

Liječenje medicinski pomognutom oplodnjom nakon pohrane zametaka

Jurić, Dora

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:513243>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Dora Jurić

LIJEČENJE MEDICINSKI POMOĞNUTOM OPLODNJOM NAKON POHRANE

ZAMETAKA

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Dora Jurić

LIJEČENJE MEDICINSKI POMOĞNUTOM OPLODNJOM NAKON POHRANE

ZAMETAKA

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: Prof. dr. sc. Neda Smiljan Severinski, dr. med.

Diplomski rad ocijenjen je dana _____ u/na _____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Oleg Petrović, dr. med.

2. Izv. prof. dr. sc. Sanja Klobučar Majanović, dr. med.

3. Doc. dr. sc. Alemka Brnčić Fischer, dr. med.

Rad sadrži 35 stranica, 6 slika, 2 tablice, 32 literaturna navoda.

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof. dr. sc. Nedi Smiljan-Severinski na strpljenju, pomoći, korisnim savjetima i konstruktivnim kritikama pri izradi ovog diplomskog rada.

Hvala mojim kolegicama uz koje je poznanstvo postalo prijateljstvo, a studiranje prošlo bezbolno i uz puno lijepih uspomena. Zajedno smo iz studentica postale doktorice. Želim vam svu sreću u životu i da vam kao i meni, ovo naše studiranje ostane u prelijepom sjećanju.

Hvala Kiki, Matei, Joji i svima koji su vjerovali u mene i olakšali ovaj period mog života.

Hvala mojoj obitelji koja me od prvog dana bodrila i bila podrška tijekom cijelog studiranja.

Hvala mama i tata što ste me pogurnuli u pravom smjeru i što ste mi omogućili bezbrižno studiranje. Hvala što ste me pustili da sama krojim svoj život i što ste uvijek bili tu da se na vas mogu osloniti. Ovo je vaš uspjeh koliko i moj.

Hvala Dinu koji je sa mnom od početka. Nikad nisi sumnjao u mene i uvijek si se ponosio mojim uspjesima. Pomogao si mi uvidjeti prave vrijednosti i značaj ovog zvanja. Uz tebe sam se ostvarila.

„Last but not least, I wanna thank me for believing in me, for doing all this hard work, for having no days off, for never quitting.“ – S.D.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Krioprezervacija zametaka.....	1
1.2. Indikacije za krioprezervaciju embrija.....	3
1.3. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji.....	5
2. SVRHA RADA.....	8
3. ISPITANICE I POSTUPCI.....	9
4. REZULTATI.....	11
4.1. Opći rezultati.....	11
4.2. Dob ispitanica.....	12
4.3. Ishod nakon prijenosa zamrznutog zametka prema danu ovulacije	13
4.4. Ishod FET-a prema embrionalnom stadiju.....	14
4.5. Ishod FET-a prema danu menstruacijskog ciklusa kada je učinjen prijenos.....	15
4.6. Ishod FET-a i medikacija u ciklusu.....	16
4.7. Usporedba učinkovitosti liječenja FET-om u dvije kalendarske godine.....	17
4.8. Učinkovitost liječenja FET-om prema dobnim skupinama.....	18
5. RASPRAVA.....	20
6. ZAKLJUČCI.....	24
7. SAŽETAK.....	26
8. SUMMARY.....	27
9. LITERATURA.....	29
10. ŽIVOTOPIS.....	35

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA:

aCGH – komparativna genomska hibridizacija na mikropostolju

E2 – estradiol

ET – embriotransfer

FET – krioembriotransfer

FSH – folikulostimulirajući hormon

hCG – humani korionski gonadotropin

ICSI – intracitoplazmatska injekcija spermija

IVF – in vitro fertilizacija

LH – luteinizirajući hormon

MPO – medicinski pomognuta oplodnja

NGS – sekvenciranje sljedeće generacije

OHSS – sindrom hiperstimulacije jajnika

PCR – polimerazna lančana reakcija

1. UVOD

1.1. Krioprezervacija zametaka

Medicinski pomognuta oplodnja (MPO) obuhvaća niz medicinskih postupaka koji omogućavaju spajanje muške i ženske gamete u svrhu postizanja trudnoće i rađanja, na način koji je drukčiji od snošaja [1]. Krioprezervacija zametaka je metoda medicinski pomognute oplodnje koja nadopunjuje postupak *in vitro* fertilizacije (IVF) i embriotransfera (ET). Zametci nastali izvantjelesnom oplodnjom, a koji su u suvišku, zamrzavaju se na -196 °C i pohranjuju u tekućem dušiku. U prikladnom trenutku liječenje se nastavlja odmrzavanjem zametka i prijenosom u maternicu u odgovarajućoj fazi mjesečnog ciklusa. Svrha tog postupka jest omogućiti pacijenticama očuvanje fertiliteta s određenim vremenskim razmakom [2].

Pretpostavka za kriopohranu zametaka je kontrolirana ovarijska stimulacija, kojom se potiče na rast istovremeno u jajniku više folikula, a time i veći broj jajnih stanica.

Lijekovi koji se koriste u indukciji ovulacije su selektivni modulatori estrogenskih receptora (klomifen citrat), gonadotropni hormoni, analozi gonadotropin otpuštajućih hormona, humani korionski gonadotropin (hCG) za dozrijevanje oocita te lijekovi za pomoć funkciji žutog tijela (progesteron i hCG). Pretpostupak za stimulaciju ovulacije čini niz mjera prije same stimulacije ovulacije radi boljeg reguliranja ciklusa i učinkovitijeg liječenja, a može obuhvaćati oralnu hormonsku kontracepciju, etradiol i/ili progestagene. Tijekom mediciranog ciklusa pratimo rast folikula transvaginalnom sonografijom i u trenutku kada dostignu promjer 17-18 mm daje se hCG kao okidač ovulacije nakon čega slijedi aspiracija oocita 34-36 sati od primjene lijeka. Cilj cijelog postupka je aspiracijom dobiti veći broj oocita (uobičajeno od 10-15)[4] koje zatim preuzimaju embriolozi i oplođuju s muškim spolnim stanicama iz uzorka sjemena pribavljenog istog dana kada je učinjena aspiracija. Embriolozi

ocjenjuju morfologiju, broj, kvalitetu i stadij razvoja oocite i odlučuju o vremenu oplodnje s obzirom na zrelost jajnih stanica, najčešće je to dva sata nakon aspiracije. Uzorak sjemena se također analizira mikroskopom i procjenjuje se broj, pokretljivost, morfologija spermija te prethodno volumen ejakulata. Postoje tri vrste oplodnje koje se mogu primijeniti s obzirom na kvalitetu uzorka sjemena: IVF za slučajeve normozoosperije, mikrodropska tehnika i intracitoplazmatska injekcija spermija (ICSI) kod težih i vrlo teških oblika oligoastenozoospermije, astenozoospermije i oligozoospermije.

Inseminirane oocite se ostavljaju u inkubatoru na 37 °C od 16 do 20 sati. Pokazatelj uspješne fertilizacije jest pronuklearni stadij zametka. U tom stadiju zametci se pohranjuju u čisti medij u kontroliranim uvjetima u inkubatoru gdje se nastavlja dioba. Nakon dva, tri ili pet dana kada zametci dostignu dvostanični, četverostanični ili višestanični (blastocista) stadij zamrzavaju se i pohranjuju ukoliko postoji suvišak zametaka, nakon prijenosa zametka u svježem ciklusu. Pri tom postupku dolazi do zamrzavanja biološkog materijala i ujedno sprječavanja njegove biološke aktivnosti, u što je uključena stanična smrt. Stanice zametaka se izlažu velikoj količini stresa bilo niskim temperaturama ili formiranjem kristala leda koji mogu dovesti do poremećaja strukture i funkcije stanica. Kako bi se takva oštećenja spriječila, u proces se uvode krioprotektanti. To su kemijske tvari niske molekularne mase s visokom topljivosti u vodi koji štite stanice od oštećenja tijekom procesa zamrzavanja. Stabiliziraju intracelularnu proteinsku strukturu, snižavaju točku ledišta, štite staničnu membranu tijekom zamrzavanja. Kako bi se izbjegla unutarstanična i izvanstanična kristalizacija koristimo metodu vitrifikacije kojom se citoplazma stanice prevodi u «želatinozno» stanje, za razliku od sporog zamrzavanja koje je starija metoda [3]. Tako smrznuti zametci čuvaju se do pet godina na teret Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje ili, u iznimnim slučajevima i uz pisani zahtjev para i samofinanciranje, dodatnih pet godina (Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji, 2012.). Kada pacijentice dođu do faze liječenja u kojoj se koriste kriopohranjeni zametci (FET – eng.

frozen embryo transfer), ponovno započinje postupak praćenja ciklusa i ukoliko je potrebno hormonska priprema endometrija. Prijenos odmrznutog (zagrijanog) zametka u maternicu može se učiniti u prirodnom ciklusu ili ciklusu kontroliranom induktorima ovulacije. U tom postupku nužno je predviđanje ovulacije transvaginalnom sonografijom, mjerenje debljine i kvalitete endometrija do faze receptivnosti te hormonska analiza (LH, E2). Prijenos zametka se obavlja nakon potvrđene ovulacije u skladu sa stadijem razvoja u kojemu je zametak zamrznut. Najčešće je to petog dana od ovulacije (prijenos zametka u stadiju blastociste), no može biti i drugog ili trećeg dana (6-8 stanični zametak). Prema novijim preporukama prenosi se samo jedan zametak, a u suglasnosti s parom može se prenijeti do dva zametka. U iznimnim situacijama, kao što su žene starije do 38 godina s nepovoljnim testovima pričuve jajnika, ponavljanim neuspjehom liječenja, onkološkim bolesnicima i težim oblicima muške neplodnosti, dopušten je istovremeno unos tri zametka u maternicu [1].

