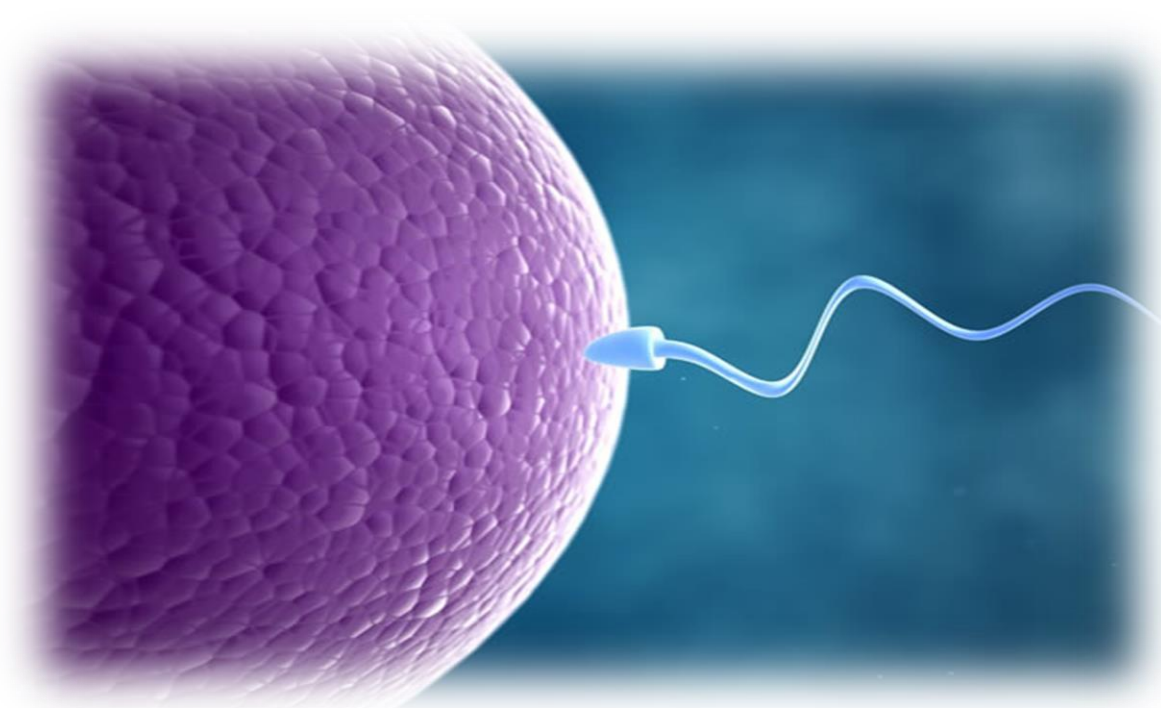


POSTUPCI MEDICINSKI POMOGNUTE OPLODNJE

Priručnik za pacijente



Klinika za ginekologiju i opstetriciju

Zavod za humanu reprodukciju i medicinski pomognutu oplodnju

Laboratorij za humanu reprodukciju i medicinski pomognutu oplodnju

Klinički bolnički centar Osijek

2020.

Neplodnost

Neplodnost je bolest ili stanje reproduktivnog sustava definirano kao izostanak kliničke trudnoće nakon 12. ili više mjeseci redovnih nezaštićenih spolnih odnosa. Globalno gledajući, u svijetu neplodnost pogađa 15% parova što iznosi prosječno oko 48.5 milijuna parova. Prema novim podacima u Hrvatskoj problema sa začecem ima 80 000 - 100 000 parova. Jedan od prvih koraka pri uspješnom liječenju neplodnosti je medicinska obrada i postavljanje dijagnoze, stoga bi svaki par kod kojega je u primarnoj zdravstvenoj zaštiti postavljena dijagnoza, trebao biti upućen subspecijalistu humane reprodukcije i medicinski pomognute oplodnje.

