Homoinseminacija i in vitro fertilizacija u liječenju muške neplodnosti

Malić, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:131787

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Dora Malić

Homoinseminacija i in vitro fertilizacija u liječenju muške neplodnosti

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ženske bolesti i porode, Petrova 13, Zagreb, pod vodstvom prof. dr. sc. Mire Kasuma, te je predan na ocjenu u akademskoj godini 2017./2018.

POPIS I POJAŠNJENJE KRATICA

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

ESHRE – Europsko

IHH – idiopatski hipogonadotropni hipogonadizam

GnRH – hormon koji oslobađaju gonadotropine

SHBG – globulini koju vežu spolne hormone

KS – Klienenfelterov sindrom

CBAVD – konfentialna bilateralna aplazija vas deferensa

ASA – antispermatična protutijela

IVF – in vitro fertilizacija

PR – progresivno pokretni spermiji

NP – neprogresivno pokretni spermiji

IM – nepokretni spermiji

FSH – folikul stimulirajući hormon

LH – luteinizirajući hormon

hCG – humani korionski gonadotropin

IUI – in vitro fertilizacija

ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija

MACS –magnetski aktivirano odvajanje stanica

Sadržaj

SAŽETAK 5
SUMMARY 6
1. DEFINICIJE, EPIDEMIOLOGIJA I ETIOLOGIJA NEPLODNOSTI 7
2. UZROCI MUŠKE NEPLODNOSTI 7
2.1. Pretestikularni (sekundarni) uzroci muške neplodnosti 8
2.2. Testikularni (primarni) uzroci muške neplodnosti 9
2.3. Posttestikularni (opstruktivni) uzroci muške neplodnosti 10
2.4. Neplodnost nepoznatog uzroka 11
3. EVALUACIJA MUŠKE NEPLODNOSTI 12
3.1. Obavezna evaluacija za svakog pacijenta 13
3.2. Ostali postupci i testovi kod evaluacije muške neplodnosti 14
4. LIJEČENJE MUŠKE NEPLODNOSTI 15
4.1. Nehormonsko konzervativno liječenje 15
4.2. Endokrinološko liječenje muške neplodnosti 17
4.3. Kirurško liječenje muške neplodnosti 18
5. METODE POTPOMOGNUTE OPLODNJE 18
5.1. Intrauterina inseminacija u liječenju muške neplodnosti 18
5.1.1. Indikacije za intrauterinu inseminaciju 19
5.1.2. Učinkovitost intrauterine inseminacije 19
5.1.3. Obrada i priprema ejakulata za intrauterinu inseminaciju 21
5.1.4. Vremensko usklađivanje inseminacije s ovulacijom 22
5.1.5. Čimbenici koji utječu na uspješnost intrauterine inseminacije 23
5.1.6. Mogući neželjeni učinci intrauterine inseminacije 23
5.2. In vitro fertilizacija u liječenju muške neplodnosti 24
5.2.1. Postupak prilikom primjene in vitro fertilizacije 24
5.2.2. Indikacije za primjenu IVF-e 25
5.2.3. Čimbenici koji utječu na uspješnost in vitro fertilizacije 25
5.2.4. Mogući neželjeni učinci in vitro fertilizacije 26
5.3. Intracitoplazmatska injekcija spermija 27
6. ZAHVALE 29
7. LITERATURA 30
8. ŽIVOTOPIS 35

SAŽETAK

Neplodnost je nemogućnost zanošenja muškarca i žene koji imaju redovite spolne odnose u trajanju od godine dana te može nastati zbog muških ili ženskih faktora. Uzroci muške neplodnosti mogu se podijeliti na pretestikularne, testikularne, postetsikularne i neplodnost nepoznatog uzroka, pri čemu su najčešći testikularni uzroci neplodnosti. Najvažniji postupci u procesu evaluacije uzroka muške neplodnosti su anamneza, fizikalni pregled i analiza ejakulata. Osim toga, važni su endokrina evaluacija, post ejakulatorna analiza urina, ultrazvuk, genetska analiza i drugi specijalizirani testovi. Različiti lijekovi i kirurški zahvati mogu se koristiti za liječenje određenih uzroka muške neplodnosti.

Muška neplodnost najčešće se liječi metodama potpomognute oplodnje. Intrauterina inseminacija najčešće je indicirana kao prva metoda liječenja muške neplodnosti kada postoji barem 2-5 milijuna pokretnih spermija u ejakulatu. Intrauterina inseminacija u pravilu je jednako uspješna ili nešto malo manje uspješna od in vitro fertilizacije u liječenju muške neplodnosti te je praćena značajno manjim troškovima i manjim rizicima. Vremensko usklađivanje inseminacije s ovulacijom može se postići praćenjem vrijednosti LH u krvi i urinu u prirodnim ciklusima te izazivanjem ovulacije primjenom gonadotropina u stimuliranim ciklusima. Nema jasno dokazane razlike u uspješnosti između ove dvije metode. Najvažniji čimbenici koji utječu na uspješnost intrauterine inseminacije su ukupan broj pokretnih spermija u ejakulatu, udio morfološki urednih spermija te dob majke.

In vitro fertilizacija se preporuča za liječenje blažih oblika muške neplodnosti i za liječenje neplodnosti nepoznatog uzroka nakon neuspjeha intrauterine inseminacije. Uspješnost in vitro fertilizacije ovisi o velikom broju ženskih parametara kao što su ženina životna dob, prethodne trudnoće i broj ovulacijom oslobođenih jajnih stanica. Od muških faktora na uspješnost postupka utječu pokretljivost i morfologija spermija. In vitro fertilizacija povezana je s određenim rizicima kao što su pojava ovarijskog hiperstimulacijskog sindroma, povećani broj spontanih pobačaja, višeplodnih trudnoća i prijevremenih poroda te povećani rizik za nastanak kongentinalnih malformacija.

KLJUČNE RIJEČI: muška neplodnost, uzroci neplodnosti, intrauterine inseminacija, in vitro fertilizacija

Homologous insemination and in vitro fertilization in treatment of male infertility

SUMMARY

Infertility is defined as the failure to achieve clinical pregnancy after 12 months of unprotected sexual intercourse and it can be caused by male and female factors. Causes of male infertility are divided in pretesticular, testicular, posttesticular and infertility of an unknown cause. The most important procedures in diagnosing male infertility are medical history, physical examination, and semen analysis. Endocrine evaluation, post-ejaculatory urinalysis, ultrasonography, genetic analysis and other specific tests can be used as well. Some causes of male infertility can be treated with medications and surgical procedures.

Assisted reproductive techniques are most commonly used for treatment of male infertility. Intrauterine insemination is used as the first line treatment for male infertility when there at at least 2-5 million mobile spermatozoa in the semen. Intrauterine insemination is almost as effective or as effective as in vitro fertilization in the treatment of male infertility and it is associated with less risk and reduced cost. The optimal time of insemination can be determined by measuring serum and urine LH levels in natural cycles and by stimulating ovulation with gonadotropins in stimulated cycles. These two methods result in similar effectiveness. The total number of motile spermatozoa in semen, the percentage of morphologically normal spermatozoa and the woman's age are the most important factors which affect the outcome of intrauterine insemination.

In vitro fertilization is used for treatment of mild male factor infertility after failure of intrauterine insemination. The outcome of in vitro fertilization is determined by the number of female-related factors such as the woman's age, previous pregnancies, and number of oocytes collected during the procedure. Male factors which are important for the outcome are motility and morphology of the spermatozoa. In vitro fertilization is associated with risks such as ovarian hyperstimulation syndrome, increased numbers of miscarriages, multiple pregnancies, preterm labor, and increased risk of congenital malformations

KEY WORDS: male infertility, intrauterine insemination, causes of infertility, in vitro fertilization

1. DEFINICIJE, EPIDEMIOLOGIJA I ETIOLOGIJA NEPLODNOSTI

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) definira neplodnost kao nemogućnost zanošenja muškarca i žene koji imaju redovite spolne odnose bez kontracepcije u trajanju od godinu dana. Definicija SZO-e je bazirana na istraživanjima koja pokazuju kako vjerojatnost zanošenja tijekom godine dana iznosi 85-90%.[1] [2] Šansa spontanog začeća je manja što je trajanje neplodnosti dulje. Kod parova koji nisu zanijeli 4 godine vjerojatnost spontanog začeća iznosi samo 1.5%.[3] Evaluacija mogućeg uzroka neplodnosti po toj definiciji počinje nakon godinu dana neuspjeha u zanošenju, iako u situaciji kada je žena starija od 35 godina evaluacija i liječenje mogu započeti i ranije. Takav postupak je opravdan zbog toga što je dokazano da dolazi do smanjena plodnosti te povećanja učestalosti spontanih pobačaja i kromosomskih anomalija s porastom dobi majke.[4] Druge institucije poput Europskog društva za reprodukciju i embriologiju (ESHRE) neplodnost definiraju kao nemogućnost zanošenja uz redovite spolne odnose bez kontracepcije u trajanju od dvije godine.