1.2. Indikacije za krioprezervaciju embrija

Indikacije za krioprezervaciju embrija mogu se podijeliti na medicinske (ne-elektivne) i elektivne odnosno na odluku pacijenta [6]. Najčešća medicinska indikacija za odgađanje inicijalnog ET je povećani rizik od nastanka sindroma hiperstimulacije jajnika (OHSS – eng. ovarian hyperstimulation syndrome) [7]. Sindrom hiperstimulacije jajnika je jatrogena komplikacija indukcije ovulacije koja može biti potencijalno smrtonosna za pacijenticu ukoliko se razvije teški oblik poremećaja. Patofiziološki mehanizam, koji nije potpuno razjašnjen, dovodi do povećane vaskularne propusnosti i prelaska tekućine iz cirkulacije u tjelesne prostore i izvanstanični prostor što ima za posljedicu edem jajnika, ascites, hipotenziju, hemokoncentraciju, poremećaj elektrolita, hidrotoraks, tromboembolijske incidente te poremećaj funkcije jetre i bubrega. Čimbenici rizika za nastanak OHSS-a su

mlađa dob pacijentice (<35 godina), astenična građa, visoke serumske koncentracije E2, hipotireoidizam, hiperprolaktinemija, neplodnost povezana s oligomenorejom i anovulacijama, sindrom policističnih jajnika i omjer LH/FSH veći od 2. Učestalost pojave OHSS-a je do 10 % stimuliranih ciklusa te ukoliko se pojave naznake za njegov nastanak, ciklus liječenja treba prekinuti, a embrije zamrznuti i nastaviti s FET-om kad to bude prikladno u nekom od narednih ciklusa. Sljedeća medicinska indikacija za kriopohranu zametaka je povišena serumska koncentracija progesterona u kasnoj folikularnoj fazi [8]. Istraživanja su pokazala da serumske vrijednosti progesterona veće od 1.5 ng/mL imaju negativan utjecaj na ishod liječenja, odnosno smanjuju stopu živorođene djece. Iako razlozi još nisu potpuno objašnjeni, povišene se vrijednosti progesterona povezuju s promijenjenom ekspresijom gena i smanjenom receptivnošću endometrija.

Očuvanje plodnosti kod svih pacijenata reproduktivske dobi oboljelih od malignih bolesti još je jedna iznimno važna medicinska indikacija za zamrzavanje embrija. U usporedbi s ostalim metodama očuvanja plodnosti krioprezervacija embrija za žene i zamrzavanje sjemena za muškarce dvije su najučinkovitije metode [9]. Mogući problem u primjeni te metode jest odgoda početka liječenja zloćudne bolesti za minimalno dva tjedna koliko traje stimulacija jajnika da bi se dobio što veći broj oocita za oplodnju, a time u veći broj zametaka, no istraživanja su pokazala da u praksi proces očuvanja fertiliteti rijetko interferira s odgađanjem liječenja maligne bolesti[5,10].

Primjeri elektivnih indikacija za kriopohranu zametaka su preimplantacijsko genetsko testiranje (PGS – eng. preimplantation genetic screening) i zamrzavanje viška zametaka nastalih u ciklusu IVF-a. S obzirom na mogućnost zamrzavanja zametaka kako bi se povećala vjerojatnost začeća moguće je na zamrznutim zametcima učiniti PGS metodama polimerazne lančane reakcije (PCR – eng. polymerase chain reaction), komparativne genomske

hibridizacije (aCGH – eng. array comparative genomic hybridization) ili sekvenciranjem novih generacija (NGS – eng. next generation sequencing), kako bismo utvrdili abnormalnosti kromosoma i eventualne aneuploidije. Na taj se način mogu izdvojiti euploidni zametci koje ćemo koristiti za liječenje neplodnosti, ali i automatski eliminirati zametke koji se ne mogu razviti u zdravi fetus i trudnoću [11]. Zamrzavanje viška zametaka dobivenih u IVF ciklusu pogodno je i za smanjenje rizika višepodne trudnoće i ponavljanih induciranih ciklusa te pridonosi kumulativno povećanju ukupne učinkovitosti liječenja [12].

Socijalne indikacije poput zamrzavanja zametaka radi svojevoljnog odgađanja začeca su zakonski, moralno, etički i religijski upitne. U Republici Hrvatskoj parovi sa socijalnim indikacijama za kriopohranu gameta i zametaka samofinanciraju cikluse liječenja, koji nisu podržani zdravstvenim osiguranjem.

1.3. Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji

U srpnju 2012. godine donesen je posljednji Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji u kojem je nakon četverogodišnjeg perioda zabrane legalizirano i zakonom regulirano zamrzavanje zametaka. Prethodni Zakon, koji je stupio na snagu 2009., dozvoljavao je krioprezervaciju sjemena i jajnih stanica, ali je zamrzavanje zametaka bilo zabranjeno. Ta je odluka ograničila učinkovitost ishoda liječenja IVF-om jer je bilo dozvoljeno oploditi samo tri jajne stanice dobivene u jednom svježem postupku koje su nakon razvoja embrija 3. -5. dan po oplodnji, prenesene u maternicu [13]. Višak stanica dobivenih stimulacijom se pohranjivao što je uzrokovalo cjelokupno manju učinkovitost liječenja kako zbog istovremenog prijenosa više zametka u maternicu tako i zbog nastavka liječenja zamrznutim oocitama. Istraživanja ukazuju na prednost FET-a prema embriotransferu u svježem ciklusu što se teorijski obrazlaže procesima pri odmrzavanju u kontroliranim uvjetima, kada su zametci izloženi staničnom

stresu koji zatim aktivira endogene mehanizme za preživljavanje, mehanizme popravka mitohondrijskih oštećenja i pogrešno preslaganih proteina [3]. U usporedbi s očuvanjem plodnosti zamrzavanjem oocita i ovarijskog tkiva, FET ima veću uspješnost, veći udio klinički potvrđenih trudnoća i veći postotak živorođene djece nakon postupaka [5]. Zamrznute oocite imaju manji postotak vitalnosti nakon otapanja u usporedbi sa zamrznutim embrijima što bi značilo veći rizik izlaganja ponovnim postupcima stimulacije jajnika i aspiracije jajnih stanica koji sa sobom nose veći rizik komplikacija [21]. Rad iz 2012. godine koji uspoređuje rezultate liječenja neplodnosti prije i poslije donošenja zakona 2009. godine ukazuju na značajan pad udjela krioprezervacije u IVF ciklusima, pad stope začeca u krioprezerviranim IVF ciklusima, pad udjela začeca po učinjenim embriotransferima te porast udjela višeplođnih trudnoća i spontanih pobačaja [14].

Većina europskih zemalja većina ima jasno regulirane zakone o medicinski pomognutoj oplodnji osim Albanije, Bosne i Hercegovine, Irske, Rumunjske i Ukrajine. Među europskim državama s jasno reguliranim zakonima o medicinski pomognutoj oplodnji (Austrija, Belgija, Danska, Skandinavske zemlje...) najviše je zakonskih razlika u odnosu na dob, bračni status i seksualnu orijentaciju, donaciju spolnih stanica i zametaka te indikacija za očuvanje plodnosti i načinima financiranja. Zamrzavanje zametaka dozvoljeno je u većini europskih zemalja. Iznimku čine Poljska u kojoj je restrikcija posljedica političkog veta, i Njemačka u kojoj je u jednom IVF ciklusu dozvoljeno oploditi maksimalno tri oocite koje će biti prenesene u maternicu u istom ciklusu, bez mogućnosti zamrzavanja ili uništavanja zametaka neovisno o njihovoj kvaliteti [15]. Iznimke su moguće u hitnim stanjima poput komplikacija IVF-a s oplođenim jajnim stanicama u stadiju dva pronuklusa, kada je iznimno moguća kriopohrana [18]. Italija je 2004. uvela zabranu zamrzavanja zametaka, no novi zakon iz 2011. ponovno to dozvoljava [16]. Slično našem Zakonu ni jedna država ne dozvoljava prijenos istovremeno

više od tri zametka u maternicu. To je u skladu s rezultatima raznih istraživanja (K. Peeraer i suradnici objavljenoj 2014. godine) koja su pokazala da ograničenje broja prenesenih zametaka u kombinaciji sa šest ponavljanih ciklusa prijenosa zametaka ne smanjuje znatno postotak živorođene djece nakon postupaka IVF-a, a značajno smanjuje postotak komplikacija višeplođnih trudnoća i troškova koje one nose [17]. Razlike u zakonskoj regulativi programa liječenja uz donaciju jajnih stanica očite su u Njemačkoj, Norveškoj, Švicarskoj i Turskoj gdje su izričito zabranjene. U Republici Hrvatskoj zakonom je dozvoljeno i regulirano darivanje spolnih stanica u svrhu provođenja postupka heterologne medicinski pomognute oplodnje i darivanje zametaka parovima koji se liječe zbog neplodnosti. Nekomercijalno surogat majčinstvo, također je zabranjeno u brojnim državama osim Nizozemskoj, Danskoj, Portugalu, Češkoj, Irskoj i Ujedinjenom Kraljevstvu, dok je komercijalno surogat majčinstvo legalno u Ukrajini, Rusiji i Bjelorusiji [19,20]. U Hrvatskoj su svi oblici zamjenskog majčinstva zabranjeni. Preimplantacijska genetska dijagnostika je dozvoljena u većine država, uključujući RH, osim u Litvaniji i Poljskoj gdje je politički kontroverzna, dok je preimplantacijski genetski skrining zabranjen u više država (Njemačka, Francuska, Norveška).