Neplodnost pogađa jednog ili oba partnera, a smatra se da 1/3 uzroka neplodnosti pogađa muškarce, 1/3 uzroka neplodnosti pogađa žene, dok se u preostalim slučajevima uzroci neplodnosti ne mogu identificirati. Govoreći o uzrocima neplodnosti, najčešći opisani uzroci neplodnosti u žena su: poremećaji ovulacije, starenje jajnih stanica, neprohodnost jajovoda i priraslice u maloj zdjelici/upale spolnog sustava žene, miomi maternice, anomalije maternice, endometrioza, cervikalni faktor, nedostatna funkcija žutog tijela, imunološki čimbenici i trombofilije, genski uzroci). Kod žena se neplodnost utvrđuje ginekološkim i UZV pregledom, utvrđivanjem ovulacije, mikrobiološkim pretragama, ocjenom razine hormona, dodatnim pretragama.

Neplodnost kod muškaraca najčešće je uzrokovana problemima vezanim uz proizvodnju spermija, transport spermija, erektilnim i ejakulacijskim disfunkcijama, hormonalnim problemima, spermalnim antitijelima. Muška se neplodnost utvrđuje spermigramom, gdje se ocjenjuje broj, pokretljivost i morfološke osobine spermija, mikrobiološkim te dodatnim pretragama (Slika 1 i 2).



Slika 1. Makler komorica za spermigram

NORMALNE VRIJEDNOSTI (DONJA GRANICA) SJEMENIH PARAMETARA - WHO SMJERNICE	
PARAMETRI	2010.GODINA
Volumen	1.5mL
pH	7.2-8.0
Koncentracija spermija	15 mil /mL
Ukupan broj spermija	39 milijuna
Pokretljivost	progresivna pokretljivost, 32%; ukupna pokretljivost (pokretni+ nepokretni), 40%
Morfologija	4 %
Bijele krvne stanice	manje od milijun

Slika 2. Vrijednost čimbenika sjemena važnih za izradu spermograma.

