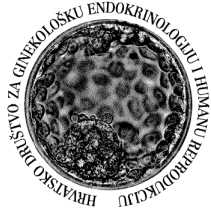


# **Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju**

**Velimir Šimunić**

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



## KLINIČKI POSTUPNICI za medicinski pomognutu oplodnju

**Medicinski pomognuta oplodnja (MPO)** su metode koje liječe dokazanu neplodnost jednog ili oba partnera. Njima se liječi 70 do 80% svih uzroka neplodnosti, ali primjenjuju se tek onda kada su sve ostale metode liječenja ostale neuspješne.

Obradba, odnosno traženje uzroka neplodnosti započinje nakon što u 1 godini zajedničkog života nije došlo do trudnoće. Obradba i liječenje mogu započeti i ranije, ukoliko to diktiraju podaci iz anamneze ili se radi o graničnoj dobi žene za rađanje (blizu 38 godina).

Medicinska obradba, priprema, te liječenje neplodnog para, obavlja se prema svim stručnim i znanstvenim spoznajama, te preporukama relevantnih stručnih udruga. Ona uključuje istovremeno utvrđivanje plodnosti oba partnera. Obaveza je da te aktivnosti vode kompetentni stručnjaci, a to su: ginekolog specijalist (s najmanje 5 g. iskustva), ginekolog supspecijalist humane reprodukcije, urolog ili endokrinolog s iskustvom iz andrologije (odnosno muške neplodnosti). Kirurško liječenje neplodnosti obavlja se isključivo u tercijarnim zdravstvenim ustanovama. Izuzetak su „mali“ endoskopski zahvati (npr. office histeroskopija i dijagnostička laparoskopija).

Nakon medicinske obradbe, a prema indikacijama, obavezno se **odabire što jednostavnija metoda liječenja**, dokazane uspješnosti, a najmanjeg rizika za pacijenticu i djecu. Ranije i brže usmjeravanje na složene metode liječenja, dopustivo je u žena starijih od 36 godina i u onkofertilitetnim postupcima.

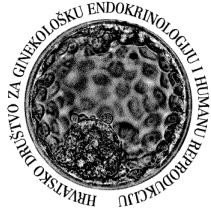
Nakon detaljne anamneze u oba partnera obavezne su prije MPO slijedeće pretrage:

- testovi za hepatitis i HIV
- utvrditi visinu, težinu, ITM (indeks tjelesne mase)
- utvrditi ostale epigenske rizike i štetne navike
- isključiti lokalne upale, antitijela na klamidiju

Posebne medicinske pretrage su:

### Žene:

- utvrditi normalnost spolnih organa – ginekološki pregled, UZV, IS, sono HSG, rtg HSG, histeroskopija, laparoskopija
- istražiti menstruacijski ciklus i ovulacije, te funkciju žutog tijela
- utvrditi folikularnu rezervu jajnika – FSH, E<sub>2</sub>, AMH, AFC
- utvrditi funkciju štitnjače – preporuka je za razinu TSH ≤ 2,5



### **Muškarci:**

- spermioigram (event. 2 do 3 puta ponoviti)
- u slučaju infertilnog sjemena
  - DNK fragmentacija
  - urološka obradba
  - Y-mikrodelacija i druge genske nenormalnosti
  - hormonska obradba.

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

### **Artificijelna inseminacija**

**Homologna inseminacija – artificial insemination husband (AIH).** Može biti: intrauterina inseminacija (IUI) ili intratubarna inseminacija (ITI). Indikacije su iste:

- slab cervikalni faktor, stanje nakon operacija cerviksa
- supfertilan spermioigram
- nepovoljan postkoitalni test (PCT)\*
- imunološki 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 s WHO I/II anovulacijama – može se dovršiti s AIH.

Preduvjet za artificijelnu inseminaciju: dokazano prohodni jajovodi

Postupak uključuje:

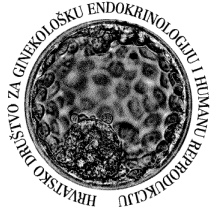
- predviđanje ovulacije – klinički, UZV, hormonski
- standardne metode pripreme sjemena u embriološkom laboratoriju uz koncentraciju pokretnih spermija
- inseminacija pripravljenog sjemena transcervikalno u maternicu (IUI) ili početni dio jajovoda (ITI)
- inseminacija se izvodi taktinom tehnikom, uz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

Artificijelna inseminacija se treba obaviti u:

- 3 prirodna ciklusa
- 3 ciklusa sa stimulacijom ovulacije (blaži protokoli)\*

Nakon 6 AIH postupaka koji su zadovoljavajuće obavljeni, a nije došlo do trudnoće, liječenje se nastavlja IVF-om. Kada se stimulacijom ovulacije ne postigne mono ili bifolikulogeneza i ukazuje se rizik višeploidnosti, postupak se iz AIH konvergira u IVF, ili se odustaje od postupka.

Kod nerazjašnjene neplodnosti savjetuje se odmah započeti s inseminacijama u stimuliranom ciklusu. Očekivani uspjeh AIH po ciklusu u žena mlađih od 38 godina je 10-15%,



a kumulativno u 6 ciklusa 50-55%. Sve su metaanalize utvrdile prednost IUI-a nad tempiranim odnosom. Stimulirani ciklus daje bolji uspjeh od prirodnog.

