

BOSNA I HERCEGOVINA
FEDERACIJA BOSNE I HERCEGOVINE
FEDERALNO MINISTARSTVO ZDRAVSTVA

BOSNIA AND HERZEGOVINA
FEDERATION OF BOSNIA AND HERZEGOVINA
FEDERAL MINISTRY OF HEALTH

Povjerenstvo za primjenu postupaka biomedicinski pomognute oplodnje

SMJERNICE ZA LIJEČENJE NEPLODNOSTI

Sarajevo, srpanj 2019.godine

S a d r Ź a j

UVOD	3
I. ZAKONSKI OKVIR ZA BMPO U FEDERACIJI BOSNE I HERCEGOVINE	3
II. INFORMIRANJE, SAVJETOVANJE PACIJENATA I DAVANJE PRISTANKA	4
2.1. Informacije	4
2.2. Psihološko savjetovanje	5
2.3. Pravno savjetovanje	6
2.4. Pristanak	7
III. UTVRĐIVANJE UZROKA NEPLODNOSTI	7
3.1. Procjena zdravstvenog stanja para	7
3.2. Dijagnostika ženske neplodnosti	7
3.3. Dijagnostika muške neplodnosti	8
3.4. Testiranje u partnerskoj donaciji	8
IV. POSTUPCI MPO	9
4.1. Intrauterina inseminacija (IUI)	9
4.2. Izvantjelesna oplodnja	10
4.2.1. Tehnike izvantjelesne oplodnje	10
4.2.2. Indikacije za izvantjelesnu oplodnju	11
4.2.3. Faze izvantjelesne oplodnje	11
4.2.3.1. Priprema i liječenje para	11
4.2.3.2. Pregled para	12
4.2.3.3. Postupci koje izvodi kliničar, specijalista ginekologije i opstetricije	13
4.2.3.4. Kultura spolnih stanica i provjera fertilizacije	16
4.2.3.5. Kultura zametka i prijenos zametaka u maternicu	16
4.3. Zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka	16
4.4. Biopsija polarnih tjelešaca, zametaka i blastocista	16
V. PREIMPLANTACIJSKA GENETIČKA DIJAGNOSTIKA	17
VI. KOMPLIKACIJE	17
6.1. Multipla gestacija	17
6.2. Ektopična trudnoća	18
6.3. Spontani abortus	18
6.4. Prerani porođaj	18
6.5. Sindrom ovarijalne hiperstimulacije	18
VII. ONKOFERTILITETNI POSTUPCI	19
VIII. PRIJENOS POHRANJENIH SPOLNIH STANICA, SPOLNIH TKIVA ILI ZAMETAKA	19
IX. SUSTAV KVALITETE	20
Literatura	21

UVOD

Povjerenstvo za primjenu postupaka biomedicinski pomognute oplodnje (u daljnjem tekstu: Povjerenstvo) izradilo je Smjernice za liječenje neplodnosti izrađene na temelju članka 23. stavak (3) Zakona o liječenju neplodnosti medicinski pomognutom oplodnjom ("Službene novine Federacije BiH", broj 59/18 - u daljnjem tekstu: Zakon), a na koje je suglasnost dao federalni ministar zdravstva svojim aktom broj: 01-37-4632/19 od 29.07. 2019.godine.

Biomedicinski pomognuta oplodnja (u daljnjem tekstu: BMPO) podrazumijeva biomedicinske postupke kod kojih se primjenom suvremenih znanstveno provjerenih biomedicinskih dostignuća omogućava spajanje ženske i muške spolne stanice radi postizanja trudnoće i porođaja, na način drugačiji od spolnog odnosa, uz zaštitu zdravlja žene, umanjenja rizika liječenja i dobrobiti potomstva. Primjenjuju se tek onda kada su se sve ostale metode liječenja neplodnosti pokazale bezuspješnima i bezizglednima.

BMPO se primjenjuje i u slučajevima kada se ovim postupcima može spriječiti prijenos teške nasljedne bolesti na dijete.

Postupci BMPO podrazumijevaju:

- intrauterinu inseminaciju (IUI);
- izvantjelesnu oplodnju (IVF);
- intracitoplazmatsku mikroinjekciju spermija (ICSI);
- zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka;
- prijenos spolnih stanica ili zametaka u jajovod i preimplantacijsku genetičku dijagnostiku.

Krajnji cilj liječenja neplodnosti postupcima BMPO je terminski rođeno zdravo dijete. Ovo zahtijeva opis najvažnijih postupaka kojima se ostvaruje kvalitetan rezultat izražen brojem poroda živorođene djece u terminu. Pri svemu tome važna je i sigurnost pacijentice i djece rođene nakon začeća nekom od metoda BMPO.

Cilj smjernica za BMPO je postaviti standarde i postupnike za ostvarenje jednoplodne trudnoće sa zdravim djetetom koje će se roditi u terminu.

I. ZAKONSKI OKVIR ZA BMPO U FEDERACIJI BOSNE I HERCEGOVINE

U Federaciji Bosne i Hercegovine (u daljnjem tekstu: Federacija BiH) postupci BMPO provode se sukladno Zakonu.

Postupke BMPO obavljaju zdravstvene ustanove koje, suglasno odredbama Zakona, ispunjavaju uvjete, te imaju dozvolu za rad izdanu od federalnog ministra zdravstva.

Zdravstvena ustanova mora zadovoljavati minimalne medicinsko-tehničke uvjete, te imati uposleno educirano osoblje za provođenje BMPO postupaka shodno citiranom Zakonu i podzakonskim aktima donijetim na temelju tog Zakona.

Zakonom je utvrđeno sljedeće:

- dozvoljena je samo homologna oplodnja korištenjem vlastitih spolnih stanica bračnih, odnosno izvanbračnih partnera;
- postupci BMPO se provode tek kada je dotadašnje liječenje neplodnosti bezuspješno i bezizgledno, te kada se ovim postupcima može spriječiti prijenos teške nasljedne bolesti na dijete;
- u postupku homologne izvantjelesne oplodnje smije se koristiti kontrolirana stimulacija ovulacije, uz obvezu korištenja prirodnih, kontroliranih ciklusa ili primjenu protokola ovarijske stimulacije, poštujući načela struke tako da se preveniraju rizici BMPO (ovarijski hiperstimulacijski sindrom (OHSS) i višeploidne trudnoće);

- u odabiru postupka BMPO odlučuju bračni/izvanbračni parovi zajedno sa specijalistom ginekologije i porodiljstva;
- bračni/izvanbračni partneri obvezni su, prije započinjanja postupka BMPO, u pisanom obliku, izjasniti se žele li oplodnju do dvije ili više jajnih stanica;
- iznimno kod žena starijih od 38 godina života, žena s nepovoljnim testovima pričuve jajnika, ponavljano neuspjeha u liječenju, onkoloških bolesnika i težeg oblika muške neplodnosti, dopušten je unos više zametaka u spolne organe žene;
- prije ponovnog postupka IVF obvezno je iskoristiti kriopohranjene zametke i jajne stanice;
- zabranjeno je korištenje postupka BMPO radi odabira spola budućeg djeteta (iznimno je dopušten odabir spola djeteta radi izbjegavanja teške nasljedne bolesti vezane uz spol, uz prethodnu suglasnost za izuzeće Povjerenstva;
- embriji smiju biti stvoreni samo zbog reprodukcije.

Zakon predviđa i zaštitu dostojanstva i privatnosti osoba koje sudjeluju u postupcima BMPO, zabranjuje diskriminaciju po bilo kojem osnovu, te uređuje obvezu čuvanja profesionalne tajne.

II. INFORMIRANJE, SAVJETOVANJE PACIJENATA I DAVANJE PRISTANKA

2.1. Informacije

U homolognoj oplodnji bračni/izvanbračni parovi (parovi) započinju postupak BMPO s ciljem ostvarenja zajedničke želje za djetetom. Parovima koji idu u BMPO postupak potrebno je osigurati sve potrebne informacije vezane za BMPO.

