–5 dana – uz antagoniste i HCG.

SLIKA 7. Stimulacija ovulacija: predpostupak – programiranje ciklusa



TABLICA 5. Početna doza gonadotropina u stimulaciji ovulacije

Kriterij	Doza FSH-a na dan	Dodatak	Alternativa
dob <30 god. 30-35 god. >35 god.	100 i.j. 150 i.j. 250 i.j.	agonist/antagonist agonist/antagonist agonist/antagonist	prirodni ciklus klomid letrozol CI + GN
rezerva jajnika AMH 10-20 NR AFC 10-15 NR	100-250 i.j.	agonist ili antagonist	svi protokoli
AMH >25 HR AFC >20 (PCOS)	50-125 i.j.	antagonist	step up
AMH 5-9 PR AFC 5-8 E2maks <500 pg/mL	225-300 i.j.	agonist ili bolje antagonist	prirodni ciklus blagi protokoli
AMH <5 VPR AFC <4 FSH >15	225-400 i.j.	antagonist	blagi protokol odustajanje donacija oocita

NR – normal response, HR – high response,
PR – poor response, VPR – very poor response, GN – gonadotropini

Valja napomenuti:

- AMH >30 pmol/L – rizik za OHSS 30-40%
- AMH ≤7 pmol/L – 70% rizik za PR ili VPR, odnosno odustajanje
- HR – odnosno PCOS
- pacijentice u IVF-u u našoj zemlji zastupljene s 30%
- AMH ima dosta širok raspon normale, i kod vrlo niskoga zabilježen su trudnoće. AMH <7 pmol/L i AFC 3-7 – upućuju na vrlo slabu prognozu.⁸⁻¹⁰

2. Standardni protokoli

a) protokoli s agonistima GnRH-a

- dugi protokol – 7 do 14 dana prije IVF-ciklusa,
- kratki protokol – od 1. dana IVF-ciklusa,
- ultrakratki protokol – 2-5 dana u folikularnoj fazi IVF-ciklusa,
- agonisti GnRH-a primjenjuju se do zrelosti folikula (okidača ovulacije).

b) protokoli s antagonistima GnRH-a^{13,19}

- fiksni – od 6./7. dana folikularne faze svakodnevno do zrelosti folikula,
- fleksibilni – od veličine folikula 14 mm u promjeru svakodnevno do zrelosti folikula,
- depo – 6. dana folikularne faze jednokratno 3 mg
- dvokratni – u početku folikularne faze zbog povišenoga progesterona (>3,2 nmol/L) 3 do 4 dana. Ponovno od veličine folikula ≥14 mm.

Razmak između posljednje primjene antagonista i HCG-a treba biti kraći od 30 sati.

c) protokol s korifolitropinom-α (depo-FSH)

- antagonisti fleksibilno.

d) protokoli uz rizik teže hiperstimulacije jajnika (OHSS)^{17,18}

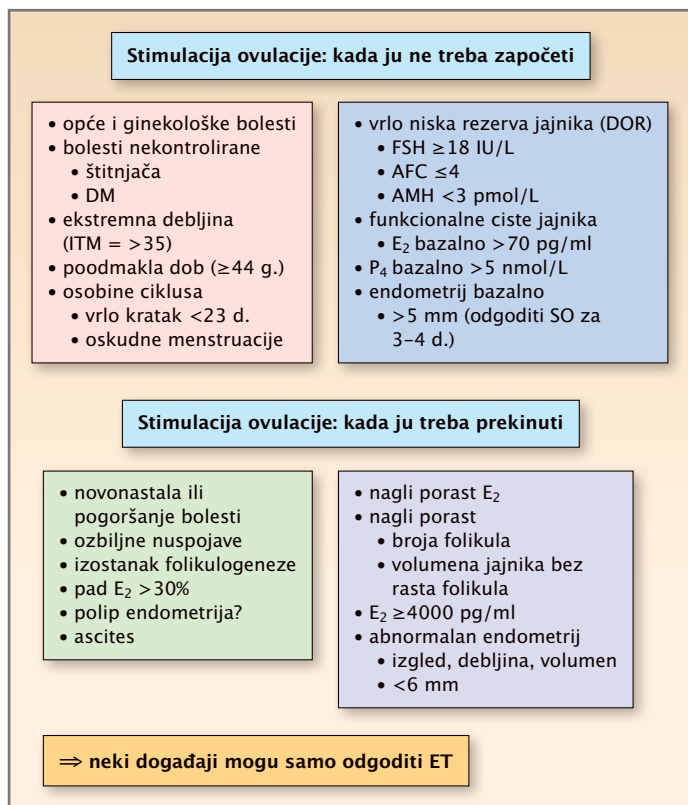
Rizik se predviđa i utvrđuje kliničkim znakovima policističnih jajnika (engl. *Polycystic Ovary Syndrome* – PCOS) i uz:

- visok AMH (>30 pmol/L),
- visok AFC (>20),
- prethodne IVF-cikluse s OHSS-om,
- folikule u jajnicima veće od 12 mm >20,
- E2 u folikularnoj fazi ≥4000 pg/mL.

