**Postupci medicinski pomognute oplodnje**

* Faze svakog postupka -

*Prof.dr.sc. Velimir Šimunić*

**Medicinski pomognuta oplodnja (MPO)** obuhvaća sve intervencije, kirurgiju i tehnologije kojima se liječi neplodnost. To uključuje – indukciju ovulacije, stimulaciju ovulacije, sve postupke izvantjelesne oplodnje, transplantaciju uterusa i sve vrste intrauterine inseminacije.

**Izvantjelesna oplodnja** je uži pojam. Ona obuhvaća sve intervencije na oocitama, spermijima i embrijima u cilju postizanja trudnoće. Glavne metode jesu – in vitro fertilizacija (IVF), intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI), zamrzavanje zametaka/oocita (kriopohrana – cryo), embrio transfer (ET). Napretkom tih ART (assisted reproductive technologies) etablirale su se dodatne intervencije i tehnologije.

IVF/ICSI su najčešće metode liječenja neplodnosti, ali one se koriste kada su svi jednostavniji oblici liječenja, izjalovili. U RH su u uporabi samo one metode koje su etički prihvatljive, a zakonski dopustive.

**Intrauterina inseminacija (IUI)**

Indikacije za IUI (ili AIH) jesu: nerazjašnjeni sterilitet, blaga endometrioza, muški subfertilitet i oštećen cerviks.

To je metoda kojom se postiže i predvidi točno ovulacija, prije nje se poboljšaju osobine sjemena. Pripremljeno sjeme se inseminira u uterus ili početak jajovoda (ITI – intratubarno). Rezultati su bolji uz stimulaciju ovulacije, ali koristi se i prirodni ciklus. Etape postupka:

* Priprema pacijentice
* uključuje i HSG provjeru prohodnosti jajovoda.
* Stimulacija ovulacije – cilj je monofolikulogeneza
* blagi protokoli
* klomid ili letrozol tablete
* gonadotropini (FSH) sami ili dodatak
* ovulacijski okidač (trigger) je HCG.
* Monitoriranje ciklusa – sazrijevanje folikula
* UZV folikulogenza
* određivanje hormona (LH u urinu, krvi E2).
* Ejakulat – masturbacijom 1-2 sata prije ovulacije
* Priprema sjemena u embriološkom laboratoriju
* ispiranje, koncentracija, dohrana.
* Inseminacija (>5 milijuna/ml pokretnih spermija)
* ginekološki postupak, spekula
* nježno se uvede kateter u uterus i polako istisne pripremljeno sjeme.

Bez traume.

* Poslije IUI-a
* pacijentica miruje 15-20 minuta
* otpust uz savjete za lijekove (progesteron)
* normalna fizička aktivnost. Dopušteni su odnosi.
* za 14 dana test na trudnoću.
* Otkazivanje postupka – slaba ili presnažna folikulogeneza

Inseminacija je bezbolna i nije agresivna. Može se češće ponavljati. Dvostruka IUI (i slijedeći dan) ne daje bolji rezultat. Ponekad, vrlo rijetko (1-5‰) bilježimo blagu do srednju alergičnu rekaciju na sjeme u maternici.

Pacijentici se uručuje tekst o stimulaciji ovulacije.

Obvezni razgovori: embriolog – sjeme

ginekolog – postupak, savjeti, planovi

na prijemu – upitati pacijente da li je sve jasno

Obvezni tekst: povijest bolesti i otpusno pismo

**Izvantjelesna oplodnja (IVF/ICSI)**

Izvantjelesnom oplodnjom (engl. ART) se liječi 70-80% svih uzroka neplodnosti. Upitna je potreba za prethodnimkirurškim liječenjem endometrioze, cista i mioma. O tome nema konsenzusa, pa aktualne okolnosti raspravite sa svojimm liječnikom, subspecijalistom. Liječenje s ART valja biti personalizirano, optimalno za mogućnosti, i sigurno za pacijente, s minimalnim rizicima. Odabir metode i smjera liječenja određuje neplodni par, sukladno svojim svjetonazorima a u okvirima etičkih i legalnih normi.