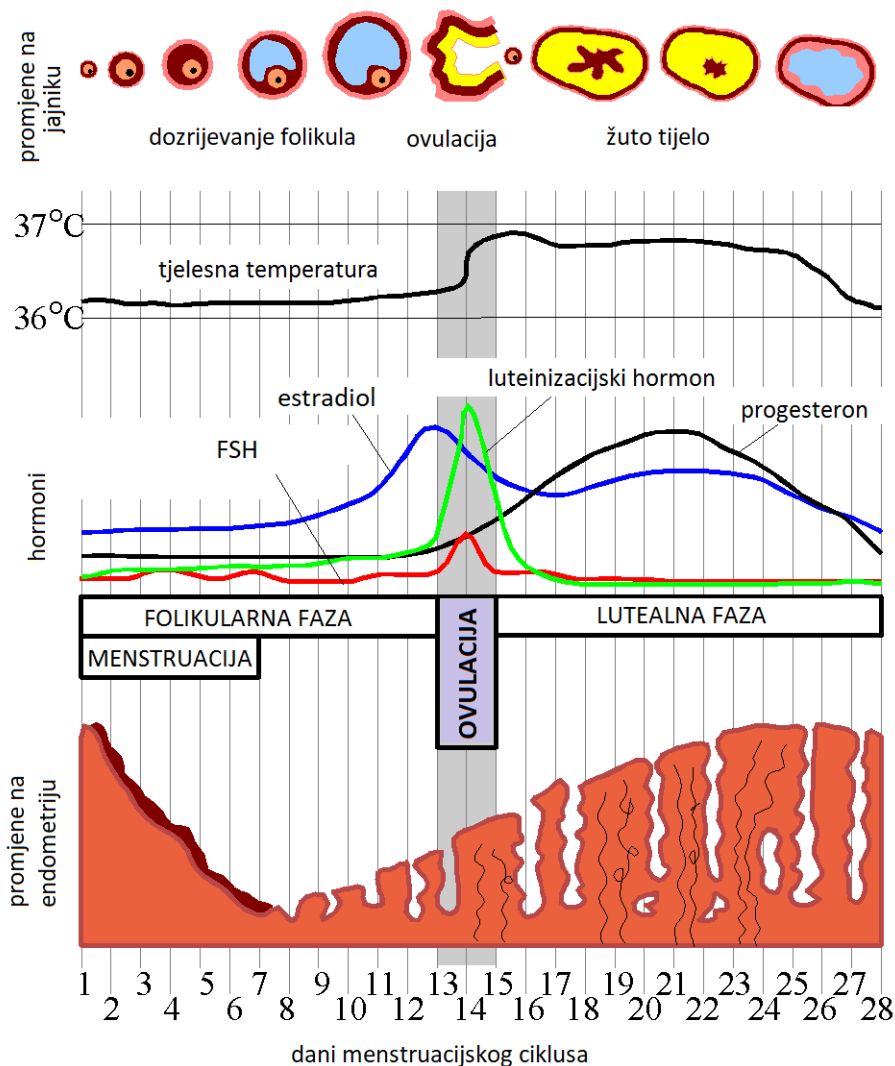
Menstruacijski ciklus

Menstruacijski ciklus žene, u normalnim uvjetima, svaki mjesec producira jednu jajnu stanicu. Radi povećanja šanse za uspješnu oplodnju, liječnici s pacijenticom provode stimulaciju ciklusa različitim lijekovima koji pospješuju rast i brojnost folikula.

Menstrualni ciklus se odvija na tri razine (Slika 3):

1. hipotalamus i hipofiza – kontrola lučenja hormona
2. jajnik – gametogeneza i stvaranje spolnih hormona
3. maternica – promjene vrata i sluznice maternice tijekom cijelog ciklusa

Najvažniji hormoni u kontroli menstrualnog ciklusa su **GnRH** (gonadotropin oslobađajući hormon), **FSH** (stimulira folikulogenezu) i **LH** (važan za sazrijevanje jajašaca i ovulaciju). GnRH je hormon iz hipotalamusa koji se veže na receptore gonadotropnih stanica hipofize i potiče sintezu FSH i LH. FSH i LH potiču proizvodnju spolnih hormona u jajnicima. Pod njihovim utjecajem, jajnik proizvodi estrogen koji djeluje na sluznicu maternice i priprema je za prihvaćanje zametka. Količinu, dozu i vrstu lijeka za stimulaciju određuje liječnik individualno za svaku pacijenticu ovisno o povijesti bolesti, dobi pacijentice, vrstu neplodnosti i njezinom trajanju.



Slika 3. Menstruacijski ciklus

Kontrolirana ovarijska hiperstimulacija (KOH)

Primjenom KOH-a omogućuje se višestruki rast folikula. Primjenjuju se pripravci gonadotropina (FSH i LH), rekombinirani ili visoko pročišćeni pripravci humanog menopauzalnog gonadotropina (**Gonal-F, Menopur, Puregon, Bemfola, Elonva, Ovaleap**) od 3. dana ciklusa. U suzbijanju unutarnjeg odgovora hipofize koriste se GnRH analozi (agonisti i antagonisti). Ukoliko se koriste antagonisti (**Cetrotide i Orgalutran**), protokoli mogu biti fiksni i fleksibilni. U fiksnom protokolu davanje antagonista započinje 6. dan ciklusa, a završava na dan "štoperice" (injekcije koja omogućuje sazrijevanje folikula). U fleksibilnom protokolu anagonist se uvodi kada vodeći folikul dosegne veličinu od 14 mm. GnRH agonisti se primjenjuju u dugim

protokolima i započinje se davanje 21.dan prethodnog menstruacijskog ciklusa pa sve do "štoperice". Dugi protokoli su napušteni kod pacijentica u riziku od OHSS-a. Primjer lijekova koji se koriste za poticanje ovulacije (tzv. "štoperica") su **Ovitrelle** (rekombinantni hCG) i **Brevactide** (pročišćeni hCG). Ovulacija nastupa 36-38 sati nakon ove injekcije. Nakon embriotransfera kao dodatna potpora koristi se sintetski progesteron (npr. Utrogestan).



Slika 5. Puregon



Slika 6. Ovitrelle

Moguće nuspojave nakon terapije

Od navedenih lijekova možete osjećati mučninu, vrtoglavicu, glavobolje, naglu vrućinu, neraspoloženje, nadutost, koji su bezazleni simptomi i potpuno nestaju nakon prestanka terapije. Iznimno rijetko moguća je hiperstimulacija jajnika, koja se gotovo nikad ne javlja kod žena s nižom rezervom jajnika. Hiperstimulacija se javlja isključivo kod žena s visokom koncentracijom anti-Müllerovog hormona (AMH) i velikim brojem antralnih folikula. Prejak odgovor jajnika na terapiju javlja se češće od hiperstimulacije. U tom slučaju, prema procjeni liječnika, mijenja se vrsta postupka pomognute oplodnje ili se potpuno prestaje s postupkom. Od ostalih simptoma navodimo zadržavanje tekućine u organizmu, točkasto krvarenje, proljev, nelagoda u zdjelici, preosjetljivost dojki. Ove nuspojave se navode u vidu informiranja pacijenta i ne trebaju vas zabrinuti. **Nuspojave lijekova:** glavobolja, umor, potištenost, sindrom hiperstimulacije jajnika. **Višeplodne trudnoće:** u slučaju