Postupci BMPO mogu se provoditi samo ako su parovi upoznati s pojedinostima postupka biomedicinski pomognute oplodnje sukladno Zakonu, te ako su za taj postupak dali slobodni pristanak u pisanom obliku.

Specijalista ginekologije i porodiljstva, magistar biologije ili drugi ovlašteni zdravstveni djelatnik obavezan je objasniti pojedinosti postupka, izgleda za uspjeh, te moguće posljedice i opasnosti postupaka za ženu, muškarca i dijete.

Također, parovi imaju pravo i na obavijest o mogućim oblicima prirodnog planiranja obitelji, o mogućnostima liječenja neplodnosti, te o drugim načinima ostvarenja roditeljstva.

Parovima se omogućava psihološko ili psihoterapijsko savjetovanje prije provedbe postupaka BMPO kao i davanje informacije o pravnim posljedicama postupka BMPO.

Preporuča se i korištenje informacijskog materijala koji bi trebao biti pristupačan parovima tijekom postupka BMPO.

Oba partnera treba da prisustvuju razgovoru s liječnikom obzirom da je neplodnost zajednički problem i treba zajedno da odluče o predloženim pretragama i podržati jedan drugog. Preporuča se savjetovanje prije, za vrijeme i poslije postupka BMPO.

Par, odnosno svaki partner, individualno trebaju dobiti potpune informacije o:

- mogućnosti usvojenja djeteta ili nekoj drugoj alternativnoj mogućnosti;
- odredbama Zakona;
- mogućnosti povlačenja pristanka za postupak BMPO;
- mogućnosti da ne bude učinjen neki dio postupka BMPO zbog medicinskih ili deontoloških razloga;
- redoslijedu pojedinih postupaka tijekom BMPO;
- mogućim etičkim problemima tijekom postupka BMPO;
- šansama za uspješan ishod postupka BMPO, stupnju invazivnosti, mogućim rizicima uključujući i vjerojatnost višeploidne trudnoće;
- mogućnosti razvoja OHSS i rizika u svezi s aspiracijom jajnih stanica kao što su krvarenje i infekcije ili perforacija mjehura i crijeva;

- mogućnosti dobivanja prekobrojnih embrija;
- genskim i infektivnim bolestima, o postupcima koje treba učiniti da bi dobili gamete od donora, o mogućnosti kriopohrane gameta i embrija, o mogućim opcijama sudbine embrija;
- ukupnoj cijeni postupka BMPO.

2.2. Psihološko savjetovanje

Želja da se ima dijete nije samo duboko osjetljiva potreba pojedinca, nego ona ovisi o: razvoju osobnosti pojedinca, sociokulturološkim procesima, ekonomskim čimbenicima, individualnim biografskim promjenama, sudbini, interpersonalnim odnosima između partnera, obiteljskoj dinamici.

Ukoliko se želja da se ima dijete ne ostvari, te neplodnost postane manifestan problem, isto može značajno narušiti samopouzdanje uz pojavu osjećaja beznađa u osoba kojima se to događa. Isto postaje osnovni problem partnerskog odnosa. Međutim, pored svih medicinskih intervencija kojima će se osoba izložiti, neophodno je posvetiti pozornost psihosocijalnim i emocionalnim potrebama osobe koja prolazi kroz proces medicinski potpomognute oplodnje na način da se:

- adekvatno razumije činjenica da osoba ne može imati djecu
- pruže informacije i pobrine da su se ispravno shvatile
- savjetuje o implikacijama cjelokupnog procesa
- pruži psihološka i terapijska podrška.

Cilj savjetovanja osoba koje tijekom procesa medicinski potpomognute oplodnje doživljavaju visok stupanj stresa je:

- utvrđivanje uzroka distresa
- omogućiti ispoljavanje emocija
- omogućiti intervencije da se umani razina distresa i da se adekvatnije suočava s istim.

Sukladno Zakonu, psihološko/psihoterapijsko savjetovanje se obavlja, prije provedbe BMPO, s partnerima kroz koje je specijalist psihijatrije ili psiholog obavezan objasniti moguće psihičke posljedice cjelokupnog procesa. O provedenom savjetovanju psihijatar ili psiholog izdaje pismenu potvrdu.

Savjetovanje i konzultativni razgovori vezani za neplodnost razlikuju se od ostalih konzultacija usmjerenih na simptom, odnosno bolest u ginekologiji i porodništvu. Isti su karakterizirani:

- fokus konzultacija je neispunjena želja ili cilj u životu. Cilj ovakve vrste razgovora nije da se usredotoči na pronalaženje dijagnoze nego na postojeću patnju pojedinca koja je određena različitim osobnim i psihosocijalnim značajkama.
- želja za djetetom stvara još uvijek nepostojeću treću osobu koja nije uključena u proces donošenja odluka. Nameću se specifična etička pitanja koja moraju razmotriti što je najbolje za dijete, obiteljsko okruženje u kojem je dijete začeto procesom medicinski potpomognute oplodnje i u kojem će se roditi, te moguće proturječnosti i sukobi između želja budućih roditelja i pretpostavljenih interesa djeteta.
- dijagnostički postupci i liječenje neplodnosti značajno utječu na intimnost osoba koje se nalaze u procesu medicinski potpomognute oplodnje. Dinamika partnerskog odnosa, seksualnost, mogućnost suočavanja sa psihološkim i emocionalnim učincima cjelokupnog procesa se moraju uzeti u obzir u procesu medicinski potpomognute oplodnje.

Osobe koje imaju problem s neplodnošću, vrlo često postižu napredak tijekom procesa savjetovanja i pružanja terapijskih psihosocijalnih intervencija. Terapijsko savjetovanje je usmjereno na:

- uviđanje vlastitih poteškoća i (obiteljske) povijesti,

- bolje razumijevanje utjecaja neplodnosti na svakodnevni život,
- razvijanje strategija nošenja sa stresom - razrješavanje problema i sukoba,
- specifična pitanja vezana za seksualnost, bračne i druge interpersonalne poteškoće.

Terapijsko savjetovanje u širem smislu uključuju podršku, te učenje strategija suočavanja i razrješavanja problema. Obuhvaća psihodinamsku i kognitivno bihevioralnu psihoterapiju, terapiju usmjerenu na razrješavanje problema, krizne intervencije i savjetovanje o procesu žalovanja. Navedene intervencije se mogu prilagoditi i provoditi u zdravstvenoj ustanovi u kojoj se provodi BMPO, te ako zdravstvena ustanova to ne može omogućiti, potrebno je uputiti partnere u drugu zdravstvenu ustanovu gdje se provode ova savjetovanja ili ih uputiti kod osoba ovlaštenih za psihološko ili psihoterapijsko savjetovanje. Bilo koja osoba koja prolazi kroz proces medicinski potpomognute oplodnje trebala bi biti uključena u profesionalno terapijsko savjetovanje a posebice ona osoba koja smatra da joj je savjetovanje potrebno. Svjetske smjernice su identificirale nekoliko skupina kojima je neophodna specijalizirana psihosocijalna skrb. One uključuju:

- Osobe koje su u procesu medicinski potpomognute oplodnje u kojoj sudjeluje treća osoba zbog čega psihološke reakcije mogu biti pojačane te bi se iste trebale detaljnije raspraviti/razriješiti tijekom procesa savjetovanja.
- Osobe koje cijeli proces doživljavaju vrlo stresogeno. Stres se najčešće manifestira kroz simptome depresivnosti ili anksioznosti, ali i kao bilo koja druga negativna afektivna reakcija. Osobe često pristupe savjetovanju s obzirom da intenzitet reakcije je toliko jak da ih ometa u svakodnevnim aktivnostima. Očekivano je da će oko 15 do 20% svih osoba koje prolaze kroz proces medicinski potpomognute oplodnje iskusi ovu količinu stresa tijekom cjelokupnog procesa.
- Osobe koje su nekada ranije ili aktualno imale psiholoških smetnji zbog kojih su bili u tretmanu.
- Osobe koje zahtijevaju specifičan oblik genetičkog savjetovanja u okviru liječenja neplodnosti (preimplantacijska genetička dijagnostika). Ove osobe bi željele izbjeći prijenos poremećaja, nastalih kromosomskim aberacijama i/ili eventualnim genskim mutacijama, na svoje potomstvo na način da se učini skeniranje doniranih embrija i da dobiju informacije o budućem djetetu.