\*Principi stimulacije ovulacije u posebnom poglavlju.

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

#### Rizici AIH su:

- odustajanje
- višeploidne trudnoće
- hiperstimulacija jajnika (OHSS)
- alergička reakcija na inseminirano sjeme
- upala zdjeličnih organa

#### Heterologna inseminacija – artificial insemination donor (AID)

Darovanim sjemenom liječi se potpuna neplodnost partnera, azoospermija (sekrecijska). Indikacija za AID može biti i ponavljani izostanak oplodnje u IVF/ICSI postupcima zbog oštećene spermatogeneze.

Za AID koristi se zamrznuto sjeme darovatelja za koje je obavezan podroban probir (propisan Zakon i podzakonski akti).

Uspjeh liječenja u jednom kontroliranom ciklusu s AID kreće se između 15 i 25%. Stimulacija ovulacije povisuje uspješnost. Tek **kada u 6 ciklusa s AID** ne dođe do trudnoće, opravdan odabir je izvantjelesna oplodnja s doniranim sjemenom – IVF/AID.

Principi AID u pripremi pacijentica i tehnici zahvata jednaki su AIH.

#### Stimulacija ovulacije za MPO

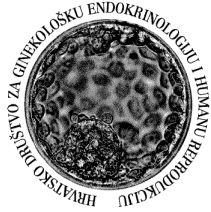
Različiti su principi stimulacije ovulacije (SO) za IUI i IVF. Temeljni ciljevi su postići:

- AIH/AID – monofolikularnost (uz ev. 1 kodominantni folikul)
- IVF/ICSI – višefolikularnost (6 do 12 oocita) uz minimalne rizike

#### Stimulacija ovulacije treba biti:

- indicirana
- individualizirana
- kontrolirana

Kako bi se ispunili navedeni kriteriji i izbjegla rizičnost primjene fertilitetnih lijekova, obaveza je da stimulaciju ovulacije provode subspecialisti humane reprodukcije. Prosječne dnevne ili ukupne doze fertilitetnih lijekova preporuka su HDHR, temeljene na znanstvenim dokazima.



### Priprema i planiranje individualizirane SO sastoji se:

- anamnestički podaci o ciklusu, prethodnom liječenju, dobi žene
- fizikalni pregled, ITM
- hormonska obradba – prema indikacijama, selektivno i racionalno
  - FSH, LH, PRL, E<sub>2</sub> (bazalne vrijednosti)
  - T3, T4, TSH, antitiroidna protutijela
  - Androgeni, inzulin, IR
- utvrđivanje pričuve – rezerve jajnika (UZV, hormoni)
  - broj antralnih folikula veličine 2-10 mm – antral follicular count – AFC
  - antimüllerov hormon – AMH

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

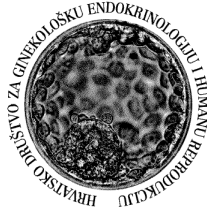
Tablica 1. Očekivani odgovor jajnika na SO na temelju prethodnih nalaza, a izražen očekivanim brojem folikula – oocita

Navedeni nalazi, biljezi pričuve jajnika, upućuju samo na kvantitativan odgovor, ali ne koreliraju s kvalitetom i euploidijom oocita. Stoga nemaju izravnu prediktivnu vrijednost konačnog uspjeha.

Osim navedenih biljega rezerve, za odabir protokola stimulacije ovulacije (SO) i doze fertilitetnih lijekova, neophodno je voditi računa o: dobi žene, prethodnim postupcima i ITM.

### Lijekovi za stimulaciju ovulacije

- **clomiphene citrat** tablete per os
    - doza i trajanje: 50-150 mg/dn – od 2. ili 3.d.c. kroz 5-10 dana
    - napomena: u 20-30% pacijentica oskudna CS i tanji endometrij. Ne preporučuje se uporaba u više od 10 ciklusa
  - **letrozol** tbl. (rjeđe anastrozol) per os
    - doza i trajanje: 2,5-5 mg/dn – isto kao clomiphene
    - napomena: nema tu indikaciju u svim zemljama, ne povisuje značajno estradiol u krvi, optimalan za onkofertilitetne postupke
  - **tamoxifen** se koristi rijetko (kao zamjena za klomid ili letrozol)
- Koriste se sami, uz ovulacijski okidač, uz gonadotropine u kombinaciji
- **gonadotropni hormoni** – rekombinantni ili pročišćeni urinski



- folitropin alfa – FSH (Gonal F)
- folitropin beta – FSH (Puregon)
- folitropin pročišćeni – HP FSH (Menopur)
- lutropin alfa – LH (Luveris)
- folitropin alfa i lutropin alfa – FSG/LH (Pergoveris)
- corifolitropin alfa-depo FSH (Elonva)
- humani chorionski gonadotropin alfa – HCG (Ovitrelle)
- chorionski gonadotropin (U) – HCG (Brevactid, Choragon, Pregnyl)

### Stimulacija folikulogeneze

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

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

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

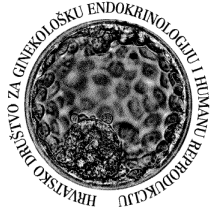
U uporabi su ampule gonadotropina s 50/75 i.j. ili sustavi s dozerom od 300, 600 ili 900 i.j. (pen).