Epidemiološka istraživanja pokazuju da neplodnost pogađa između 10 i 20% svih parova.[5] [6] Smatra se kako 72,4 milijuna parova na svijetu ima problema s neplodnosti. [7]Iako su se u prošlosti žene smatrale isključivim krivcima za neplodnost para, danas se zna da su ženski faktori uzrok neplodnosti u 40-50% svih slučajeva, muški faktori u 30% svih slučajeva neplodnosti, a u 20% slučajeva neplodnosti postoji kombinacija muških i ženskih faktora koji pridonose neplodnosti.[8] [9]

2. UZROCI MUŠKE NEPLODNOSTI

Uzroci muške neplodnosti mogu se podijeliti u četiri skupine:

1. Pretestikularni (sekundarni)
2. Testikularni (primarni)
3. Posttestikularni (opstruktivni)
4. Neplodnost nepoznatog uzroka[10]

2.1. Pretestikularni (sekundarni) uzroci muške neplodnosti

U pretestikularne uzroke muške neplodnosti spadaju endokrini uzroci, odnosno hipogonadotropni hipogonadizam i druge endokrinopatije. Hipogonadotropni hipogonadizam čini 1.6% uzroka muške neplodnosti.[11]

Hipogonadizam se definira kao neadekvatna gonadalna funkcija koja se manifestira nedovoljnom gametogenezom i/ili sekrecijom gonadalnih spolnih hormona. Može biti posljedica primarnog testikularnog poremećaja (hipergonadotropni hipogonadizam) ili nastati sekundarno kao posljedica hipotalamo-hipofiznog poremećaja (hipogonadotropni hipogonadizam). Hipogonadotropni hipogonadizam može biti kongenitalni ili stečeni. Kongenitalni se može podjeliti u dvije skupine s obzirom na zahvaćenost osjeta mirisa: anosimčki hipogonadotropni hipogonadizam (Kallmanov sindrom) te kongetinalni izolirani hipogonadotropni hipogonadizam s urednim osjetom mirisa (idiopatski (IHH)). Kallmanov sindrom povezan je s mutacijom KAL1 gena. IHH katakterizira niska razina gonadotropina i spolnih hormona u odsustnosti strukturalnih ili funkcionalnih poremećaja hipotalamo-hipofizno-gonadalne osi. Patogenetski mehanizam IHH-a je poremećaj u normalnoj diferencijaciji hipotalamičnih GnRH (hormon koji otpušta gonadotropine) neurona što dovodi do smanjene ili poremećene sekrecije GnRH.[12] Uzroci stečenog hipogonadotropnog hipogonadizma mogu se podijeliti u tri skupine: funkcionalni, organski te jatrogeni poremećaji. Funkcionalni poremećaji su većinom reverzibilni i bez uočljive hipotalamo-hipofizne lezije. Organski poremećaji su uzrokovani hipotalamično-hipofiznim tumorima, infiltrativnim procesima ili traumama. Jatrogeni poremećaji nastaju kao posljedice zračenja ili kirurških zahvata. Funkcionalni hipogonadotropni hipogonadizam posljedica je uzimanja lijekova (anaboličkih steroida ili GnRH analoga) te zlouporabe droga ili alkohola. Organski poremećaj je najčešće posljedica adenoma hipofize, ali može nastati i zbog drugih tumora, infekcija središnjeg živčanog sustava ili sistemskih bolesti poput sarkoidoze ili hemokromatoze.[13]

I druge endokrinopatije mogu uzrokovati neplodnost. Hipotireoza i hipertireoza mogu negativno djelovati na mušku plodnost. Kod pacijenata s poremećajem funkcije štitne žlijezde redovito su prisutne promjene u koncentraciji SHBG-a (globulina koji veže spolne hormone) i spolnih hormona. Tireotoksikoza u najvećem broju slučajeva dovodi do poremećene pokretljivosti spermija, a hipotireoza do prevelikog broja spermija abnormalne morfologije. Nakon postizanja eutireoze poremećaji pokretljivosti i morfologije spermija kod pacijenata s

poremećajima štitnjače pokazuju poboljšanje ili normalizaciju. Kod mnogih pacijenata s erektilnom disfunkcijom postoje abnormalnosti hormona štitnjače, a normalizacija njihove koncentracije povezuje se s poboljšanjem erektilne disfunkcije.[14]

Neki istraživači povrzuju pretilost sa smanjenom plodnosti kod muškaraca. Njihovi rezultati pokazuju da kod pretilih muškarca postoji 3.5 puta veća šansa postojanja oligospermije nego kod muškarca normalne tjelesne težine (definirane prema indeksu tjelene težine).[15] Drugi autori nisu pronašla povezanost između muške pretilosti i vremena koje je potrebno za postizanje trudnoće.[16]

2.2. Testikularni (primarni) uzroci muške neplodnosti

Testikularna disfunkca različite etiologije nalazi se u podlozi 50-60% slučajeva muške neplodnosti.[11] Testikularna disfunkcije može biti posljedica genetskih, kongentialnih, infektivnih, vaskularnih ili toksičnih učinaka.[17]

Kromosomske abnormalnosti najčešći su genetski uzrok muške neplodnosti. One su odgovorne za 2-8% neplodnosti kod muškaraca te čine 15% uzroka neplodnosti kod anoozospermnih muškaraca. Najčešća kromosomska abnormalnost kod neplodnih muškaraca je Klinefelterov sindrom (KS). KS je najčešća aneuploidija spolnih hormona kod muškaraca i prisutna je u otprilike 0.1-0.2% novorođenih dječaka. KS je oblik primarnog testikularnog zatajenja s testikularnom atrofijom i povišenim vrijednostima gonadotropina u krvi. Istraživanja pokazuju kako je oko 75% ne mozaičnih 47, XXY muškaraca azoospermno, dok ostali imaju spermije u ejakulatu.[18] Druge kromosomske abnormalnosti koje su relativno često povezane s neplodnošću su kromosomske translokacije i mikrodelecije Y kromosoma. Prevalencija mikrodelecija u azoospermnih muškaraca kreće se između 10 i 15%, a u oligozoospermnih muškaraca između 5 i 10%.[19]

Kriptorhizam je najznačajniji kongenitalni uzrok muške neplodnosti. Kriptorhizam je uzrok oko 8% svih slučajeva muške neplodnosti.[11]To je stanje u kojem se jedan ili oba testisa ne spuste u skrotum. Incidencija azoospermije u unilateralnom kriptorhizmu iznosi i do 13% neovisno o liječenju, a incidencija azoospermije u neliječenom bilateralnom kriptorhizmu penje se i do 89%.[20]

Upala testisa ili orhitis mogući je infektivni uzrok muške neplodnosti. Upala testisa najčešće je povezana sa sistemskim virusnim infekcijama, osobito infekcijom mumps virusom. Ostali virusi koji se povezuju s mogućim razvojem orhitisa su Coxsackie virusi, Epstein-Barr virus,

Varicella-Zoster virus i virus influence. Infekcija mumps virusom može dovesti do upale testisa u do 37% pubertetskih i postpubertetskih muškaraca, od čega je u 16-65% slučajeva infekcija bilateralna. Oko 50% zahvaćenih testisa godinu dana nakon infekcija pokazuje određeni stupanj atrofije što se povezuje sa smanjenom plodnosti kod tih muškaraca. Neki bilateralni slučajevi mumps orhitisa mogu dovesti i do smanjene produkcije testosterona.[21]

Testisi su izrazito osjetljivi na toksično djelovanje zračenja i kemoterapije u svim fazama života. Niske doze zračenja mogu dovesti do privremene azooseprmije ili oligozoospermije. Visoke doze zračenja mogu dovesti do oštećenja svih spermatogentskih stanica što je povezano s trajnom neplodnosti. Muške spolne stanice su izrazito osjetljive na pojedine skupine kemoterapeutika kao što su alkilirajući agensi ili derivati platine. Oni mogu dovesti do produljene ili trajne azoospermije. Oštećenje spolnih stanica može biti i kasna posljedica transplantacije hematopoetskih matičnih stanica.[22] Do smanjene plodnosti mogu dovesti i drugi lijekovi poput egzogenih androgena ili antiandrogenih lijekova.[23]

Torzija testisa i varikokela mogući su vaskularni uzorci primarne testikularne disfunkcije. Godišnja incidencija torzije testisa iznosi 1 slučaj na 4000 muškaraca. To znači da će na svakih 160 muškaraca 1 razviti torziju testisa ili privjeska testisa do 25-e godine života.[24] Unilateralna torzija testisa utječe na spermatogenezu kod otprilike polovice muškaraca s unilateralnom torzijom testisa. Smanjena plodnost (definirana kao broj spermija < 20 milijun/ml) prisutna je u 36-39% pacijenata nakon torzije. Broj spermija i stupanj atrofije značajno koreliraju s trajanjem torzije.[25] Varikokela kao uzrok neplodnosti prisutna je kod čak 15% neplodnih muškaraca.[11] Oko 20% muškaraca s varikokelom ima smanjenu plodnost, dok je 80% njih normalno plodno. Varikokela je povezana s atrofijom testisa, smanjenjem broja i pokretljivosti spermija, poremećenom morfologijom spermija, povećanom koncentracijom reaktivnih kisikovih spojeva u ejakulatu, oštećenjem DNA spermija, a određena istraživanja pokazuju i da je povezano s pojavom hipergonadotropnog hipogonadizma.[26]

2.3. Posttestikularni (opstruktivni) uzroci muške neplodnosti

Posttestikularni uzroci muške neplodnosti uključuju opstrukciju odvodnih kanala i spolnu disfunkciju. Opstrukcija odvodnih kanala, koja se naziva i opstruktivna azoospermija, praćena je normalnom endokrinom i egzokrinom funkcijom te urednom spermatogenezom u testisima. Opstruktivna azoospermija nastaje zbog blokade u izvodnim kanalima negdje između rete testisa i ejakulatornih kanala.[27] Opstruktivna azoospermija čini 10% svih azoospermija i 2.2% svih uzroka muške neplodnosti.[11] Najvažniji stečeni uzroci vazalne opstrukcije su izvođenje

vazektomije kao kontraceptivne metode i jatrogena ozljeda vas deferensa prilikom kirurškog saniranja ingvinalne hernije.[27] Kongenitalna vazalna opstrukcija je posljedica unilateralnog ili bilateralnog nedostatka vas deferensa. Oba stanja su povezana s mutacijom CFTR gena. Smatra se kako je 60-70% slučajeva kongenitalnog bilateralnog nedostatka vas deferensa (CBAVD) povezano s mutacijom CFTR gena bez drugih simptoma cistične fibroze.[28] Opstrukcija na razini epididimisa može biti posljedica stvaranja ožiljkastog tkiva nakon genitalnih infekcija ili se pojavljuje kao dio Youngovog sindroma. Youngov sindrom karakteriziraju tri simptoma: kronični sinusitis, bronhiektazije i opstruktivna azoospermija.[23] Opstrukcija ejakulatornih kanalića može biti kongenitalna ili stečena. Kongenitalni uzroci uključuju kongenitalnu atreziju ili stenozu kanalića i ciste wolffovih ili mullerovih kanala. Stečeni uzroci uključuju traumatske uzroke, najčešće jatrogene, i upalne uzroke kao što je formiranje ožiljaka ili staranje kamenca kao sekundarna posljedica infekcije.[29]

Spolna disfunkcija podrazumijeva poremećaje erekcije i ejakulacije i čini 2.4% uzroka muške neplodnosti.[11] U poremećaje erekcije i ejakulacije spadaju anorgazmija, inhibirana ejakulacija, anejakulacija, preuranjena ejakulacija, erektilna disfunkcija i smanjeni libido. Postoji mnogo uzroka seksualne disfunkcije. Česti uzroci su psihogeni čimbenici, hipotireoidizam i hipertireoidizam, neurogeni čimbenici poput dijabetičke autonomne neuropatije ili ozljede kralježnične moždine. Brojni lijekovi, poput selektivnih inhibitora ponovno pohrane serotonina, tricikličkih antidepresiva, alfa-metil dope i tiazida dovode do poremećaja erekcije i ejakulacije.[30]