Ovisno o teorijskom okviru, za ispunjavanje navedenih zahtjeva, mogu se koristiti različite metode koje bi trebale omogućiti osobi da se osjeća shvaćeno, te ju osposobiti za suočavanje s novim izazovima koje donosi neplodnost i njeno liječenje. Konačni cilj savjetovanja je zasigurno postići bolju kvalitetu života svakog pojedinca koji prolazi kroz proces medicinski potpomognute oplodnje.

2.3. Pravno savjetovanje

Prije početka primjene postupka BMPO, pravnik obvezno upoznaje parove s odredbama Zakona, naročito o uvjetima ostvarivanja prava na BMPO, uvjetima pohranjivanja, načinu i rokovima čuvanja spolnih stanica, spolnog tkiva i zametka bračnih/izvanbračnih partnera, opsegu prava na BMPO na teret sredstava obveznog zdravstvenog osiguranja, kao i drugim pitanjima od značaja za primjenu postupaka biomedicinski potpomognute oplodnje, kao što su zaštita dostojanstva i privatnosti osoba koje sudjeluju u postupcima BMPO, zabrana diskriminacije, obveza čuvanja profesionalne tajne.

Također, parovi se moraju informirati i o pravnim posljedicama postupaka BMPO, što podrazumijeva i upoznavanje sa Zakonom utvrđenim kaznenim djelima i prekršajima koji proizlaze u slučaju postupanja suprotno odredbama Zakona.

O svim pitanjima vezanim za podrijetlo djeteta začeto u postupku BMPO bračni/izvanbračni partneri se obvezno informiraju kroz pravno savjetovanje.

2.4. Pristanak

Postupci BMPO se mogu provoditi samo ako su bračni, odnosno izvanbračni parovi upoznati s pojedinostima postupka BMPO, te ako su za taj postupak dali slobodni pristanak u pisanom obliku. Pristanak se daje za svaki postupak BMPO.

Za svaki postupak BMPO potreban je novi pristanak da bi se spriječilo poticanje postupka od strane samo jednog partnera, a bez pristanka drugog. U pisanoj formi pristanka partneri trebaju pristati i na zamrzavanje prekobrojnih zametaka.

Bračni, odnosno izvanbračni parovi, pojedinačno ili zajedno, mogu povući pristanak i odustati od postupka BMPO sve dok sjemene stanice ili zametak nisu uneseni u tijelo žene.

Postupak BMPO se obustavlja izjavom o povlačenju pristanka jednog ili oba bračna, odnosno izvanbračna partnera, nakon čega se spolne stanice uništavaju, a zametci se isključuju iz svih postupaka.

III. UTVRĐIVANJE UZROKA NEPLODNOSTI

3.1. Procjena zdravstvenog stanja para

Utvrdjivanje uzroka neplodnosti ili smanjenja plodnosti započinje nakon što tijekom jedne godine redovitih, nezaštićenih spolnih odnosa nije došlo do začeća. Obrada i liječenje mogu započeti i ranije, ukoliko to diktiraju podaci iz anamneze ili se radi o graničnoj dobi žene za rađanje (> 35 godina). Uzroci neplodnosti ili smanjenja plodnosti mogu biti od strane muškarca, žene ili kombinirani.

Općenito, pacijente, odnosno neplodne parove se može kategorizirati u širem smislu u tri skupine:

- 1) oni s jednim defektom kod jednog od partnera;
- 2) oni sa multiplim defektima kod jednog ili oba partnera;
- 3) parovi kod kojih su oba partnera bez očiglednog defekta (neobjašnjena neplodnost).

Potrebno je obaviti procjenu zdravstvenog stanja para da bi se utvrdila njihova prikladnost za liječenje neplodnosti BMPO. Odnos korist/rizik treba procijeniti individualno.

Obveza je da te aktivnosti vode kompetentni stručnjaci, a to su: ginekolog specijalist, ginekolog uži specijalist humane reprodukcije, urolog ili endokrinolog s iskustvom iz andrologije (odnosno muške neplodnosti).

Kod obrade treba uzeti kompletnu anamnezu (obiteljsku, zdravstveni problemi, kirurški zahvati, spolni život, korištenje kontracepcije i prethodne trudnoće, epigenske uzroke, štetne navike) u oba partnera. To može pomoći da se odrede uzroci neplodnosti para, preporuče odgovarajuće pretrage, te temeljem dijagnoze odabere i najbolji način liječenja. Važna je i informacija o učestalosti odnosa i spolnoj disfunkciji.

Kod oba partnera treba napraviti fizikalni pregled, sustavni i lokalni, kako bi se otkrio problem koji bi mogao biti uzrokom neplodnosti ili koji bi mogao modificirati upravljanjem s problemom neplodnosti.

3.2. Dijagnostika ženske neplodnosti

Dijagnostika ženske neplodnosti podrazumijeva:

Procjenu ovulacije - Treba uzeti detaljnu anamnezu menstruacijskog ciklusa, uključujući dob prve menstruacije, duljinu ciklusa, trajanje i učestalost menstruacija, te prisutnost bolnih menstruacija i bolnih snošaja. Dokazati redovitost i kvalitetu ovulacija. Ovulacijsku disfunkciju i njezino porijeklo treba dijagnosticirati adekvatnim hormonskim pretragama prema pravilima struke.

Procjena ovarijske rezerve - Ovarijsku rezervu potrebno je procijeniti biokemijskim testovima (anti Mullerov hormon, folikulo stimulirajući hormon - FSH), ultrazvučnim pregledom jajnika i procjenom broja antralnih folikula.

Procjenu prohodnosti jajovoda - Za procjenu anatomije maternice i prohodnosti jajovoda treba učiniti sonohisterosalpingografija (SHSG). Kod nejasnog nalaza SHSG-a treba učiniti LPSC (laparoskopiju) i hromopertubaciju za procjenu i potvrdu prohodnosti jajovoda i/ili potvrdu mjesta, etiologije i stupnja oštećenja prohodnosti jajovoda. Tom prilikom treba obratiti pažnju na druge moguće uzroke neplodnosti poput endometrioze. U pacijentica s oštećenim jajovodima potrebno je učiniti i test na spolno prenosive bolesti i druga oboljenja prema indkaciji.

Procjena uterinih abnormalnosti - Ako postoji sumnja na postojanje uterinih abnormalnosti poput submukoznih mioma, polipa, adhezija ili septuma, prilikom ultrazvučnog pregleda preporuča se uraditi 3D ultrazvučni pregled ili SHSG, te učiniti histeroskopiju (HSC). U nekim slučajevima potrebno je istovremeno raditi i LPSC.

Analiza hormonskog statusa: folikulostimulirajući hormoni (FSH), luteinizirajući hormoni (LH), prolaktin (između 2. i 5. dana menstrualnog ciklusa), tireostimulirajući hormoni (TSH), antitijela na štitnu žlijezdu.

Ostale pretrage (prema indikaciji): estradiol - E2 (između 2. i 5. dana menstrualnog ciklusa), progesteron - P4 u serumu (između 20. i 22. dana menstrualnog ciklusa), testosteron, slobodni testosteron, Antimullerov hormon (AMH), androstendion, PAP test i kolposkopija, kariotip, test opterećenja glukozom (OGTT), insulinemija, antifosfolipidni sindrom (cirkulirajući antikoagulant, antikardiolipinska antitijela - ACA, anti-beta 2GP1).

3.3. Dijagnostika muške neplodnosti

Obrada subfertilnog para mora sadržavati analizu kvalitete sjemena. Referentne vrijednosti moraju se zasnivati na kriterijima donijetim u priručniku Svjetske zdravstvene organizacije *"WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen"*. Rezultati analize trebaju biti jedan od kriterija u odabiru prikladne metode BMPO.