Protokoli, lijekovi i postupci koji su dokazano učinkoviti:

- antagonisti GnRH-a, metformin,
- prekid postupka – odustajanje,
- prekid SO-a – odgađanje – *coasting* na 1-5 dana (do pada E2),
- unilateralna punkcija folikula (dan prije ovulacije),
- izbjegavanje – zamjena HCG-a kao okidača ovulacije,
 - agonist GnRH-a (samo kod protokola s antagonistima),

SLIKA 8. Preporuke za odustajanje od stimulirane ovulacije

TABLICA 6. Najčešće indikacije za in vitro fertilizaciju (IVF) i intracitoplazmatsku injekciju spermija u jajne stanice (engl. *intracytoplasmic sperm injection* – ICSI)

Najčešće indikacije	
IVF	ICSI
tubarna neplodnost	teža muška neplodnost
• 2 godine nakon salpingoplastike	ponavljani neuspjeh IVF-a
endometrioza (III. i IV. stadij)	- izostanak oplodnje
recidiv endometrioma	• <i>poor responders</i>
liječena neplodnost >3 godine	nejakulirano sjeme
• blaža do srednja muška	• kirurški dobiveno
• neuspjeh AIH/AID-a	- retrogradna ejakulacija
• ostalo liječenje	- elektrostimulacija ejakulacije
idiopatska neplodnost	onkofertilitetni postupci
udruženi uzroci	sekundarni ICSI
dob žene >36 godina	uvjetno i plan za PGD

TABLICA 7. Preporuke za pripremu parova za provedbu IVF/ICSI-postupka

- normaliziranje ITM-a (20–25 kg/m²) - lišavanje pušenja - smanjenje uporabe: - alkohola - kave - čaja - izbjegavanje štetnosti okoline - umjerena fizička aktivnost - zdrava prehrana - dodatak folne kiseline, željeza	- liječenje upala - operacije - hidrosalpinga OR 2,31 - submukoznog mioma OR 2,03 - endometrioma >4 cm OR 1,76 - adenomioze OR 1,56 - septuma uterusa OR 2,67 - polipa endometrija OR 1,15 - PCOS i inzulinska rezistencija <i>drilling</i>/metformin - liječenje hipotireoze - probni ET
--	---

► rekombinantni LH.

- planiran ET – kabergolin 0,5 mg/dan 6–8 dana od aspiracije,
- odustajanje od ET-a – *freeze all* postupak – letrozol ili antagonisti u fazi žutoga tijela.

Svi navedeni postupci prevencije težeg OHSS-a nisu uniformno prihvaćeni, niti čvrsto znanstveno dokazani. Kako je 30% žena u postupku IVF-a u ozbiljnom riziku težeg OHSS-a (što je za život opasno stanje), opravdana je preporuka da SO treba voditi iskusan uži specijalist humane reprodukcije. Kriterije za odustajanje od stimulacije ovulacije potrebno je usvojiti prije početka primjene fertilitetnih lijekova (slika 8).

IZVANTJELESNA OPLODNJA I INTRACITOPLAZMATSKA INJEKCIJA SPERMIJA U JAJNE STANICE

Izvantjelesna oplodnja – *in vitro* fertilizacija (IVF) i intracitoplazmatska injekcija spermija u jajne stanice (engl. *Intracytoplasmic Sperm Injection* – ICSI), naj-složenije su, najuspješnije i najskuplje metode MPO-a u liječenju neplodnosti. One nisu bezazlene, već nose rizike za majke i djecu. Primjenjuju se kad su indicirane i kad su svi drugi, jednostavniji oblici liječenja ostali bezuspješni. Načelno je:

- IVF za liječenje ženske neplodnosti,
- ICSI za liječenje muške neplodnosti.

Mogu biti **homologne** – kad se rabe obje gamete neplodnoga para, i **heterologne** – kad se rabi jedna od gameta koja je darovana.

Liječenje IVF/ICSI-jem može se primijeniti i prije, ako se radi o ženi ≥36 godina ili o onkofertilitetnom postupku.^{1,14} Najčešće indikacije za liječenje IVF/ICSI-jem prikazane su u tablici 6.

U trajanje neplodnosti, i prije odluke za IVF/ICSI, valja uračunati prethodni pasivni postupak, NaPro–pristup (engl. *Natural Procreative Technology*) i ciljano liječenje. **Anovulacije nisu primarno indikacija za IVF.** Tek nakon šest lijekovima induciranih ovulacija bez trudnoće, usmjeruje se na IVF.^{1,3,4}

Nije opravdana primjena ICSI-ja za sve parove, jer je ta metoda rizičnija. Svjetske udruge i autoriteti objektivno savjetuju primjenu ICSI-ja za 70% bolesnica.^{15,20,21}

Znanstveno je dokazano (*evidence based medicine*) da posebna priprema parova i liječenje koje prethodi IVF-u, znatno poboljšava (i do 50%) rezultate MPO-a (tablica 7).

U pripremi pacijentica treba utvrditi sve zdravstvene rizike koji su važni za uspjeh IVF-a, moguće rizike anestezije/analgezije i perinatske rizike.

Temeljem već navedenih pretraga, pacijentice se svrstavaju u tri skupine:

- pacijentice normalnog odgovora (rezerve) jajnika – 60%,
- pacijentice povišenog odgovora (PCOS) – 25%,
- pacijentice slabog odgovora – 15%.

