

Александар Грдинић, Гордана Вукчевић¹,
Тања Стојчевска², Горан Марјановић¹,
Миња Станковић³, Саша Раичевић¹

¹Клинички центар Црне Горе, Подгорица, Црна Гора

²Завод за хитну медицинску помоћ, Београд, Србија

³Гинеколошко-акушерска клиника "Народни фронт",
Београд, Србија

Неплодност и вантјелесна оплодња као могуће решење

Сажетак

Кључне речи:

неплодност,
асистирана репродуктивна
технологија,
вантјелесна оплодња.

Неплодност је стање изостајања трудноће у једној заједници која траје најмање годину дана, под условом да се одржавају нормални полни односи. Узроци неплодности су бројни, а у око 10% до 5% случајева они се не могу разјаснити, те је испитивање и лечење неплодности често мукотрпан и дуготрајан процес. Под појмом Асистиране репродуктивне технологије (ART) подразумевамо групу терапијских поступака за лечење неплодних брачних парова који нису излечени једноставнијим поступцима, међу којима је и поступак вантјелесне оплодње (IVF). Ове процедуре лечења неплодности дају данас веома добре резултате и представљају метод избора за око 40% свих неплодних брачних парова. Вантјелесна оплодња не значи сигурно потомство, али, у медицинском смислу, свакако представља отклон према бољем од онога што је било. Дјеца рођена из IVF су са истим квалитетима и манама као и дјеца из спонтаних циклуса, с тим што је наравно код IVF нешто већа учесталост инвазивне пренаталне дијагностике. Пошто је, као што видимо, овај дио медицине повезан с најтананијим људским осјећањима као што је потомство, од љекара који спроводи овај чаробни метод очекује се да је врхунски професионалац и хуманиста, који ни у једном тренутку неће довести у питање шта је битније - пацијент или рентабилност посла којим се бави.

Увод

Неплодност је стање изостајања трудноће у једној заједници која траје најмање годину дана под условом да се одржавају нормални полни односи. Постоји примарна неплодност (инфертилитет) која подразумева да код жене никада није било трудноће и секундарна неплодност која означава да до жељене трудноће не долази после 1 године од последње трудноће под напред наведеним условима.

Узроци неплодности су бројни, а у око 10%-15% случајева они се не могу разјаснити, те је испитивање и лечење неплодности често мукотрпан и дуготрајан процес¹.

Од 1978. године, када је рођена Лујза Браун, прва беба из поступка вантелесне оплодње, овај метод омогућио је рађање преко 3,5 милиона деце широм света. Овај метод лечења брачне неплодности се никад не ради први, него се предлаже када други методи нису дали резултате.

Циљ рада и метод

Циљ овог рада био је да се прегледом досадашње литературе објасне разлози примене, начини извођења и могуће компликације фертилизације *in vitro*, терапијски методи лечења стерилитета.

Неплодност (појам и дијагностика)

Шта подразумевамо под појмом вантелесна оплодња? Речју, вантелесна оплодња подразумева узимање јајне ћелије из тела жене, њену оплодњу у лабораторијским условима, и враћање оплођене јајне ћелије или ембриона у материцу после неколико дана од оплодње. Уколико дође до имплантације ембриона у матичну слузницу, настаће трудноћа која се неће разликовати од природно настале.

Узроци неплодности жене: могу бити овулаторни, тубарни, цервикални и утерини фактори, имунолошки и мултифакторијални, те ендометриоза². Узроци мушке неплодности могу се поделити на поремећаје продукције сперматозоида, анатомске опструкције и факторе у које се убрајају импотенција и поремећаји ејакулације. Антисперматозоидна антитела могу да се нађу у цервикалној слузи жене, али и мушки партнер може да произведе антитела на сопствене сперматозоиде³.

Пошто је процес оплодње подједнако зависан од оба партнера код испитивања неплодности, дијагностика обухвата пар а не само жену или мушкарца.