2.4. Neplodnost nepoznatog uzroka

Neplodnost nepoznatog uzroka uključuje neobjašnjivu mušku neplodnost i idiopatsku mušku neplodnost. Prema različitim istraživanjima ona obuhvaća između 30 i 50% uzroka muške neplodnosti.[11 31 32] Kategorija neobjašnjive muške neplodnosti obuhvaća muškarce kojima se ne može dijagnosticirati uzrok neplodnosti i koji imaju normalne sjemene parametrete te su mogući faktori ženske neplodnosti isključeni. Prevalencija neobjašnjive muške neplodnosti varira između 6 i 27% te ovisi o tome koliko je detaljno i kvalitetno provedena dijagnostička obrada u svrhu otkrivanja mogućih uzroka neplodnosti. Kategorija idiopatske muške neplodnosti obuhvaća muškarce koji imaju neobjašnjivo smanjenje kvalitete sjemena bez komorbiditeta koji bi mogli objasniti te nalaze i s normalnim nalazima endokrinoloških testiranja. Analiza sjemena tih muškaraca ponavljano pokazuje abnormalnosti poput smanjenog broja spermija (oligozoospermija), smanjenog motiliteta spermija

(asthenozoospermija) ili povećanog udjela abnormalnih oblika spermija (teratozoospermija). Ovi nenormalni nalazi sjemena se u pravilu pojavljuju zajedno i opisuju se kao sindrom oligoasthenoteratozoospermije. [33] Kategorija neplodnosti nepoznatog uzroka obuhvaća oko 30% neplodnih muškaraca.[11]

Veliki broj mogućih etioloških i rizičnih faktora se dovodi u vezu s neplodnosti nepoznatog uzroka kod muškaraca. Jedan od mogućih uzroka je postojanje antispermatičnih protutijela (ASA).[32] ASA su prisutna u 10% neplodnih muškaraca u usporedbi sa samo 2% plodnih muškaraca.[34] Clark i sur.[35] dobili su da je uspješnot fertilizacije prilikom postupka in vitro fertilizacije (IVF) iznosila 27% kada je >80% spermija bilo vezano za IgA protutijela u odnosu na uspješnost fertilizacije od 72% kada je <80% spermija bilo vezano za IgA protutijela. Drugi mogući poremećaj koji se nalazi u podlozi neplodnosti nepoznatog uzroka je oksidativni stres.[32] Slobodni radikali pomoću brojnih metaboličkih puteva mogu oštetiti kvalitetu i funkciju spermija. Različita istraživanja predložila su da je oksidativni stres značajan faktor u 30-80% svih slučajeva muške neplodnosti.[36] Pokazano je da pušenje duhana značajno povećava koncentraciju reaktivnih kisikovih spojeva u sjemenu.[37] I varikokela je povezana sa značajno povišenim vrijednostima reaktivnih kisikovih spojeva u ejakulaltu i testisma. Kirurško rješavanje varikokele dovodi do pada reaktivnih spojeva u testisima.[38] Pogreške u fertilizaciji jedno su od mogućih objašnjenja neplodnosti nepoznatog uzroka.[32] Istraživanja su pokazala da u 13% muškaraca s normalnom analizom sjemena i 21% s blagom ili umjerenom teratozoospermijom postoje defekti u vezanju spermija za zonu pellucidu jajne stanice.[39] Genetska oštećenja također se mogu nalaziti u podlozi neplodnosti nepoznatog uzroka kod muškaraca.[32] Mogući čimbenici koju oštećuju DNA muških spolnih stanica mogu se podijeliti na intrinzične i ekstrinzične faktore. Identificirani intrinzični faktori su protaminska deficijencija, specifične genetske mutacije, reaktivni kisikovi spojevi i starenje. U ekstrinzične faktore spadaju vrućina, pušenje, konzumacija alkohola i radijacija.[40]

3. EVALUACIJA MUŠKE NEPLODNOSTI

Evaluacija muške neplodnosti kod svakog muškarca sa sumnjom na neplodnost treba sadržavati kompletnu medicinsku i reproduktivnu anamnezu, fizikalni pregled urologa ili drugog specijalista za mušku neplodnost i barem dvije analize ejakulata. S obzirom na rezultate osnovne evaluacije, mogu se preporučiti drugi postupci i testovi kako bi se utvrdila etiologija muške neplodnosti. Drugi testovi uključuju dodatne analize sjemena, endokrine

testove, ultrazvuk, postejakulatornu analizu, genetičko testiranje i specijalizirane testove na sjemenu i spermijima.[41]

3.1. Obavezna evaluacija za svakog pacijenta

Obavezna evaluacija za svakog pacijenta uključuje anamnezu, fizikalni nalaz i barem dvije osnovne analize ejakulata.

Pacijentova anamneza služi za prepoznavanje čimbenika rizika i ponašanja koji mogu utjecati na plodnost. Anamnezom je potrebno ispitati sve čimbenike koji su povezani s mogućom neplodnosti. Osim toga, anamneza treba sadržavati čitavu medicinsku povijest, sve operacije kojima je pacijent bio podvrgnut, lijekove koje uzima, alergije, obiteljsku reproduktivnu anamnezu i informacije o prethodnim infekcijama kao što su respiratorne infekcije i spolno prenosive bolesti.[41]

Tijekom fizikalnog pregleda posebnu pažnju treba posvetiti genitalnom području. Potrebno je detaljno pregledati penis i odrediti lokaciju uretralnog meatusa, palpirati testise i izmjeriti im veličinu, odrediti prisutnost i veličinu vase i epididimisa te uočiti varikokelu ukoliko postoji. Osim genitalnog pregleda, potrebno je napraviti digitorektalni pregled te uočiti i opisati sekundarne spolne karakteristike.[41]

Analiza ejakulata osnova je laboratorijske evaluacije muške neplodnosti. Količina sjemene tekućine i broj spermija ovisi o mnogim čimbenicima kao što su vrijeme proteklo od posljednjeg seksualnog odnosa, veličina testisa i količina sekreta akcesornih spolnih žlijezda. Za donošenje zaključaka o kvaliteti sjemena potrebno je napraviti barem dvije analize dvaju različitih uzoraka ejakulata od istog pacijenta. Uzorak se prikuplja nakon najmanje dva dana i najviše sedam dana apstinencije od spolnog odnosa. U iznimnim situacijama kad uzorak nije moguće prikupiti u klinici, odnosno u blizini laboratorija, može se prikupiti kod kuće bilo u čašicu ili u specifične netoksične kondome tijekom spolnog odnosa.[42]

Analiza sjemena daje informacije o volumenu sjemene tekućine, kao i o broju, koncentraciji, pokretljivosti, vitalnosti i morfologiji sjemena. Spermiji se svrstavaju u tri kategorije prema svojoj pokretljivosti. Progresivno pokretni (PR) spermiji su oni spermji koji se aktivno kreću, bilo linearno ili u krug. Neprogresivno pokretne (NP) spermije karakterizira bilo koji oblik pokretljivosti, ali bez progresije u kretanju. Nepokretni (IM) spermiji ne pokazuju nikakvu pokretljivost. Vitalnost spermija, odnosno postotak živih spermija, određuje se prepoznavanjem spermija s netaknutom staničnom membranom. Broj morfološki normalnih

spermija određuje se promatranjem svih dijelova spermija pri čemu se svako odstupanje od normalne građe i svi granični slučajevi svrstavaju u abnormalne oblike.[42]

U Tablici 1 nalaze se najniže dopuštene vrijednosti parametara analize sjemene tekućine prema SZO-u. Referentne vrijednosti analize sjemena postavljene su na temelju kliničkog iskustva. Ako se vrijednosti parametara nalaze ispod najnižih referentnih vrijednosti potrebno je posumnjati na neplodnosti muškog podrijetla i nastaviti evaluaciju kako bi se otkrio mogući urok.[41]

Tablica 1

Analiza sjemene tekućine: SZO, 2010 [42]

Parametar	Najniža dopuštena vrijednost
Volumen	1.5 mililitara
pH	7.2
Koncentracija	15 milijuna/mililitru
Ukupni broj spermija	39 milijuna/ejakulatu
Ukupna pokretljivost: (pr+np)	40% ili PR: 32%
Vitalnost	58% živih spermija
Normalni oblici	4%

3.2. Ostali postupci i testovi kod evaluacije muške neplodnosti

Ostali postupci evaluacije muške neplodnosti ne primjenjuju se kod svih pacijenata, već samo kod onih koji imaju indikacije za njihovu primjenu. U ostale postupke i testove spadaju endokrina evaluacija, post ejakulatorna analiza urina, ultrazvuk, genetska analiza i drugi specijalizirani testovi.[41]

Endokrinu evaluaciju trebalo bi učiniti ukoliko postoje abnormalni rezultati analize ejakulata, osobito ako je koncentracija spermija manja od 10 milijuna/ml. Endokrinu evaluaciju potrebno je učiniti i ako postoji poremećaj seksualne funkcije ili drugi klinički nalazi koji upućuju na specifičnu endokrinopatiju. Minimalna početna endokrinološka evaluacija uključuje mjerenje serumskih vrijednost folikul-stimulirajućeg hormona (FSH) i testosterona. Ako su vrijednosti testosterona snižene, potrebno je ponoviti mjerenje ukupnog i slobodnog testosterona, kao i odrediti vrijednost luteinizirajućeg hormona (LH) i prolaktina u serumu.[41]

Postejakulatornu analizu urina potrebno je napraviti kod pacijenata s volumenom ejakulata manjim od 1 ml. Kod pacijenata s poznatom bilateralnom agenezom vas deferensa ili očitim

kliničkim znakovima hipogonadizma tu analizu nije potrebno provoditi. Post-ejakulatorna analiza urina omogućuje nam razlikovanje retrogradne ejakulacije od drugih uzroka malog volumena sjemena kao što su opstrukcija ejakulatornih kanalića, CBAVD hipogonadizam.[41]

Ultrazvuk skrotuma indiciran je kod muškaraca kojima je otežan inspekcijski i palpacijski pregled skrotuma te kod sumnje na testikularnu masu. Transrektalni ultrazvučni pregled indiciran je kod azoospermnih pacijenata s palpabilnim vas deferensima i niskim ejakulatornim volumenom kako bi se utvrdilo postoji li opstrukcija ejakulatornih kanalića. Nalaz dilatiranih seminalnih vezikula, dilatiranih ejakulatornih kanalića ili prostatičnih cističnih struktura ukazuje na opstrukciju ejakulatornih kanalića.[41]