2. SVRHA RADA

Svrha ovog rada je istraživanje učinkovitosti liječenja FET-om kao metodom liječenja neplodnosti u prvim godinama nakon uvođenja metode. Dobiveni rezultati se mogu usporediti sa sličnim liječenjem nakon zamrzavanja oocita i poslužiti će praćenju daljnjeg razvitka postojećih metoda ili novih eksperimentalnih metoda.

Hipoteze istraživanja su:

- Ishod liječenja nakon FET-a ovisi o danu ovulacije, odnosno danu prijenosa zametka u ciklusu
- Ishod liječenja se razlikuje u prirodnom i mediciranom ciklusu.

3. ISPITANICE I POSTUPCI

Retrospektivno je analizirana medicinska dokumentacija pacijentica liječenih medicinski pomognutom oplodnjom (MPO) nakon kriopohrane zametaka tijekom dvije kalendarske godine (2013. i 2014.) na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i porodništvo Kliničkoga bolničkog centra u Rijeci. U dvogodišnjem razdoblju liječeno je 114 pacijentica u kojih je započeto ultrazvučno praćenje 163 ciklusa s planiranim prijenosom zamrznutih zametaka. Neke od njih su ponavljale ciklus liječenja tijekom navedenog razdoblja. Podatci su prikupljeni pretraživanjem medicinske dokumentacije iz baze medicinskih podataka Zavoda za humanu reprodukciju i bolničkog informatičkog sustava - IBIS. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBC Rijeka. Cilj istraživanja je bio utvrditi učinkovitost liječenja u prvim godinama nakon uvođenja metode zamrzavanja zametaka i prijenosa zamrznutih zametaka.

Analizirani su sljedeći podatci:

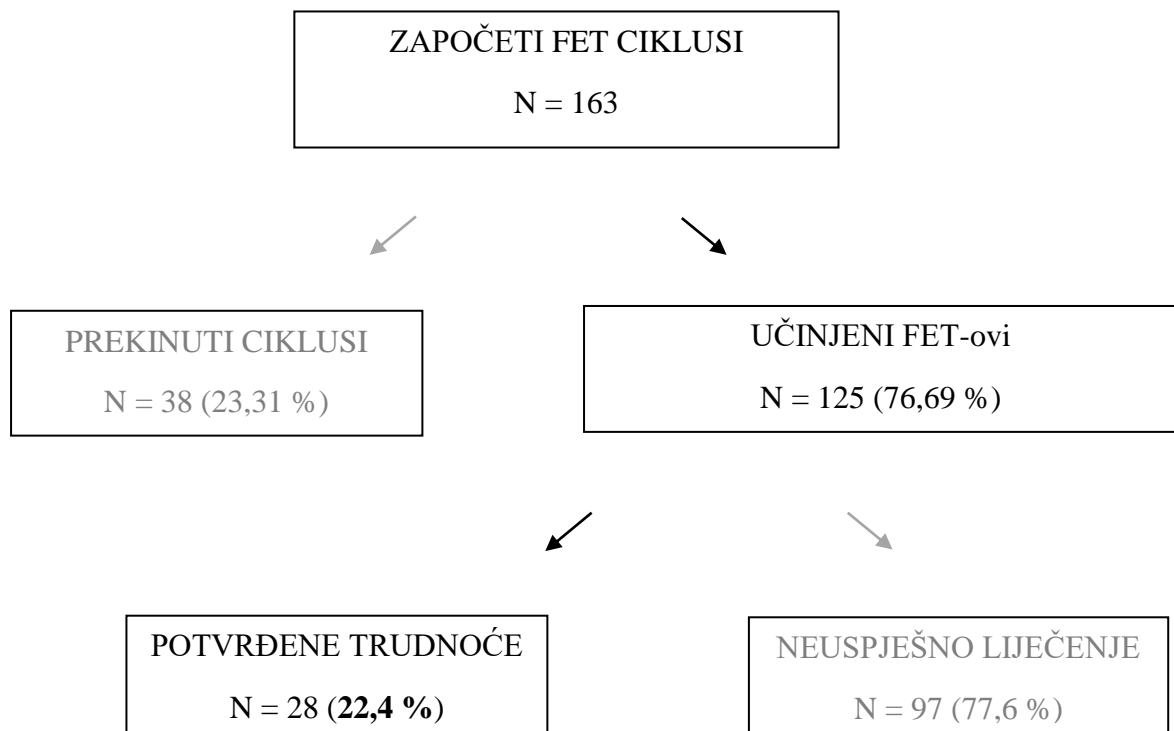
1. Životna dob pacijentica
2. Kalendarska godina u kojoj je liječenje provedeno
3. Broj započelih postupaka liječenja prijenosom odmrznutih zametaka
4. Broj učinjenih prijenosa odmrznutih zametaka
5. Broj i razlog izostanka prijenosa zametaka
6. Dan mjesečnog ciklusa u kojem je nastupila ovulacija pacijentica
7. Dan mjesečnog ciklusa kada je učinjen prijenos odmrznutog zametka
8. Lijekovi koje su pacijentice primale tijekom liječenja
9. Broj klinički potvrđenih trudnoća.

Istraživanje je obuhvatilo analizu ukupno 163 započeta i praćena ciklusa MPO-a, a usporedba podataka bazira se na ukupno 125 prijenosa odmrznutih zametaka, na osnovi kojih je učinjena statistička analiza.

4. REZULTATI

4.1. Opći rezultati

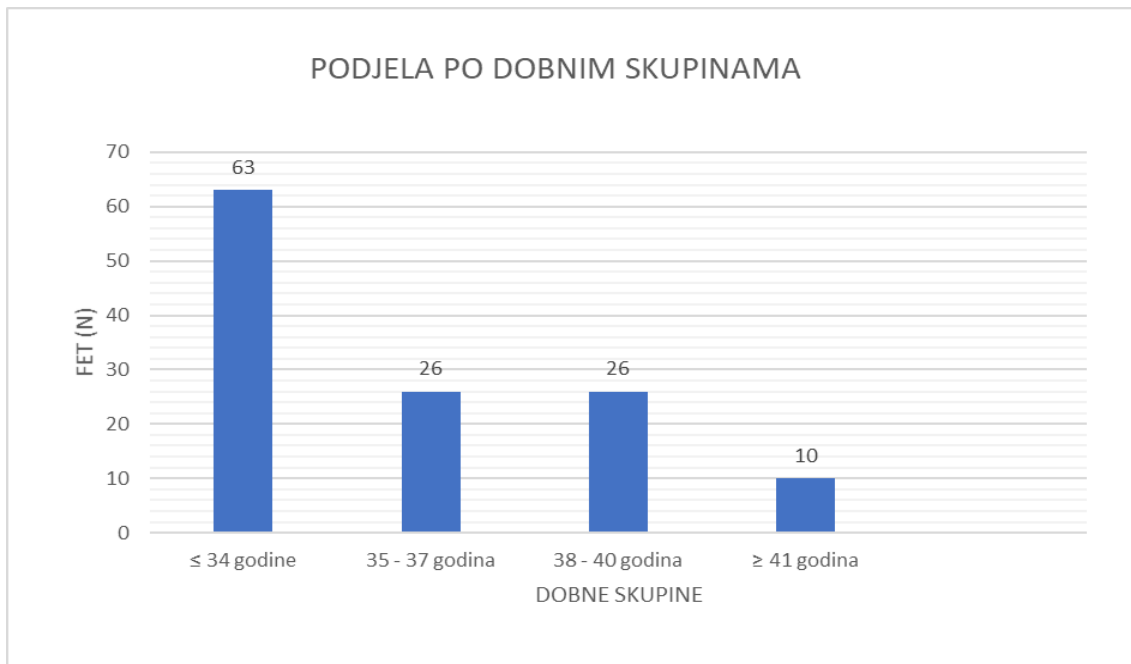
Od ukupnog broja analiziranih ciklusa liječenja (N = 163) iz daljnje analize je isključeno 38 ciklusa, zbog izostanka ovulacije, embrija koji su izgubljeni tijekom postupka zagrijavanja (otapanja) ili osobnih razloga pacijentica. Analizirani ciklusi liječenja su prikazani na slici 1.