Испитивање жене подразумева:

- гинеколошки преглед
- испитивање хормонског статуса
- бактериолошко испитивање (цервикални брис, вагинални секрет)
- микробиолошко испитивање (*chlamidia trachomatis*, *ureaplasma*, *micoplasma hominis*)
- *PCT* - испитивање слузи канала грлића материце после односа
- ултразвучни преглед
- *HSG* - рендгенско снимање материце и јајовода
- хистероскопија
- лапароскопија
- имунолошко испитивање
- генетско испитивање

Испитивање мушкарца подразумева:

- испитивање семене течности (спермограм и биохемија)
- уролошко испитивање
- бактериолошко испитивање
- микробиолошко испитивање
- испитивање хормонског стања
- имунолошко испитивање
- генетско испитивање

Асистирана репродуктивна технологија

Под појмом *асистиране репродуктивне технологије* (АРТ) подразумевамо групу терапијских поступака за лечење неплодних брачних парова који нису излечени једноставнијим поступцима. Ове процедуре лечења неплодности дају данас веома добре резултате и представљају метод избора за око 40% свих неплодних брачних парова. Терапијски поступци често код пацијената изазивају стресна стања, која се могу избећи или значајно умањити уколико се претходно упознају са читавим поступком лечења, предностима, али и ризицима, постајући на тај начин активни учесници¹. АРТ су поступци лечења који укључују:

Инсеминацију

Иако интраутерина инсеминација (*IUI*) по званичној и важећој дефиницији не спада у групу асистираних репродуктивних технологија, она ипак подразумева убацивање претходно лабораторијски обрађених сперматозоида у материцу у време овулације. Зато је раније метод *IUI* називан „ниском технологијом“. То је најједноставнији облик асистиране репродукције. За инсеминацију се може користити сперма партнера (*AIH* - артифицијелна инсеминација хомолога) или донора (*AID*), али и мешавина сперме партнера са спермом даваоца (*AIM*); *AIH* се примењује код парова када је код мужа дијагностикована ејакулаторна дисфункција или мушка субфертилност, имунолошки фактор, цервикални фактор или ендометриоза којом нису захваћени јајоводи; *AID* се примењује када је код мужа дијагностикована азооспермија, тешка олигоастенотератозооспермија или генетско обољење раног оплођења.

Вантелесну оплодњу (IVF), која обухвата

- Трансфер јајне ћелије и сперматозоида у јајовод (*Gamet Intrafalopian Transfer - GIFT*);
- трансфер ембриона, зигота у јајовод (*Zigot Intrafalopian Transfer - ZIFT*);
- увођење сперматозоида иглом у јајну ћелију (*Intracitoplasmatic Sperm Injection - ICSI*);
- замрзавање ембриона, или ткива јајника итд.

Програм IVF подразумева неколико сукцесивних корака: програмску евалуацију, супримирање хипофизе агонистима или антагонистима гонадотропин ослобађајућег хормона (*GnRH*), индукцију овулације кломифен - цитратом, хуманим менопаузалним гонадотропином (*hMG*), пречишћеним или рекомбинованим фоликулостимулирајућим хормоном (*FSH*), те подстицање

самог чина овулације (*trigger*) хуманим хорионским гонадотропином (*hCG*) или агонистима *GnRH*. После тога се приступа аспирацији јајних ћелија из матурираних фоликула и у лабораторији самом чину фертилизације ооцита претходно обрађеним сперматозоидима. Тако оплођене јајне ћелије се култивишу до стадијума 4- или 8- ћелијског ембриона или пак бластоцисте, када се приступа трансферу ембриона (*ET*) у материчну шупљину. Индикације за примену *IVF-ET* су, пре свега, тубарни узрок, ендометриоза, имунолошки фактор и субфертилитет мушкарца.