Genetsko testiranje ponekad se koristi u evaluaciji muške neplodnosti. Kariotipizaciju i analizu Y kromosoma treba ponuditi pacijentima s neopstruktivnom azoospermijom ili teškom oligoazoospermijom prije korištenja metoda potpomognute oplodnje. Pacijente s poznatim genetskim ili kromosomskim anomalijama potrebno je uputiti na genetsko savjetovanje.[41]

U dijagnostici muške neplodnosti koriste se i specijalizirani testovi sjemena kao što su određivanje leukocita u ejakulatu, utvrđivanje postojanja antispermatičnih protutijela i test interakcije spermija i cervikalne sluzi. Pacijente s piospermijom (više od milijun leukocita po ml ejakulata) potrebno je testirati za genitalne infekcije. Test interakcije spermija i cervikalne sluzi provodi se postkoitalno. Mikroskopski se analizira cervikalna sluz žena u neposrednom preovulacijkom periodu nakon spolnog odnosa. Pri mikroskopskoj analizi traže se pokretni spermiji u sluzi. To je metoda za otkrivanje cervikalnih faktora koji pridonose neplodnosti para. Specijalizirani testovi koriste se kod odabranih pacijenata za identifikaciju uzroka neplodnosti ili za odabir optimalne metode potpomognute oplodnje s obzirom na uzrok neplodnosti.[41]

4. LIJEČENJE MUŠKE NEPLODNOSTI

4.1. Nehormonsko konzervativno liječenje

Nehormonsko konzervativno liječenje podrazumijeva primjenu antibiotika, antioksidansa i protuupalnih lijekova s ciljem liječenja muške neplodnosti. U nekim slučajevima ovi lijekovi mogu izliječiti sam uzrok neplodnosti, a u drugim popravljaju parametre spermija tako što

popravljaju okoliš u kojem se spermiji stvaraju i sazrijevaju. Nehormonsko konzervativno liječenje možemo podijeliti na empirijsko i ne empirijsko liječenje.[43]

Empirijsko nehormonsko liječenje propisuje se pacijentima s idiopatskom oligoastenoteratozoospermijom i normozoospermicnim pacijentima s neplodnosti nepoznatog uzroka. U nekim slučajevima malo poboljšanje kvalitete spermija povećava vjerojatnost začeća. Ne empirijsko nehormonsko liječenje propisujemo pacijentima s poznatim izlječivim uzrokom neplodnosti. Primjenjuju se lijekovi koji mogu eliminirati čimbenik koji pridonosi neplodnosti. Tri stanja koja ometaju normalnu plodnost i pogodna su nehormonskom liječenju su: infekcije, upale i povećani oksidativni stres. Ova tri stanja često su prisutna istovremeno kod pacijenata.[43]

Antibiotici se primjenjuju kod pacijenta kod kojih je neplodnost djelomično ili u potpunosti uzrokovana infekcijama urogenitalnog sustava. Za liječenje se preporučuje ciljana antibiotska terapija pa izbor antibiotika ovisi o mikrobiološkom nalazu i antibiogramu. Veliki broj mikroorganizama koji uzrokuju urogenitalne infekcije prenosi se spolnim odnosom. Iz tog razloga potrebno je liječiti i neplodnog muškarca i njegovu partnericu kako bi se pacijenti uspješno izliječili. Isto tako, pacijenti se za vrijeme liječenja trebaju suzdržati od spolnog odnosa.[43]

Protuupalni lijekovi koriste se kod neplodnih pacijenata s leukocitospermijom. Najbolje rezultate u istraživanjima pokazuju Cox-2 inhibitori. Oni značajno smanjuju leukocitospermiju i povećavaju koncentraciju spermija u ejakulatu neplodnih muškaraca.[44] U nekim istraživanjima dobiveno je da je primjerna Cox-2 inhibitora, osim sa smanjujenom leukocitospermijom, povezana s poboljšanjem motiliteta i morfologije spermija te povećanjem stope začeća prilikom korištenja metoda potpomognute oplodnje.[45]

Primjena antioksidansa može biti korisna zbog nepovoljnog djelovanja slobodnih radikala na proces spermatogeneze i sazrijevanje spermija. Pregledni rad randomiziranih kliničkih eksperimenata pronašao je da su postotak začeća i postotak živorođene djece bili veći kod pacijenata koji su primali antioksidanse u odnosu na pacijente koji su primali placebo. Autori ovog rada naglašavaju da antioksidansi mogu biti korisni u liječenju muške neplodnosti, ali je potrebno napraviti još istraživanja kako bi se donijeli konačni zaključci.[46]

4.2. Endokrinološko liječenje muške neplodnosti

Endokrinološko liječenje najpogodnija je metoda liječenja neplodnosti u određenog broja pacijenata. Endokrinološkim liječenjem nastoji se inducirati ili stimulirati spermatogeneza. Jedan od najvažnijih problema endokrinološkog liječenja je prepoznati kod kojih pacijenata bi hormonsko liječenje moglo biti efikasno u ostvarenju tog cilja. Indukcija i stimulacija spermatogene kod neplodnih muškaraca nastoji se postići primjenom različitih skupina lijekova. Koriste se gonadotropini, selektivni modulatori estrogenskih receptora i inhibitori aromataze.[47]

Primjena gonadotropina za indukciju spermatogeneze često je korisna kod pacijenata sa smanjenom ili izostalom spermatogenezom zbog poznate bolesti hipotalamusa ili hipofize. Gonadotropinska terapija korisna je za poboljšanje spermatogeneze i kod pacijenata s kongenitalnim ili stečenim hipogonadotropnim hipogonadizmom. Gonadotropini se koriste i za liječenje neplodnosti kod pacijenata s nedostatkom GnRH kao što su pacijenti s Kallmanovim sindromom. Kao zamjena za LH koristi se humani korionski gonadotropin (hCG) u dozi od 1000-2000 IU subkutano 2-3 puta tjedno. Monoterapija hCG-om primjenjuje se u pravilu 6 mjeseci uz mjesečno mjerenje koncentracije spermija u ejakulatu. U pravilu je prilikom primjene ove terapije potrebno 4-6 mjeseci da dođe do porasta koncentracije spermija. U terapiju se dodaje FSH ako je nakon 6 mjeseci koncentracija spermija i dalje manja od 10 milijuna/ml i nije došlo do začeća. U prosjeku je potrebno 2-3 godine terapije gonadotropinima da dođe do dovoljnog poboljšanja spermatogeneze za postizanje začeća. Ako par želi još jedno dijete u iduće dvije godine potrebno je nastaviti terapiju gonadtropinima dok se ne postigne uspješna druga trudnoća.[48]

Klomifen citrat najčešći je selektivni modulator estrogenskih receptora koji se koristi za liječenje neplodnosti. Klomifen citrat veže se za estrogenske receptore u hipotalamusu i hipofizi te dovodi do smanjene produkcije estrogena. Zbog pada estrogena dolazi do pojačanog lučenja LH koji povećava produkciju testosterona u testisima.[47] Klomifen citrat povećava serumske vrijednosti testosterona i mijenja testosteron/estrogen omjer u korist testosterona. Istraživanja su pokazala da je klomifen citrat sigurna i učinkovita alternativa primjeni egzogenog testosterona kod muškaraca s hipogonadizmom koji žele izbjeći nepovoljno djelovanje egzogenih androgena kao što su poremećaji ili oštećenje spermatogeneze.[49]

Inhibitori aromataze koriste se kao *off-label* lijek kod neplodnih pacijenata s niskim vrijednostima testosterona i abnormalnim testosteron/estrogen omjerom. Inhibitori aromataze koriste se jer je kod pacijenata sa smanjenom koncentracijom spermija u ejakulatu često povećana aktivnost aromataze. To se osobito vidi kod muškaraca s ne opstruktivnom azoospermijom. Povećana aktivnost aromataze očituje se abnormalnim testosteron/estrogen omjerom. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdila opravdanost i uspješnost ove terapije.[50]

4.3. Kirurško liječenje muške neplodnosti

Kirurško liječenje neplodnosti usmjereno je u pravilu na varikokelu kao osnovni uzrok neplodnosti te na opstruktivne lezije ejakulatornih kanalića.

Varikokelektomija je kirurško rješavanje varikokele. Tradicionalna metoda podrazumijeva kirurško podvezivanje unutarnje spermatične vene. U posljednje vrijeme koriste se i selektivna embolizacija unutarnje spermatične vene sklerozirajućim materijalom ili tkivnim adhezivima. Metaanaliza koja je uključivala 894 muškaraca pokazala je da kod muškaraca kojima je učinjena operacija postoji 47% veća vjerojatnost začeća nego kod muškaraca koji nisu podvrgnuti zahvatu.[51]

Transuretralna resekcija opstruiranog odvodnog kanala izvodi se kod dijela muškaraca s opstruktivnom azoospermijom, odnosno kad je prisutna opstrukcija ejakulatornog kanalića. Istraživanja pokazuju da je metoda uspješna u liječenju neplodnosti, pogotovo kod neplodnih muškaraca sa centralnom (Mullerovom) lezijom.[52]

5. METODE POTPOMOGNUTE OPLODNJE

Metode potpomognute oplodnje koje se koriste za liječenje neplodnosti muškog podrijetla su intrauterina inseminacija (IUI) koja može biti homologna i heterologna, in vitro fertilizacija (IVF) i intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI).

5.1. Intrauterina inseminacija u liječenju muške neplodnosti

Intrauterina inseminacija (IUI) je metoda potpomognute oplodnje koja se koristi za liječenje neplodnosti i smanjene plodnosti već dulji niz godina. Međutim, upotreba ove metode je i dalje kontroverzna jer ne postoje jednoznačni rezultati o njenoj uspješnosti. Spoznaja na kojoj

se temelji ideja o djelotvornosti IUI-e je činjenica da je samo 0.1% spermija koji dođu u gornji dio vagine prisutno u cervikalnom kanalu sat vremena nakon inseminacije. Do toga dolazi zbog filtracijskog efekta cervikalne sluzi koja propušta samo manji dio spermija iz vagine u cervikalni kanal i daljnje dijelove reproduktivnog sustava. Povećanje broja spermija koji dolaze u distalne dijelove reproduktivnog sustava može povećati šansu za oplodnjom, osobito kada je neplodnost povezana s lošijim vrijednostima pokretljivosti spermija u ejakulatu ili lošom kvalitetom cervikalne sluzi.[53] Postoje dvije osnovne metode intrauterine inseminacije: homoinseminacije, u kojoj se za inseminaciju koriste spermiji muškog partnera neplodnog para, i heteroinseminacija, u kojoj se za inseminaciju koristi donorski ejakulat.