Slika 1. Ishod ukupnih ciklusa liječenja

4.2. Dob ispitanica

Dobna struktura ispitanica koje su liječene FET-om prikazana je u Slici 2. Srednja životna dob ispitanica iznosila je $34,51 \pm 4,04$ godina. Najzastupljenija je bila dobna skupina ispitanica mlađih od 34 godine (50,4 %). Najmanji udio čine pacijentice starije od 40 godina (8 %), slika 2.



Slika 2. Podjela ispitanica (FET-ova) po dobnim skupinama.

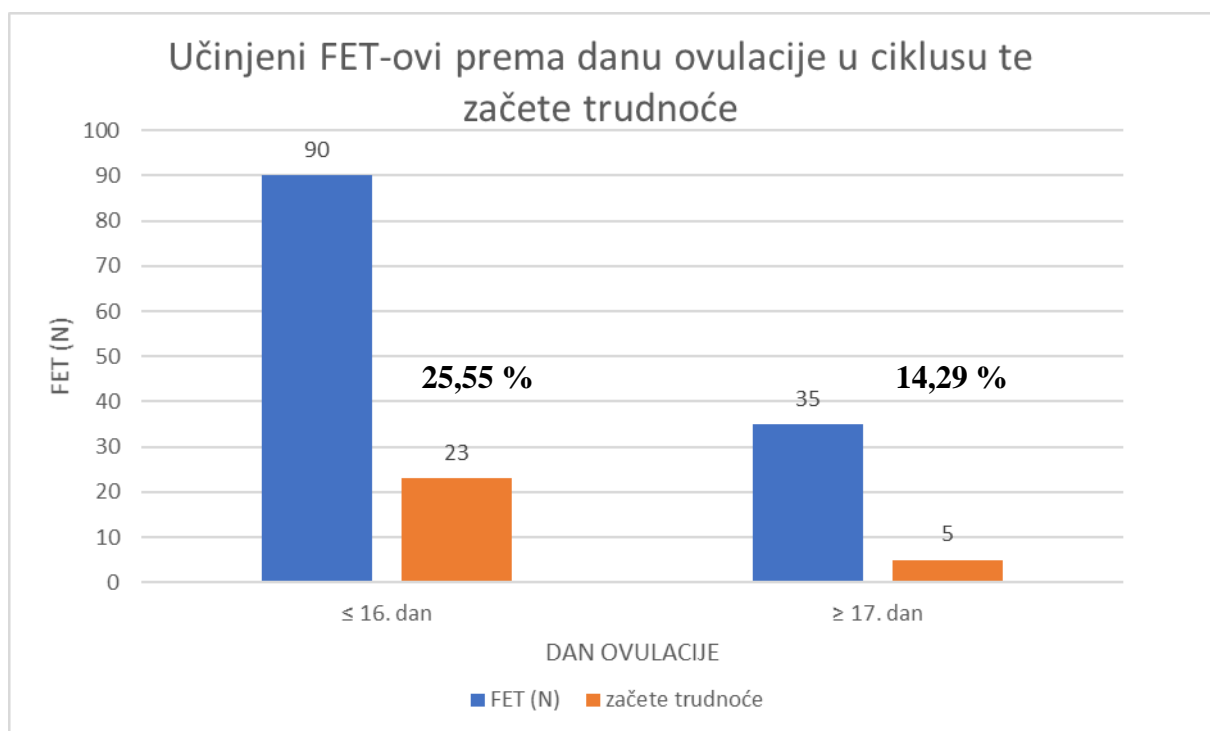
Najveći broj pacijentica je liječeno u mlađoj reprodukcijskoj dobi, 34 godine ili manje, ali polovica pacijentica je liječena u starijoj reprodukcijskoj dobi, kada je općenito fertilitnost manja.

4.3. Ishod nakon prijenosa zamrznutog zametka prema danu ovulacije

Na temelju utvrđenog dana ovulacije vaginalnim ultrazvukom ciklusi liječenja su podijeljeni u dvije skupine :

- ciklusi u kojima je ovulacija nastupila 16. dana ili ranije (N = 90, 72 %)
- ciklusi u kojima je ovulacija nastupila 17. dana ili kasnije (N = 35, 28 %)

Analizirani su samo ciklusi u kojima je učinjen FET (N = 125). Za svaku skupinu prikazan je ukupni broj učinjenih FET-ova i broj začelih trudnoća (slika 3.). Udio začelih trudnoća je bio veći u ciklusima s danom ovulacije do 16. dana mjesečnog ciklusa ($23/90 = 25,56\%$). U više od dvije trećine ciklusa ovulacija je ultrazvučno potvrđena do 16. dana ciklusa. U skupini ciklusa s kasnijom ovulacijom zabilježeno je manje začela ($5/35 = 14,29\%$). Trudnoće su potvrđene određivanjem serumske koncentracije beta hCG tri tjedna nakon učinjenog FET-a, te je zatim i ultrazvučno potvrđena uredna intrauterina trudnoća s vitalnim embrijem. Slika 3. prikazuje raspodjelu ciklusa prema danu ovulacije i broju začelih trudnoća.



Slika 3. Učinjeni FET-ovi prema danu ovulacije u ciklusu i začete trudnoće

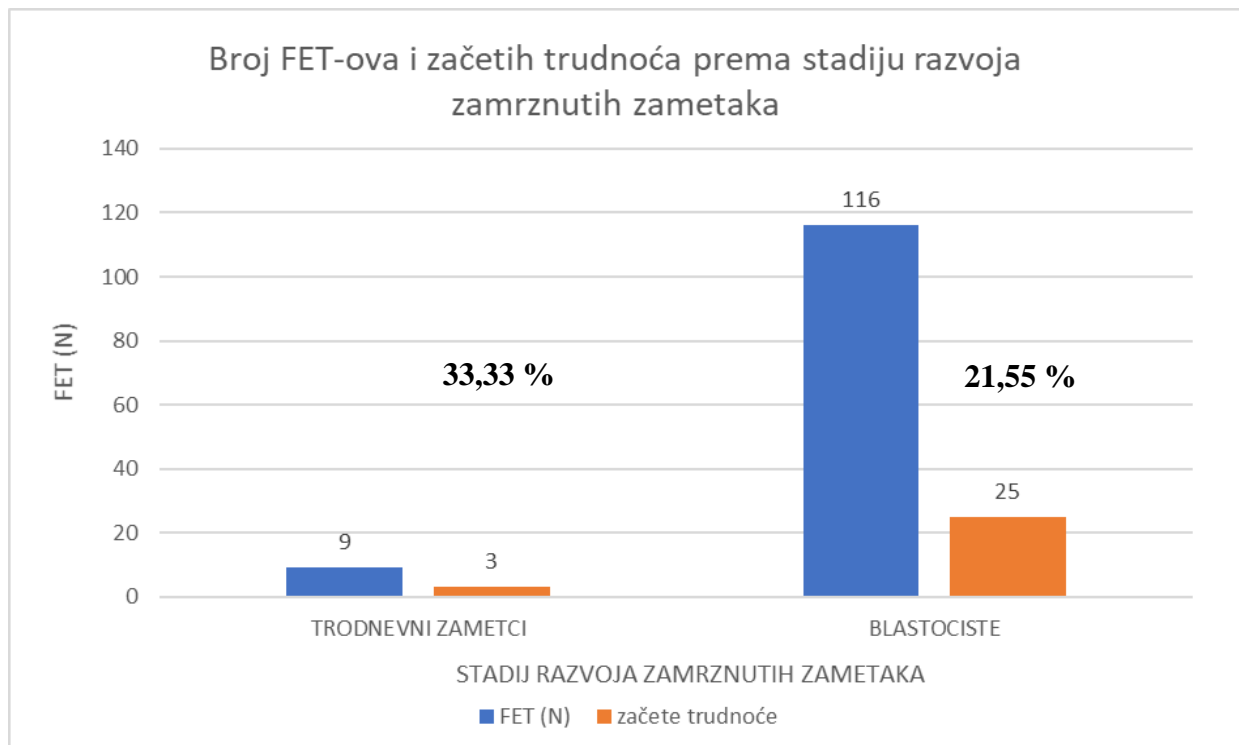
Veća je učinkovitost liječenja kod ciklusa u kojima je ovulacija nastupila 16. dana ili ranije. Produženi ciklusi s kasnijom ovulacijom imaju manju vjerojatnost začeća.

4.4. Ishod FET-a prema embrionalnom stadiju

Prema stadiju razvoja u kojem su zametci bili zamrznuti i pohranjeni, ciklusi s prijenosom zametaka nakon zagrijavanja podijeljeni su u dvije skupine:

- FET u stadiju trodnevnih zametaka (N = 9, 7,2 %)
- FET u stadiju blastocista (N = 116, 92,8 %)

Slika 4. prikazuje broj FET-ova i začelih trudnoća u svakoj skupini. Udio začeća nakon FET-a trodnevnog zametka bio je 33,3 % (3/9). Nakon FET-ova s prijenosom blastociste začeto je 21,55 % trudnoća (25/116).