Процедура *IVF-ET* може бити изведена и у спонтаном овулаторном циклусу, без поступка који подразумева хормонску терапију или минималну стимулацију. Аспирација незрелих јајних ћелија из фоликула величине 10-12 mm специфично у *PCOS* пацијенткиња је најновији вид *IVF* метода. Овај вид фертилизације је означен као *in vitro* матурација (*IVM*) и подразумева издвајање јајних ћелија из јајника и њихово дозревање ван тела жене без претходне хормонске стимулације. Успешност овог метода је само 8,5%-10%, за разлику од хормонски стимулисаног циклуса, где се успешност креће од чак 40% до 50%.

Контролисана хиперстимулација је процедура која се користи за стимулисање јајника да произведу више јајних ћелија, будући да се у природним циклусима произведе само једна. Више јајних ћелија, а затим више ембриона пружа могућност избора најквалитетнијих ембриона за ембриотрансфер и повећава могућност зачећа када се ти ембриони унесу у материцу. За време стимулације не мора се мењати уобичајени начин живота. Сексуални односи су дозвољени скоро све време стимулације. Апстиненција партнера је неопходна 2-3 дана пре саме интервенције, како би у моменту давања сперме њен квалитет био максималан.

Као најозбиљнија компликација индукције овулације може се појавити оваријални хиперстимулациони синдром (*OHSS*), који се испољава широким спектром клиничких симптома, знака и лабораторијских манифестација. Учесталост *OHSS*-а лаког облика је, глобално гледајући, од 8%-23%, средње тешког од 0,005%-7% и тешког облика од 0,008%-10%.

Уобичајено је да се враћање ембриона изврши 48 сати после пункције фоликула. У неким ситуацијама овај се период продужава на 72 сата, па чак и на неколико дана (највише 5-6).

Intracitoplasmatic Sperm Injection (ICSI, увођење сперматозоида иглом у јајну ћелију), ICSI:

Значајно компликованији вид вантелесне оплодње је микрофертилизација или интрацитоплазматска инјекција сперматозоида (*ICSI*), која је варијанта *in vitro* фертилизације (*IVF*). Разлика од класичног метода је у томе што се чин спајања полних ћелија обавља

микроманипулацијом, тј. сперматозоид партнера се сложеним поступком, под контролом система микроскопа, убацује директно у јајну ћелију. Другим речима, не оставља се сперматозоидима да сами пронађу пут до јајне ћелије, већ овим процесом управља биолог. Ово је посебно важно у случају када располажемо с малим бројем јајних ћелија, што се најчешће догађа код пацијенткиња старијег животног доба. Метод *ICSI* је увео радикалне промене, нарочито у тешким случајевима мушке неплодности. Пробијање зоне *pelucide* може изазвати одбрамбени механизам омотача јајне ћелије или раног ембриона⁴. Техника микрофертилизације може резултирати дегенерацијом јајне ћелије или формирањем ненормалног/оштећеног ембриона. Могу се појавити непредвидиви технички проблеми и омести успешну фертилизацију.

Микрофертилизација је понекад праћена и аспирационом биопсијом тестиса (*TESA*) или правом хируршком биопсијом (*TESE*) у случајевима кад у ејакулату нема сперматозоида којима би се извршила оплодња. Примењују се још и микрохируршка аспирација сперматозоида епидидимиса (*MESA*) и перкутана епидидимална аспирација сперматозоида (*PESA*). То значи да се фертилизација ооците у програму *ICSI* може постићи мушком полном ћелијом различитог степена зрелости како применом зрелог сперматозоида, тако и оним из тестиса или епидидимиса.

Ризици везани за интервенцију пункције фоликула и аспирацију јајних ћелија су:

- могуће реакције на лекове и/или анестезију;
- ризици везани за пролазак пункцијске игле кроз вагину у јајник, укључују: инфекцију, крварење, оштећење ткива - свода вагине, мокраћне бешике, крвних судова, уретре, материце и јајника и формирање прираслица због унутрашњих ожиљака;
- у изузетно тешким случајевима може се појавити неуобичајено крварење или оштећење ткива, које се може кориговати искључиво хируршком интервенцијом.