transfera više od jednog zametka povećana je mogućnost višeplođnih trudnoća. Moguće poteškoće povezane s višeplođnim trudnoćama su: pobačaji, visoki tlak i preeklampsija, trudnički dijabetes, anemija i teško krvarenje, te potreba za carskim rezom. Također je povećana vjerojatnost preranog poroda i niske porođajne težine te po život ugrožavajućih komplikacija za novorođenče. **Simptomi sindroma hiperstimulacije jajnika:** bol i nadutost u donjem dijelu trbuha, mučnina, otežano disanje i nesvjestica. U slučaju navedenih simptoma potrebno je javiti se u bolnicu. Nakon embriotransfera postoji rizik od **ektopične trudnoće**, a simptomi su bol u trbuhu uz vaginalno krvarenje (tamni iscjedak).

Davanje uzorka sjemena

Prije dolaska na postupak intrautrine inseminacije ili na punkciju folikula, potrebno je apstinirati od spolnih odnosa (masturbacije) najmanje tri dana. Apstinencija nikako ne bi trebala trajati **duže od sedam dana**. Uzorak se daje prije postupka inseminacije i neposredno prije punkcije folikula. Partner dobiva od medicinske sestre sterilnu posudicu u kojoj predaje uzorak. U iznimnim slučajevima postoji mogućnost donošenja ejakulata prikupljenog kod kuće. U slučajevima kada partner ne može dati uzorak (medicinske indikacije, spriječenost) uzorak sjemena se može unaprijed zamrznuti i iskoristiti na dan zahvata, s naznakom da je sposobnost takvog sjemena za oplodnju smanjena u odnosu na svježi uzorak.

Upute partneru

Prije nego pristupi masturbaciji, partner treba oprati ruke i spolovilo. Nakon otvaranja, poklopac od sterilne posudice treba odložiti na površinu vanjskom stranom prema dolje (kako bi se minimaliziralo zagađenje). Poklopac dodirivati samo s vanjske strane. Posudu s prikupljenim ejakulatom pažljivo zatvoriti i predati medicinskoj sestri. Partneru se ne preporučuje izlaganje visokim ili preniskim temperaturama dva do tri mjeseca prije zahvata. To se odnosi na saune, vruće kupke (sve više od 38°C) itd. Velike oscilacije u temperaturi nepovoljno utječu na kvalitetu sjemena i time smanjuju uspješnost postupka.

Postupci medicinski pomognute oplodnje

Medicinski pomognuta oplodnja uključuje metode kojima se pomaže pacijentima doći do oplodnje, trudnoće i porođaja, na način drukčiji od spolnog odnosa. Postupci se

odvijaju u prirodnom ili u stimuliranom ciklusu. Postupak u prirodnom ciklusu odvija se bez uzimanja lijekova za stimulaciju rasta folikula, uz eventualno dodavanje "štoperice"- injekcije HCG-a. Zbog toga se takav ciklus zove modificirani prirodni ciklus. Pravo na postupak na teret Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje žena ima u pravilu do navršene 42. godine života. Iznimno, nakon 42. godine, iz opravdanih zdravstvenih razloga, liječnik može omogućiti daljnje liječenje. Liječenje neplodnosti obuhvaća četiri inseminacije i šest IVF postupka (dva moraju biti u prirodnom ciklusu). Tim stručnjaka koji obavljaju postupke medicinski pomognute oplodnje čini liječnik subspecijalist humane reprodukcije, biolog-embriolog stručnjak u radu sa spolnim stanicama i zamecima te medicinska sestra educirana za rad u području reproduktivne medicine.