Do danas nije utvrđena statistički značajna prednost pojedinog preparata u pogledu učinkovitosti, uspjeha ili rizika.

Naziv	Protokol mogući lijekovi	Cilj broj folikula/oocita	MPO postupak	Ukupna prosječna doza GN	Uspjeh kliničke TR
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 th? - HCG	7-12	- IVF	1900 i.j.	30-45%

TR –kliničke trudnoće, GN –gonadotropini (FSH) → prosječno žene < 38 g.

Tablica 2. Protokoli stimulacije ovulacije i preporuka za dozu gonadotropina (+/- 150 i.j.)



## Lijekovi za supresiju endogenog LH

### Agonisti GnRH

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

### Antagonisti GnRH

- cetrotexil (Cetrotide 0,25 mg/depo 3 mg)
- ganirelix (Orgalutran 0,25 mg)

Postoje dokazi da produženo davanje clomiphene citrata (klomid) koči LH pred ovulaciju. Navedeni lijekovi primjenjuju se svakodnevno ili kao depo preparati.

### Dodatni, adjuvantni lijekovi

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

Za korist adjuvantnih lijekova u MPO ne postoje čvrsti znanstveni dokazi niti jedinstveno mišljenje. Preporuka je da ih treba koristiti uz indikaciju i oprez.

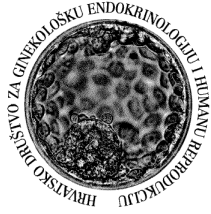
### Lijekovi za konačno dozrijevanje oocita – ovulacijski okidač

- humani chorionski gonadotropin – HCG (5000-10000 i.j.)
- agonisti GnRH – npr. Decapeptyl 0,2mg/subcut.
  - samo u ciklusima s antagonistima GnRH
  - neophodan dodatak HCG-a 1500 i.j. (za 1-2 dana) tj. na dan aspiracije oocita
- rekombinantni LH

### Lijekovi za pomoć žutom tijelu

- progesteron per os
  - mikronizirani (Utrogestan 3x200 mg/dn)
  - didrogesteron (Duphaston 2-3x 10mg/dn)
- progesteron vaginalno
  - 8% gel (Crinone)- 1 puta dnevno
  - mikronizirani (Utrogestan 3x200 mg/dn)
- progesteron I.M. (50mg/dn)
- humani chorionski gonadotropin (HCG) – I.M./subcut.
  - 3-5 puta tijekom faze žutog tijela (po 1500 i.j.)

Ne postoje dokazi o prednosti bilo kojeg od navedenih preparata, a mogu se i kombinirati. Uz HCG je povišen rizik OHSS. Ti se lijekovi započinju danom ovulacije (aspiracije oocita) i daju 5-10 tjedana. U posebnim indikacijama navedenim lijekovima dodaje se i višednevno **estradiol (2-6 mg/dn)**.



### Perikonceptijski dodaci dokazane učinkovitosti

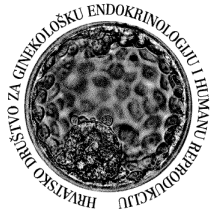
- folna kiselina – vitamin B9 (0,5-1,5 mg/dn)
- željezo – Fe – posebno uz dokazanu anemiju
- jod i vitamin D – uz očekivani manjak
- pravilna prehrana s dovoljno proteina (na pr. mediteranska)

### Temeljni znanstveno dokazani principi SO

- **nije dokazana prednost paralelnih preparata**
  - Klomid i Letrozol
  - različiti preparati FSH-a
  - različiti preparati HCG-a
  - agonista GnRH nad antagonistima, fleksibilnih nad fiksnim protokolima
  - različitih preparata za pomoć CL-ma
- **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  $\geq 400$  i.j. nije opravdano niti u poor respondera
  - ukupna doza  $\geq 2500$  i.j. vrlo rijetko je opravdana
  - uz 3 ili manje oocita uspjeh IVF-a je vrlo nizak
- **agonisti GnRH i antagonisti GnRH** u svim protokolima postižu bolje rezultate nego SO samim FSH (bez analoga)
  - viša je uspješnost – CPR (clinical pregnancy rate)
  - manje odustajanja
  - uz antagoniste je manje odustajanja nego uz agoniste
- **niži rizik hiperstimulacije jajnika (OHSS)** se postiže
  - propisanom pripremom pacijentica za SO
  - nižom dozom FSH
  - step up/ili step down protokolima
  - koterapija metforminom
  - koterapija antagonistima
  - bez HCG-a u SO i fazi žutog tijela
  - coasting 1-3 dana (nikako ne duže od 5 dana)

Ovi su principi posebno učinkoviti u PCOS pacijentica odnosno hiperrespondera.