U slučaju dijagnoze oligo-asteno-teratozoospermije ili azoospermije, potrebno je pacijente uputiti na dodatne pretrage kod liječnika specijaliste urologa/androloga.

Jaka oligo-asteno-teratozoospermija i azoospermija mogu biti uzrokovane oštećenjem funkcije testisa zbog traume, infekcije, varikokele, deficita gonadotropina ili abnormalnosti gena, poput Klinefelterovog sindroma ili delecije Y kromosoma.

Stoga kod muškaraca s azoospermijom i jakom oligozoospermijom treba učiniti testove probira na abnormalnosti gena. U slučaju pozitivnog nalaza potrebno je učiniti konzultacije s genetičarom.

U pacijenata s opstruktivnom azoospermijom treba učiniti probir na cističnu fibrozu ili abnormalnosti renalnog trakta.

Ostale pretrage (prema indikaciji): test na Chlamydia trachomatis, FSH i testosteron, kariotip, virusološke pretrage, MAR test (engl. mixed antiglobulin reaction), bakteriološki pregled ejakulata, biohemijski pregled ejakulata, aspiracijska citologija testisa.

3.4. Testiranje u partnerskoj donaciji

Cilj testiranja je spriječiti prenošenje infektivne ili genske bolesti od jednog partnera na drugog.

Prije partnerske donacije potrebno je učiniti sljedeće testove:

- a) anti-HIV-1 i anti-HIV-2
- b) HbsAg i anti-HBc

- c) anti-HCV (antitijela na hepatitis C)
- d) sifilis- specifični ili nespecifični treponema test

Uzorke krvi za serologiju treba uzeti prije prve donacije i to do tri mjeseca prije. Za daljnju partnersku donaciju testove treba ponoviti unutar dvije godine.

Pozitivni rezultati ne sprečavaju partnersku donaciju.

Stroga pravila treba u takvoj situaciji poštovati da se spriječi kontaminacija osoblja.

U slučaju pozitivnih testova na HIV-1 i 2, hepatitis B ili hepatitis C mora biti izolirana pohrana.

Prije započinjanja postupaka sakupljanja spolnih stanica potrebno je s posebnom pažnjom identificirati pacijenta, te provjeriti da li su izvršeni svi potrebni testovi i potpisani svi potrebni pristanci.

IV. POSTUPCI MPO

Standardni postupci BMPO su: inseminacija, izvantjelesna oplodnja (engl. in vitro fertilisation, IVF), intracitoplazmatska mikroinjekcija spermija (engl. intracytoplasmic sperm injection, ICSI), kultivacija spolnih stanica i zametaka u uvjetima in vitro, prijenos zametaka u maternicu (engl. embryo transfer, ET), kriopohrana spolnih stanica, tkiva i zametaka, biopsija polarnih tjelešaca, zametaka i blastocisti te pomognuto izlijevanje zametaka.

4.1. Intrauterina inseminacija (IUI)

Inseminacija podrazumijeva postupak unošenja obrađenog sjemena u spolne organe pacijentice u periovulacijsko vrijeme.

Sjeme se može unijeti u maternicu (engl. intrauterine insemination, IUI) ili u jajovod (engl. intratubal insemination, ITI).

Preduvjet za intrauterinu inseminaciju su dokazano prohodni jajovodi (SHSG ili LPSC).

Indikacije su iste za IUI i ITI:

- slab cervikalni faktor, stanje nakon operacija cerviksa
- supfertilan spermogram
- imunološki uzrok neplodnosti
- nerazjašnjena (idiopatska) neplodnost
- endometrioza (I i II stupanj)
- spolna disfunkcija muškarca

Postupak uključuje:

- predviđanje ovulacije – klinički, UZV, hormonski
- standardne metode pripreme sjemena u embriološkom laboratoriju (prije započinjanja postupaka sakupljanja sjemena potrebno je identificirati pacijenta te provjeriti da li su izvršeni svi potrebni testovi i potpisani svi potrebni pristanci)
- inseminacija pripravljenog sjemena transcervikalno u maternicu ili početni dio jajovoda (prethodno je potrebno napraviti identifikaciju pacijentice, identifikaciju sjemena)

Inseminacija se izvodi taktilnom tehnikom, uz pomoć UZV ili perfuzijom sjemena u tubu. Pri inseminaciji se nastoji postići da što veći broj pokretnih spermatozoida dostigne do mjesta oplodnje i tako poveća mogućnost za oplodnju jajne stanice i trudnoću.

Intrauterina inseminacija (IUI) se treba obaviti ovisno o indikacijama u: maksimalno tri ciklusa.

Kada se stimulacijom ovulacije ne postigne mono ili bifolikulogeneza i ukazuje se rizik višeploidnosti, postupak se iz IUI konvergira u IVF, ili se odustaje od postupka.

Kod nerazjašnjene neplodnosti savjetuje se odmah započeti s inseminacijama u stimuliranom ciklusu.

Rizici u IUI su:

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

4.2. Izvantjelesna oplodnja

Izvantjelesna oplodnja je osnovna metoda BMPO, koja zaobilazi jajovode, jer do oplodnje jajne stanice dolazi u laboratorijskim uvjetima nakon čega se vrši odabir najkvalitetnijeg embrija koji se potom emriotransferom ubacuje u tijelo pacijentice.

Ova metoda je indicirana kod parova kada su iscrpljene sve druge mogućnosti liječenja neplodnosti, ili kada kirurška, medikamentozna ili kombinirana terapija nije moguća ili nije uspješna. IVF postupci provode se u žena u dobi od 18 do 42 godine i kod muškaraca starijih od 18 godina.

Za žene koje su zbog bolesti (svoje ili partnerove) morale odgoditi liječenje neplodnosti, uglavnom onkofertilitet, može se dati suglasnost na biomedicinski pomognutu oplodnju i ženi nakon navršene 42. godine života.

4.2.1. Tehnike izvantjelesne oplodnje

Postoje dva načina izvantjelesna oplodnje:

1. *IVF* koji je predviđen za slučajeve normozoospermije. Broj inseminiranih spermatozoida je između 150000 - 200000 na jajnu ćeliju, ovisno od analize uzorka sjemena. Inseminacija se radi i 1 ml hranjivog medija.

Konvencionalni postupak izvantjelesne oplodnje uključuje identifikaciju pacijenata, identifikaciju spolnih stanica i postupanje sa spolnim stanicama.

Tijekom konvencionalnog IVF postupka jajne stanice se inseminiraju obrađenim sjemenom obično 2 do 5 sati nakon aspiracije folikula (38 do 42 sata nakon poticanja ovulacije).

Bračni/izvanbračni partneri obvezni su, prije započinjanja postupka BMPO, u pisanom obliku, izjasniti se žele li oplodnju do dvije ili više jajnih stanica, sukladno Zakonu.

2. *ICSI* je predviđen za slučajeve teške muške neplodnosti ili kod neuspjelih prethodnih IVF postupaka ili malog broja opleđenih jajnih stanica u prethodnim postupcima.

To je metoda izvantjelesne oplodnje u kojoj se jedan spermij unosi u citoplazmu jajne stanice svladavanjem bifazne barijere koju čine zona pellucida i stanična membrana jajne stanice.

ICSI postupak uključuje identifikaciju spolnih stanica i postupanje sa spolnim stanicama.

Prvi korak u pripremi jajnih stanica za ICSI postupak je otklanjanje stanica kumulusa i korone radijate uporabom enzima, a zatim i mehanički pomoću kalibriranih kapilara. Potrebno je upotrijebiti kapilaru odgovarajućeg promjera kako se jajne stanice tijekom postupka ne bi oštetile. Slijedeći korak je procjena zrelosti jajnih stanica.