Medicinski pomognuta oplodnja provodi se primjenom sljedećih postupaka:

1. Intrauterina inseminacija (IUI) – AIH (Artificial insemination by husband)
2. Izvantjelesna oplodnja (IVF – *In vitro fertilisation*)
3. Intracitoplazmatska mikroinjekcija spermija (ICSI – intracytoplasmic sperm injection)
4. Zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica i zametaka
5. Prijenos zametaka (Embriotransfer)

1. Intrauterina inseminacija - AIH

Intrauterina inseminacija je jedna od najstarijih metoda liječenja i potpuno je bezbolna. Cilj je u vrijeme ovulacije pospješiti i povisiti brojnost i kvalitetu spermija na mjestu oplodnje. Ovom metodom se izbjegne cervikalna sluz žene koja je moguća prepreka ulasku spermija. Uspješnost inseminacije nije visoka, tek oko 15%, no koristi se zbog svoje jednostavnosti. Tijekom pripreme za ovaj postupak, pacijentica odlazi prije ovulacije na ultrazvučne kontrole da bi se pratio rast folikula, tzv. folikulometrije.

Priprema pacijenata i postupak

Prethodnom aplikacijom „štoperice“ moguće je postići najbolji trenutak za zahvat. Na dan zahvata, planiran je dolazak u Kliniku za ginekologiju i opstetriciju u ranim jutarnjim satima (do 8 sati). Partner daje sjeme u masturbatoriju, a pacijentica se priprema za zahvat tako što oblači spavačicu i papuče, te nakon pripreme sjemena

odlazi u operacijsku salu. Biolog analizira ejakulat prema određenom protokolu. Time odvaja najbrže i najkvalitetnije spermije koji će se koristiti za inseminaciju. Takvi spermiji se nakon obrade uvode u poseban kateter kojim ginekolog subspecijalist humane reprodukcije uvodi sjeme kroz rodnicu i vrat maternice u maternicu. Spermiji tada spontano nastavljaju put prema jajovodu gdje se odvija oplodnja. Za pacijenticu je zahvat u potpunosti bezbolan. Nakon zahvata, pacijentica ostaje ležati 2 sata, nakon čega odlazi kući. Ostatak dana nije potrebno ležati, no preporuča se izbjegavati teške fizičke napore. Partneri se ne trebaju suzdržavati od spolnih odnosa, štoviše spolni odnosi se preporučuju isti dan uvečer nakon inseminacije i ujutro idući dan.

2. Izvantjelesna oplodnja – IVF

Izvantjelesna oplodnja je postupak u kojem se folikuli punktiraju, aspiriraju se jajne stanice te se u točno određeno vrijeme tijekom ovulacije i oplođuju pročišćenim i pripremljenim sjemenom izvan tijela pacijentice, u laboratoriju. Otprilike 20 sati nakon oplodnje provjerava se uspješnost i ukoliko je došlo do oplodnje, zigota se prebacuje u medij koji podržava daljnji rast i razvoj zametka, koji se transferira u maternicu pacijentice.

Priprema pacijenata i postupak

Na dan zahvata, planiran je dolazak u Klinikum za ginekologiju i opstetriciju u ranim jutarnjim satima (do 8 sati). Partner daje sjeme u za to predviđenoj prostoriji, a pacijentica se priprema za zahvat tako što oblači spavačicu i papuče. U operacijskoj sali, anesteziolozi pripremaju pacijenticu za zahvat. Pacijentica dobije kratkotrajnu, opću anesteziju na masku. Time je punkcija potpuno bezbolna. Punkcija se odvija pod kontrolom ultrazvuka. Nakon aspiracije, biolog pregledava aspiriranu tekućinu i provjerava jesu li prisutne jajne stanice i u kojem broju. Pacijentica se nakon zahvata premješta na intenzivnu njegu gdje boravi dva sata, nakon čega se premješta u bolesničku sobu, te se potom otpušta kući.

Biolog, dalje, u laboratoriju inseminira jajne stanice sjemenom partnera te spermiji sami plode jajne stanice. Idući dan pregledava uspješnost oplodnje te javlja paru rezultate i informacije o embriotransferu. U jednom ciklusu se može oploditi maksimalno 12 jajnih stanica, a preostale, ukoliko postoje, zamrzavaju se za iduće postupke.