Пункција фоликула и аспирација јајних ћелија може се завршити неуспехом и захтевати одустајање од поступка. Најчешћи разлози су:

- када се у циклусу не развију фоликули који садрже зреле јајне ћелије;
- када се природна овулација деси пре пункције јајних ћелија;
- када се не нађу јајне ћелије после извршене пункције;
- када нема могућности приступа до јајних ћелија због жилног ткива, или се појаве неке друге техничке потешкоће које спречавају пункцију јајних ћелија.

Ембриотрансфер

Ако је вантелесном оплодњом или микрофертилизацијом створен један ембрион, онда је ствар јасна - тај ембрион ће бити унесен у шупљину материце. Исто важи и за два ембриона. Трансфер три ембриона се више не охрабрује. С једне стране, већи број земаља смета њиховом причвршћивању за зид материце, а да се при том не повећава могућност да до усадње ембриона уопште дође, што се никако не сме занемарити. С друге стране, ако се поступак заврши срећно, а у случају вишеплодне трудноће, чешће су појаве спонтаних побачаја, превремених порођаја и компликација у трудноћи уопште. Нажалост, лечење вантелесном оплодњом доводи до тога да је проценат броја деце рођене из вишеплодних трудноћа међу свом рођеном децом зачетом методима асистираних репродукције често виши од 50%, што се у последње време значајно смањује с обзиром на бројне мере ограничавања броја трансферисаних ембриона. Ипак, овај метод, дајући стопу успешности од преко 30% (мерено стопом зачећа у једном менструалном циклусу), постаје успешнији од спонтаног зачећа. Због свега наведеног обично се ради трансфер два ембриона код жена до 30 година старости, а најновији тренд у свету је трансфер само једног ембриона код жена до 38 година.

Несумњиво је да је један од најкритичнијих стадијума у успостављању трудноће процес имплантације. Процењује се да између 30%-70% ембриона не доживе сам процес имплантације или пропадну за време самог процеса. Сматра се да је половина ових губитака последица генетичких дефеката у самој конституцији ембриона, а етиологија преосталих губитака је непозната. Процес имплантације, у физиолошком погледу, укључује низ врло сложених и осетљивих интеракција на релацији ембрион-ендометријум: синхронизован и правилан развој ембриона, трансформација ендометријума и рецептивност утеруса. Поремећај функционисања било које реакције у овом сложеном процесу доводи до неуспешне имплантације. Зато, опет подсећамо, свега 5%-13% ембриона као резултат *IVF-ET* поступка у ствари постану бебе. Успешност исхода *IVF-ET* поступка у великој мери зависи како од старости пацијенткиња, тако и од броја враћених ембриона с ризиком од вишеплодних трудноћа⁶.

Замрзавање ембриона

Уколико као резултат поступка вантелесне оплодње имамо више од три витална ембриона, постоји могућност да тај вишак виталних ембриона поступком контролисаног замрзавања и одмрзавања буде сачуван за будућу употребу.

Из различитих индикација и гамете и ембрионе данас је могуће „сачувати у замрзнутом облику“, криопрезервирати⁵. Криопрезервација и трансфер одмрзнутих ембриона (*FET*) повећавају стопу трудноће по започетом циклусу вантелесног оплођења и представљају комфоран метод у случајевима када у претходном циклусу није остварена трудноћа свежим ембрионима. Ипак, званични извештај европских земаља у 2007. години је указао да је проценат остварених трудноћа са квалитетним замрзнутим/одмрзнутим ембрионима мањи у односу на програме са свежим ембрионима - стопа трудноће по ембриотрансферу је износила за *IVF* са свежим ембрионима 29%, за *ICSI* са свежим ембрионима 28,4%, за програме са замрзнутим/одмрзнутим ембрионима (било за *IVF* или *ICSI*) 14,6% а увођењем метода брзог замрзавања или витрификације и до 22%.