Uspjeh ICSI postupka ovisi o zrelosti i kvaliteti jajne stanice, odabiru i imobilizaciji vijabilnih spermija te prolasku mikropipete za injektiranje kroz membranu jajne stanice prije ispuštanja spermija u citoplazmu. U slučaju da u uzorku sjemena nakon obrade nema pokretnih spermija, uputno je primijeniti test vitalnosti.

4.2.2. Indikacije za izvantjelesnu oplodnju

Indikacije kod žena:

- tuberoepitonealni uzrok neplodnosti
- endometrioza
- hormonalni poremećaji
- maternični uzrok neplodnosti
- kromosomske aberacije i/ili genske abnormalnosti
- neobjašnjiva neplodnost.

Indikacije kod muškaraca:

- oligo-, asteno-, teratozoospermija,
- opstruktivna azoospermija:
 - ✓ urođena
 - ✓ stečena
- nestrukturna azoospermija:
 - ✓ jatrogena
 - ✓ posttraumatska
 - ✓ postupalna
 - ✓ idiopatska
- kromosomske aberacije i/ili genske abnormalnosti
- neobjašnjiva neplodnost.

4.2.3. Faze izvantjelesne oplodnje

Ova metoda ima nekoliko faza:

1) Priprema i pregled para:

- obrađa
- preventivne mjere
- liječenje:
 - medikamentno (upale, inzulinska rezistencija, pacijentice povišenog odgovora, endometrioza, hipotireoza)
 - kirurško (hidrosalpinksi, miom, septum)
- programiranje IVF ciklusa
- pripreme za zahvate (za anesteziju, punkciju, embriotransfer).

2) Postupci

- stimulacija jajnika s gonadotropinima
- kontrola rasta folikula pomoću ultrazvučnog pregleda
- sazrijevanje jajnih stanica uvođenjem humanog korionskog gonadotropina (HCG) ili agonista gonadotropin-otpuštajućeg hormona (GnRH agonista)
- aspiracija folikula i izolacija jajnih stanica
- priprema jajnih stanica i sjemena u laboratoriju
- hranjene i kontrola rasta embrija
- prijenos embrija
- hormonalna podrška žutom tijelu
- dijagnoza i postupak u ranoj trudnoći.

4.2.3.1. Priprema i liječenje para

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

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

Prije primjene postupaka IVF-a, treba posebnu pripremu i liječenje parova provesti:

Promjena stilova života

- normalizirati indeks tjelesne mase (ITM) (20-25 kg/m²)
- prestanak pušenja
- smanjiti uporabu: alkohola, kave, čaja
- izbjegavati štetnost okoline
- umjerena fizička aktivnost
- zdrava prehrana
- dodatak folne kiseline, željeza.

Liječenje

- liječenje upala
- operacije: hidrosalpinksa, submukoznog mioma, endometrioma >4cm, adenomioze, septuma uterusa, polipa endometrija
- pacijentice povišenog odgovora (PCOS)– 25%
- i inzulinska rezistencija
- driling/metformin
- liječenje hipotireoze
- probni embriotransfer (ET).

4.2.3.2. Pregled para

Obrada žene uključuje:

- anamneza
- klinički pregled
- ginekološki pregled
- SHSG (uvjetno)
- vaginalni UZ
- LH, FSH, Prolaktin (bazalne vrijednosti)
- laparoskopija (prema indikaciji)
- histeroskopija (prema SHSG-u, vaginalnom UZ-u ili anamnezi žene)
- istraživanje spolno prenosivih infekcija (HBS Ag, HIV, HCV).

Obrada muškarca uključuje:

- anamneza,
- spermogram,
- klinički pregled
- MAR test (prema indikaciji),
- FSH (prema spermogramu i kliničkom pregledu),
- bris ejakulata (na temelju anameze (upale) i / ili leukocitospermije),
- biopsija testisa (kod azoospermije),
- istraživanje spolno prenosivih infekcija (HBS Ag, HIV, HCV, sifilis).

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

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

Ovi se testovi ne preporučaju u primarnoj obradi, bez indikacije.

Preporuča se da se na naprednu dijagnostiku, endoskopsku kirurgiju i IVF/ICSI, pacijentice što ranije upućuju u zdravstvene ustanove koje pružaju ove usluge. Predugačak razmak umanjuje uspješnost liječenja.

4.2.3.3. Postupci koje izvodi kliničar, specijalista ginekologije i opstetricije

Izvedba postupaka vantjelesne oplodnje

Izvedba postupaka vantjelesne oplodnje može biti u:

- prirodnom ciklusu
- stimuliranom ciklusu.

Tri su važne etape koje izvodi kliničar, specijalista ginekologije i opstetricije, pri primarnom IVF ili ICSI postupku:

- kontrola ciklusa i predviđanje ovulacije
- aspiracija jajnih stanica (AJS)
- embriotransfer,

a dvije u sekundarnom IVF-u odnosno kriotransferu:

- kontrola zrenja endometrija do receptivnosti - prirodni ciklus
- dodatak estrogena
- embriotransfer.

a) *Kontrola ciklusa i predviđanje ovulacije zasniva se na sljedećim principima:*

- paziti na trajanje ranijih prirodnih ciklusa i IVF pokušaja
- bazalno određeni hormoni (2. - 5. dana) – značajnost određivanja estradiola (E2) i progesterona (P4), nepovoljni prediktivni faktori za uspješnost postupka - 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) o 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 o E2 ≥ 4000 pg/ml ukazuje na rizik OHSS (30-40%)
- E2 < 500 pg/ml ukazuje na slabu ovarijsku rezervu PR (eng.POR) <4 oocyte 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.

Endometrij

- isti principi kontrole UZV

od 5. dana ciklusa zadebljava 0,5-1mm dnevno

po potrebi dodatak estradiola – 4 do 6 mg/dnevno.

Stimulacija ciklusa radi se sukladno protokolima koje je u obvezi imati svaka zdravstvena ustanova koja ima odobrenje za obavljanje postupaka BMPO, sukladno Zakonu.

Protokoli stimuliranih i modificiranih spontanijh ciklusa:

- Stimulacija jajnika uz prethodnu uporebu agonista GnRH

Agonisti GnRH se koriste za uspostavljanje hipofizne desenzibilizacije i za sprečavanje skoka LH. Agonisti GnRH se najčešće koriste u dugim protokolima stimulacije jajnika.

- Stimulacija jajnika uz uporabu antagonista GnRH

Kako bi se uspostavila desenzibilizacija hipofize, sve se više primjenjuju antagonisti GnRH, koji također uzrokuju desenzibilizaciju hipofize, ali način koji se temelji na kompetitivnoj blokadi GnRH receptora sprječavajući stimulirajući učinak endogenog GnRH na stanice moždanog stabla i brzo smanjujući izlučivanje gonadotropina, inhibirajući skok LH i sprječavajući preranu ovulaciju i luteinizaciju bez inicijalnog „flare – up“ učinka.

- Stimulacija jajnika po »Mild« protokolu

Ovaj protokol je verzija stimulacije jajnika s upotrebom antagonista GnRH. Blagi protokol je svaki protokol u kojem se radi o manjoj i/ili kraćoj primjeni gonadotropina. Ovaj protokol se uobičajno započinje 5. dana menstrualnog ciklusa stimulirajući jajnike.

Kriteriji uključivanja: dob žene do 35 godina, I ili II. IVF postupak, dobra rezerva jajnika.

- Modificiran spontan ciklus s HCG-om

Postupci izvantjelesne oplodnje u modificiranom spontanom ciklusu koriste se kod mladih pacijentica sa tubarnim uzrokom neplodnosti ili kod pacijentica koje slabo reaguju na visoke doze gonadotropina. Kontraindikacija za ovaj protokol su anovulacijski ciklusi.

- Modificiran spontani ciklus sa gonadotropinima, GnRH antagonistima in HCG-om

Menstrualni ciklus se modificira upotrebom antagonista GnRH i niskim dozama gonadotropina. Za sazrijevanje jajne stanice se koristi humani horionski gonadotropin.