3. Intracitoplazmatska mikroinjekcija spermija – ICSI

ICSI je metoda mikromanipulacije kod koje se spermij aplicira direktno u citoplazmu jajne stanice uz pomoć specijalnih igala invertnog mikroskopa (Slika 7). Ova metoda najčešće se koristi kod parova koji su suočeni sa muškim sterilitetom, ali i kod parova koji nisu imali uspjeha sa IVF metodom. Kao i kod postupka IVF-a prvo partner daje ejakulat koji se obrađuje, zatim slijedi aspiracija jajnih stanica iz jajnika te biolog-embriolog dalje u laboratoriju postupkom odstranjivanja vanjskih omotača jajne stanice, pregledava kvalitetu jajnih stanica i određuje koje stanice su kompetentne za oplodnju. Samo zrele stanice se mogu oploditi ICSI metodom - injekcijom kvalitetnih spermija u jajnu stanicu. Nakon mikroinjekcije oplodene jajne stanice pohranjuju se u inkubator do slijedećeg dana te će biolog-embriolog javiti pacijentima uspješnost oplodnje. Kao i kod postupka IVF-a ako se zametci normalno razvijaju slijedi embriotransfer 3. ili 5. dan.



Slika 4. unos spermija u jajnu stanicu (ICSI)

Priprema pacijenata

U vrijeme zakazanog termina potrebno je doći u Kliniku za ginekologiju i opstetrijicu. Partner daje uzorak sjemena u bočicu koju je dobio od medicinskog osoblja klinike. Biolozi obrađuju sjeme, a za to vrijeme pacijentica se priprema za zahvat tako što se preodjene u spavaćicu i papučice, te bude upućena u operacijsku dvoranu.

4. Zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica i zametaka

U svakom postupku, maksimalno se može transferirati dva zametka u maternicu pacijentice. Preostali zametci se zamrzavaju za iduće postupke liječenja ukoliko se pacijenti na to odluče. Zamrznute jajne stanice ili zametci se čuvaju do pet godina. Ukoliko kod pacijentice dođe do hiperstimulacije, zametci spremni za embriotransfer se zamrznu te se odmrznu i transferiraju kada se za to ispune preduvjeti. Za svaki

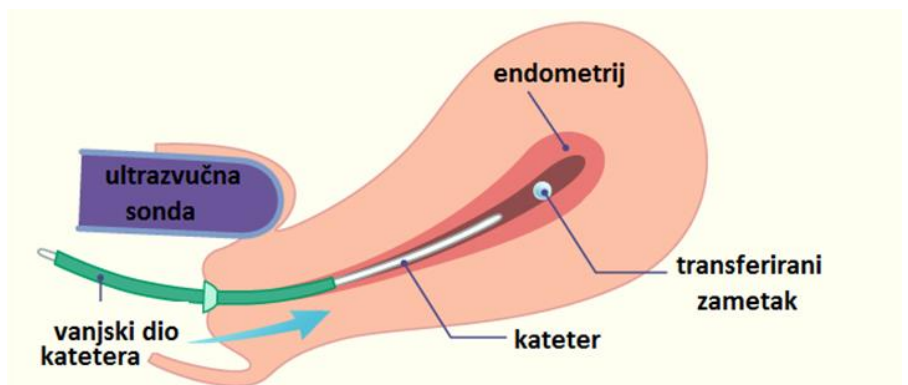
zamrznuti zametak postoji točna evidencija s osobnim podacima pacijentice te u kojem stadiju je zamrznut.

Priprema pacijenata i postupak

Zametci i jajne stanice se smrzavaju postupkom vitrifikacije u tekućem dušiku na -196°C prema određenom protokolu. Postupci zamrzavanja i odmrzavanja su strogo kontrolirani kako ne bi došlo do oštećenja materijala. Nakon zamrzavanja, zametci i jajne stanice se čuvaju u tekućem dušiku u posebnim spremnicima.

5. Embriotransfer

Embriotransfer (Slika 8) je postupak kod kojeg se zametci putem katetera bezbolno ubacuju u maternicu uglavnom uz kontrolu ultrazvuka. Embriotransfer se najčešće obavlja 3. ili 5. dan od punkcije.