Ембриони ће бити замрзнати на -196 °C током фазе ране деобе (на нивоу од 2 до 8 ћелија). Још један вид криопрезервације је и витрификација. Она се од простог замрзавања разликује по примени витриола, супстанције којој се чува ембрион. За сваки ембрион посебно је записано његово порекло, фаза деобе у којој се налази и тачно време и датум замрзавања. Ембриони ће се сачувати у замрзнутом стању све док пацијенти не затраже њихову употребу. Када гинеколог припреми материцу за прихватање ембриона и сонографским прегледом и одређивањем нивоа хормона процени да су стечени услови за ембриотрансфер, приступа се припреми (одмрзавању) свих, или потребног броја ембриона. Испитивањем виталности и квалитета сваког од ембриона, за трансфер ће се одабрати ембриони са највећим биолошким потенцијалом, односно они који нуде највеће могућности да дође до зачећа. Петнаест дана након ембриотрансфера, одређивањем нивоа бета-*hCG* утврђујемо исход поступка.

Предности поступка замрзавања ембриона су:

- смањује се број *IVF (IVF/ICSI)* поступака;
- смањује се ризик од вишеплодних трудноћа,
- омогућава контролу компликација вантелесне оплодње.

У изузетно ретким случајевима, попут тешког облика хиперстимулације овулације, постоје индикације да се одустане од ембриотрансфера до стабилизације стања, а сви квалитетни ембриони замрзну.

Важно је знати:

- да поступак замрзавања не повећава ризик аномалија плода, али се оне ипак не могу потпуно искључити;
- неки или сви ембриони не морају преживети процес замрзавања и одмрзавања (30% -50% ембриона);
- проценат успешних трудноћа после замрзавања ембриона нешто је нижи од класичног поступка.

Прикупљање узорка сперме и замрзавање сперме

Мушкарац даје узорак сперме на дан пункције јајних ћелија. Како би квалитет сперме био што бољи, два до три дана пре пункције фоликула и аспирације апстиненција. Можда ће бити неопходан и други узорак сперме истог дана уколико квалитет првог није био задовољавајући. Сперма може бити замрзнута и за будућу употребу у инсеминацијама или *IVF* програмима. Ова замрзнута сперма може се употребити као резерва у случајевима када се сумња у способност будуће продукције виталних сперматозоида. Разлози за замрзавање сперме су:

- пре терапије која би угрозила виталност сперме (карцином);
- пре подвезивања семеновада;
- приликом дијагностичких биопсија тестиса (*TESA* или *TESE*) паметно је замрзнути део материјала да се избегне могућност поновне операције. Такви узорци добијени током биопсије тестиса могу се користити једино за *ICSI* метод,
- у случају када партнер сумња да током поступка *IVF* неће моћи да да семе “на захтев”

Уколико је квалитет сперме лош, претпоставља се да се она може користити једино у *IVF* третманима. То значи да је у овим случајевима довољан један узорак, јер је у *IVF* поступку неопходно веома мало сперматозоида. Тај узорак сперме се замрзава подељен у неколико доза, за сваки циклус појединачно. Уколико је квалитет узорка сперме добар и један узорак садржи довољно квалитетних сперматозоида за инсеминацију, у том случају је паметније замрзнути неколико узорака.

Закључак

Вантелесна оплодња не значи сигурно потомство, али, у медицинском смислу, свакако представља отклон према бољем од онога што је било. Ако пар спонтано не може да има потомство, *IVF* дође као *џокер* и нуди оно што људима највише треба - наду. Методи асистираних репродукције довели су до револуције у лијечењу инфертилитета, тј. стерилитета, јер у случају тубарног проблема *IVF* уз претходну адекватну припрему пацијента може довести до трудноће уз истовремено избјегавање ванматеричне трудноће, која је у овим случајевима практично правило. Дјеца рођена из *IVF* су са истим квалитетима и манама као и дјеца из спонтаних циклуса, с тим што је, наравно, код *IVF* нешто већа учесталост инвазивне пренаталне дијагностике, првенствено код *ICSI*. Мада, владају контроверзна мишљења да ли тада радити обавезно *CVS* или не. *IVF* чешће него спонтани циклус обрађује родитеље с близанцима и исто толико пута мало више забрине гинекологе (због већих ризика мултифеталних трудноћа).