5.1.1. Indikacije za intrauterinu inseminaciju

Ne postoje jasno određene međunarodne smjernice za korištenje intrauterine inseminacije. Indikacije za korištenje IUI-a su različito postavljene u različitim državama ili se čak razlikuju između pojedinih klinika u istoj državi. Europsko društvo za humanu reprodukciju i embriologiju (ESHRE) kao indikacije navodi neplodnost nepoznatog uzroka, blagu endometriozu, neplodnost zbog cervikalnog faktora i blagi stupanj neplodnosti muškog faktora. Kod neplodnosti muškog podrijetla IUI može biti indicirana kao terapija prvog izbora kad je ejakulat dovoljno kvalitetan da pruži 2-5 milijuna pokretnih spermija za inseminaciju. Potrebno je provesti najmanje 3 i najviše 6 ciklusa IUI-a. Idući korak u liječenju su IVF ili ICSI. IUI se ne koristi kao terapija prvog izbora kada postoje bilateralna tubarna opstrukcija, teški poremećaji spermiogeneze i teški poremećaji ovulacije.[54] Velika Britanija je jedna od rijetkih europskih zemalja koja na nacionalnoj razini ima definirane smjernice za korištenje intrauterine inseminacije. Njihovo Nacionalno društvo za kliničku odličnost (NICE) kao indikacije navodi: nemogućnost ili teškoće sa spolnim odnosom između partnera, postojanje određenog stanja kod jednog od partnera (poput virusne zarazne bolesti) zbog kojeg trebaju pomoć u postizanju trudnoće i istospolni parovi koji nisu zatrudnjeli nakon 6 ciklusa umjetne oplodnje. Oni naglašavaju kako IUI nije indicirana kod neplodnosti nepoznatog uzroka, endometrioze ni kod muškaraca koji imaju smanjen broj spermija ili druge loše nalaze ejakulata zbog nepostojanja jasnih dokaza o djelotvornosti metode u tim stanjima.[55]

5.1.2. Učinkovitost intrauterine inseminacije

Brojna istraživanja bavila su se pitanjem učinkovitosti IUI-e, osobito u usporedbi s sa spolnim odnosom tempiranim u vrijeme ovulacije i IVF-om. Rezultati istraživanja nisu jednoznačni i ne pružaju definitivne odgovore na pitanje učinkovitosti. Metaanaliza koja je proučavala

postojanje razlike u uspješnosti IUI-e i drugih metoda pronašla je da je kod pacijenata s neplodnosti nepoznatog uzroka kombinacija gonadotropina i IUI-e učinkovitija od tempiranog spolnog odnosa i ekspektativnog stava kad se gleda broj rođene djece. Ta razlika je, doduše, mala i postaje klinički značajna tek u protokolima od barem četiri ciklusa.[56] Isto tako, dobiveno je da nema statistički značajne razlike u uspješnosti IUI-a i IVF-a kod pacijenata s neplodnosti nepoznatog uzroka. Druga metaanaliza bavila se sličnom problematikom. U njoj su promatrali postoji li kod pacijenata s neplodnosti nepoznatog uzroka razlika u uspješnosti, mjerenoj kao broj živorođene djece, između tempiranog spolnog odnosa i IUI-e u prirodnom i stimuliranom ciklusu. Dobili su da ne postoji statistički značajna razlika u uspješnosti ovih dviju metoda u prirodnom ciklusu. S druge strane, IUI se pokazala statistički značajno uspješnijom od tempiranog spolnog odnosa u stimuliranom ciklusu.[57] Metaanaliza koje je proučavala razliku između IUI-e i tempiranog spolnog odnosa kod pacijenata u induciranim ciklusima pronašla je da postoji statistički značajna razlika u uspješnosti između ove dvije terapijske metode. Rezultati su pokazali da homoinseminacija značajno povećava broj trudnoća u odnosu na tempirani spolni odnos kod pacijenata s neplodnosti nepoznatog uzroka.[58] Metaanaliza Goverdea i sur.[59] proučavala je razliku u uspješnosti i financijskoj isplativosti IUI-a i IVF-a za parove s neplodnosti nepoznatog uzroka i parove s neplodnosti muškog podrijetla. Dobili su da, iako je IVF u pravilu bila učinkovitija od IUI-e po pojedinom ciklusu, ne postoji značajna razlika u kumulativnoj stopi trudnoće na kraju terapijskog protokola od 6 ciklusa. Analiza financijske isplativosti tih terapijskih postupaka pokazala je da je IUI povezan sa značajno nižim troškovima po trudnoći koja rezultira rođenjem živog djeteta u odnosu na IVF-u u oba ispitivana tipa neplodnosti. I druga istraživanja dobila su slične rezultate i potvrdila prethodne nalaze o financijskoj isplativosti IUI-e u odnosu na IVF-u. In vitro fertilizacija je uspješnija kada se gleda broj poroda po ciklusu, ali je zbog znatno viših troškova manje financijski isplativa od intrauterine inseminacije.[60]

Jedan od načina provođenja intrauterine inseminacije koji je predložen kako bi se povećala učinkovitost i uspješnost ove metode je korištenje dvostruke inseminacije tijekom jednog ciklusa. Pretpostavka je da inseminacija koja se provode tijekom dva uzastopna dana povećava broj i koncentraciju spermija koji dolaze u kontakt s jajnom stanicom i time povećava šansu za začećem. Međutim, dvostruka inseminacija nije se pokazala statistički značajno uspješnijom od jednostruke inseminacije. Korištenje ove metode nije opravdano u slučajevima kada je kvaliteta sjemena zadovoljavajuća, kao što je prilikom heteroinseminacije s donorskim ejakulatom, zbog toga što ne dovodi do boljeg rezultata, a povećava troškove.

Istraživanja koja su proučavala uspješnost dvostruke inseminacije kod parova s neplodnosti muškog podrijetla pokazala su da postoji trend većeg broja trudnoća po ciklusu u odnosu na jednostruku inseminaciju, ali dobiveni rezultati nisu dosegli razinu značajnosti. Potrebno je provesti dodatna randomizirana kontrolirana istraživanja kako bi se utvrdila opravdanost korištenja dvostruke inseminacije.[61]

5.1.3. Obrada i priprema ejakulata za intrauterinu inseminaciju

Seminalna tekućina sadrži faktore koji sprječavaju spontanu kapacitaciju spermija nakon ejakulacije i faktore koji pri produženoj izloženosti spermijima negativno djeluju na njihovu funkciju. Seminalni faktori mogu negativno djelovati na sposobnost spermija da prodiru kroz cervikalnu sluz, prolaze akrosomalnu reakciju in vitro i proces oplodnje općenito. Iz tih razloga, kod korištenja metoda potpomognute oplodnje spermiji trebaju biti odvojeni od seminalne tekućine. Taj se proces se naziva „pranje spermija“ i uključuje odvajanje spermija od seminalna tekućine i njihovu resuspenziju u umjetne medije.[62]

Postoje 4 osnovne klasične metode pripreme spermija: 1) jednostavno razrjeđenje i pranje, 2) migracija spermija („swim up“ metode), 3) selektivne metode pranja pomoću gradijenta gustoće i 4) adherentne metode.[62]

Tehnike jednostavnog pranja spermija u kojima se ejakulat razrijedi medijem i centrifugira vjerojatno dovode do oštećenja ili potpunog gubitka sposobnosti spermija da oplode jajnu stanicu. S obzirom na štetne učinke centrifugiranja na spermije, metoda jednostavnog pranja spermija više se ne koristi te je potrebno koristiti jednu od preostale tri nabrojane metode.[62]

Adherentne metode koriste različite adherentne tvari koje eliminiraju mrtve spermije i drugi stanični otpad. Potrebno je provesti dodatna istraživanja kako bi se utvrdila sigurnost ove metode i mogućnost selektiranja spermija s urednim kromatinom. Metoda migracije spermija („swim up“ metoda) provodi se tako da se sloj tekućeg ejakulata stavi ispod sloja umjetnog medija nakon čega uredno pokretni spermiji putuju iz sloja ejakulata u sloj medija. Ova metoda dobro diferencira spermije s obzirom na njihovu progresivnu pokretnost i urednu morfologiju. Međutim, postoje razlike u kvaliteti kromatina i DNA stabilnosti kod spermija koji su odabrani na ovaj način. Metode koje koriste gradijent gustoće odvajaju morfološki uredne, zrele spermije s normalnim kromatinom na temelju njihove veće težine od mrtvih, nezrelih ili abnormalnih spermija. Koristi se centrifugiranje male brzine koje ne oštećuje spermije kako bi se odvojio sloj zrelih i zdravih stanica. Ova metoda osobito je pogodna za

korištenje zbog svoje sposobnosti odvajanja spermija s urednim kromatinom i stabilnom DNA od manje kvalitetnih spermija.[62]

Nova metoda selekcije spermija koja se koristi je Magnetski aktivirano odvajanje stanica (MACS). Ova metoda koristi magnetsko polje kako bi, na temelju njihovog različitog magnetskog potencijala, odvojila apoptoične od zdravih spermija. Metaanaliza koja je uključivala 5 prospektivnih randomiziranih studija pronašla je da selekcija spermija pomoću MACS metode dovodi do statistički značajno većeg broja trudnoća u odnosu na swim-up metodu i metode koje koriste gradijent gustoće. Isto tako, nije pronađena razlika u postotku implantacije ni broju spontanih pobačaja.[63]

5.1.4. Vremensko usklađivanje inseminacije s ovulacijom

Postizanje optimalnog vremenskog odnosa između ovulacije i intrauterine inseminacije od ključne je važnosti za uspjeh IUI-e. Cilj je da su spermiji koji mogu oploditi oocitu prisutni u reproduktivnom sustavu žene u uskom optimalnom periodu koji se naziva periovulatorni period. To je osobito važno u IUI jer spermiji nakon pripreme i odvajanja od seminalne tekućine imaju znatno kraću sposobnost preživljavanja u ženskom spolnom sustavu od spermija pri prirodnom spolnom odnosu. Postoje dvije osnovne strategije sinkronizacije ovulacije s inseminacijom. To su detekcija LH vrška u prirodnom ciklusu te indukcija ovulacije hCG-om u stimuliranom ciklusu.[61]