- Stimulacija jajnika kod pacijentica sa slabim odazivom na stimulaciju

Pacijentice kod kojih se očekuje slab odgovor na stimulaciju gonadotropinima predstavljaju specifičnu populaciju s kojom se susrećemo u liječenju neplodnosti s postupcima BMPO. Prema definiciji Europskog udruženja za humanu reprodukciju i embriologiju (ESHRE) iz 2011. godine, pacijentice koje imaju najmanje dva kriterija slabo reagiraju na stimulaciju jajnika: dob žene ≥ 40 godina ili drugi (npr. genetski) rizik od prerane insuficijencije jajnika, odgovor na prethodnu stimulaciju s tri ili manje jajnih stanica, patološki test rezerve jajnika (broj antralnih folikula $<5-7$, koncentracija Anti Müller-ovog hormona (AMH) $<0,5$ do $1,1$ ng / ml).

Zbog sve većeg broja žena koje se sve kasnije odlučuju za zasnivanje obitelji iz socijalno-ekonomskih razloga, očekuje se da broj pacijentica s niskim odzivom na stimulaciju bude sve više. Kako bi se kod ovih pacijentica dobilo što više jajnih stanica, moguće je uraditi stimulacijsku metodu koja uključuje dvostruku stimulaciju sazrijevanja jajnih stanica i dvostruku aspiraciju jajnih stanica.

Shodno Zakonu prije započinjanja nove stimulacije jajnika zbog dobijanja jajnih stanica kod bračnog/izvanbračnog para moraju se, u pravilu, iskoristiti svi zamrznuti zametci i spolne stanice, odnosno spolna tkiva koji potječu od tog para.

Izuzetno u novu stimulaciju jajnika, a da nisu iskorišteni svi zamrznuti embrioni, spolna tkiva ili jajne stanice, može se krenuti ukoliko je u međuvremenu kod partnera dijagnosticirano oboljenje za koje je nužno uraditi preimplantacijsku genetičku dijagnostiku.

b) Aspiracija jajnih stanica (AJS)

Aspiracija jajnih stanica (AJS) je zahtjevan i ponekad rizičan kirurški zahvat i zasniva se ma sljedećim načelima:

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
- hidrosalpinksi
- plan punkcije
- po potrebi planirati i laparoskopski AJS

aspiracija jajnih stanica

- 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 stijenu 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.

c) Embriotransfer - ET

Nježan, atraumatski embriotransfer važan je preduvjet uspjeha IVF-a/ICSI-a. Obavlja se 2, 3 ili 5 dana nakon aspiracije jajnih ćelija, odnosno oplodnje. To znači da tada embrij (i) optimalno budu u stadiju s 4,8 stanica, odnosno u stadiju blastociste. Prije prijenosa zametaka potrebno je identificirati pacijenticu i pripadajuće zametke kako bi se spriječilo miješanje uzoraka. Broj prenešenih zametka predviđen je. Preostali kvalitetni zamci mogu se kriopohraniti.

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, ali je i vjerojatnost izostanka ET viša
- težak ET umanjuje uspjeh
- uz opsežnu manipulaciju cerviksa umanjuje se uspjeh
- meki kateter uspješniji je od tvrdog.

Otežani ET može se očekivati kod nuligravida, dugačkog nepravilnog cerviksa, stenoze 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

- zameci se istiskuju (odlažu) 2 cm ispod fundusa
- volumen istisnutog medija za ET 10 do 20 μ 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

4.2.3.4. Kultura spolnih stanica i provjera fertilizacije

Kultura spolnih stanica podrazumijeva uzgoj spolnih stanica u uvjetima *in vitro*. To je vrlo osjetljiva metoda pri kojoj posebnu pozornost treba obratiti održavanju stabilnog pH, osmolarnosti i temperature kako bi se održala homeostaza biološkog materijala. Nakon 16 do 20 sati od postupka IVF ili ICSI provjerava se oplodnja jajnih stanica. Bilježi se morfološki izgled zigota i neoplođenih jajnih stanica. Iz kulture se izdvajaju zigote s nepravilnim brojem prozjgri.

4.2.3.5. Kultura zametaka i prijenos zametaka u maternicu

Kultura zametaka i prijenos zametaka u maternicu uključuje kulturu zametaka, pripremu i postupak prijenosa zametaka. Kultivacija zametaka je osjetljiva, treba obratiti pozornost na održavanje stabilnog pH, osmolarnosti i temperature da bi se održala homeostaza biološkog materijala. Tijekom kultivacije zametaka potrebno je pratiti i bilježiti morfološki razvoj zametaka (broj i izgled blastomera, stupanj fragmentacije, izgled citoplazme, razvoj faze kompaktacije, razvoj i kvaliteta blastocisti).

4.3. Zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka

Pohrana spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka na dulje razdoblje uz zadržavanje njihove funkcionalnosti ima važnu primjenu u metodama BMPO-a.

Indikacije za krioprezervaciju spolnih stanica, spolnih tkiva i zametka su:

- čuvanje zametaka za naknadne transfere,
- u slučaju da se zametci ne mogu prenijeti u aktualnom ciklusu zbog bolesti pacijenta, sindroma hiperstimulacije ili slabo pripremljenog endometrija,
- preimplantacijska genetička dijagnostika,
- prije zračenja ili kemoterapije,
- kod žena s smanjenom ovarijalnom rezervom zbog uzroka koji vode porijeklo od genetičkih promjena na kromosomima i genima, teških oblika endometrioze ili nakon operacije na jajnicima.

Zamrzavanje, kriopohrana i odmrzavanje spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka uključuje identifikaciju spolnih stanica, identifikaciju reproduktivnih tkiva, identifikaciju zametaka, pripremu i postupak zamrzavanja, označavanje i skladištenje, pripremu i postupak odmrzavanja. Oznaka kojom se obilježava zamrznuti biološki materijal treba sadržavati jedinstveni identifikacijski broj pacijenta/donora od kojeg materijal potječe i oznaku zamrzavanja (datum ili redni broj) kako bi se osigurala sljedivost materijala.

Najčešće korištene tehnike zamrzavanja biološkog materijala su metoda kontroliranog zamrzavanja i vitrifikacija.

Ustanova treba osigurati redoviti nadzor razine tekućeg dušika u kriospremnicima. Nakon odmrzavanja biološkog materijala potrebno je evidentirati kvalitetu i preživljenje odmrznutih uzoraka.

4.4. Biopsija polarnih tjelešaca, zametaka i blastocista

Biopsija polarnih tjelešaca, zametaka i blastocista je postupak *in vitro* kojim se putem kemijskih, mehaničkih ili laserskih metoda izoliraju polarna tjelešca jajne stanice, blastomere

zametka ili stanice trofoektoderma blastociste u svrhu preimplantacijske genetičke dijagnostike.

Nakon provedenog genetičkog savjetovanja bračnog/izvanbračnog para i preporuke koju daje kvalificirana osoba, ovaj postupak se preporuča u slučajevima kada se želi isključiti mogućnost prijenosa genske bolesti ili kromosomskih nepravilnosti na potomstvo.

Postupak uključuje identifikaciju pacijenata, identifikaciju spolnih stanica, identifikaciju zametaka, postupak biopsije polarnog tjelešca, postupak biopsije blastomera, postupak biopsije trofoektoderma.

Sa stanicama i zametcima koji će se genetski testirati mora se manipulirati individualno, te pažljivo označiti tijekom svakog koraka postupka. Uzorak dobiven biopsijom treba analizirati u laboratoriju za genetiku.

V. PREIMPLANTACIJSKA GENETIČKA DIJAGNOSTIKA

Preimplantacijska genetička dijagnostika stanica preimplantacijskog zametka je detekcija kromosomskih i/ili genskih anomalija prije postupka vraćanja ranog zametka u maternicu ili jajovode žene.

Preimplantacijska genetička dijagnostika dozvoljena je u slučaju opasnosti od prijenosa nasljedne bolesti, a na prijedlog odgovornog doktora.