Slika 4. Broj FET-ova i začelih trudnoća prema stadiju razvoja zamrznutih zametaka

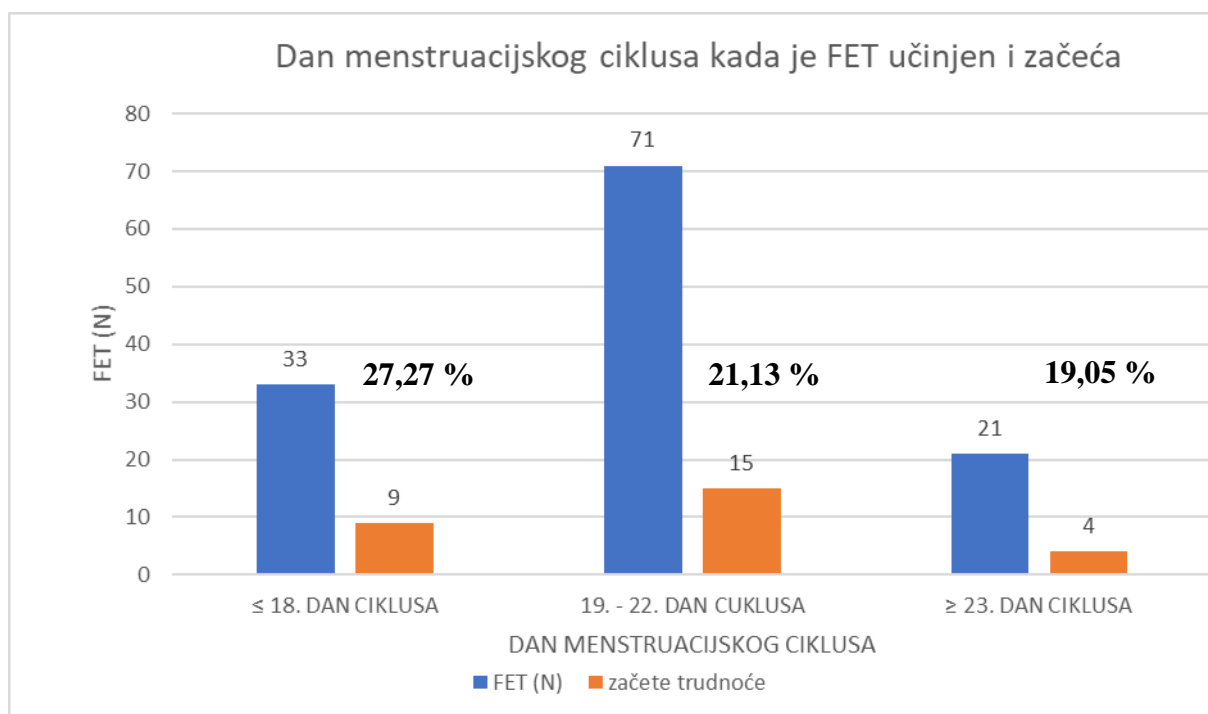
Učinkovitost liječenja trodnevnim zamrznutim zametcima je veća u odnosu na liječenje zamrznutim blastocistama. Rezultate treba tumačiti s oprezom zbog malog uzorka trodnevnih zametaka budući da se naši rezultati razlikuju od objavljenih u drugim studijama.

4.5. Ishod FET-a prema danu menstruacijskog ciklusa kada je učinjen prijenos

Prijenosi zamrznutih zametaka učinjeni su u vremenu od 14. do 32. dana menstruacijskog ciklusa u razvojnem stadiju zametaka 3. ili 5. dana od oplodnje, što je uvjetovalo raznolikost u ukupnoj dužini ciklusa od prvog dana mjesečnice do dana prijenosa. Prema danu mjesečnog ciklusa kada je učinjen FET, ciklusi su podijeljeni u 3 skupine:

- FET učinjen 18. dan menstruacijskog ciklusa ili ranije (N = 33, 26,4 %)
- FET učinjen od 19. do 22. dana menstruacijskog ciklusa (N = 71, 56,8 %)
- FET učinjen 23. dan menstruacijskog ciklusa ili kasnije (N = 21, 16,8 %)

Na slici 5. je prikazan broj učinjenih FET-ova i začelih trudnoća prema definiranim skupinama. Najbolji ishod liječenja nakon FET-a zabilježili smo uz raniji prijenos zamrznutog zametka (27,3%). U skupini FET-ova koji su učinjeni od 19. do 22. dana menstruacijskog ciklusa (teorijski implantacijski prozor) začeto je 21 % trudnoća. Najmanji udio trudnoća začet je kod FET-ova učinjenih 23. dana menstruacijskog ciklusa ili kasnije (19,05 %). Slika 5.



Slika 5. Dan menstruacijskog ciklusa kada je FET učinjen i začeća

Najveći udio začeća zabilježena je u ciklusima s prienosom zametaka do 18.d.c. bez obzira na teorijski implantacijski prozor koji se procjenjuje u vremenu od 20-22.d.c. Slična učinkovitost liječenja moguće je povezana s činjenicom da u ukupnom uzorku nismo izdvajali medicrane od prirodnih ciklusa.

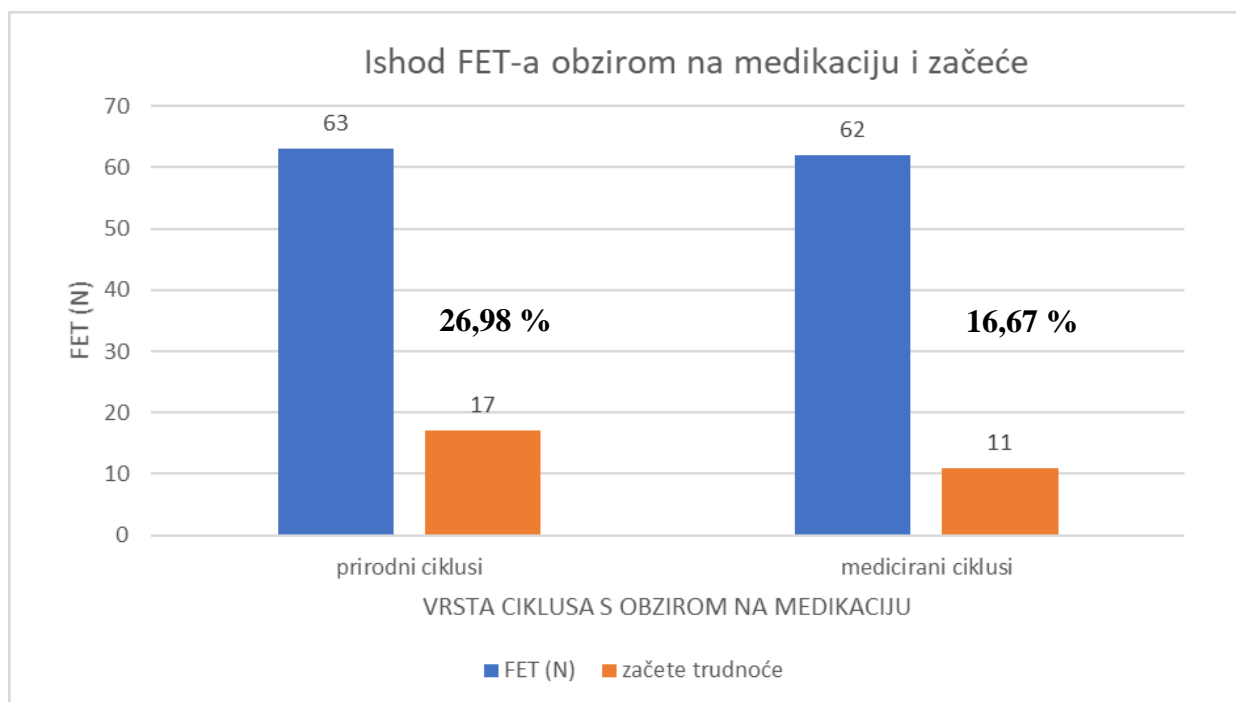
4.6. Ishod FET-a i medikacija u ciklusu

Ciklusi liječenja zamrznutim zametcima analizirani su i u odnosu na medikaciju koju su ispitanice primale tijekom ultrazvučnog praćenja ciklusa. Ciklusi su podijeljeni u dvije skupne:

- FET u prirodnom ciklusu sa spontanom ovulacijom i bez medikacije (N = 63, 50,4 %)
- FET u mediciranom ciklusu (N = 62, 49,6 %)

U mediciranim ciklusima pacijentice su primale tijekom ultrazvučnog praćenja i nakon FET-a sljedeće lijekove: acetil salicilnu kiselinu (Andol, Aspirin), vitamine (B6, B12, folna kiselina),

lijekove za liječenje dugih endokrinoloških poremećaja (Euthyrox, Bromergon), estrogen (Estrofem), progesteron (Crninon, Utrogestan), induktore ovulacije (Clomifen citrat, Brevactid). Nakon FET-a u prirodnom ciklusu začeto je 26,98 % trudnoća, dok je u mediciranim ciklusima začeto 17,74 % trudnoća (slika 6).