Пошто је, као што видимо, овај дио гинекологије, тј. медицине повезан с најтананијим људским осјећањима, дакле судбинским стварима као што је потомство, од љекара гинеколога који спроводи овај чаробни метод очекује се да је врхунски професионалац и зналац, хуманиста, који ни у једном тренутку неће довести у питање шта је битније - пацијент или рентабилност посла којим се бави^{7,8,9}.

Aleksandar Grdinić¹, Gordana Vukčević¹, Tanja Stojčević², Goran Marjanović¹, Minja Stanković³, Saša Raičević¹

¹Clinical Center of Montenegro, Podgorica, Montenegro

²Emergency Medical Service, Belgrade, Serbia

³Obstetrics and Gynecology Clinic "Narodni front", Belgrade, Serbia

In vitro fertilization as possible solution for infertility problem

Key words:

Infertility,
Assisted reproductive technology,
In vitro fertilization

Abstract

Infertility is a condition of absence of pregnancy that lasts at least a year, under the condition that the couple maintain normal sexual relations. The causes of infertility are numerous, and can not be explained in some 10-15% of cases. Examination and treatment of infertility is often a difficult and lengthy process. .

The term Assisted reproductive technology (ART) refers to a group of therapeutic procedures for treatment of infertile couples who could not be cured by simpler procedures, and includes the process of in vitro fertilization (IVF). These procedures provide very good results in infertility treatment nowadays, and they are method of choice for about 40% of all infertile couples. IVF does not guarantee offspring, but in medical sense it is a shift towards a better course than what it was. Children born from IVF have the same qualities and flaws as the children from spontaneous cycle (in IVF is slightly greater incidence of invasive prenatal diagnostics)

Since we see this as part of medicine that deals with the finest human feelings, such as the offspring, doctors who carry out this magic method are expected to be the top professionals and humanists, who will never consider issues of his business profitability vs. patients well-being.

Литература

References

1. Smith JF, Eisenberg ML, Millstein SG, Nachtigall RD, Sadetsky N, Cedars MI, Katz PP. The Infertility Outcomes Program Project Group. *Fertility treatments and outcomes among couples seeking fertility care data form a prospective fertilizing cohort in the United States*. Fertil Steril 2010.
2. Chapron, C., Dubuisson, J.B., Chavet, X., Morice, P. *Treatment and causes of female infertility*. Lancet. 1994;344(8918):333-4
3. Whitcomb BW, Turzanski-Fortner R, Richter KS, Kipersztok S, Stillman RJ, Levy MJ, Levens ED. *Contribution of male age to outcomes in assisted reproductive technologies*. Fertil Steril. 2010. [Epub ahead of print]
4. Asimakopoulos B, Demirel C, Felberbaum R, Waczek S, Nikolettos N, Köster F, Al-Hasani S, Diedrich K. *Concentration of inflammatory cytokines and the outcome in ICSI cycles*. In Vivo 2010;24(4):495-500.
5. Kansal Kalra S, Ratcliffe SJ, Milman L, Gracia CR, Coutifaris C, Barnhart KT. *Perinatal morbidity after in vitro fertilization is lower with frozen embryo transfer*. Fertil Steril 2010.
6. Šimunić V. (ur.). *Gynecology*. Medicinska Knjiga, Zagreb 2001;298-303.
7. Benshushan, A., Schenker, J.G. *The right to an heir in the era of assisted reproduction*. Hum Reprod. 1998;13(5):1407-10.
8. de Wert, G., de Beaufort, I.D. *Cryopreservation of ovarian tissue open for discussion*. Ned Tijdschr Geneesk 2000;144(15):692-4.
9. de Wert GM., Geraedts JP. *Cloning: Applications in humans*. II Ethical considerations. Ned Tijdschr Geneesk. 2000;144(20):926-31.

Примљен • Received: 22/04/2011
Прихваћен • Accepted: 25/07/2011