Prema statistikama, posljednjih godina u Hrvatskoj se IVF/ICSI-jem liječe žene s 4 godine kašnjenja, a u dobi:

- <30 godina 15%
- 30–35 godina 39%
- 36–39 godina 28%
- ≥40 godina 17–19%.

U žena starijih od 35 godina, koje se liječe IVF-om, dvostruko je češće odustajanje, dvostruko je manje oocita i 2 puta je niži uspjeh, a znatno su češći spontani pobačaji nego u mlađih žena (slika 9).

HDGEHR argumentirano preporučuje da se na naprednu dijagnostiku, endoskopsku kirurgiju i IVF/ICSI, bolesnice žurnije upućuju u Klinike (tercijalne centre), odnosno IVF-centre. Predugačak vremenski razmak (danas 4 godine) umanjuje uspješnost liječenja.

Temeljem anamneze, neuspjeha liječenja, obradbe i ponavljanih gubitaka ranijih trudnoća, pripremna obradba za IVF može uključivati i pretraživanje za:

- antifosfolipidni sindrom,
- trombofilije,
- hiperhomocisteinemiju,
- kariotip,
- imunološke testove i NK-stanice.

Ti se testovi ne preporučuju u primarnoj obradbi, bez indikacije.^{1,3,4}

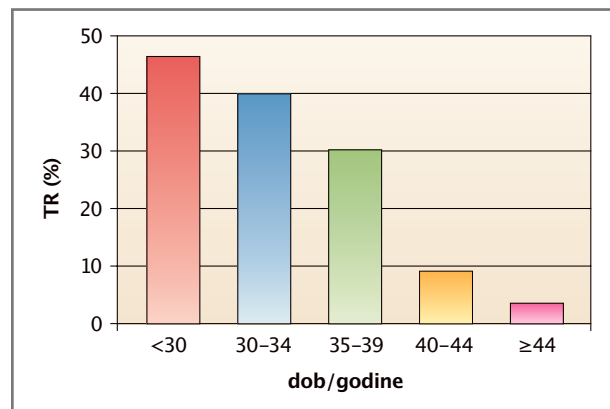
Etape IVF/ICSI-postupka su:

- **priprema bolesnika**
 - obradba,
 - preventivne mjere,
 - liječenje
 - medikamentno (upale, IR, PCOS, endometriozna, hipotireoza),
 - kirurško (hidrosalpinks, miom, septum).
 - programiranje IVF-ciklusa,
 - pripreme za zahvate (za anesteziju, punkciju, ET)
- **klinički postupci**
 - odabir – prirodni ciklus, blaga ili standardna, stimulacija ovulacije,
 - kontrola ciklusa i predviđanje ovulacije,
 - aspiracija jajnih stanica (AJS),
 - prijenos zametaka – embriotransfer (ET),
 - kontrola i pomoć u fazi žutoga tijela,
 - dijagnoza i postupak u ranoj trudnoći.
- **embriološki postupci** – opisani u postupniku Društva kliničkih embriologa.

Napredni postupci u embriološkom laboratoriju moderna su nadogradnja na standardni IVF^{1,2,14}:

- napredni odabiri kompetentnih gameta,
- zamrzavanje (sporo ili vitrifikacija)
 - spermija,
 - jajnih stanica,
 - zametaka,
 - spolnih tkiva.

SLIKA 9. Uspjeh IVF-a prema dobi žene



- pomognuto izlijevanje zametaka,
- kultura blastocista,
- morfokinetika embrija,
- biljezi kvalitete zametaka,
- izvantjelesno dozrijevanje oocita – IVM *in vitro* maturation),
- biopsija zametaka i analiza kromosoma
 - PGD, PGS
- odabir spola iz medicinskih razloga.

GLAVNE ODREDNICE ZAKONA O MEDICINSKI POMOGNUTOJ OPLODNJI (MPO) U HRVATSKOJ⁷

Iz Zakona o medicinski pomognutoj oplodnji (MPO) u Hrvatskoj kliničarima je potrebno naglasiti sljedeće odrednice:

- MPO su dopustivi kao krajnje metode liječenja neplodnosti, nakon što su ostale metode ostale bezuspješne. Obvezna je briga o minimalnim rizicima;
- Dopušteni su svi navedeni oblici liječenja: MPO, IVF i ICSI te napredni embriološki postupci. homologni i heterologni postupci MPO-a;
- Struka je obvezna nastojati iskoristiti takvu pripremu i SO da se ne bi dobivalo više od 12 oocita. Prenijeti se mogu najviše 2 zametka u ET-u (DET). Time se bitno umanjuju rizici OHSS-a i višeploidnosti. Iznimno se u žena >38 godina i kod ponavljanih neuspjeha IVF-a, mogu ET-om prenijeti i 3 zametka. Ponavljani OHSS i komplikacije trebaju biti razlog za poseban inspeksijski nadzor u tom IVF-centru;
- Neplodni par uz stručni savjet sam odlučuje o SO-u, o broju oocita za oplodnju, kriopohrani zametaka ili oocita, ET-u jednoga ili dvaju zametaka;
- Dopušteno je darivanje sjemena ili oocita te darivanje dulje od 5 godina ostavljenih embrija. Ostavljena je mogućnost da 16 godina dijete identificira biološkog roditelja. Prije ponovnog IVF-postupka obveza je iskoristiti već prije kriopohranjene oocite ili zametke;
- Obvezna je briga za onkofertilitetne postupke;
- Zdravstveno osiguranje (HZZO) pokriva troškove u potpunosti za žene do navršene 42 godine;

- 4 postupaka AIH/AID-a (od toga 2 u prirodnome ciklusu),
- 6 postupaka IVF/ICSI-ja (od toga 2 u prirodnome ciklusu),
- sekundarne i kriopostupke,
- donacijske programe obavljene u Republici Hrvatskoj.