Slika 6. Ishod FET-a s obzirom na medikaciju i začeća

Veća je učinkovitost liječenja u prirodnim ciklusima naspram mediciranih.

4.7. Usporedba učinkovitosti liječenja FET-om u dvije kalendarske godine

Ukupna učinkovitost liječenja FET-om u ovom istraživanju bila je u promatranom razdoblju 22,4%. Učinkovitost liječenja smo usporedili na osnovi udjela začelih trudnoća u odnosu na broj učinjenih FET-ova tijekom dvije kalendarske godine. U 2013. godini začeto je 19,64% trudnoća, a u 2014. godini 24,64 % (tablica 1).

Tablica 1. Učinkovitost liječenja u dvije kalendarske godine

Kalendarska godina	Broj FET-ova (N)	Broj potvrđenih trudnoća (N)	%
2013.	56	11	19,64
2014.	69	17	24,64
Ukupno	125	28	22,4

Uspješnost liječenja kriopohranom zametaka veća je u 2014. godini u odnosu na 2013. godinu.

4.8. Učinkovitost liječenja FET-om prema dobnim skupinama

Tablica 2. prikazuje učinkovitost FET-ova prema dobnim skupinama pacijentica. Udio začeca je najveći u skupine pacijentica u dobi od 35 – 37 godina (8/26). S porastom životne dobi smanjuje se učinkovitost FET-a.

Tablica 2. Udio začetih trudnoća prema dobnim skupinama pacijentica liječenim FET-om

Dobne skupina	≤ 34 godine N= 63	35 – 37 godina N= 26	38 – 40 godina N= 26	≥ 41 godina N= 10
Broj začetih trudnoća (N)	14	8	5	1
%	22,22	30,77	19,23	10

Najveća učinkovitost FET-a je bila u pacijentica starosne dobi 35 – 37 godina. S porastom dobi učinkovitost liječenja se smanjuje.

5. RASPRAVA

Istraživanjem smo pokazali da se polovica pacijentica liječilo u reprodukcijski nepovoljnoj dobi, odnosno starije su od 35 godina kada su fertilitet i fekundabilitet znatno niži. Također pedeset posto ciklusa liječenja bilo je medicirano. Udio začeca je veći nakon prijenosa zametka prije 19. dana ciklusa. Uspješnost liječenja nije jasno povezana s dobi pacijentica.

Kriopohrana zametaka uvelike je smanjila incidenciju višeplođnih trudnoća i njenih komplikacija, prijevremenog poroda te rađanje djece male tjelesne mase za gestacijsku dob u usporedbi s prijenosom zametka u svježem ciklusu. Iako postoje dokazi da FET-ovi nose veći rizik za makrosomiju i veću tjelesnu masu za gestacijsku dob te za hipertenzivne poremećaje u trudnoći, istraživanje provedeno u Danskoj u kojem su analizirani rezultati liječenja u prirodnom ciklusu i mediciranim ciklusima (artificijelnim) govori u prilog liječenja FET-om u prirodnom ciklusu. U prirodne cikluse bili su uključeni oni sa spontanom ovulacijom i modificirani prirodni ciklusi gdje je ovulacija potaknuta injekcijom hCG. Ciklusi sa hormonskom pripremom endometrija (estradiolom i progesteronom) kod kojih ne dolazi do stvaranja žutoga tijela povezani su s većim rizikom od carskog reza, ranog prijevremenog poroda, induciranog poroda, poslijeporođajnog krvarenja, hiperzivnih poremećaja povezanih s trudnoćom uključujući preeklampsiju i rađanja djece porođajne mase veće od 4500 g [23]. Istraživanja koja uspoređuju učinkovitost FET-ova u prirodnim ciklusima s hormonski pripremljenim ciklusima pokazuju veći udio implantacije, klinički potvrđenih trudnoća, trudnoća u tijeku nakon 12. tjedana i živorođene djece po embriotransferu te manji udio spontanih pobačaja u prirodnim ciklusima s ili bez hCG injekcije [22,24]. U skladu s time je i naše istraživanje, u kojem smo dokazali veću učinkovitost FET-a u ciklusu sa spontanom ovulacijom i bez medikacije u usporedbi sa mediciranim ciklusima (26,98 % vs. 17,74 %). Iako se naši rezultati podudaraju s tezom prethodnih istraživanja postoji nesklad među

rezultatima i razmišljanjima na ovu temu jer neka istraživanja pokazuju da su razlike učinkovitosti prirodnih ciklusa i artifičnih zanemarive [25], dok neka čak idu u prilog boljih rezultata u hormonski pripremljenih ciklusa [26].

Ishodi liječenja FET-om u odnosu na dan ciklusa kada je prijenos učinjen pokazuju veći postotak začeca u skupini prijenosa zametka 18. dana ili ranije što se ne poklapa s teorijskim implantacijskim prozorom koji postoji od 20-22. dana ciklusa. Takvi rezultati moguće su povezani s činjenicom da u ukupnom uzorku nismo analizirali odvojeno medicirane od prirodnih ciklusa, a dokazano je da je u klasično stimuliranim IVF ciklusima receptivnost endometrija najveća 1-2 dana ranije nego u prirodnim ciklusima što je posljedica ranije i bržeg sazrijevanja endometrija u stimuliranim ciklusima [27].

Trajanje folikularne faze ciklusa, slično kao i vrijeme prijenosa zamrznutog zametka u ciklusu utječe na rezultate liječenja. U našem istraživanju dokazali smo veći postotak začeca u pacijentica koje su ovulirale 16. dana ciklusa ili ranije u odnosu na skupinu s dužom folikularnom fazom (25,56 % vs. 14,29 %). Suprotno našim rezultatima druga istraživanja pokazuju da dužina trajanja folikularne faze nema značajnog utjecaja u postotku začetih kliničkih trudnoća te da zbog produljenog ciklusa ne treba prekidati postupak FET-a [29].

Dob pacijentica općenito je najmoćniji čimbenik uspjeha spontane reprodukcije, pa tako i medicinski pomognute, uključujući i ishod FET-ova. U pacijentica koje su reprodukcijski starije postotak živorođene djece naglo pada dok rizik za spontani pobačaj raste nakon 35. godine [30]. U našem istraživanju najveća učinkovitost FET-ova bila je u dobnoj skupini 35 – 37 godina (30,77 %), a manji udio začetih trudnoća je začet u ispitanica mlađe reprodukcijske dobi, što se razlikuje od rezultata objavljenih u ostalim istraživanjima (Wang Z. i suradnici objavljeno 2022. godine). Razlog tomu može biti manji uzorak ispitanica unutar dobne skupine od 35-37 godina prema ispitanicama mlađe reprodukcijske dobi kojih je dvostruko

više, udio mediciranih ciklusa u dobnim skupinama, ili tip odnosno težina čimbenika neplodnosti koji se liječi FET-om.

Iskustvo i uvježbanost u metodama medicinske oplodnje općenito je presudno za uspjeh liječenja. Tijekom dvije analizirane kalendarske godine rezultati liječenja ukazuju na porast učinkovitosti u našem centru (19,64 % vs. 24,64 %). Budući da je posljednji Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji donesen 2012. godine, naši rezultati zapravo daju uvid u uspješnost liječenja zamrznutim zametcima u prvoj godini. Uspoređujući se sa državama koje imaju dugotrajniju praksu i više iskustva s metodom zamrzavanja zametaka naši rezultati svakako se mogu usporediti s australskim po postotku uspješnosti liječenja. Australske studije pokazale su da je od 2002. do 2013. postotak živorođene djece u FET postupcima narastao s 14,6 % na 23,3 % što je slično našim rezultatima iako je tada u našem centru ta metoda bila tek u začetima [30]. Porast postotka začetih trudnoća kroz godine možemo pripisati stjecanju praktičnog iskustva i izučavanju metoda krioprezervacije embrija.