## Protokoli za stimulaciju ovulacije za MPO/IVF

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

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

- **bazalno određivanje hormona** – E2, P4
- **serijsko mjerenje folikula** UZV 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  $\geq 4000$  pg/ml – rizik za OHSS
  - P4 povišen ( $>3,2$  nmol/L) – nepovoljan znak luteinizacije
- **veličina folikula** (uz povoljnu razinu hormona) indicira
  - 14-15mm počinje se s antagonistima GnRH
  - 17-18mm (2-3 folikula) – daje se ovulacijski okidač nakon kojeg je za  $\approx 36$ h ovulacija

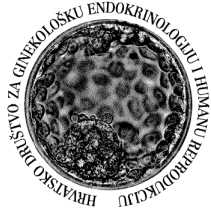
## Predtretman za SO

Koristi se radi programiranja ciklusa, izbjegavanja rada vikendom ili poboljšanja rezultata. Odabir provjerene učinkovitosti može biti:

- daju se u ciklusu pred SO za IVF ciklus
- oralna hormonska kontracepcija – 1 do 2 ciklusa
- estradiol – 4mg dnevno/6-10 dana
- progestageni – 6-10 dana

Preporuka HDGEHR za optimalnu početnu dozu gonadotropina (FSH) u SO – tablica 3.

Kriterij	Doza FSH dnevno	Dodatak	alternativa
dob < 30 g. 30-35 g. > 35 g.	100 i.j. 150 i.j. 250 i.j.	agonist/antagonist agonist/antagonist agonist/antagonist	Prirodni c. Clomid Letrozol Cl+GN
<u>rezerva jajnika</u> 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 E2max<500pg/ml	225-300 i.j.	agonist ili bolje antagonist	prirodni c. blagi protokoli
AMH<5 VPR AFC<4 FSH>15	225-400i.j.	antagonist	blagi protokol odustajanje donacija oocita



NR – normal response, HR – high response, PR - poor response, VPR – very poor response

- AMH>30pmol/L – rizik za OHSS 30-40%
- AMH≤7pmol/L – 70% rizik za PR ili VPR, odnosno odustajenje
- HR – odnosno PCOS pacijentica u IVF-u u našoj zemlji zastupljene s 30%
- AMH ima dosta širok raspon normale, i kod vrlo niskog zabilježene su trudnoće. AMH<7 pmol/L i AFC 3-7 – ukazuju na vrlo slabu prognozu.

### **Najčešći preporučljivi protokoli za SO za MPO**

Preporuke HDGEHR 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 SO**

#### **1. Blagi protokoli**

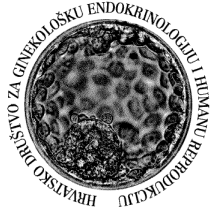
- a. Clomiphene citrat 50-100 mg/dn – 5-10 dana
- b. Letrozol 2,5-5,0 mg/dn – 5-10 dana

Moguće kombinacije sa:

- FSH niske doze – 3-4 dana
  - antagonisti GnRH fleksibilno – 3-4 dana
  - HCG – okidač ovulacije
- c. FSH niske doze (50-150 i.j. dnevno) od 5./6. d.c. kroz 4-5 dana – uz antagoniste i HCG

#### **2. Standardni protokoli**

- a. protokoli sa agonistima GnRH
  - 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 ciklusaagonisti GnRH primjenjuju se do zrelosti folikula (okidača ovulacije)
- b. protokoli s antagonistima GnRH
  - fiksni – od 6./7. dana folik. faze svakodnevno do zrelosti folikula
  - fleksibilni – od veličine folikula 14mm u promjeru svakodnevno do zrelosti folikula
  - depo – 6. dana folik. faze jednokratno 3 mg
  - dvokratni – u početku fol. faze zbog povišenog progesterona (>3,2 nmol/L) 3 do 4 dana. Ponovno od veličine folikula ≥ 14mm



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

- c. protokol s corifollitropinom alfa (depo FSH)
  - antagonisti fleksibilno
- d. protokoli uz rizik teže hiperstimulacije jajnika (OHSS)

Rizik se predviđa i utvrđuje kliničkim znakovima PCOS i:

- visok AMH (>30 pmol/L)
- visok AFC (>20)
- prethodnim IVF ciklusima s OHSS
- folikula u jajnicima većim od 12mm >20
- E2 u fol. fazi  $\geq 4000$  pg/ml

Protokoli, lijekovi i postupci koji su dokazano učinkoviti:

- antagonisti GnRH, metformin
- prekid postupka – odustajanje
- prekid SO – coasting na 1-5 dana (do pada E2)
- unilateralna punkcija folikula (dan prije ovulacije)
- izbjegavanje – zamjena HCG-a kao okidača ovulacije
  - agonist GnRH (samo kod protokola s antagonistima)
  - rekombinantni LH
- planiran ET – Cabergolin 0,5mg/dn 6-8 dana od aspiracije
- odustajanje od ET – freeze all postupak – letrozol, antagonisti u fazi žutog tijela

\* Svi navedeni postupci prevencije težeg OHSS nisu uniformno prihvaćeni, niti čvrsto znanstveno dokazani. Kako je 30% IVF pacijentica u ozbiljnom riziku teže OHSS (koja je po život opasno stanje), opravdana je preporuka da SO treba voditi iskusen subspecijalist humane reprodukcije.

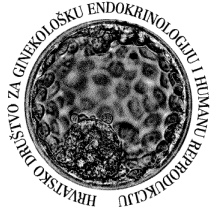
## Izvantjelesna oplodnja i intracitoplazmatska injekcija spermija u jajne stanice

Izvantjelesna oplodnja – in vitro fertilizacija (IVF) i intracitoplazmatska injekcija spermija u jajne stanice – intracytoplasmatic sperm injection – ICSI, su najsloženije, najuspješnije i najskuplje metode MPO u liječenju neplodnosti. One nisu bezazlene, već nose rizike za pacijentice i djecu. Koriste se kada su indicirane i kada su svi drugi, jednostavniji oblici liječenja ostali bezuspješni. Načelno je:

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

Mogu biti **homologne** – kada koriste obje gamete neplodnog para, i **heterologne** – kada se koristi jedna od gameta koja je darovana.