Za žene koje su zbog bolesti (svoje ili partnera) morale odgoditi liječenje neplodnosti, uglavnom onkofertilitet, nema dobne granice za plaćanje od strane HZZO-a.

Od ostaloga, važno je istaknuti:

- obveza anestezije/analgezije (analgesedacije) za punkciju folikula,
- kirurško dobivanje sjemena djelatnost je urologa.

KLINIČKI POSTUPCI U IVF-U

Tri su važne etape koje izvodi kliničar, uži specijalist humane reprodukcije, pri IVF-u ili ICSI- postupku, a dvije u sekundarnom IVF-u odnosno kriotransferu:

Primarni IVF

- I kontrola ciklusa i predviđanje ovulacije
- II aspiracija jajnih stanica (AJS)
- III embriotransfer (ET).

Sekundarni IVF – kriotransfer

- I kontrola zrenja endometrija do receptivnosti
 - prirodni ciklus
 - dodatak estrogena
- II embriotransfer (ET).

Kontrola ciklusa i predviđanje ovulacije

Kontrola ciklusa stimulacija i predviđanje ovulacije opisane su u ranijim poglavljima. Temeljni principi su:

- paziti na trajanje ranijih prirodnih ciklusa i IVF-pokušaja,
- bazalno određeni hormoni (2. dan) – značajnost određivanja E2, P4,
 - nepovoljni znakovi – E2 viši od 60 pg/mL, P4 viši od 3,2 nmol/L
- utvrditi postojanje funkcionalnih cista i endometriozе, položaj jajnika,
- optimalno folikuli rastu 1–2 mm na dan – srednji promjer,
- optimalan je sinkroni rast više folikula,
- izdvojeni folikul koji brže raste obično je prazan („empty follicle sy“),
- produljeni prirodni ciklus – očekivati sporiju folikulogenezu,
- signal za primjenu antagonista – folikuli 14 mm u promjeru,
- utvrđivanje prokrvljenosti folikula i endometrija,
- signal za ovulacijski okidač – HCG (ili zamjena)
 - 2–3 folikula $\geq 17/18$ mm
 - volumen zrelih folikula (sono AVC) > 2 mL
 - trolinijski hipoehogeni endometrij > 7 mm
 - E2 razina po zreloom folikulu oko 200 pg/mL
 - kad je u 1. danu (dan prije AJS-a) nizak HCG

- u krvi, ponavlja se ovulacijski okidač.
- određivanje hormona na predvidiv dan HCG-a
 - E2 ≥ 4000 pg/mL upućuje na rizik OHSS-a (30–40%),
 - E2 < 500 pg/mL upućuje na PR (POR) < 4 oocyte i uspjeh $< 15\%$,
 - LH porast – prijevremena luteinizacija,
 - P4 $> 3,2$ nmol/L – prijevremena luteinizacija – nizak uspjeh.
- posljednja primjena analoga GnRH-a – 12–24 sata prije HCG-a,
- aspiracija oocita 34 do 36 sati nakon HCG-a,
- ponekad je indiciran dodatak u SO-u – HCG-a, LH-a.

Prirodni ciklus

- isti principi uz korist CS-a, LH-određivanja,
- neki sugeriraju manje dimenzije zreloga folikula i razinu E2 100–200 pg/mL.

Endometrij

- isti principi kontrole UZV-om,
- od 5. dana ciklusa zadebljava 0,5–1 mm na dan,
- prema potrebi dodatak estradiola – 4 do 6 mg/na dan.

Aspiracija jajnih stanica (AJS)

Aspiracija jajnih stanica zahtjevan je i ponekad rizičan kirurški zahvat. Principi su:

- **priprema bolesnica** – prije i na dan AJS-a,
 - utvrditi opće bolesti (dijabetes, alergije, anafilaksije, tlak)
 - utvrditi anatomske odnose (pregled i UZV),
 - dubinu rodnice
 - krvne žile na putu punkcije
 - položaj jajnika
 - ciste i endometriome
 - hidrosalpinke
 - plan punkcije,
 - prema potrebi planirati i laparoskopski AJS.
- **aspiracija jajnih stanica (AJS)**
 - obvezno 6 sati bez hrane,
 - obvezna anestezija ili analgesedacija,
 - venski put i eventualno infuzija,
 - dostupna mogućnost reanimacije i antišokne terapije,
 - potpuna asepsa i ispiranje rodnice netoksičnim otopinama,
 - odabrati povoljniji jajnik za početak punkcije,
 - AJS sa što manje punkcija – prolaska kroz stijenku rodnice,
 - maksimalno se sondom približiti jajniku,
 - izbjegavati vehementne pokrete,
 - optimalan negativni tlak – 150 mm Hg primijenjen je samo kad je igla u folikulu,
 - jednom punkcijom isprazniti više bliskih folikula (prema planiranom redoslijedu),
 - ispiranje sustava za punkciju medijem u grijanoj epruveti – šalje se promptno embriologu i čeka izvješće,

- ▶ vakuum uvijek deaktivirati prije izlaska iz jajnika. Ne miješati sadržaj ciste ili –endometrioma sa sadržajem folikula,
- ▶ brisanje rodnice – eventualna tamponada (uz Monsel) u slučaju krvarenja,
- ▶ kod punkcije treba posebno paziti na blizinu uterusa, veće žile, mjehur, visoku punkciju i lateralne organe i žile,
- ▶ uvijek u pripremi imati sterilne instrumente za hemostazu.