Zato su važni razgovor, naputci liječnika i usmene i pismene obavijesti o svakoj etapi postupka. Također, pacijenti dobivaju okvirnu (realnu) vjerojatnost za uspjeh liječenja. Etape IVF/ICSI-a jesu:

**1.**) **Priprema pacijenata**

Ranije su navedeni medicinski i zakonski okviri nalaza koje neplodni par treba pribaviti. Ti nalazi ukazuju na **opće i reprodukcijsko zdravlje partnera. Oni obuhvaćaju:**

|  |  |
| --- | --- |
| * Anamneza, fizikalni pregled, BMI | * Reprodukcijski potencijal |
| * Ginekološki pregled, UZV | * Ciklus |
| * Operacije (ginekološke) | * Rezerva jajnika * AMH - AFC |
| * Virusne i spolno PB | * Štitnjača |
| * Dosadašnje liječnje | * Hormonska obrada (F) * FSH, E2; PRL, Androgeni |
| * Spermiogram * event. proširenje obrade | * Uterini faktor (miom, polip..) |
| * Štetne navike, okolina | * Histeroskopija (F) |

BMI – body mass indeks; PB – prenosive bolesti; F – fakultativno

Imunološke pretrage, trombofilije nisu u prvoj etapi obrade.

Veći dio pretraga obavlja se kod primarnog ginekologa i obiteljskog liječnika.

**2.) Plan liječenja**

Nakon analize nalaza, osobne provjere reprodukcijskog potencijala planira se liječenje. Određuje se individualni protokol, vrsta ciklusa (prirodni, blagi, standardni) za IVF, pripremni lijekovi, bazalni pregled. Ovisno o okolnostima može se savjetovati bazalni pregled UZV-om 2. dan ciklusa – endometrij, ciste jajnika, polip, - nalazi koji potvrđuju ili otkazuju aktualni ciklus za IVF postupak.

Obvezni tekst: Izvantjelesna oplodnja, stimulacija ovulacije, vjerojatnost uspjeha.

**3.) Stimulacija ovulacije – IVF ciklus**

Na temelju dobi pacijentice, trajanju liječenja, ovarijskoj rezervi i želji pacijenata određuje se postupak u:

* Prirodnom ciklusu

-bez rizika, često otkazivanje (50%), nizak uspjeh (10%)\*

* Blagi protokoli
* manji rizik, otkazivanje 25%, oocita 4-6
* POR (poor ovarian response) 30% (< 4 oocite)
* manje zamrzavanja 5-10%
* uspjeh LBR/ET 26-29%\*
* kumulativni LBR – nizak doprinos FET-a 2-5%
* Standardni protokoli/mixed protokoli
* viši rizik (OHSS), otkazivanje 8-15%, oocita 8-14
* POR 12%
* zamrzavanja 40-50%
* uspjeh LBR/ET 38-42%\*
* kumulativni LBR – 55-65%
* OHSS 2-5% (hiperstimulacija)

\* Naveden je uspjeh žene 33-35 godina (LBR – live birth rate)

Protokoli i način stimulacije ovulacije u posebnom prilogu.

Ovisno o dobi pacijentice, rezervi jajnika, vrsti i dozi stumulacije jajnika – odgovor može biti:

|  |  |
| --- | --- |
| * Normalan(normoresponse) optimalan | 10-15 oocita |
| * Suboptimalan (hyporesponse) | 4-9 oocita |
| * Snažan (highresponse) | > 15 oocita |
| * Slab (poorresponse – POR) | ≤ 3 oocite |

Uspjeh IVF-a korelira s brojem dobivenih oocita u određenoj dobi:

LBR/ciklus

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| oocita | ≤ 34 g. | ≥ 40 g. |
| 1-3 | 15% | 4% |
| 7-10 | 33% | 12,7% |
| 11-15 | 40% | 16,1% |

**4.) Predviđanje ovulacije – folikulogeneza/monitoriranje ciklusa**

Rast i zrenje folikula prati se UZV-om a po potrebi se određuju hormoni u krvi.

a) UZV-om se prati rast i kvaliteta folikula od

* 5.-7. dana ciklusa prvi pregled
* svaki ili svaki drugi dan – broj i veličina
* srednji promjer – dnevni porast ≈ 1-2 mm/sono AVC
* struktura i osobine stijenke folikula

b) Kvaliteta endometrija

- debljina, pravilnost, tekstura

c) Razina hormona

* Estradiol – kontinuirani porast od 7. d.c.