Liječenje s IVF/ICSI može se primjeniti i ranije, ukoliko se radi o ženi  $\geq 36$  godina ili o onkofertilitetnom postupku.



---

## 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	- poor responders
liječena neplodnost > 3 g.	nejakulirano sjeme
- blaža do srednja muška	- kirurški dobiveno
- neuspjeh AIH/AID	- retrogradna ejakulacija
- ostalo liječenje	- elektrostimulacija ejakulacije
idiopatska neplodnost	onkofertilitetni postupci
udruženi uzroci	sekundarni ICSI
dob žene > 36 godina	uvjetno i plan za PGD

---

U trajanje neplodnosti i prije odluke za IVF/ICSI valja uračunati prethodni pasivni postupak, NAPRO pristup i ciljano liječenje. **Anovulacije nisu primarno indikacija za IVF.** Tek nakon 6 lijekovima induciranih ovulacija, bez trudnoće, usmjerenje je na IVF.

**Nije opravdana primjena ICSI** za sve parove, jer je ta metoda rizičnija. Svjetske udruge i autoriteti objektivno savjetuju primjenu ICSI za 70% pacijentica.

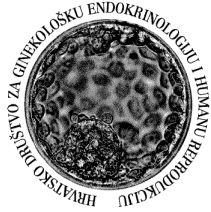
Znanstveno je dokazano da posebna priprema parova i liječenje koje prethodi IVF-u, značajno poboljšava (i do 50%) rezultate MPO (evidence based medicine):

- |  |                                  |
|--|----------------------------------|
| - normalizirati ITM (20-25 kg/m <sup>2</sup> ) | - liječenje upala                |
| - prestanak pušenja                            | - operacije                      |
| - smanjiti uporabu:                            | - hidrosalpinksa OR 2,31         |
| - alkohola                                     | - submukoznog mioma OR 2,03      |
| - kave   | - endometrioma >4cm OR 1,76      |
| - čaja   | - adenomioze OR 1,56             |
| - izbjegavati štetnost okoline                 | - septuma uterusa OR 2,67        |
| - umjerena fizička aktivnost                   | - polipa endometrija OR 1,15     |
| - zdrava prehrana                              | - PCOS i inzulinska rezistencija |
| - dodatak folne kiseline, željeza              | - driling/metformin              |
|  | - hipotireoza liječenje          |
|  | - probni ET                      |

U pripremi pacijentica treba utvrditi sve zdravstvene rizike koji su važni za uspjeh IVF-a, moguće rizike anestezije/analgezije i perinatološke 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 zadnjih godina u RH s IVF/ICSI se liječe žene s 4 godine kašnjenja, a u dobi:

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

U **žena starijih od 35 godina** koje se liječe IVF-om, dvostruko je češće odustajenje, dvostruko je manje oocita i 2 puta je niži uspjeh, a značajno su češći spontani pobačaji, nego u mlađih žena.

Hrvatsko društvo za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju argumentirano preporučuje da se na naprednu dijagnostiku, endoskopsku kirurgiju i IVF/ICSI, pacijentice žurnije upućuju u Klinike (tercijalne centre), odnosno IVF centre. Predugačak razmak (danas 4 godine) umanjuje uspješnost liječenja.

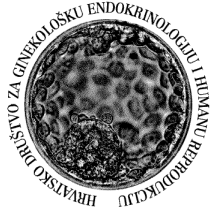
Temeljem anamneze, neuspjeha liječenja, obradbe i ponavljanih gubitaka ranijih trudnoća, pripremna obradba za IVF može uključivati i pretraživanje za:

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

Ti se testovi ne preporučuju u primarnoj obradbi, bez indikacije.

### **Etape IVF/ICSI postupka jesu:**

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

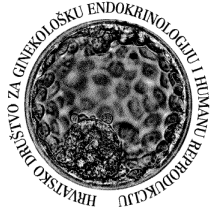


**Napredni postupci** u embriološkom laboratoriju su moderna nadogradnja nad standardni IVF:

- napredni odabiri kompetentnih gameta
- zamrzavanje (sporo ili vitrifikacija)
  - spermija
  - jajnih stanica
  - zametaka
  - spolnih tkiva
- pomognuto izlijeganje zametaka
- kultura blastocista
- morfokinetika embrija
- biljezi kvalitete zametaka
- izvantjelesno dozrijevanje oocita – IVM
- biopsija zametaka i analiza kromosoma
  - PGD, PGS
- odabir spola iz medicinskih razloga