Embriotransfer (ET)

Njezan, atraumatični embriotransfer važan je preduvjet uspjeha IVF-a/ICSI-ja. Obavlja se 2, 3 ili 5 dana nakon AJS-a, odnosno oplodnje. To znači da tada embrij/i optimalno budu u stadiju s 4–8 stanica, odnosno u stadiju blastociste. Selekcija najkvalitetnijih zametaka obavlja se na temelju morfokinetike ili preimplantacijskog genskog probira (PGS).

U provedbi ET-a potrebno je voditi računa o sljedećem:^{1,15,22–24}

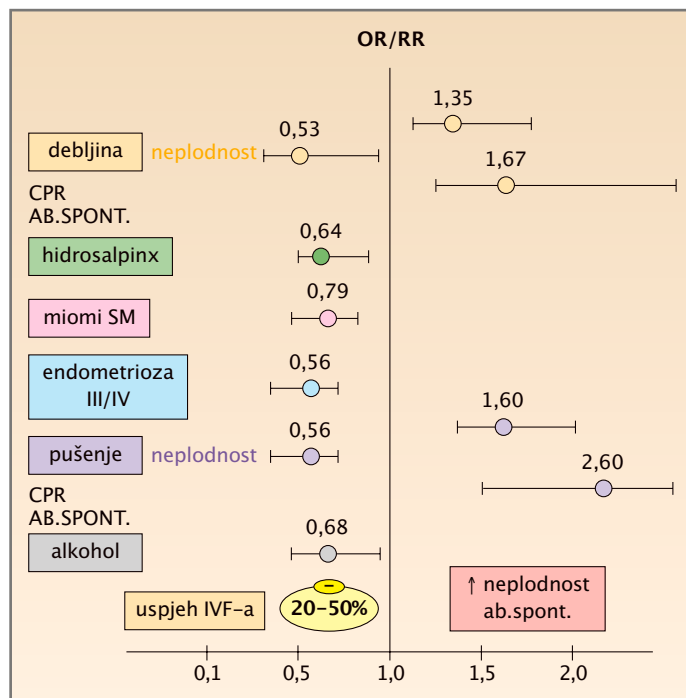
- blastociste povisuje uspjeh u odnosu na dva dana raniji ET (OR 1,35 CI 1,05–1,74), ali je i vjerojatnost izostanka ET-a viša (OR 2,85 CI 1,97–4,1),
- težak ET umanjuje uspjeh (OR 0,73 CI 0,63–0,85),
- uz opsežnu manipulaciju cerviksa umanjuje se uspjeh,
- meki kateter uspješniji je od tvrdog (OR 1,25 CI 1,02–1,53).

Otežani ET može se očekivati kod nuligravida, dugačkoga nepravilnog cerviksa, stenoze i ožiljaka nakon zahvata i operacija. Zato se savjetuje:

- prethodni pregled, UZV, cervikometrija,
- ranija dilatacija cerviksa i probni (*mock*) transfer,
- ET uz pomoć UZV-a povisuje uspjeh u odnosu na taktičnu tehniku (OR 1,31; CI 1,18–1,46),
- zametci se istiskuju (odlažu) 2 cm ispod fundusa,
- volumen istisnutoga medija za ET 10 do 20 μ L,
- brzina ET-a – manje od 2 minute,
- mirovanje nakon ET-a – dovoljno 30 minuta,
- izbjegavati stvaranje negativnoga tlaka pri izvlačenju katetera i kanile,
- paziti na asepsu, netoksičnost, ukloniti CS,
- spolni odnosi nakon ET-a nisu štetni,
- postoje dokazi da ranija endometrijska biopsija, povisuje uspjeh implantacije u IVF-ciklusima.

Single ET (SET) daje oko 25% vjerojatnosti za trudnoću, a DET 40–45%. Čimbenici koji umanjuju plodnost i rezultate IVF-a prikazani su na slici 10.

SLIKA 10. Čimbenici koji umanjuju plodnost i rezultate IVF-a



SM – submukozni, ab. spont. – spontani abortus

TABLICA 8. Razlozi koji opravdavaju provedbu postupaka krioprezervacije gameta ili spolnih tkiva

Zamrzavanje sjemena	Zamrzavanje oocita
• darivanje sjemena za AID, IVF • autokonzervacija - promjenjiva plodnost - pogoršanje plodnosti - disfunkcijski problemi - dislociranost - dob muškarca* - liječenje raka - kirurški dobiveno sjeme - ozljede kralježnice - rizičnost zaposlenja - privremeno poboljšanje - smanjen rizik upala - odabir spola	• u IVF/ICSI-postupku zbog svjetonazora, vjere • očuvanje osobne plodnosti - zbog odgađanja rađanja* - zbog liječenja raka - zbog bolesti koje oštećuju rezervu jajnika - zbog operacija jajnika - rizičnost zaposlenja - ili okolišne štetnosti • darivanje oocita • suvišni oociti u IVF-u (uz liječenje)

* indikacije koje nisu eksplicitno dopuštene u Zakonu o MPO-u

produkcijškoga sustava. Time su krioprezervacija gameta ili spolnih tkiva postale važan segment liječenja MPO-om.^{1,21,25} Razlozi za provedbu postupaka očuvanja osobne plodnosti prikazani su u tablici 8.