Procjena ovulacije u prirodnom ciklusu temelji se na spoznaji da ovulacija nastupa 24-56 sata nakon pojave vrška LH s prosječnim vremenom od 32 sata. LH se određuje iz krvi ili urina. Prednosti ove strategije su što je neinvazivna, ima nižu cijenu i procjenu LH iz mokraće moguće je raditi kod kuće. Glavni nedostatak ove metode je mogućnost lažno negativnih rezultata. Druga strategija uključuje primjenu ultrazvuka kojim se prati rast folikula. hCG se primjeni kad dominanti folikul dosegne promjer 16-18mm. Ovulacija se očekuje 34-38 sati nakon primjene hCG-a.[61]

Istraživanja o postojanju razlike u uspješnosti IUI kod prirodnih i stimuliranih ciklusa ne pokazuju konzistentne rezultate. Dio istraživanja pokazuje da je IUI u stimuliranom ciklusu značajno uspješnija metoda od IUI u prirodnom ciklusu.[57] Druga istraživanja pronalaze da nema značajne razlike između stope trudnoće po ciklusu i kumulativne trudnoće između IUI-a u prirodnom i stimuliranom ciklusu.[59]

5.1.5. Čimbenici koji utječu na uspješnost intrauterine inseminacije

Veliki broj faktora utječe na uspješnost intrauterine inseminacije. Jedan od najvažnijih čimbenika o kojem ovisi uspješnost ove metode je ukupan broj pokretnih spermija. Postotak začeća po paru značajno je viši kada je ukupni broj pokretnih spermija veći od 5 milijuna (44.3%) nego kod parova gdje je ukupni broj pokretnih spermija manji od 5 milijuna (28.5%). Razlika je osobito izražena između parova koji imaju broj pokretnih spermija manji od milijun i parova koji imaju broj pokretnih spermija veći od milijun.[64] Postotak začeća po IUI ciklusu značajno je smanjen kada je ukupan broj pokretnih spermija u uzorku za inseminaciju manji od 0.5 milijuna.[65] Neovisan povoljan prediktivni čimbenik je pokretljivost spermija veća od 80% u početnom uzorku ejakulata.[66] Osim broja pokretnih spermija, važna je i morfologija spermija, odnosno udio morfološki urednih oblika spermija u ejakulatu. Postotak začeća po paru smanjen je ako je broj abnormalnih spermija veći od najveće dopuštene vrijednosti koja iznosi 96%.[64] Preveliki broj morfološki abnormalnih spermija (teratozoospermija) značajno negativno utječe na ishod IUI-a kod pacijenata s drugim poremećajima spermiogeneze kao što su oligozoospermija i astenozoospermija. Izostanak teratozoospermije jedan je od najvažnijih kriterija za odabir pacijenata s oligozoospermijom i astenozoospemijom koji mogu imati korist od IUI-e. Kod takvih pacijenata IUI treba biti razmotrena kao terapija prvog izbora prije korištenja skupljih i invazivnijih terapijskih postupaka.[67] Jedan od najvažnijih prediktivnih čimbenika uspješnosti IUI-e kod neplodnosti muškog i ženskog podrijetla, kao i neplodnosti nepoznatog uzroka, je dob majke. Uspješnost metode značajno je smanjena kod žena starijih od 40 godina.[64] [65]

5.1.6. Mogući neželjeni učinci intrauterine inseminacije

Mogući neželjeni učinak intrauterine inseminacije u stimuliranim ciklusima je pojava sindroma hiperstimulacije jajnika. Pažljivo praćenje koncentracije estradiola u serumu te broja i veličine ovarijskih folikula dovodi do smanjenog rizika za sindrom hiperstimulacije. Neka istraživanja pronalaze i povećanu učestalost višestrukih trudnoću prilikom korištenja IUI i u stimuliranim i u prirodnim ciklusima. [53]

Intrauterina kateterizacija povezana je s povećanim rizikom za nastanak zdjelične infekcije. Salpingitis je zabilježen nakon IUI-e. Istraživanja su pokazala da se većina mikroorganizama može izolirati iz sjemena muškog člana para, ali ne iz cerviksa. To pokazuje kako je vjerojatni izvor mikroorganizama suspenzija spermija koja se koristi za IUI-u. Nije poznato na koji način hiperstimulacija jajnika utječe na moguću zdjeličnu kolonizaciju mikroorganizmima iz

suspenzije sjemena.[53] Incidencija zdjelične infekcije nakon IUI je niska i iznosi 0.16/1000. Međutim, to je 40% više u odnosu na populaciju žena koje nisu podvrgnute postupcima potpomognute oplodnje u njihovoj reproduktivnoj dobi. U određenim kliničkim centrima kao prevencija zdjelične infekcije primjenjuju se profilaktički antibiotici, najčešće tetraciklin ili doksiciklin. Njihovo primjena se ne preporučuje ako ne postoji od prije poznati rizični čimbenik za nastanak zdjelične upalne bolesti.[68]

Postoje određena istraživanja koja povezuju IUI s nastankom antispermatičnih protutijela kod ženskog člana para.[53]

5.2. In vitro fertilizacija u liječenju muške neplodnosti

In vitro fertilizacija (IVF) postupak je potpomognute oplodnje koji se počeo primjenjivati u drugoj polovici sedamdesetih godina prošlog stoljeća za liječenje ženske tubarne neplodnosti. Neplodnost muškog tipa je u početku smatrana kontraindikacijom za IVF jer abnormalni spermiji imaju manju šansu oploditi jajnu stanicu u odnosu na normalne spermije. Nešto manje od desetljeća nakon početka primjene ove metode pokazano je da se IVF može uspješno primijeniti i za liječenje neplodnosti muškog tipa.[77]

5.2.1. Postupak prilikom primjene in vitro fertilizacije

In vitro fertilizacija složeni je postupak koji započinje kontroliranom hiperstimulacijom jajnika FSH-om. Time se povećava broj oocita koje sazrijevaju u jajnicima. Razvoj folikula u jajniku prati se transvaginalnim ultrazvukom i određivanjem serumskih vrijednosti estrogena i progesterona. Ovulacija se izaziva intramuskularnom promjenom hCG-a kada folikuli dosegnu optimalni stadij razvoja. Transvaginalna folikularna aspiracija uz kontrolu ultrazvuka provodi se kako bi se osigurale oslobođene oocite za daljnji postupak. Moguće je osigurati veliki broj oocita (srednja vrijednost od 12 oocita) od inače zdravih žena zahvaljujući hiperstimulaciji jajnika. Morfološki zrele oocite koje se nalaze u metafazi II. mejotičke diobe spremne su za oplodnju spermijima. Spermiji se operu od sjemene tekućine i pripreme na neki od prije opisanih načina te se s oocitama inseminiraju u koncentraciji od 100 000 ili više spermija na jednu oocitu u poseban medij koji oponaša uvjete u ženskom jajniku. Oplođene jajne stanice se inkubiraju 2-3 dana u in vitro uvjetima i razvijaju se do stadija osmostaničnog embrija prije transfera u maternicu. Višak embrija moguće je zamrznuti i koristiti u budućem liječenju neplodnosti. [69]

U postupku je moguće provesti određene mikromanipulacije koje povećavaju šansu oplodnje između jajne stanice i spermija. Jedna od njih je „zona drilling“, odnosno stvaranje otvora u zoni pellucidi, acelularnoj zoni koja okružuje jajnu stanicu. Druga mikromanipulacija naziva se subzonalno umetanje spermija pri kojoj se spermij injicira između membrane oocite i zone pellucide. Obje metode danas su napuštene i zamijenjene intracitoplazmatskom injekcijom spermija. Iako je ICSI najinvazivnija od navedenih metoda i ima najveći rizik za nastanak membranskog oštećenja jajne stanice, danas je zamijenila druge metode zbog boljih rezultata u postizanju oplodnje i kliničke trudnoće.[69] ICSI će biti detajnije opisana kasnije.

5.2.2. Indikacije za primjenu IVF-e

IVF se koristi za liječenje različitih poremećaje muške i ženske plodnosti, kao i jedna od terapijskih opcija za liječenje neplodnosti nepoznatog uzroka. Ova metoda se koristi kao terapija izbora za postizanje trudnoće kod žena s teškom endometriozom i s neprohodnim jajnicama. IVF se koristi kod žena s poremećajima ovulacije nakon neuspjeha trudnoće uz korištenje medikamentozne i endokrinološke terapije za indukciju ovulacije. Ona se koristi i kod drugih uzroka neplodnosti ženskog podrijetla nakon neuspjeha prethodno provedenih terapijskih opcija. Preporučauje se za postizanje trudnoće kod žena starije životne dobi nakon neuspjeha začeća prirodnim putem.[70]

IVF se ne preporučuje kao terapija prvog izbora za liječenje muške neplodnosti. Istraživanja su pokazala da je IVF povezana sa značajno većim troškovima od IUI-e uz ne toliko značajnu razliku u uspješnosti postizanja trudnoće između ove dvije metode potpomognute oplodnje. Slični rezultati pronađeni su i kod neplodnosti nepoznatog uzroka. [60] IVF se preporučuje za liječenje blažih oblika muške neplodnosti gdje postoji barem milijun pokretnih spermija u ejakulatu i za liječenje neplodnosti nepoznatog uzroka nakon neuspjeha intrauterine inseminacije u barem 3-4 ciklusa. IVF kao ni IUI se ne preporučuje za liječenje teških oblika muške neplodnosti (<1 milijun pokretnih spermija, <4% morfološki urednih oblika u ejakulatu) zbog male šanse uspjeha u tim indikacijama. [77]