#### **Glavne odrednice Zakona o medicinski pomognutoj oplodnji (MPO) u RH**

- MPO su dopustive kao krajnje metode liječenja neplodnosti, nakon što su ostale metode ostale bezuspješne. Obavezna je briga o minimalnim rizicima
  - Dopušteni su svi navedeni oblici liječenja MPO, IVF i ICSI, te napredni embriološki postupci. Homologni i heterologni postupci MPO
  - Struka je obavezna nastojati koristiti takvu pripremu i SO da se ne dobiva više od 12 oocita. Prenijeti se mogu najviše 2 zametka u ET (DET). Time se bitno umanjuju rizici OHSS i višeploidnosti. Ponavljani OHSS i komplikacije trebaju biti razlog za poseban inspekcijski nadzor u tom IVF centru.
  - Neplodni par uz stručni savjet sam odlučuje o SO, o broju oocita za oplodnju, kriopohrani zametaka ili oocita, ET jednog ili dva zametka
  - Dopušteno je darivanje sjemena ili oocita, te darivanje duže od 5 godina ostavljenih embrija. Ostavljena je mogućnost da 16 g. dijete identificira biološkog roditelja
  - Obavezna je briga za onkofertilitetne postupke
  - Zdravstveno osiguranje (HZZO) pokriva troškove u potpunosti za žene do navršene 42 godine:
    - 6 postupaka AIH/AID (od toga 3 u prirodnom ciklusu)
    - 6 postupaka IVF/ICSI (od toga 2 u prirodnom ciklusu)
    - sekundarne i kriopostupke
    - donacijske programe obavljene u RH
- 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 ostalog, važno je istaknuti:

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

### **Klinički postupci u IVF-u**

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

#### **Primarni IVF**

1. kontrola ciklusa i predviđanje ovulacije
2. aspiracija jajnih stanica (AJS)
3. embriotransfer (ET)

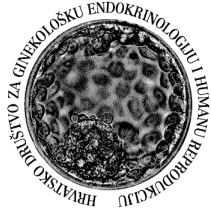
#### **Sekundarni IVF – kriotransfer**

1. kontrola zrenja endometrija do receptivnosti
  - prirodni ciklus
  - dodatak estrogena
2. embriotransfer – ET

### **1. Kontrola ciklusa stimulacija i predviđanje ovulacije opisane su ranije**

Ponovit ćemo samo temeljne principe:

- 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 endometrioze, položaj jajnika
- optimalno folikuli rastu 1-2 mm dnevno – srednji promjer
- optimalan je sinkroni rast više folikula
- izdvojeni folikul koji brže raste obično je prazan („empty follicle sy“)
- produženi prirodni ciklus – očekivati sporiju folikulogenezu
- signal za primjenu antagonista – folikuli 14mm 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) > 2ml
  - trolinijski hipoehogeni endometrij > 7 mm
  - E2 razina po zreloom folikulu oko 200 pg/ml
  - kada je u – 1. danu (dan prije AJS) nizak HCG u krvi, ponavlja se ovulacijski okidač
- određivanje hormona na predvidiv dan HCG-a
  - E2  $\geq 4000$  pg/ml ukazuje na rizik OHSS (30-40%)
  - E2 < 500 pg/ml ukazuje na PR (POR) < 4 oocite i uspjeh < 15%
  - LH porast – prijevremena luteinizacija
  - P4 > 3,2 nmol/L – prijevremena luteinizacija – nizak uspjeh
- zadnja primjena analoga GnRH – 12-24h prije HCG-a



- aspiracija oocita 34 do 36 sati nakon HCG-a
- ponekad je indiciran dodatak u SO – HCG-a, LH-a

Prirodni ciklus	– isti principi uz korist CS, LH određivanja
	- neki sugeriraju manje dimenzije zrelog folikula i razinu E2 100-200 pg/ml
Endometrij	- isti principi kontrole UZV
	- od 5. dana ciklusa zadebljava 0,5-1mm dnevno
	- po potrebi dodatak estradiola – 4 do 6 mg/dnevno

## 2. Aspiracija jajnih stanica (AJS) je zahtjevan i ponekad rizičan kirurški zahvat. Principi jesu:

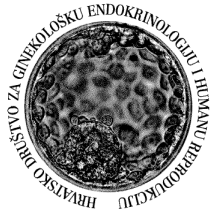
### a) priprema pacijentica – ranije i na dan AJS

- utvrditi opće bolesti (dijabetes, alergije, anafilaksije, tlak)
- utvrditi anatomske odnose (pregled i UZV)
  - dubina rodnice
  - krvne žile na putu punkcije
  - položaj jajnika
  - ciste i endometriome
  - hidrosalpinks
- plan punkcije
- po potrebi planirati i laparoskopski AJS

### b) AJS

- obavezno 6 sati bez hrane
- obavezna anestezija ili analgosedacija
- venski put i ev. infuzija
- dostupna mogućnost reanimacije i antišok terapije
- potpuna asepsa i ispiranje rodnice netoksičnim otopinama
- odabrati povoljniji jajnik za početak punkcije
- AJS sa što manje punkcija – prolaza kroz stijenku rodnice
- maksimalno se sondom približiti jajniku
- izbjegavati vehementne pokrete
- optimalan neg. tlak – 150 mmHg je primjenjen samo kada 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 – ev. 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 sterilne instrumente za hemostazu





### 3. Embriotransfer - ET

Nježan embriotransfer važan je preduvjet uspjeha IVF-a/ICSI-a. Obavlja se 2, 3 ili 5 dana nakon AJS, 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 PGS-a. Dokazano je da ET:

- blastociste povisuje uspjeh u odnosu na dva dana raniji ET (OR 1,35 CI 1,05-1,74) ali je i vjerojatnost izostanka ET 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 tvrđeg (OR 1,25 CI 1,02-1,53)

Otežani ET može se očekivati kod nuligravida, dugačkog nepravilnog cerviksa, stenozе i ožiljci nakon zahvata i operacija. Zato se savjetuje:

- prethodni pregled, UZV, cervikometrija
- ranija dilatacija cerviksa i probni (mock) transfer
- ET uz pomoć UZV povisuje uspjeh u odnosu na taktilnu tehniku (OR 1,31 CI 1,18-1,46)
- zameci se istiskuju (odlažu) 2 cm ispod fundusa
- volumen istisnutog medija za ET 10 do 20  $\mu$ L
- brzina ET – manje od 2 minute
- mirovanje nakon ET – dovoljno 30 min.
- izbjegavati stvaranje neg. tlaka kod izvlačenja katetera i kanile
- paziti na asepsu, netoksičnost, odstraniti CS
- spolni odnosi nakon ET 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%.

### Očuvanje osobne plodnosti

Očuvanje osobne plodnosti postupci su koji su danas sve više u uporabi. Razlozi su odgađanje rađanja, planiranje reprodukcije u četrdesetim godinama života, štetni okolinski učinci na sustavno umanjenje plodnosti i veća vjerojatnost da starenjem dolazi do bolesti reproduktivnog sustava. Time su krioprezervacija gameta ili spolnih tkiva postale važan segment liječenja s MPO.

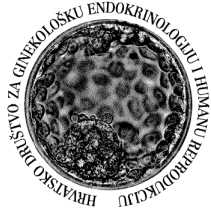
Razlozi jesu:

#### zamrzavanje sjemena

- darivanje sjemena za AID, IVF
- autokonzervacija
  - promjenjiva plodnost
  - pogoršanje plodnosti
  - disfunkcijski problemi
  - dislociranost
  - dob muškarca \*
  - liječenje raka

#### zamrzavanje oocita

- 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



- kirurški dobiveno
  - ozljede kralježnice
  - rizičnost zaposlenja
  - privremeno poboljšanje (uz liječenje)
  - smanjen rizik upala
  - odabir spola
- rizičnost zaposlenja ili okolinske štetnosti
  - darivanje oocita
  - suvišne oocite u IVF-u

\* Indikacije koje nisu eksplicite dopuštene u ovom Zakonu o MPO

### Onkofertilitetni postupci

Na temelju zakonske obaveze HDGEHR preporučuje posebnu i organiziranu brigu za buduću reprodukciju onkoloških bolesnica i bolesnika. Nakon postavljene dijagnoze, a prije liječenja zloćudne bolesti, nužno je žurno (ad hoc) organizirati onkofertilitetni tim koji se sastoji od:

- onkologa (hematologa)
- kirurga
- supspecijalista humane reprodukcije

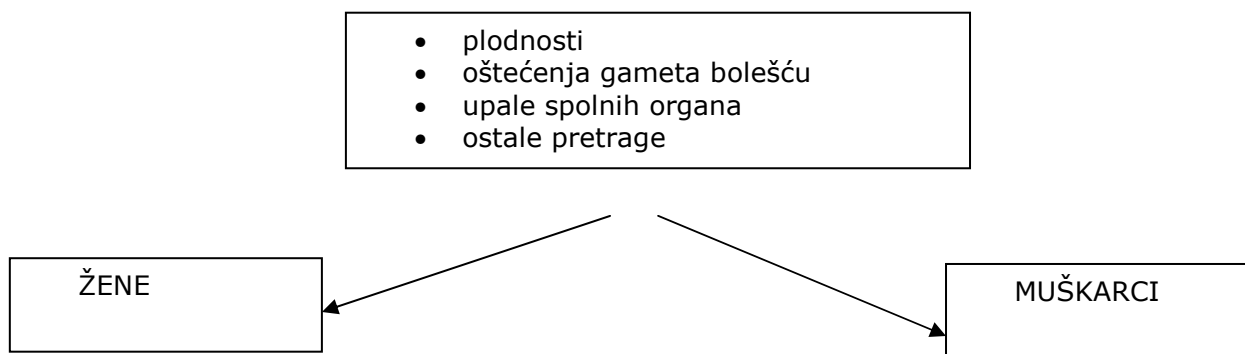
Mogućnost za takvu ekspertizu treba postojati u svakom KBC-u. Navedeni stručnjaci stvaraju plan očuvanja plodnosti oboljelog i obrazlažu potrebu, mogućnosti, uspješnost i rizike takvog postupka. Oboljeli, ili njegovi roditelji potpisuju informirani pristanak. Vjerojatnost izlječenja zloćudne bolesti važan su čimbenik u navedenom razmatranju. Očuvanje plodnosti ima opravdanje ako postupci i trudnoća ne utječu na osnovnu bolest.

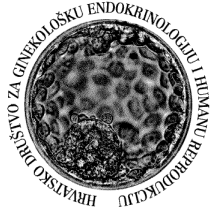
Od važnosti je i dopustiv razmak između postavljene dijagnoze i početka kirurškog ili gonadotoksičnog liječenja. Onkofertilitetni postupak ovisan je i o postojanju partnera, ali u svim situacijama to su bolesnici koji imaju prioritet za obradbu i liječenje.