OČUVANJE OSOBNE PLODNOSTI

Očuvanje osobne plodnosti postupak je koji je danas sve više u primjeni. Razlozi su odgađanje rađanja, planiranje reprodukcije u četrdesetim godinama života, štetni okolišni učinci na sustavno umanjivanje plodnosti i veća vjerojatnost da starenjem dolazi do bolesti re-

ONKOFERTILITETNI POSTUPCI

Na temelju zakonske obveze preporučuje se posebna i organizirana skrb za buduću reprodukciju onkoloških bolesnika i bolesnika.

Nakon postavljene dijagnoze, a prije liječenja zloćudne bolesti, nužno je žurno (*ad hoc*) organizirati on-

kofertilitetni tim koji se sastoji od:

- onkologa (hematologa),
- kirurga,
- užeg specijalista humane reprodukcije.

Tim za takvu ekspertizu treba postojati u svakom KBC-u. Navedeni stručnjaci stvaraju plan očuvanja plodnosti oboljeloga i obrazlažu potrebu, mogućnosti, uspješnost i rizike takvoga postupka. Oboljeli ili njegovi roditelji potpisuju pristanak informirane osobe. Vjerojatnost izlječenja zloćudne bolesti važan je čimbenik u navedenom razmatranju. Očuvanje plodnosti ima opravdanje ako postupci i trudnoća ne utječu na osnovnu bolest.^{1,6,21}

Od važnosti je i dopustiv razmak između postavljene dijagnoze i početka kirurškoga ili gonadotoksičnoga liječenja. Onkofertilitetni postupak ovisan je i o postojanju partnera, ali u svim situacijama to su bolesnici koji imaju prioritet za obradbu i liječenje.

Prije postupaka za očuvanje plodnosti valja podrobno analizirati plan liječenja, posebno oblik kemoterapije i nužnost radioterapije. Oblik i protokol dodatnoga liječenja imaju različite rizike za gonadotoksičnost, privremenu ili trajnu afunkciju gonada. Valja istaknuti da je obveza utvrditi plodnost prije i poslije liječenja raka. Već su opisani testovi kojima se precizno utvrđuje pričuva (rezerva) folikula u jajnicima.

Valja podsjetiti da su u reprodukcijskoj dobi najčešće zloćudne bolesti rak dojke, limfomi, seminom i dr. Često je plodnost umanjena bolešću i prije liječenja. Provedba onkofertilitetnih postupaka temelji se na prethodnom utvrđivanju niza čimbenika (tablica 9).

Sukladno okolnostima (partner), nakon 5 ili više godina, može se pristupiti sekundarnom liječenju koje je u pravilu IVF/ICSI. Prethodno se istraži rezidualna plodnost i zdravlje te rizici liječenja. U slučaju da gamete ne postoje ili su loše kvalitete te dolazi do neuspjeha

liječenja, postupak se usmjeruje na donaciju.

Kad se nakon liječenja zloćudne bolesti u žene uspostavi redovit ciklus, tada je u pravilu niža rezerva jajnika, a u svježem IVF-ciklusu očekuje se slab odgovor (*poor response*).

DARIVANJE GAMETA – DONACIJA SPERMIJA ILI JAJNIH STANICA

Zakon o MPO-u dopušta darivanje jedne od gameta (spermija ili oocita) i darivanje trajno ostavljenih zametaka. Zakon dopušta identifikaciju biološkog(ih) roditelja, kad na taj način rođeno dijete navrší 16 godina. Probir donora te postupci kriopohrane i ostale obveze u donacijskome programu, detaljno su prikazani u postupniku kliničke embriologije. Nije dopušteno darivanje obiju gameta.⁷

Darivanje sjemena – spermija

Indikacije za donaciju spermija jesu:

- sekrecijska azoospermija,
- ponavljani izostanak oplodnje uz
 - teške oblike muške neplodnosti
 - neejakulirano sjeme
- onkofertilitetni postupci,
- genski razlozi.

Za takav odabir liječenja žena mora biti zdrava i dokazano plodna. Plodnost žene utvrđuje se prije navedenim postupcima. Obveza je da se uz neoštećene jajovode trudnoća nastoji postići prvo sa 6 pokušaja AID-a (3 u stimuliranom ciklusu), a u slučaju neuspjeha, liječenje se može usmjeriti na IVF-AID.^{1,3}

Darivanje jajnih stanica (oocita)

Indikacije za donaciju oocita jesu:

- niska rezerva jajnika (AMH, AFC, FSH),
- *menopause praecox*,
- ponavljani neuspjeh IVF-a:
 - oplodnje,
 - stimulacije ovulacije – VPR,
 - dob žene,
 - onkofertilitetni postupci,
 - genski razlozi.