5.2.3. Čimbenici koji utječu na uspješnost in vitro fertilizacije

Veliki broj čimbenika utječe na uspješnost in vitro fertilizacije kod neplodnih parova. Jedan od najvažnijih čimbenika je dob žene. Postoji značajna razlika u uspješnosti IVF-e kod žena mlađih od 35 godina i žena starijih od 35 godina, pri čemu je uspješnost značajno veća kod mlađih žena. S porastom dobi žene smanjuje se uspješnost IVF-e.[71] Udio zahvata koji su

doveli do rođenja živorođenog djeteta značajno je veći kod žena koje su prethodno bilo trudne u odnosu na žene koje nisu bile trudne, bez obzira na ženinu dob. Ovaj efekt je osobito izražen kod žena s prethodnim porodom živorođenog djeteta.[72] Uspješnost IVF-e smanjuje se s duljim trajanjem neplodnosti kod para, odnosno kod parova s trajanjem neplodnosti manjom od 12 mjeseci uspješnost IVF-e je veća nego kod parova s trajanjem neplodnosti duljom od 12 mjeseci. Bazalne vrijednosti FSH-a utječu na uspješnost IVF-e. Povećanje vrijednosti bazalnog FSH-a značajno je povezano sa smanjenom stopom trudnoća nakon IVF-e. Šansa za trudnoću nakon IVF-e povećava se s brojem oocita koje su dostupne za oplodnju.[71] U velikoj metaanalizi koja je promatrala 5300 ciklusa pronađeno je da prijenos dva embrija značajno povećava šansu trudnoće u odnosu na prijenos jednog embrija u maternicu, dok prijenos 3 embrija ne utječe na šansu trudnoće u odnosu na prijenos 2 embrija. Isto tako, analiza je pokazala da je uspješnost IVF-e značajno veća kada je indikacija muška neplodnost, nego kada su indikacije anovulacija, mehanički faktori ili neplodnost nepoznatog uzroka.[73] Neka druga istraživanja pronašla su da je uspješnost IVF-e veća kod neplodnosti nepoznatog uzroka u odnosu na druge indikacije, uključujući i neplodnost muškog podrijetla.[71] Retrospektivno kohortno istraživanje koje je promatralo koji faktori utječu na uspješnost IVF-e pronašlo je da su ukupan broj i kvaliteta transplantiranih embrija te razina progesterona na dan primanja injekcija hCG-a dva najvažnija prediktivna čimbenika za porod živorođenog djeteta nakon IVF-e.[74] Kvaliteta spermija koji se koriste za oplodnju, isto tako, utječe na ishod IVF-e. Postoji značajna korelacija između parametara pokretljivosti spermija i morfologije spermija te uspješnosti IVF-e. Veći broj progresivno pokretnih spermija i morfološki urednih spermija povezan je s većom vjerojatnosti za uspješnost IVF-e. [72]

5.2.4. Mogući neželjeni učinci in vitro fertilizacije

Jedan od najvažnijih rizika povezan s IVF-om je mogući nastanak sindroma hiperstimulacije jajnika kao posljedica kontrolirane hiperstimulacije jajnika. Sindrom se može očitovati masivnim povećanjem jajnika, peritonealnim nadražajem, torzijom jajnika, ascitesom, pleuralnim izljevom, oligurijom, poremećajem elektrolita i povećanom sklonosti krvi za zgrušavanjem. Ovaj sindrom u teškim oblicima može dovesti i do smrti. Sindrom se u umjereno teškom obliku pojavljuje kod 3-4% ciklusa, a teški oblici pojavljuju se kod 0.1-0.2% žena kojima se provodi kontrolirana hiperstimulacija jajnika. [75]

Komplikacije povezane s transvaginalnom aspiracijom oocita pojavljuju se u 0.3-3% slučajeva i uključuju zdjelične infekcije, krvarenja i perforacije trbušnih organa. [69]

Trudunoće koje nastaju kao posljedica in vitro fertilizacije povezane su s povećanim rizikom od spontanih pobačaja, ektopične trudnoće i višestrukih trudnoća. Postotak spontanih pobačaja nakon postizanja biokemijski dokazane trudnoće je 25%. Ektopična trudnoća javlja se u 3-5.5% ciklusa i može ugroziti život žene. U Sjedinjenim Američkim Državama višestruke trudnoće javljaju se u 22% slučajeva IVF-e s transplantacijom embrija. Višestruke trudnoće smatraju se jednom od najvažnijih komplikacija metoda potpomognute oplodnje zbog povezanosti s većom učestalosti preeklampsije, placente previje, abrupcije placente, prijevremene rupture plodovih ovoja i postpartalnog krvarenja. Isto tako, višestruke trudnoće povezane su s prijevremenim porodom i povećanim brojem komplikacija za dijete. Jedan od načina sprječavanja neželjenih višestrukih trudnoća je ograničavanje broja embrija koji se mogu transplantirati. [71] Prema trenutno važećem zakonu Republike Hrvatske mogu se transplantirati dva zametka. Iznimka su žene starije od 38 godina kojima nije pomogla nijedna druga metoda. Kod kojih se mogu transplantirati tri zametka.

IVF se u nekim istraživanjima povezuje s povećanom učestalosti kongenitanlnih anomalija u odnosu na prirodne trudnoće. Isto tako, povezuje se s povećanom učestalosti anomalija spolnih kromosoma i imprinting poremećajima kao što su Prader-Willi i Angelmanov sindrom.[75]

5.3. Intracitoplazmatska injekcija spermija

ICSI je metoda potpomognute oplodnje koja se nastavlja na uobičajeni postupak in vitro fertilizacije. To je oblik mikromanipulacije IVF-e u kojoj se spermij direktno injektira u oocitu pomoću mikropipete.[75] ICSI se koristi kod muškaraca s vrlo lošim nalazom ejakulata ili nakon neuspjelog začeća pomoću IVF-e. Vjerojatnost začeća pomoću IVF-e značajno je smanjena kod muškaraca s koncentracijom spermija <5 milijuna/ml, osobito gdje postoji <1% spermija normalne morfologije. Takvi pacijenti su kandidati za ICSI. ICSI se koristi i kod parova gdje začeće nije ostvareno unatoč normalnom broju spermija zbog otvrdnuća zone pellucide ili abnormalnosti spermija koje onemogućuju fuziju spermija s membranom jajne stanice. Metoda se uspješno primjenjuje i kod pacijenata s opstruktivnom azoospermijom, kao što su pacijenti s obostranom aplazijom vas deferensa.[76] U slučajevima azoospermije kad nije moguće dobiti žive spermije iz ejakulata mogu se koristiti epididimalna i testikularna ekstrakcija spermija kako bi se dobio odgovarajući uzorak spermija za korištenje ICSI.[75] Postotak uspješne oplodnje prilikom ICSI postupka bez obzira na dob i kvalitetu ejakulata iznosi 70-80% i u 45% slučajeva dovodi do kliničke trudnoće.[76]

ICSI je povezan s određenim rizicima. Uz ovu metodu povezujemo s povećanu učestalost kongenitalnih anomalija u odnosu na prirodne trudnoće. Najčešće se javljaju anencefalija i abnormalnosti udova. ICSI je povezan s povećanim rizikom za nastanak poremećaja spolnih kromosoma i poremećaja imprintinga.[75] Ishodi trudnoće i razvoj djeteta nakon rođenja ne razlikuje se kod ICSI-a i IVF-a. Nisu pronađene značajne razlike u perinatalnom mortalitetu, porođajnoj tjelesnoj masi djeteta i učestalosti teških malformacija između ICSI-a u kojem su korišteni spermiji iz ejakulata i ICSI-a u kojem su korišteni epididimalni ili testikularni spermiji.[77]

6. ZAHVALE

Zahvaljujem mojem mentoru, prof.dr.sc.Miri Kasumu, na stručnom vodstvu i savjetima u vezi ovog diplomskog rada.

Isto tako, želim zahvaliti mojim roditeljima koji su mi bili podrška tokom studija te mojim prijateljima i prijateljicama na koje sam uvijek mogla računati.

7. LITERATURA

[1] Juul S, Karmaus W, Olsen J. 1999 Regional differences in waiting time to pregnancy: pregnancy-based surveys from Denmark, France, Germany, Italy and Sweden. The European Infertility and Subfecundity Study Group. Hum Reprod. 1999;14:1250–1254.

[2] Jensen TK, Slama R, Ducot B, Suominen J, Cawood EH, Andersen AG, Eustache F, Irvine S, Auger S, Jouannet P i sur. Regional differences in waiting time to pregnancy among fertile couples from four European cities. Hum Reprod. 2001;16:2697-2704.

[3] Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W. EAU guidelines on male infertility. Eur Urol. 2005;48:703–711.

[4] Pal L, Santoro N. Age-related decline in fertility. Endocrinol Metab Clin North Am. 2003;32:669-88.

[5] Mascarenhas, M.N., Flaxman, S.R., Boerma, T., Vanderpoel, S., Stevens, G.A. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. PLoS Med. 2012;9:e1001356.

[6] Winters BR, Walsh TJ. The epidemiology of male infertility. Urol Clin North Am. 2014;41:195–204.

[7] Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: Potential need and demand for infertility medical care. Hum Reprod. 2007;22:1506–12.

[8] Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA i sur. Population study of causes, treatment,and outcome of infertility. Br Med J. 1985;291:1693-7.

[9] Velu A, Prasad, G. Epidemiologic aspects of male infertility. International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology. 2017;6(8):3362-3365.

[10] Szkodziak P, Wozniak S, Czuczwar P, Wozniakowska E, Milart P, Mroczkowski A, Paszkowski T. Infertility in the light of new scientific reports – focus on male factor. Ann Agric Environ Med. 2016;23:227–30.

[11] Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, i sur., European association of urology guidelines on male infertility: the 2012 update. Eur Urol. 2012;62:324–32.

[12] Fraietta R, Zylberstejn D.S, Esteves S.C. Hypogonadotropic hypogonadism revisited. Clinics. 2013;68:81–88.

[13] Salenave S, Trabado S, Maione L, Brailly-Tabard S, Young J. Male acquired hypogonadotropic hypogonadism: diagnosis and treatment. Ann Endocrinol (Paris) 2012;73:141-146.

[14] Krassas GE, Poppe K, Glinoer D. Thyroid function and human reproductive health. Endocr Rev 2010;31:702–55.

[15] Hajshafiha M, Ghareaghaji R, Salemi S, Sadegh-Asadi N, Sadeghi-Bazargani H. Association of body mass index with some fertility markers among male partners of infertile couples. Int J Gen Med. 2013;6:447–51.

[16] Wise LA, Rothman KJ, Mikkelsen EM, Sorensen HT, Riis A, Hatch EE: An internet-based prospective study of body size and time-to-pregnancy. Hum Reprod. 2010;25:253-264.

[17] de Kretser, D.M. Male infertility. Lancet. 1997;349:787–790.

[18] Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. Reprod Biomed Online 2007;14:734–45.

[19] O'Flynn O'Brien K.L., Varghese A.C, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: a review. Fertil. Steril 2010;93:1–12.

[20] Hadziselimovic F, Herzog B: The importance of both an early orchidopexy and germ cell maturation for fertility. Lancet 2001;358:1156–1157.