- predovulacija

* Progesteron – bazalno

- predovulacija

Pad estradiola za 20-30% indicira prekid liječnja. Prema nalazima može se povisiti doza gonadotropina(FSH), ili sniziti (step-up i step-down protokoli). Zreo folikul ima 17-19 mm srednji promjer i stvara 200-250 pg/ml estradiola. Dva ili više zrela folikula indiciraju primjenu ovulacijskog okidača (HCG ili GnRHag) ili kombinacija. Nakon njega, za 36-38 je ovulacija. Svaki folikul ≥ 16 mm ne nosi zrelu i kompetentnu jajnu stanicu.

Obvezan tekst: anestezija uz aspiraciju

**5.) Aspiracija jajnih stanica (OPU – engl. ovum pick up)**

Aspiracija jajnih stanica obavlja se 36-38 sati nakon ovulacijskog okidača ( injekcija HCG-a). To je jedini kirurški (agresivan) zahvat kod kojeg se:

* Pacijentica treba biti na tašte ( 6 – 8 sati)
* Obavlja u operacionoj dvorani – uz analgeziju/anesteziju
* Dezinfekcija rodnice – transvaginalni pristup
* Punkcija jajnika tankom iglom uz pomoć UZV-a
* Iz svakog većeg folikula – negativnim tlakom se usiše folikularna tekućina (u 80% slučajeva sadrži oocitu)
* Punktiraju se dostupni i veći folikuli ( ≥ 16 mm)
* Epruvete sa grijanim aspiratom se predaju u laboratorij – na utvrđivanje oocite
* Provjera operacijskog polja i stanja pacijentice
* Premještaj u bolesničku sobu i 1,5-2 sata opservacije
* Otpust

Prije aspiracije obavlja se kontrolni UZV i stvara plan zahvata. Nakon pisanog i usmenog obrazloženja, pacijentica odabire vrstu analgo-sedacije, a oboje potpisuju informirane pristanke. OPU traje 20-25 minuta. Prije otpusta pacijentica dobiva izvještaj o ishodu aspiracije, savjete o ranoj postoperativnoj brizi i ponašanju, mogućim nuspojavama, savjete o dodatnoj terapji i daljnje planove.

Obvezan razgovor: embriolog i ginekolog, daljnje obavijesti na prijemu

Obvezni tekstovi – obavijesti: otpusno pismo, nuspojave IVF-a, OHSS (fakultativno)

Embriolog/ginekolog:

* nakon OPU komunicira s pacijenticom (telefonom, e-mail)
* planira se ET

**6.) Odustajanje – otkazivanje aktualnog IVF ciklusa**

Tijekom IVf postupka liječnik je ponekad primoran, uz obrazloženje otkazati ( i odgoditi) započeto liječenje. Ponekad je zbog sigurnosti pacijentice neophodno odgoditi neku etapu liječnja (npr. ET). Razlozi za odustajanje mogu biti predvidivi i nepredvidivi. Predvidivi razlozi temelje se uglavnom na niskom reprodukcijskom potencijalu pacijentice i iskustvima iz ranijih postupaka. Češće se odustaje zbog poteškoća između započeti ciklus – aspiracija oocita.

Razlozi:

Odustajanje od daljnjeg postupka

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Započeti ciklus - OPU | | OPU – embrio transfer | |
| * Dob, debljina | | * Dob | |
| * Niska rezerva jajnika * POR * Hiporesponse | | * Bez oocita – Empty FSy | |
| * Izostao odgovor na SO | | * Bez spermija (ejakulat/TESE) | |
| * Bez folikulogeneze | | * Izostala oplodnja (nenormalna) | |
| * Prirodni ciklus | | * Kultura blastociste Ø, zastoj embrija | |
| * Pad estradiola > 30% | | * Visok P4 u predovulaciji | |
| * Pogreške triggera | | * Endometrij – debljina, polip, krvarenje | |
| * Rizik OHSS-a/PCOS | | * Odmrzavanje/preživljavanje Ø | |
| * Tehnički problemi | | * Nemoguć – težak ET | |
|  | | Tehnologije | |
|  | | * Freeze all postupak * FP – očuvanje plodnosti * PGT-A – tehnika/rezultat | |
| * Ozbiljne nuspojave | • Nove/pogoršanje bolesti | | •COVID-19 |

Odustajanje u različitim populacijama

|  |  |
| --- | --- |
| Populacija | Stopa odustajanja |
| Prirodni ciklus | 45-55% |
| Blaga stimulacija | 18-30% |
| Standardna stimulacija 8-15% | |

< 32 godine 2-3%

≥ 42 godine 30-50%

POR (nizak odgovor) 30%

High response 15% ® freeze all

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Pretjerana visoka stopa odustajanja može biti povezana sa selekcijom pacijenata, odnosno željom da se uvećaju rezultati prema ET.