Prije postupaka za očuvanje plodnosti valja detaljno analizirati plan liječenja, posebno oblik kemoterapije i neophodnost radioterapije. Oblik i protokol dodatnog liječenja ima različite rizike za gonadotoksičnost, privremenu ili trajnu afunkciju gonada. Valja istaknuti da je obaveza 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.

Onkofertilitetni postupci se sastoje od prethodnog utvrđivanja:





- ovisnost tm o estrogenima
- dobivanje oocita
  - 1-2 postupka
  - blagi protokoli SO (letrozol)
  - standardni protokol (niske doze, antagonisti)
- oplodnja i zamrzavanje zametaka ili
- zamrzavanje oocita
- zamrzavanje tkiva jajnika
- transpozicija jajnika – prije Rath
- autotransplantacija kriopohranjenog
  - jajnika, kore jajnika, folikula
  - ortotopična
  - heterotopična
- odabir kemoterapije – protokoli
  - niska gonadotoksičnost
  - dodatak ag GnRH
- uzimanje više uzoraka sjemena ( $\geq 5$ )
- zamrzavanje sjemena
- pohrana više manjih uzoraka
- zamrzavanje tkiva testisa

Sukladno okolnostima (partner), izlječenju 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 usmjerava na donaciju.

Kada se nakon liječenja zloćudne bolesti u žene uspostavi redovit ciklus, tada je u pravilu niža rezerva jajnika, a u svježem IVF ciklusu očekuje se poor response.

### **Rizici i komplikacije MPO**

Nema medicinske intervencije, ni uzimanja lijekova koje su bezazlene i bez rizika. Obaveza je supspecijalista HR da obradom, znanjem i iskustvom utvrdi i umanju moguće rizike, te odabere sigurno liječenje. Želja za brzim uspjehom nikako ne smije nadvladati razum i racionalnost. Neplodnost i dob žene samostalni su rizici i bez IVF-a.

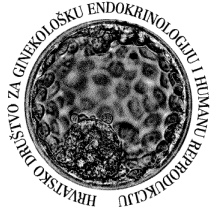
Rizici MPO mogu biti:

- rizici liječenja s MPO/IVF/ICSI
- rizici stimulacije ovulacije
- perinatalni rizici
- psihosocijalni distress zbog liječenja ili neuspjeha (20% parova)

#### **1. Rizici liječenja i zahvata jesu (1-2%)**

a) rizici aspiracije oocita

- rizik anestezije
- krvarenja iz stijenke rodnice
- krvarenja iz jajnika
- ozljede zdjeličnih organa
- upale i apsces

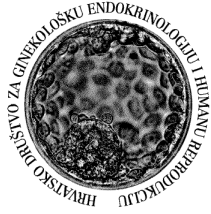


- torzija jajnika
- b) rizici embrioloških postupaka
  - epigenetske mutacije
  - mehaničko oštećenje oocita, embrija (postupci, PGD)
  - ICSI, AHA
  - monozigotni blizanci, vanishing embryo sy
  - zamrzavanje
- 2. Rizici stimulacije ovulacije (2-5%)**
  - učinak na oocite, zametke
  - nereceptivan endometrij
  - poremećaj funkcije žutog tijela
  - sindrom hiperstimulacije jajnika (OHSS) – 1-5%
  - rizik tumora i zloćudnih bolesti – nema konzistentnih niti statistički značajnih nalaza
- 3. 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 s MPO, SO 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. Zato navodimo slijedeće preporuke:

- 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%
  - teža OHSS < 1%
  - minimalni perinatalni rizici
- obaveza anestezije ili analgosedacije za punkciju jajnika
- obavezna briga za ev. komplikacije i perinatalnu skrb
- svaki IVF centar mora osigurati optimalne kadrovske i tehnološke uvjete, koristiti dokazano provjerene lijekove, hranilišta i potrošni materijal. Nužna je mogućnost primjene cjelokupnog programa MPO.
- liste čekanja na IVF/ICSI postupke trebaju biti najduže 6-8 mjeseci



## Kratice

AJS- aspiracija jajnih stanica  
CL – corpus luteum  
CPR – clinical pregnancy rate  
CS – cervikalna sluz  
DET – double embryo transfer  
ET – embriotransfer  
HDGEHR – Hrvatsko društvo za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju (HLZ-a)  
HR – hiper 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 screening  
PR (POR) – poor ovarian response  
SET – single embryo transfer  
TR – trudnoće (kliničke)  
UZV – ultrazvučna dijagnostika, ultrazvuk  
U – urinski preparat

Ovaj postupnik napisao je dr. Velimir Šimunić uz savjete, nadopune i korekcije članova užeg odbora HDGEHR, (HLZ-a). Korištena literatura:

- Postupnici i direktive ESHRE
- Policy and practice Committee of the British Fertility Society
- Cochrane metaanalize
- The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine
- NICE quidelines
- Šimunić i sur: Reprodukcijska endokrinologija i IVF, ŠK, Zagreb, 2012.
- Svjetska recentna važnija literatura

Za HDGEHR:  
Prof.dr.sc. Velimir Šimunić  
supspecijalist humane reprodukcije

Predsjednik HDGEHR