[21] Bachir BG, Jarvi K. Infectious, inflammatory, and immunologic conditions resulting in male infertility. Urol Clin North Am. 2014;41:67–81.

[22] Jahnukainen K, Ehmcke J, Hou M, Schlatt S. Testicular function and fertility preservation in male cancer patients. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25:287-302.

[23] Cocuzza M, Alvarenga C, Pagani R. The epidemiology and etiology of azoospermia. Clinics (Sao Paulo) 2013;68(Suppl 1):15–26.

[24] Williamson RC. Torsion of the testis and allied conditions. Br J Surg. 1976;63(6):465-76.

[25] Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. BJU Int. 2003;92(3):200-3.

[26] Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. Asian J Androl. 2015;17:659–67.

[27] Wosnitzer M, Goldstein M, Hardy MP. Review of azoospermia. Spermatogenesis. 2014;4:e28218.

[28] Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. Reprod Biomed Online 2007;14:734–745.

[29] Goluboff, E.T, Stifehnan, M.D, Fisch, H. Ejaculatory duct obstruction in the infertile male. Urology. 1995;45:925–931.

[30] Rowland, D., McMahon, C.G., Abdo, C. i sur., Disorders of orgasm and ejaculation in men. J Sex Med. 2010;7:1668–1686.

[31] World Health Organization 2000 WHO manual for the standardised investigation and diagnosis of infertile couple. Cambridge, UK: Cambridge University Press

[32] Hamada A, Esteves SC, Agarwal A. Unexplained male infertility: potential causes and management. Human Andrology 2011;1:2-16.

[33] Hamada A, Esteves SC, Agarwal A. Unexplained male infertility: potential causes and management. Human Andrology 2011;1:2-16.

[34] Gusick D, Overstreet J, Factor-Litvak P, i sur., Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. N Engl J Med 2001;345(19):1388–93.

[35] Clarke GN, Lopata A, McBain JC, Baker HW, Johnston WI: Effect of sperm antibodies in males on human in vitro fertilization (IVF). Am J Reprod Immunol Microbiol. 1985;8:62-6.

[36] Kefer J, Agarwal A, Sabanegh E. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. Int J Urol. 2009;16(5):449–57.

[37] Vine M. Smoking and male reproduction: a review. Int J Androl. 1996;19:323–7.

[38] Zini A, Blumenfield A, Libman J, i sur. Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm DNA integrity. Hum Reprod. 2005;20:1018–21.

[39] Liu D, Liu M, Garrett C, i sur. Comparison of the frequency of defective sperm-zona pellucida (ZP) binding and the ZP-induced acrosome reaction between subfertile men with normal and abnormal semen. Hum Reprod. 2007;22(7):1878–84.

[40] Hamada A, Esteves S, Agarwal A. The role of contemporary andrology in unraveling the mystery of unexplained male infertility. Open Reprod Sci J. 2011;4:27–41.

[41] Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological Association; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Report on varicocele and infertility. Fertil Steril. 2004;82(1):142–145.

[42] World Health Organisation. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010.

[43] Calogero AE, Condorelli RA, Russo GI, La Vignera S. Conservative Nonhormonal Options for the Treatment of Male Infertility: Antibiotics, Anti-Inflammatory Drugs, and Antioxidants. BioMed Research International. 2017;2017:4650182.

[44] Lackner J.E., Herwig R, Schmidbauer J, Schatzl G, Kratzik C, i Marberger M. Correlation of leukocytospermia with clinical infection and the positive effect of antiinflammatory treatment on semen quality. Fertil Steril. 2006;86:601–605.

[45] Gambera L, Serafini F, Morgante G, Focarelli R, De Leo V, Piomboni P. Sperm quality and pregnancy rate after COX-2 inhibitor therapy of infertile males with abacterial leukospermia. Hum Reprod 2007;22:1047–1051.

[46] Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 2011;**1**:CD007411

[47] Kim E.D., Crosnoe L, Bar-Chama N, Khera M, Lipshultz, L.I. The treatment of hypogonadism in men of reproductive age. Fertil Steril. 2013;99:718–724.

[48] Anawalt B.D. Approach to male infertility and induction of spermatogenesis. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98:3532–3542.

[49] Katz D.J., Nabulsi O, Tal R, Mulhall J.P. Outcomes of clomiphene citrate treatment in young hypogonadal men. BJU Int. 2012;110:573–578.

[50] Schlegel, P.N. Aromatase inhibitors for male infertility. Fertil Steril. 2012;98:1359–1362.

[51] Evers J.H., Collins J, Clarke J. Surgery or embolisation for varicoceles in subfertile men.Cochrane Database Syst Rev. 2009;CD000479.

[52] Schroeder-Printzen I, Ludwig M, Köhn F. i sur. Surgical therapy in infertile men with ejaculatory duct obstruction: technique and outcome of a standardized surgical approach. Hum Reprod. 2000;15:1364–1368.

[53] Dodson, W.C., Haney, A.F. Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of infertility. Fertil Steril. 1991;55:457–467.

[54] ESHRE Capri Workshop Group. Intrauterine insemination. Hum Reprod Update. 2009;15:265–277

[55] NICE. Nice guideline: Fertility: for people with fertility problems. 2013. NICE clinical guideline 156 February 2013,1.8.1.3

[56] Collins J. Current best evidence for the advanced treatment of unexplained infertility. Hum Reprod. 2003;18:907-12.

[57] Veltman-Verhulst SM, Cohlen BJ, Hughes E, et al. Intra-uterine insemination for unexplained subfertility. Cochrane Database Syst Rev 2012;(4):CD001838

[58] Zeyneloglu, H.B, Arici, A, Olive, D.L, Duleba, A.J. Comparison of intrauterine insemination with timed intercourse in superovulated cycles with gonadotropins (a meta-analysis) . Fertil Steril. 1998;69:486–491.

[59] Goverde A.J, McDonnell J, Vermeide, J.P.W, Schats R, Rutten F.F.H, Schoemaker J. Intrauterine insemination or in-vitro fertilization in idiopathic subfertility and male subfertility (a randomized trial and cost-effectiveness analysis). Lancet. 2000;355:12–18.

[60] Van Voorhis, B.J, Sparks, A.E, Allen, B.D, Stovall, D.W, Syrop, C.H, Chapler, F.K. Cost-effectiveness of infertility treatments (a cohort study) . Fertil Steril. 1997;67:830–836.

[61] Carranza F, Santamaría E, González-Ravina C, Blasco V, Caligara C, Fernández-Sánchez M. How to Perform the Best Intrauterine Insemination? (A Review). Andrology. 2015;4(2):112-119.

[62] Mortimer D. Sperm preparation methods. J Androl 2000;21:357-66.

[63] il M, Sar-Shalom V, Melendez SY, Carreras R, Checa MA. Sperm selection using magnetic activated cell sorting (MACS) in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. J Assist Reprod Genet. 2013;30:479–485.

[64] Merviel, P., Heraud, M.H., Grenier, N., Lourdel, E., Sanguinet, P., Copin, H. Predictive factors for pregnancy after intrauterine insemination (IUI): an analysis of 1038 cycles and a review of the literature. Fertil Steril. 2010;93:79–88.

[65] Campana, A., Sakkas, D., Stalberg, A., Bianchi, P.G., Comte, I., Pache, T. i sur., Intrauterine insemination (evaluation of the results according to the woman's age, sperm quality, total sperm count per insemination and life table analysis). Hum Reprod. 1996;11:732–736.

[66] Zhao, Y., Vlahos, N., Wyncott, D., Petrella, C., Garcia, J., Zacur, H. i sur., Impact of semen characteristics on the success of intrauterine insemination. J Assist Reprod Genet. 2004;21:143–148.

[67] Francavilla, F, Romano, R, Santucci, R, Poccia, G. Effect of sperm morphology and motile sperm count on outcome of intrauterine insemination in oligozoospermia and/or asthenozoospermia. Fertil Steril. 1990;53:892–897.

[68] Matorras R, Rubio K, Iglesias M, Vara I, Exposito A. Risk of pelvic inflammatory disease after intrauterine insemination: a systematic review. Reproductive BioMedicine Online. 2018;36(2):164-171.

[69] Schlegel PN, Girardi S. In vitro fertilization for male factor infertility. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82:709–716.

[70] Lintsen AM, Eijkemans MJ, Hunault CC, Bouwmans CA, Hakkaart L, Habbema JD, Braat DD. Predicting ongoing pregnancy chances after IVF and ICSI: a national prospective study. Hum Reprod. 2007;22:2455-2462.

[71] van Loendersloot, L.L., van Wely, M., Limpens, J., Bossuyt, P.M., Repping, S. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2010;16:577–589.

[72] Templeton, A., Morris, J.K., Parslow, W. Factors that affect outcome of in-vitro fertilisation treatment. Lancet. 1996;348:1402–1406.

[73] Elizur, S.E., Lerner-Geva, L., Levron, J., Shulman, A., Bider, D., Dor, J. Factors predicting IVF treatment outcome: a multivariate analysis of 5310 cycles. Reprod Biomed Online. 2005;10:645–649.

[74] Cai Q, Wan F, Appleby D, Hu L, Zhang H. Quality of embryos transferred and progesterone levels are the most important predictors of live birth after fresh embryo transfer: a retrospective cohort study. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2014;31(2):185-194.

[75] Pan M, Hockenberry M, Kirby E, Lipshultz L. Male Infertility Diagnosis and Treatment in the Era of In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. Medical Clinics of North America. 2018;102(2):337-347.

[76] Palermo GD, Neri QV, Takeuchi T, Rosenwaks Z. ICSI: where we have been and where we are going. Semin Reprod Med. 2009;27(2):191–201.

[77] Tournaye, H. Male factor infertility and ART. Asian J Androl. 2012;14:103–108.

8. ŽIVOTOPIS

Zovem se Dora Malić, rođena sam 1993.godine u Zagrebu.

Studentica sam 6.godine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu koji sam upisala u 2012./2013.godini.

Završila sam matematičku gimnaziju u Zagrebu 2012.godine.

Na fakultetu sam bila demonstrator 2016.-2018.godine iz kliničke propedeutike i 2017.-2018. iz pedijatrije. Odradila sam kliničku praksu u trajanju od mjesec dana na zavodu za reumatologiju Sveučilišne bolnice u Hamburgu.

Tečno govorim engleski, njemački i ruski jezik.

U slobodno vrijeme volim fotografiju, serije, filmove i putovanja.