Prema KPIs (Vienna konsenzus/Maribor konsenzus) za opću populaciju dopustivo otkazivanje prije OPU (ovum pick up) je 6-10% a prije ET 6-8%.

**7.) Postupci u embriološkom laboratoriju**

Postupci u embriološkom laboratoriju su složeni, opsežni i vrlo sofisticirani. Klinički embriolog obavlja oko 45 radnji za svaku pacijenticu. Ukupno se utroši ( u prosjeku) po 1 postupku:

* IVF/ICSI 12, 6 sati
* Zamrzavanje 5,6 sati
* Odmrzavanje i sekundarni ICSI 12,9 sati
* FET 3,6 sati
* Obrada sjemena 1 sat

Postupci jesu: priprema radilišta, medija

a) Prepoznavanje i skrb – oocite uz OPU

b) Priprema sjemena – odabir sjemena – odabir spermija selekcija gameta

c) Oplodnja

- IVF oplodnja – denudacija kasnije

- denudacija ICSI oplodnja

d) Kontrola oplodnje

e) Kultura i razvoj zametaka

- sekvencijski ili single step medij (hranilište)

f) razvoj i kvaliteta zametaka

- selekcija, D3, D5 (blastocista)

g) Priprema i ET

- SET ili DET

h) Zamrzavanje zametaka – kriopohrana

- vitrifikacija

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

i) zamrzavanje jajnih stanica (oocita) \* odluka pacijenta

\* FP

j) odmrzavanje oocita

k) sekundarni ICSI

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

l) Odmrzavanje zametaka

m)Ocjena preživljavanja

n) FET

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

A) Administracija

B) Trajna kontrola optimalnih uvjeta u laboratoriju

Dostupan je dodatan tekst o postupcima u embriološkom laboratoriju.

Obvezan razgovor: embriolog (poslije OPU, oplodnja, razvoj zametaka, ET,

(e-mail) zamrzavanja).

Obvezan tekst : IVF postupci, vjerojatnost uspjeha.

**8.) Embrio transfer (ET) prijenos zametaka**

To je posebno važna etapa IVF postupaka. ET treba biti nježan, atraumatski i brz. Težak i dugotrajan ET može umanjiti uspjeh.

Embrio transfer možemo klasificirati:

* Svježi ET
* Krio ET ili FET (FER) – nakon odmrzavanja (frozen ET)

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

* Prema danu transfera (D)
* D2 i D3 u cleavage stadiju razvoja
* D5 – stadij blastociste

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

* SET – single embrio transfer ( 1 zametak)
* DET – double embrio transfer ( 2 zametka)

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Kako bi se umanjila učestalost prijevremenog rađanja blizanaca/trojaka… trend je prenašati jedan zametak (najviše dva). Time se umanjuje nedonošenost djece i njihova neurorizičnost. U nekim zemljama rabi se samo SET (Skandinavija), u EU 30% je SET, a u RH jedna petina ET je samo s jednim zametkom.



Valja naglasiti da je uz DET i ET blastociste rezultat bolji, ali kultura blastociste i ET donose i neke rizike (zatražite dodatno tumačenje). Konsenzus je da ET blastociste donosi prednost samo kod pacijentica dobere prognoze.

Etape embrio transfera jesu:

* **Prethodna priprema**
* anamneza – ginekološki zahvati, raniji ET
* ginekološki pregled – histerometrija
* UZV pregled – analiza i mjerenje uterusa
* probni ET (mock ET)
* histeroskopija (fakultativno)
* **Planiranje ET**
* tumačenje embriolog i ginekolog
* broj i kvaliteta zametaka, uporaba embryo-glue medija
* SET ili DET
* samo kod izrazito teških pacijenata (dob, ponavljani neuspjeh…) i slabe prognoze dopušten je ET s 3 zametka
* priprema za teški ET, eventualno antibiotik
* moguće zamrzavanje
* **Embrio transfer – tehnika (optimalan ET)**
* nepotrebna sedacija
* optimalan položaj pacijentice, zagrijani pribor
* aspirirati cervikalnu sluz
* navođenje katetera uz pomoć abdominalnog UZV-a