Preimplantacijska genetička dijagnostika važan je znanstveni napredak za pacijente koji su nositelji genskih bolesti, i koji su u riziku za prijenos nasljednih bolesti (npr. hemofilija, cistična fibroza, fragile X, Duchenneova mišićna distrofija itd.)

Preimplantacijska genetička dijagnostika stanica preimplantacijskog zametka se preporuča:

- kod čestih pobačaja
- učestali neuspješni IVF ciklusi
- kod porođaja ili pobačaja djeteta s kromosomskom manom
- rizik zbog starosti (majka starija 36 godina)
- kod poremećaja povezanih sa spolom, kada namjerno treba odabrati pojedinca zdravog spola
- kod sperme dobivene kirurškim prikupljanjem
- ako jedan od roditelja ima specifični genomski premještaj (sonde za takve parove su dosta individualne)
- u slučaju neke uobičajene, genetički dobro dijagnosticirane bolesti, poput cistične fibroze, sindrom fragilnog x kromozoma, hemofilija, talasemija, anemija srpastih stanica, fenilketonurija, mutacija tumor supresorskih gena
- za parove kod kojih se oplodi samo mali broj embrija.

VI. KOMPLIKACIJE

BMPO postupci nose nemali rizik za oboje, kako za majku tako i za plod. Ovi rizici moraju biti objašnjeni paru i treba provesti adekvatno savjetovanje para. BMPO postupci se trebaju započeti tek nakon što oba partnera u potpunosti razumiju ove rizike i nakon toga žele da budu podvrgnuti proceduri. Neki od najčešćih rizika su navedeni u daljnjem tekstu (*navedena lista komplikacija nije iscripila sve rizike*).

6.1. Multipla gestacija

Izvištavana incidenca multiple gestacije varira u skali od 20 do 30%.

Incidenca trudnoće sa blizancima je u skali od 10-20%, te se možda mora prihvatiti kao neizbježna, ali se određeni naponi moraju uložiti da se smanji incidenca trudnoće sa trojkama ili multiple trudnoće višeg reda.

Stoga Zakonom nije dozvoljen unos više od dva zametka. Iznimno, kod žena starijih od 38 godina života, žena s nepovoljnim testovima pričuve jajnika, ponavljano neuspjeha u liječenju, onkoloških bolesnika i težeg oblika muške neplodnosti, dopušten je unos tri zametka u spolne organe žene, što treba biti uneseno u dokumentaciju.

Preostali zametci i/ili jajne stanice zamrzavaju se sukladno uvjetima o pohranjivanju propisanim Zakonom, poštujući načelo sljedivosti i, ako je potrebno, prebačeni u kasniji ciklus liječenja.

6.2. Ektopična trudnoća

Stope ektopične trudnoće mogu biti u visini do 8% za BMPO procedure. Odabir odgovarajuće procedure, naročito kod osoba sa tubalnim oboljenjem, mogu smanjiti šanse za ektopičnu trudnoću.

6.3. Spontani abortus

Stope spontanog abortusa variraju u skali od 20 do 35%. Stope abortusa rastu sa starijom dobi majke i kod multiplih trudnoća, naročito sa dva ili više fetusa. Suštinski je važno da se tretiranom paru obvezno objasne prednosti smanjenja broja embrija, kako je to propisano Zakonom, bolje šanse za preživljavanje fetusa i činjenica da će oni vjerovatno biti rođeni u fazi bliže redovitom terminu rađanja i sa boljom težinom na porođaju.

6.4. Prerani porođaj

Djeca začeta BMPO, češće se rađaju prijevremeno te se ubrajaju u rizičnu novorođenčad, koja često zahtjevaju boravak na intenzivnim njegama i mehaničku ventilaciju. Prijevremeno rođena djeca imaju veću opasnost od infekcija i kasnijih neuroloških oštećenja.

Djeci iz kategorije prijevremeno rođenih češće je indiciran neurohabilitacijski tretman. Kod prijevremeno rođene djece češće se javljaju oštećenja sluha i vida, kao i smanjene intelektualne sposobnosti.

Postupak medicinski potpomognute oplodnje uključuje intervencije sa humanim embrionom u iznimno vulnerabilnom periodu rane embriogeneze, što povećava rizik od nastanka kongenitalnih anomalija, pri čemu je značajan kotribuirajući faktori dob majke.

Subfertilnost je faktor rizika za komplikacije trudnoće i kongenitalne anomalije. Subfertilni parovi starije životne dobi imaju veće šanse da imaju kromozomske abnormalnosti, koje se mogu prenijeti na plod.

Zbog tog se preporuča: postaviti racionalne indikacije za BMPO, optimalizirati uvjete za prihvatanje rizične novorođenčadi i daljnje praćenje njihovog rasta i razvoja, ustanoviti sustav evidencije trudnoća nastalih putem BMPO na razini Federacije BiH, radi daljnjeg praćenja zdravstvenog stanja djece začete tehnikama BMPO.

6.5. Sindrom ovarijalne hiperstimulacije

Korištenje superovulacije za BMPO sadrži u sebi rizik hiperstimulacije kod nekih žena, u skali od 0.2 do 8.0%. Opseg za ovakav rizik je određen hormonalnim profilom te žene, vrijednostima estradiola (veće od 2500 pg/ml), doza potrebna za „izazivanje“ ovulacije, sposobnost da se aspiriraju svi folikuli u vrijeme obnove oocita, i nekoliko drugih faktora.

Zbog toga treba izbjegavati hiperstimulacije i također sredstava za liječenje hiperstimulacije. Pažljivo nadgledanje i upravljanje slučajem će smanjiti taj rizik kao i morbiditet povezan s tim. Osim ovih specifičnih komplikacija u proceduri BMPO, parovi koji su podvrgnuti različitim BMPO procedurama su, također, i predmet rizika povezanih s operativnim i anesteziološkim procedurama koje su sastavni dio BMPO procedura.

VII. ONKOFERTILITETNI POSTUPCI

Preporuča se zasebna i organizirana skrb 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,
- užeg specijalista humane reprodukcije.

Tim za takvu ekspertizu treba postojati u svakoj sveučilišnoj kliničkoj bolnici. Navedeni stručnjaci stvaraju plan očuvanja plodnosti oboljelog i obrazlažu potrebu, mogućnosti, uspješnost i rizike takvoga postupka. Vjerojatnost izlječenja zloćudne bolesti važan je 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 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 detaljno 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 neoplastične bolesti. Već su opisani testovi kojima se precizno utvrđuje pričuva (rezerva) folikula u jajnicima.

VIII. PRIJENOS POHRANJENIH SPOLNIH STANICA, SPOLNIH TKIVA ILI ZAMETAKA

Prijenos pohranjenih spolnih stanica, spolnih tkiva ili zametaka uređen je Zakonom. Sukladno Zakonu, osobe od kojih potječu pohranjene spolne stanice, spolna tkiva ili zametci mogu iz opravdanih razloga zatražiti njihov prijenos u drugu ovlaštenu zdravstvenu ustanovu u Federaciji, odnosno Bosni i Hercegovini, a radi korištenja u postupku BMPO za vlastitu biomedicinski pomognutu oplodnju. O opravdanosti prijenosa spolnih stanica, spolnih tkiva ili zametaka u drugu ovlaštenu zdravstvenu ustanovu odlučuje Povjerenstvo. Temeljem pismenog zahtjeva osoba, kao i temeljem odluke Povjerenstva, federalni ministar zdravstva donosi rješenje kojim se dozvoljava prijenos spolnih stanica, spolnih tkiva ili zametaka u drugu ovlaštenu zdravstvenu ustanovu ili rješenje o odbijanju zahtjeva. Rješenje je konačno u upravnom postupku i protiv istog se može pokrenuti upravni spor suglasno propisima o upravnim sporovima.

Prijenos spolnih stanica, spolnih tkiva ili zametaka vrši se u tekućem dušiku od strane ustanove specijalizirane za transport biološkog materijala koja posluje po standardima dobre distribucijske prakse (Good Distribution Practice, GDP), dobre skladišne prakse (Good Storage Practice, GSP), dobre proizvodne prakse (Good Manufacturing Practice, GMP) i dobre kliničke prakse (Good Clinical Practice, GCP).