Za liječenje doniranim oocitama žena treba biti zdrava, bez rizika koji bi mogli donijeti trudnoća i porođaj. Nužno je utvrditi normalnost maternice i plodnost sjemena partnera. Kod donacije oocita u pravilu je odabir IVF ili ICSI (rjeđe GIFT). Kako darovane oocyte trebaju biti od mlađe žene, u postignutoj trudnoći nisu potrebni testovi biokemijskoga ili genskoga probira.

RIZICI I KOMPLIKACIJE MPO-A

Nema medicinske intervencije, ni uzimanja lijekova, koji su bezazleni i bez rizika. Obveza je subspecijalista HR-a da obradbom, znanjem i iskustvom utvrdi i umani moguće rizike te odabere sigurno liječenje. Želja za

TABLICA 9. Čimbenici na kojima se temelji provedba onkofertilitetnih postupaka

Žene	Muškarci
• ovisnost tumora o estrogenima • dobivanje oocita - 1-2 postupka - blagi protokoli SO-a (letrozol) - standardni protokol - (niske doze, antagonisti) • oplodnja i zamrzavanje zametaka • zamrzavanje oocita • zamrzavanje tkiva jajnika • transpozicija jajnika – prije zračenja • autotransplantacija kriopohranjenoga - jajnika, kore jajnika, folikula - ortotopična - heterotopična • odabir kemoterapije – protokoli - niska gonadotoksičnost - dodatak ag GnRH-a	• uzimanje više uzoraka sjemena • 5) • zamrzavanje sjemena • pohrana više manjih uzoraka • zamrzavanje tkiva testisa

brzim uspjehom nikako ne smije nadvladati razum i racionalnost. Neplodnost i dob žene samostalni su rizici i bez IVF-a.^{1,3}

Rizici MPO-a mogu biti:

- rizici liječenja MPO/IVF/ICSI-jem,
- rizici stimulacije ovulacije,
- perinatalni rizici,
- psihosocijalni distres zbog liječenja ili neuspjeha (20% parova).

Rizici liječenja i zahvata jesu (1-2%):

- rizici aspiracije oocita:
 - rizik anestezije,
 - krvarenja iz stijenke rodnice,
 - krvarenja iz jajnika,
 - ozljede zdjeličnih organa,
 - upale i apsces,
 - torzija jajnika.
- rizici embrioloških postupaka:
 - epigenetske mutacije,
 - mehaničko oštećenje oocita, embrija (postupci, PGD),
 - ICSI, AHA
 - monozigotni blizanci, *vanishing embryo sy*,
 - zamrzavanje.

Rizici stimulacije ovulacije (2-5%):

- učinak na oocyte, zametke,
- nereceptivan endometrij,
- poremećaj funkcije žutoga tijela,
- sindrom hiperstimulacije jajnika (OHSS) – 1-5%
- rizik tumora i zloćudnih bolesti – nema konzistentnih niti statistički značajnih nalaza.

Perinatalni rizici (20%):

- izvanmaternična i heterotopična trudnoća – 2-5%
- spontani pobačaji (18%) – OR 1,2 (CI 1,03-1,46)
- krvarenja u ranoj trudnoći (30%)
- višeploidnost (15-20%) – IUGR, cerebralna paraliza
- monozigotni blizanci – 3-5%
- *vanishing twin sy* – 10-15%
- prijevremeni porođaj, IUGR – 20%
- perinatalni rizici i bolesti – OR 1,3-3,7
- intenzivna njega djece – OR 2,4 (CI 2,2-2,6).

ZAVRŠNE PREPORUKE I ODREDNICE

Imperativ je da liječenje MPO-om, SO-om i IVF-om započinje u što ranijoj dobi žene (čim se utvrde indikacije) te da se odabiru takvi oblici liječenja koji su najpoštedniji za zdravlje žene i djece. Temeljne preporuke za liječenje MPO-om su:

- prije liječenja pomno istražiti opće zdravstvene rizike,
- razumna i racionalna primjena fertilitetnih lijekova,
- usmjerenje na DET ili SET – posebno uz kulturu blastocista,
- smanjiti rizike liječenja
 - višeploidne trudnoće (blizanačke) <10%
 - teži OHSS <1%
 - minimalni perinatalni rizici.
- obveza anestezije ili analgesodacije za punkciju jajnika,
- obvezna briga za eventualne komplikacije i perinatalnu skrb,
- svaki IVF-centar mora osigurati optimalne kadrovske i tehnološke uvjete, primjenjivati dokazano provjerene lijekove, hranilišta i potrošni materijal. Nužna je mogućnost primjene cjelokupnog programa MPO-a,
- liste čekanja na IVF/ICSI-postupke trebaju biti najdulje 6-8 mjeseci.

Korištene kratice

AJS – aspiracija jajnih stanica

CL – *corpus luteum*

CPR – *clinical pregnancy rate*

CS – cervikalna sluz

DET – *double embryo transfer*

ET – embriotransfer

HCG – humani korionski gonadotropin

HDGEHR – Hrvatsko društvo za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (HLZ-a)

HR – *hyper-responders*

HSG – histerosalpingografija

IR – inzulinska rezistencija

IS – insuflacija

NR – *normo-responders*

OHSS – *ovarian hyperstimulation syndrome*

OR – *odds ratio*

PGD – preimplantacijska genska dijagnostika

PGS – preimplantacijski genski probir (*screening*)

PR (POR) – *poor ovarian response*

SET – *single embryo transfer*

TR – trudnoće (kliničke)

UZV – ultrazvučna dijagnostika, ultrazvuk

U – urinski preparat

Autor smjernica je prof. dr. sc. Velimir Šimunić, uži specijalist humane reprodukcije i Predsjednik Hrvatskoga društva za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (HDGEHR) HLZ-a, uz savjete, nadopune i korekcije članova užeg odbora Društva, (HLZ-a).