samo vrlo iskusan kliničar - taktilna tehnika

* vanjski kateter – osigurava prolaz unutrašnjeg od unutrašnjeg ušća do ispod fundusa uteri
* zametci se istisnu u kavum 1,5 cm ispod fundusa uz minimalnu količinu medija
* kateter se nježno i polako (<30") izvlači iz uterusa, izbjegava se negativni tlak
* embriolog provjerava da zametci nisu izostali u kateteru
* optimalno vrijeme za ET (<120 sekundi)
* Poslije ET
* mirovanje 15-20 minuta/nepotrebno daljnje mirovanje
* otpust
* savjeti i otpuno pismo
* **Težak ET (13,7% ET u Poliklinici)**
* dugotrajan >2-3 minute (razmotriti odgodu ET)
* zbog abnormalnosti cerviksa/uterusa
* uporaba tenakuluma, stileta (introduktor)
* težak prolaz u kavum,
* obilnije krvi u kateteru
* umanjuje uspjeh za 8-10%.

Obvezan razgovor: embriolog i ginekolog

tumačenje, potpora CL

Obvezan tekst: otpusno pismo, dodaci (fakultativno) IVF postupak

**9.) Potpora žutom tijelu**

U fazi žutog tijela, nakon aspiracije oocita u stimuliranim ciklusima, i nakon FET-a, u pravilu je nedostatna funkcija žutog tijela, potrebni su lijekovi, jer su u protivnom slabiji rezultati.

Potpora započinje 12-24 sata nakon ET, a traje do menstruacije, ili do 10. tjedna trudnoće poslije postupka (neki do 7 tjedana).

Lijekovi za potporu u fazi žutog tijela:

a) Progesteron – svakodnevno

- vaginalno (Cyclo-gest, utrogestan, Crinone gel)

- intramuskularno

- supkutano – potkožno

- per os (Duphaston)

- kombinacije

b) HCG – višekratno

- mikrodoze – 1500 IU/ I.M. ili potkožno

Učinkovitost tih lijekova (hormona) je podjednaka. Primjenom HCG-a povisuje se rizik za OHSS. U više od 90% pacijentica rabi se progesteron.

c) GnRH agonist

- jednom ili više puta (0,1 mg)

d) Estrogeni (potrebni u FET cikliusima, donaciji)

- per os ili transdermalno

e) Kombinacije.

Intenzivnija potpora žutom tijelu je potrebna:

* priprema ciklusa za FET s HNL-om (hormonskim nadomjesnim liječenjem)
* uz GnRH agon. okidač ovulacije (trigger)
* u donacijskim programima (primateljica oocita).

Nuspojave progesterona ovise o putu primjene, a uvijek su mogući blaži učinci progesterona – mučnine, glavobolje, vrtoglavice, osjetljivost dojki. Uz vaginalni P4 žene se žale na curenje, iritaciju rodnice, svrbež i upale. Trećina korisnica obavještava o oskudnim krvarenjima. Injekcije progesterona mogu biti bolne, uz rizik za lokalnu upalu.

**10.) Ostali lijekovi nakon ET, ponašanje**

Nakon ET, odnosno aspiracije, ili trajno (uz konzultacije s liječnikom) pacijentice koriste:

* svoje standardne lijekove (uz hipotireozu, anemiju, metformin, povišen tlak i dr.)
* folnu kiselinu
* kortikosteroide (Dekortin, Dexamethazon) uz tumačenje i savjet liječnika
* analgetici – samo sporadično uz konzultacije
* antikoagulansi - samo s indikacijom i uz prethodno tumačenje. To vrijedi i za Aspirin.

Pacijentica nakon aspiracije, ET-a, normalno živi i radi. Nije potrebno mirovanje ili ležanje. Dopuštena je umjerena tjelovježba – ali oprez kod skakanja, nagle promjene položaja tjela, pilates, trčanja. Spolni život nije zabranjen, ali i tu treba biti oprezan. Naime, povećani jajnici (posebno kod OHSS-a) se mogu lakše torkvirati nego u normalnim okolnostima.

Sve dvojbene situacije dobro je raspraviti sa svojim liječnikom.