Metoda krioprezervacije zametaka, osim svojih prednosti u liječenju medicinski pomognutom oplodnjom i prezervaciji fertiliteta, ima i nedostatke na koje moramo obratiti pažnju prilikom odabira načina liječenja. Objektivno informiranje pacijenata presudno je u uspostavi odnosa liječnik – pacijent, kao i u postizanju konačnog cilja, a to je rađanje zdravog djeteta. Kontekst moralne zajednice, religije ili etike značajno utječu na odabire pacijenata koji se liječe postupcima medicinski pomognute oplodnje. Parovima koji pristupaju liječenju jasno treba objasniti medicinski postupak i poštivati njihovu odluku s obzorom na religijska ili druga stajališta. Zamrzavanje zametaka u pacijentica koje se na to odluče zbog očuvanja plodnosti prije liječenja malignih oboljenja može predstavljati problem u budućnosti zbog raskida zajednice s tadašnjim partnerom, od čijeg je biološkog materijala zametak stvoren,

zbog smrti jednog od partnera ili drugih osobnih razloga. U pacijentica pretpubertetske dobi koje još nisu imale menarhu, zamrzavanje zametaka kao opcija očuvanja plodnosti nije moguća, stoga bi kod takvih pacijentica trebalo razmotriti alternativne metode [5]. Katolička Crkva medicinski pomognutu oplodnju drži moralno neprihvatljivom pri čemu kao najveći problem ističe manipulaciju i uništavanje zametaka „jer se ne vodi računa o nepovredivosti njihova dostojanstva, nego su u svojim pravima podređeni željama drugih.“ [28]. U tom kontekstu kriopohrana zametaka je svakako moralni problem, kojeg pacijenti moraju osvijestiti, kao i činjenicu da ova metoda promatrajući s medicinske strane, ima vrlo značajni utjecaj na ukupnu uspješnost liječenja. Uspješnost liječenja prijenosom kriopohranjenih zametaka po ciklusu, odgovara prirodnom mjesečnom fekundabilitetu, što smo dokazali i ovim istraživanjem i kao učinkovitom metodom MPO već od samih početaka.

6. ZAKLJUČCI

1. Podjednaki udio pacijentica liječen je prijenosom zamrznutog zametka u mlađoj i starijoj reproduktivnoj dobi. Najveća učinkovitost FET-ova je u pacijentica u dobi 35 – 37 godina. S porastom dobi učinkovitost pada.
2. Istraživanje je obuhvatilo cikluse liječenja FET-om tijekom dvije kalendarske godine (2013. i 2014.). Učinkovitost liječenja raste tijekom dvije kalendarske godine što je povezano sa stjecanjem praktičnog iskustva i izučavanjem metoda krioprezervacije embrija.
3. Ukupno je 163 započetih ciklusa liječenja koji su u istraživanju praćeni i analizirani.
4. Udio ciklusa sa vitalnim embrijima nakon zagrijavanja, koji su preneseni u maternicu je bio 76,69 %.
5. Nakon zamrzavanja embrija obustavljeno je 23,31 % početnih ciklusa zbog izostanka ovulacije, embrija koji su izgubljeni tijekom postupka zagrijavanja (otapanja) ili osobnih razloga pacijentica.
6. Učinkovitost liječenja je veća kod ciklusa u kojima je ovulacija nastupila 16. dana ili ranije.
7. Najveći udio začeća zabilježen je u ciklusima s prijenosom zametaka do 18. dana ciklusa bez obzira na teorijski implantacijski prozor koji postoji od 20-22. dana mjesečnog ciklusa.
8. Veća je učinkovitost liječenja u prirodnim ciklusima u usporedbi s hormonski pripremljenim ciklusima. U mediciranim ciklusima pacijentice su primale nesteroidne antireumatike, vitamine, lijekove za liječenje dugih endokrinoloških poremećaja, lijekove za hormonsku pripremu endometrija i induktore ovulacije.

9. Ukupna učinkovitost liječenja FET-om je bila 22,4 % tijekom prve dvije kalendarske godine od uvođenja metode. Uspješnost liječenja po ciklusu odgovara mjesečnom prirodnom fekundabilitetu.

SAŽETAK

Uvod: Krioprezervacija zametaka je metoda medicinski pomognute oplodnje koja nadopunjuje svježi postupak *in vitro* fertilizacije i embriotransfera. Zametci u suvišku, koji su nastali izvantjelesnom oplodnjom zamrzavaju se na $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ i pohranjuju u tekućem dušiku. U prikladnom trenutku liječenje se nastavlja odmrzavanjem zametka i prijenosom u maternicu u odgovarajućoj fazi mjesečnog ciklusa. Krioprezervacijom dolazi do zamrzavanja biološkog materijala i ujedno sprječavanja njegove biološke aktivnosti, u što je uključena stanična smrt.

Cilj: Utvrditi uspješnosti liječenja kriopohranjenim zametcima, u prvim godinama nakon uvođenja metode na Zavodu za humanu reprodukciju Kliničkoga bolničkog centra Rijeka.

Pacijentice i metode: Istraživanje je retrospektivna analiza baze medicinskih podataka tijekom dvije kalendarske godine (2013-2014). Analizirani su i obrađivani rezultati učinkovitosti liječenja, odnosno začelih trudnoća s obzirom na dob pacijentica, dan nastupa ovulacije, dan prijensa zametaka, stadij zamrzavanja zametaka te medikaciju koju su pacijentice primale.

Rezultati: Nakon prijensa zamrznutih zametaka veća je učinkovitost liječenja u prirodnim ciklusima, s kraćom folikularnom fazom i ukoliko je prijenos zagrijanog zametka učinjen prije 19. dana ciklusa. Učinkovitost liječenja FET-om po ciklusu iznosi 22,4 % odgovara prirodnom fekundabilitetu.

Zaključak: Vjerojatnost začeca nakon FET-a odgovara prirodnom mjesečnom fekundabilitetu. Tijekom prve dvije kalendarske godine od uvođenja metode uspješnost liječenja raste što je povezano sa stjecanjem praktičnog iskustva, izučavanjem i boljim poznavanjem metoda krioprezervacije embrija.

Ključne riječi: kriopohrana zametaka, medicinski pomognuta oplodnja, očuvanje plodnosti

7. SUMMARY

Introduction: Embryo cryopreservation is a method of medically assisted fertilization that complements the fresh process of in vitro fertilization and embryo transfer. Excess embryos, formed by in vitro fertilization, are frozen at $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ and stored in liquid nitrogen. At the appropriate time, treatment is continued by thawing the embryo and transferring it to the uterus at the appropriate stage of the menstrual cycle. Cryopreservation freezes biological material and at the same time prevents its biological activity, which includes cell death.

Aim: To determine the success of treatment with cryopreserved embryos, in the first years after the introduction of the method at the Department of Human Reproduction of the Clinical Hospital Center Rijeka.

Patients and methods: The research is a retrospective analysis of a medical database over two calendar years (2013-2014). The results of the effectiveness of treatment, that is clinical pregnancies with regard to the age of the patients, the day of ovulation, the day of embryo transfer, the stage of embryo freezing and the medication that the patients received were analyzed and processed.

Results: After the transfer of frozen embryos, the effectiveness of treatment is higher in natural cycles, with a shorter follicular phase and if the transfer of the heated embryo is done before the 19th day of the cycle. The efficacy of FET treatment per cycle is 22.4 % corresponding to natural fecundability.

Conclusion: The probability of conception after FET corresponds to natural monthly fecundability. During the first two calendar years since the introduction of the method, the success of treatment increases, which is associated with gaining practical experience, studying and better knowledge of embryo cryopreservation methods.

Key words: cryopreservation of embryos, medically assisted fertilization, preservation of fertility

8. LITERATURA

1. **Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji.** NN 86/12. Dostupno na :
<https://www.zakon.hr/z/248/Zakon-o-medicinski-pomognutoj-oplodnji>
2. Šimunić V. i suradnici. **Ginekologija**, Zagreb : Naklada Lijevak, 2001. str. 357 - 367
3. Iavor K. Vladimirov, Desislava Tacheva and Vladislav Dobrinov. **The Present and Future of Embryo Cryopreservation.** Embryology - Theory and Practice. London, United Kingdom: IntechOpen, 2018 [internet]. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na:
<https://www.intechopen.com/chapters/63808> doi: 10.5772/intechopen.80587
4. Šimunić V. **Kliničke smjernice za medicinski pomognutu oplodnju.** Medix, 2013. broj 104/105, str. 132-146. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na:
<https://hrcak.srce.hr/file/157049>
5. Bríd Ní Dhonnabhain, M.Sc., et al. **Comparison of fertility preservation outcomes in patients who froze oocytes, embryos, or ovarian tissue for medically indicated circumstances: a systematic review and meta-analysis.** Fertility and sterility. VOLUME 117, ISSUE 6, P1266-1276, JUNE 01, 2022 [ažurirano 19.04.2022., citirano 01.06.2022.], Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.03.004>
6. Bosch, Ernesto et al. **“The Future of Cryopreservation in Assisted Reproductive Technologies.”** Frontiers in endocrinology, vol. 11 67. 20.02.2020., [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00067>
7. Kasum M. **SINDROM HIPERSTIMULACIJE JAJNIKA.** Gynaecol Perinatol 2004;13(2):str. 62–68. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/23676>