Clinical guidelines for medically assisted reproduction

SUMMARY Assisted reproductive technology (ART) includes intrauterine insemination (IUI), in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). These are the treatment options in 70–80% of infertility cases; however, they are used only when all other treatments fail. ART may be homologous or heterologous. The success of ART depends of many factors. The main goal is to achieve clinical pregnancy that will lead to the birth of a healthy child, without risk to the mother and child. The main factors that influence the success of ART include the age of infertile couple and a number of possible adverse epigenetic effects that influence fertility. The success of IUI is based on mono-ovulation, whereas the goal of IVF / ICSI treatment is to obtain multiple follicles for aspiration. For successful IVF, 6–10 oocytes should be obtained in a single step. Therefore, it is important to individualize ovulation induction protocols, use milder protocols and avoid ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). The neurological risks of children born through IVF are associated with preterm delivery and multiple births. These risks may be avoided by selecting high-quality embryos (blastocysts, PGS) and transferring (ET) only one or two embryos. Available and high-quality IVF program can make a significant contribution to the birth rate (4–6%).

KEY WORDS fertilization in vitro; infertility; ovulation induction; reproductive techniques, assisted; sperm injections, intracytoplasmic

LITERATURA

1. Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Medicinski pomognuta oplodnja i IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012.
2. Carrell DT, Peterson CM. Reproductive Endocrinology and Infertility. New York: Springer; 2010.
3. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male/female. Fertil Steril. 2012;98(2):294–308.
4. Devroey P, Fauser BC, Diedrich K. Approaches to improve the diagnosis and management of infertility. Hum Reprod Update. 2009;15(4):391–408.
5. Gracia CR, Morse CB, Chan G, et al. Thyroid function during controlled ovarian hyperstimulation as part of in vitro fertilization. Fertil Steril. 2012;97(3):585–91.
6. National Institute for Clinical Excellence. Fertility: assesment and treatment for people with fertility problems. NICE, 2005.
7. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji, RH – NN, 2012.
8. Nelson SM, Yates RW, Lyall H, et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. Hum Reprod. 2009;24(4):867–75.
9. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. Fertil Steril. 2013; 99(4):963–9.
10. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. Fertil Steril. 2012;98(6):1407–15.
11. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, et al. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). Hum Reprod Update. 2010;16(2):113–30.
12. Garcia-Velasco JA. The use of aromatase inhibitors in in vitro fertilization. Fertil Steril. 2012;98(6):1356–8.
13. Devroey P, Aboulghar M, Garcia-Velasco J, et al. Improving the patient's experience of IVF/ICSI: a proposal for an ovarian stimulation protocol with GnRH antagonist co-treatment. Hum Reprod. 2009;24(4):764–74.
14. Gardner DK, Rizk BR, Falcone T. Human Assisted Reproductive Technology. Cambridge: Cambridge University Press; 2011.
15. Kovacs G. How to Improve Your ART Success Rates. Cambridge: Cambridge University Press; 2011.
16. Polyzos NP, Devroey P. A systematic review of randomized trials for the treatment of poor ovarian responders: is there any light at the end of the tunnel? Fertil Steril. 2011;96(5):1058–61.e7.
17. Soares SR. Etiology of OHSS and use of dopamine agonists. Fertil Steril. 2012;97(3):517–22.
18. Meldrum DR. Preventing severe OHSS has many different facets. Fertil Steril. 2012;97(3):536–8.
19. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. Reprod Bio-med Online. 2007;14(5):640–9.
20. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and Society for Assisted Reproductive Technology. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for non-male factor infertility: a committee opinion. Fertil Steril. 2012;98(6):1395–9.
21. Gianaroli L, Racowsky C, Geraedts J, Cedars M, Makrigiannakis A, Lobo RA. Best practices of ASRM and ESHRE: a journey through reproductive medicine. Fertil Steril. 2012;98(6):1380–94.
22. Blake DA, Farquhar CM, Johnson N, Proctor M. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. Cochrane Database Syst Rev. 2007;(4):CD002118.
23. Brown J, Buckingham K, Abou-Setta AM, Buckett W. Ultrasound versus 'clinical touch' for catheter guidance during embryo transfer in women. Cochrane Database Syst Rev. 2010;(1):CD006107.
24. ESHRE Campus Course Report. Prevention of twin pregnancies after IVF/ICSI by single embryo transfer. Hum Reprod. 2001;16(4):790–800.
25. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definition of experimental procedures: a committee opinion. Fertil Steril. 2013; 99(5):1197–8.

ADRESA ZA DOPISIVANJE

Prof. dr. sc. Velimir Šimunić, dr. med.

Zavod za humanu reprodukciju, Klinika za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Petrova 13, 10000 Zagreb

E-mail: velimir.simunic@gmail.com

Telefon: + 385 1 2376 264