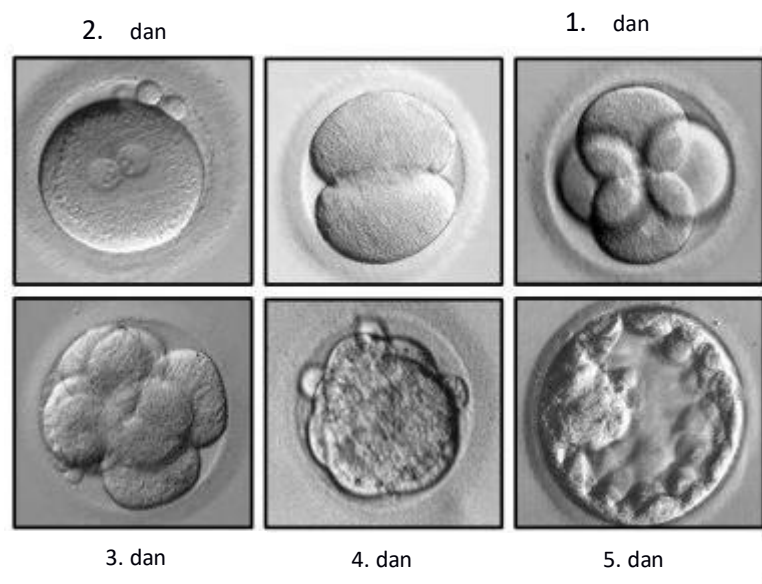


Slika 5. Embriotransfer

Prema hrvatskom zakonu o medicinski pomognutoj oplodnji moguće je transferirati dva zametka, a u izuzetnim okolnostima i tri. Razlog zbog kojeg se izbjegava transfer većeg broja zametaka je rizik od višeploidne trudnoće, te rizik od spontanog pobačaja, i drugih komplikacija u trudnoći.

Nakon embriotransfera potrebno je izbjegavati naporne aktivnosti, dok strogo mirovanje nije potrebno.

U slučaju kriopohranjenih zametaka, ginekolog također obavlja ultrazvučni pregled kako bi se



Slika 6. Razvoj zametka od zigote (1. dan) do blastociste (5. dan)

odredio trenutak za embriotransfer. U nekim slučajevima se dogodi da zametci ili jajne stanice ne prežive proces zamrzavanja i odmrzavanja.

Mogući uzroci neuspjeha postupka

Postoji nekoliko razloga zašto ne dolazi do uspješne implantacije nakon transfera. Jedan od razloga je da su transferirani zametci „nekompetentni“, najčešće zbog nepravilnog broja kromosoma (aneuploidija). Drugi razlog je implantacijska disfunkcija koja sprječava embrij da se pravilno implantira, što je najčešće posljedica tankog endometrija (manje od 9 mm) prvi vrhuncu estradiolske stimulacije, zatim promjene prisutne u šupljini maternice (polipi, fibroidi), te imunološka disfunkcija koja sprječava implantaciju. Osim embrionalnih čimbenika na uspjeh implantacije utječu i brojni drugi čimbenici. Važno je naglasiti da se prilikom oplodnje ne oplode sve jajne stanice, jer mnoge ne uspiju sazrijeti i izlučiti polarno tijelo, a sama stopa uspješnosti oplodnje iznosi oko 70%.

Što je moguće učiniti kako bi se povećala šansa za uspjehom

Zdrava hrana i prehrana te bavljenje fizičkom aktivnošću doprinose poboljšanju općeg stanja organizma te time i povećavaju šanse za začećem kako spontanom, tako i u IVF ciklusu. Suplementacija s antioksidansima (vitamin C, N-acetilcistein, alfalipoična kiselina, vitamin D) utječe pozitivno na stanje spolnih stanica i posljedično dovodi do boljeg razvoja zametaka. Smanjeni ili povećani indeks tjelesne mase (BMI) može utjecati na mogućnost začeća jer je razina masnog tkiva kod žena povezana sa steroidogenezom spolnih hormona i regulacijom menstruacijskog ciklusa. Bez obzira što postoje žene koje imaju BMI izvan normale i mogu spontano začeti, ne znači da BMI možemo izbaciti kao faktor kod žena koje pokušavaju začeti putem IVF-a te prevelika ili premala razina masnog tkiva svakako može utjecati na mogućnost začeća kod pojedinih žena. Stoga je važno održavati normalnu tjelesnu težinu i opće stanje organizma kako i ishod IVF postupka bio pozitivan.

Dodatni izvori informacija:

<https://www.zakon.hr/z/248/Zakon-o-medicinski-pomognutoj-oplodnji>

<http://www.roda.hr/>

<https://www.reproductivefacts.org/news-and-publications/patient-fact-sheets-and-booklets/documents/fact-sheets-and-info-booklets/assisted-reproductive-technologies-booklet/>