8. S. Santos-Ribeiro, N.P. Polyzos, P. Haentjens, J. Smitz, M. Camus, H. Tournaye, C. Blockeel. **Live birth rates after IVF are reduced by both low and high progesterone levels on the day of human chorionic gonadotrophin administration.** *Human Reproduction*, Volume 29, Issue 8, August 2014, Pages 1698–1705, [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/humrep/deu151>
9. Ozren Mamula, Neda Smiljan Severinski, Herman Haller. **Očuvanje plodnosti, medicinski potpomognuta oplodnja i maligna bolest.** *Medicina* 2007;43: str. 295-302
10. Shapira, M et al. **“IVF for fertility preservation in breast cancer patients--efficacy and safety issues.”** *Journal of assisted reproduction and genetics* vol. 32,8 (2015): 1171-8. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0519-x>
11. Alison Coates, B.Sc., et al. **Optimal euploid embryo transfer strategy, fresh versus frozen, after preimplantation genetic screening with next generation sequencing: a randomized controlled trial.** *Fertility and Sterility*, VOLUME 107, ISSUE 3, P723-730.E3, MARCH 01, 2017 Published:January 27, 2017 [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.12.022>
12. Catrin E. Argyle, Joyce C. Harper, Melanie C. Davies, **Oocyte cryopreservation: where are we now?**, *Human Reproduction Update*, Volume 22, Issue 4, July/August 2016, Pages 440–449, [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw007>
13. **Zakon o medicinskoj oplodnji.** NN 88/09, 137/09, 124/11

14. Vjera Duić. **Kontroverzni učinci primjene Zakona o medicinskoj oplodnji iz 2009. godine na uspješnost postupaka u Hrvatskoj.** JAHR, Vol. 3, No. 5, 2012. str. 147-159. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/file/130061>
15. **Act for Protection of Embryos (The Embryo Protection Act).** Federal Law Gazette, Part I, No. 69, issued in Bonn, 19th December 1990, page 2746. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: https://www.rki.de/SharedDocs/Gesetzestexte/Embryonenschutzgesetz_englisch.pdf?__blob=publicationFile
16. **Regulation and legislation in assisted reproduction.** ESHRE fact sheets 2 January 2017. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <file:///C:/Users/Korisnik/Downloads/2%20Regulation.pdf>
17. K. Peeraer, S. Debrock, A. Laenen, P. De Loecker, C. Spiessens, D. De Neubourg, T.M. D'Hooghe, **The impact of legally restricted embryo transfer and reimbursement policy on cumulative delivery rate after treatment with assisted reproduction technology**, *Human Reproduction*, Volume 29, Issue 2, February 2014, Pages 267–275, [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/humrep/det405>
18. Busardò, F. P., Gulino, M., Napoletano, S., Zaami, S., & Frati, P. (2014). **The evolution of legislation in the field of Medically Assisted Reproduction and embryo stem cell research in European union members.** *BioMed research international*, 2014, 307160. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1155/2014/307160>

19. **Surrogacy in Europe.** 18.08.2020. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na:
<https://vittoriavita.com/surrogacy-in-european/>
20. William Houghton. **International Surrogacy Options.** [citirano 01.06.2022.]
Dostupno na: <https://www.sensiblesurrogacy.com/international-surrogacy/>
21. Ho, J. R., Woo, I., Louie, K., Salem, W., Jabara, S. I., Bendikson, K. A., Paulson, R. J., & Chung, K. (2017). **A comparison of live birth rates and perinatal outcomes between cryopreserved oocytes and cryopreserved embryos.** *Journal of assisted reproduction and genetics*, 34(10), 1359–1366. [citirano 01.06.2022.] Dostupno na:
<https://doi.org/10.1007/s10815-017-0995-2>
22. Yichun Guan, Hongfang Fan, Aaron K. Styer, Zhiying Xiao, Zhen Li, Jianrui Zhang, Lijun Sun, Xingling Wang & Zhan Zhang (2016) **A modified natural cycle results in higher live birth rate in vitrified-thawed embryo transfer for women with regular menstruation,** *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 62:5, str. 335-342,
[citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/19396368.2016.1199064>
23. Louise Laub Asserhøj, M.D, et al. **Adverse obstetric and perinatal outcomes in 1,136 singleton pregnancies conceived after programmed frozen embryo transfer (FET) compared with natural cycle FET.** *Fertility and Sterility*. Vol. 115, No. 4, April 2021 str. 947-956. [citirano 08.06.2022.] Dostupno na:
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.10.039>
24. Aslih N, Dorzia D, Atzmon Y, et al. **Ovulatory-Based FET Cycles May Achieve Higher Pregnancy Rates in the General Population and among Anovulatory Women.** *J Clin Med*. 2021;10(4):703. Published 2021 Feb 11. [citirano 08.06.2022.]
Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/jcm10040703>

25. Ghobara, Tarek et al. **“Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer.”** *The Cochrane database of systematic reviews* vol. 7,7 CD003414. 5 Jul. 2017, [citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003414.pub3>
26. Zheng Y, Li Z, Xiong M, Luo T, Dong X, Huang B, Zhang H, Ai J. **Hormonal replacement treatment improves clinical pregnancy in frozen-thawed embryos transfer cycles: a retrospective cohort study.** *Am J Transl Res.* 2013 Dec 1;6(1):85-90.
27. Markanović Mišan, M. i Smiljan Severinski, N. (2016). **Receptivnost endometrija i implantacijski prozor – tajna začeca?.** *Medicina Fluminensis : Medicina Fluminensis*, 52. (2), 190-195. [citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:960832>
28. mr. sc. Snježana Majdandžić-Gladić. **Medicinski potpomognuta oplodnja i učenje Katoličke Crkve.** Vjera i djela – portal katoličkih teologa. [Internet] [ažurirano 18.ožujka 2020., citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://www.vjeraidjela.com/medicinski-potpomognuta-oplodnja-i-ucenje-katolicke-crkve/>
29. Ying, Ying et al. **“Follicular phase length has no influence on frozen-thawed embryo transfers in natural cycles.”** *Journal of ovarian research* vol. 13,1 87. 31 Jul. 2020, [citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00690-z>
30. Sun, Y. F. et al. **Effects of age on pregnancy outcomes in patients with simple tubal factor infertility receiving frozen-thawed embryo transfer.** *Scientific reports*, 10(1), 18121. 22 Oct. 2020, [citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75124-3>

31. Chambers, G. M., Wand, H., Macaldowie, A., Chapman, M. G., Farquhar, C. M., Bowman, M., Molloy, D., & Ledger, W. (2016). **Population trends and live birth rates associated with common ART treatment strategies.** *Human reproduction (Oxford, England)*, *31*(11), 2632–2641. [citirano 08.06.2022.] Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/humrep/dew232>
32. Wang, Zilian et. Al. **Clinical outcomes after elective double-embryo transfer in frozen cycles for women of advanced maternal age.** *Medicine*: March 04, 2022 - Volume 101 - Issue 9 - p e28992, [citirano 08.06.2022.] doi: 10.1097/MD.00000000000028992

9. ŽIVOTOPIS

Dora Jurić rođena je u Zagrebu 20.08.1997. godine gdje je završila osnovnu i srednju školu. Paralelno je pohađala i Školu za klasični balet u Zagrebu. Integrirani preddiplomski i diplomski studij Medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci upisuje u akademskoj godini 2016./2017.

Tijekom studija aktivna je članica Fakultetskog odbora svih studenata Medicinskog fakulteta u Rijeci u sklopu kojeg je od 2020. – 2022. godine voditeljica projekta „Cjepko zna – najbitnije o cijepljenju“. Godine 2022. postaje zamjenica članice iz redova studenata Povjerenstva za prigovore Studentskog zbora Sveučilišta u Rijeci. Višegodišnja je demonstratorica na katedri za Fiziologiju, imunologiju i patofiziologiju te katedri za Opću patologiju i patološku anatomiju.

Aktivno je i pasivno sudjelovala na studentskim kongresima u Hrvatskoj i inozemstvu. Godine 2019. sudjeluje u ESMA Twinning razmjenu u Moldaviji i 2022. u Erasmus + Diagnostics in Gynaecology programu u Mariboru.

Tečno govori engleski jezik, a služi se i njemačkim.

ODOBRENJE ETIČKOG POVJERENSTVA

Predmet: istraživanje u svrhu izrade diplomskog rada

Liječenje medicinski potpomognutom oplodnjom nakon pohrane zametaka

Glavni istraživač: Dora Jurić

Mentor: prof.dr.sc. Neda Smiljan Severinski, dr.med.

Mjesto istraživanja: KBC Rijeka, Klinika za ginekologiju i porodništvo

Pregledani dokumenti:

- Zamolba
- Opis istraživanja
- Suglasnost predstojnika Klinike za ginekologiju i porodništvo
- Suglasnost mentorice

PROVOĐENJE ISTRAŽIVANJA: ODOBRENO
SJEDNICA ODRŽANA: 26. svibnja 2022.

NA SJEDNICI SUDJELOVALI:

izv.prof.dr.sc. Ivan Bubić, dr.med.
prof.dr.sc. Iva Sorta-Bilajac Turina, dr.med., univ.mag.med.
izv.prof.prim.dr.sc. Dean Markić, dr.med.
doc.dr.sc. Goran Poropat, dr.med.
prof.prim.dr.sc. Miranda Muhvić Urek, dr.med.dent.
Mirjana Pernar, dipl.psiholog

Klasa: 003-05/22-1/52
Ur.broj: 2170-29-02/1-22-2

Rijeka, 26. svibnja 2022.

Etičko povjerenstvo KBC-a Rijeka:
Zamjenik Predsjednice povjerenstva
izv.prof.dr.sc. Ivan Bubić, dr.med.