Nakon izvršenog prijenosa biološkog materijala po jedan primjerak dokumentacije šalje se Povjerenstvu, pacijentima i ustanovama uključenim u postupak prijenosa.

Povjerenstvo će izraditi smjernice o podnošenje zahtjeva za prijenos pohranjenih spolnih stanica, spolnih tkiva ili zametaka koje će biti objavljene na web stranici Federalnog ministarstva zdravstva.

IX. SUSTAV KVALITETE

Sukladno Zakonu, zdravstvene ustanove koje imaju odobrenje za provedbu postupaka BMPO, dužne su uspostaviti sustav standarda za osiguranje sigurnosti i kvalitete, što uključuje upravljanje kvalitetom za djelatnost BMPO, jasno definiran organizacijski okvir, opise poslova i odgovornost za svako od radnih mjesta, upravljanja dokumentacijom i zapisima, kontrolu kvalitete, kvalifikacije prostora i opreme, validacije procesa, sljedivosti, te izvješćivanja o nesukladnostima, štetnim događajima i reakcijama.

Sustav upravljanja kvalitetom u području BMPO-e skup je koordiniranih aktivnosti namijenjenih upravljanju i nadzoru organizacije po pitanju kvalitete, koje moraju omogućiti dosljedan rad sa spolnim stanicama, tkivima i embrijima u skladu s tehničkim i zakonskim zahtjevima.

Upravljanja kvalitetom mora se provoditi i održavati tijekom cijelog procesa BMPO i obuhvaća niz mjera, od identifikacije pacijenta, preko laboratorijskog rada sa spolnim stanicama, tkivima i embrijima, do kliničke primjene prema pacijentu.

Zdravstvene ustanove dužne su razviti standardne operativne procedure (u daljnjem tekstu: SOP) za pojedine postupke BMPO. U ovim procedurama se obvezno navode sve radnje u okviru svakog pojedinog postupka BMPO. Standardne operativne procedure moraju obuhvaćati i postupke koji jamče sigurnost bračnih/izvanbračnih partnera. Revizija SOP-a se treba odvijati po potrebi, a pregled SOP-ova jedanput godišnje. Stare verzije SOP-a se trebaju arhivirati i čuvati.

Za kvalitetu u provođenju postupaka BMPO su odgovorne sve osobe uključene u radne procese u ovlaštenim zdravstvenim ustanovama.

Rukovodstvo zdravstvene ustanove je dužno osigurati sustavan pristup kvaliteti, te primjeni i održavanju sustava kvalitete.

LITERATURA

- Gianaroli L, Ferraretti AP, Magli MC, Sgargi S. Current regulatory arrangements for assisted conception treatment in European countries. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016.
- Gleicher N, Kushnir VA, Barad DH. Preimplantation genetic screening (PGS) still in search of a clinical application: a systematic review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;64-76.
- Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011: 23-28.
- Busnelli A, Somigliana E. Prognosis and cost-effectiveness of IVF in poor responders according to the Bologna Criteria. *Minerva Ginecol.* 2018;89-98.
- Calhaz-Jorge C, Feki A, Farquharson R. European view of subspecialty training on behalf of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Fertil Steril.* 2015;8-11.
- Šimunić V. i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost. Medicinski pomognuta oplodnja i IVF. Školska knjiga, Zagreb, 2012.
- Zorn B. i sur. Andologija. Littera picta, Ljubljana, 2014.
- Hansen M, Greenop K, Bourke J, Baynam G, Hart R, Leonard H. Intellectual Disability in children Conceived Using Assisted Reproductive Technology. *Pediatrics* 2018; 1423..
- Bay B, Mortensen EL, Kesmodel US. Assisted reproduction and child neurodevelopmental outcomes: a systemic review. *Fertility and Sterility*; 2013
- Hvidtjorn D, Grove J, Schendel D et al. Cerebral Palsy Among Children Born in Vitro Fertilization: The Role of Preterm Delivery-A Population BASED Cohort Study. *Pediatrics* 2006;
- ESHRE Capri Workshop Group. Birth defects and congenital health risk in children conceived through assisted reproduction technology (ART). A meeting report. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31(8): 947-958
- Spector L, Brown M, Wantman E et al. Association of In Vitro Fertilization With Childhood Cancer in the United States
- *JAMA Pediatr.* Published online April 1, 2019. doi:10.1001/jamapediatrics.2019.0392
- Golombok S. Psychological functioning in infertility patients. *Hum Reprod.* 1992;7:208-212.
- Menning BE. The emotional needs of infertile couples. *Fertil Steril.* 1980;34:313-19.
- Moller A, Fallstrom K. Psychological consequences of infertility. A longitudinal study. *J Psychosom Obstet Gynecol.* 1991;12:27-45.
- Applegarth LD. Individual counselling and psychotherapy. Hammer Burns L, Covington SN. (eds.). *Infertility Counselling. A Comprehensive Handbook for Clinicians* (pp. 85-102). Parthenon, London, 1999.
- Boivin J, Scanlan L, Walker SM. Why are infertile couples not using psychosocial counselling? *Hum Reprod.* 1999;14:1384-1391.
- British Infertility Counselling Association: *Journal of Fertility Counselling* (Spring and Summer 1999).
- Blyth E. *Infertility and Assisted Conception. Practice Issues for Counsellors.* British Association of Social Workers, Birmingham, 1995.
- de Parseval GD. Clinical remarks concerning parents (potential and real) after different treatments for the infertility of couples. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 1992;13:65-72.

- Edelman RJ, Connolly KJ, Bartlett H. Coping strategies and psychological adjustment of couples presenting for IVF. *Journal of Psychosomatic Research*. 1994;38:355-64.
- Direktiva 2004/23/EZ Europskog parlamenta i vijeća od 31. ožujka 2004. o određivanju standarda kvalitete i sigurnosti za postupke darivanja, nabave, testiranja, obrade, čuvanja, pohranjivanja i raspodjele tkiva i stanica ljudskog podrijetla;
- Direktiva Povjerenstva 2006/17/EZ od 8. veljače 2006. kojom se primjenjuje Direktiva 2004/23/EZ Europskog parlamenta i Vijeća o određenim tehničkim zahtjevima kod darivanja, pribavljanja i testiranja tkiva i stanica ljudskog podrijetla;
- Direktiva Povjerenstva 2006/86/EZ od 24. listopada 2006. kojom se provodi Direktiva 2004/23/EZ Europskoga parlamenta
- Direktiva Povjerenstva 2012/39/EU od 26. studenog 2012. o izmjeni Direktive 2006/17/EZ glede određenih tehničkih zahtjeva za testiranje ljudskih tkiva i stanica;
- Direktiva Povjerenstva 2015/565 od 8. travnja 2015. o provedbi Direktive 2006/86/EZ glede određenih tehničkih zahtjeva za označavanje ljudskih tkiva i stanica; i
- Direktiva Povjerenstva 2015/566 od 8. travnja 2015. o provedbi Direktive 2004/23/EZ u svezi postupaka provjere ekvivalentnosti standarda kvalitete i sigurnosti uvezenih tkiva i stanica.

Broj: 01-37-4632/19
Sarajevo, 29.07.2019. godine

Temeljem članka 23. stavak (3) Zakona o liječenju neplodnosti biomedicinski pomognutom oplodnjom („Službene novine Federacije BiH“, broj 59/18), federalni ministar zdravstva, d a j e

SUGLASNOST

Na **Smjernice za liječenje neplodnosti** dostavljene od Povjerenstva za primjenu postupaka biomedicinski pomognute oplodnje aktom broj: 01/02-37-4121-1/19-MPO od 25.07.2019. godine, a koje će se, s ciljem osiguranja transparentnog informiranja javnosti, objaviti na web stranici Federalnog ministarstva zdravstva.



MINISTAR

Doc.dr Vjekoslav Mandić

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Vjekoslav Mandić", written over the printed name.