

Liječenje neplodnosti vitrificiranim jajnim stanicama

Bušac, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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:184:319134>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-19**



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

Ivona Bušac

LIJEČENJE NEPLODNOSTI VITRIFICIRANIM JAJNIM STANICAMA

Diplomski rad

Rijeka, 2016. godina

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Ivona Bušac

LIJEČENJE NEPLODNOSTI VITRIFICIRANIM JAJNIM STANICAMA

Diplomski rad

Rijeka, 2016. godina

Mentor rada: prof.dr.sc. Neda Smiljan Severinski, dr.med., Izvanredni profesor

Diplomski rad ocijenjen je dana _____ u/na _____, pred povjerenstvom

u sastavu :

1. _____

2. _____

3. _____

Rad sadrži 36 stranica, 9 slika, 9 tablica, 22 literaturna navoda.

Veliku zahvalu voljela bih iskazati svojoj mentorici, prof.dr.sc. Neda Smiljan Severinski, dr.med. bez čije ideje, motivacije i pomoći ovaj diplomski rad nebi bio ostvaren. Profesorici Smiljan Severinski zahvaljujem na svesrdnoj potpori, razumijevanju i velikoj količini znanja koje mi je nesebično i u svakom trenutku bila spremna pružiti.

Zahvalila bih i svojim roditeljima, mami i tati, na svemu što su mi omogućili u životu, od prvog trenutka sve do sada. Zahvaljujući njihovoj ljubavi, potpori i usmjeravanju slijedim svoj životni put i, korak po korak, ostvarujem svoje ciljeve. Ovim putem želim zahvaliti i O.S. , svojem životnom suputniku, prijatelju i iskrenoj ljubavi na svemu što je bilo i što dolazi.

“Kada nešto zaista želiš cijeli Svemir će se urotiti da to i dobiješ.,,

Paolo Coelho, Alkemičar

SADRŽAJ RADA

1. UVOD I SVRHA RADA.....	1
2. ISPITANICE I POSTUPCI.....	8
3. REZULTATI.....	11
3.1. Raspodjela sekundarnih IVF/ET ciklusa prema životnoj dobi pacijentica.....	11
3.2. Ukupan broj postupaka i odustajanja od liječenja po kalendarskim godinama.....	13
3.3. Prijenos zametaka u sekundarnim IVF/ET ciklusima.....	14
3.4. Uzroci izostanka prijenosa zametaka u sekundarnim IVF/ET ciklusima.....	15
3.5. Uspješnost prijenosa zametaka u sekundarnim IVF/ET ciklusima kroz šestogodišnje razdoblje (krivulja-učenja).....	16
3.6. Udio prirodnih,odnosno, modificiranih prirodnih ciklusa u sekundarnom IVF/ET.....	18
3.7. Udio prirodnih, odnosno, modificiranih prirodnih ciklusa u sekundarnom IVF/ET tijekom šestogodišnjeg razdoblja.....	18
3.8. Učinkovitost liječenja u sekundarnom IVF/ET ciklusu.....	20
4. RASPRAVA.....	22
4.1. Zakonska regulativa u Republici Hrvatskoj 2009. godine.....	23
4.2. Prednosti vitrifikacije oocita sa medicinskog stajališta.....	24
4.3. Religijski stavovi o medicinski pomognutoj oplodnji.....	26
4.4. Zakonska regulativa u Republici Hrvatskoj 2012. godine	27
5. ZAKLJUČCI.....	30

6. SAŽETAK.....	31
7. SUMMARY.....	32

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

WHO : Svjetska zdravstvena organizacija od engleskog World Health Organization

BMI : Indeks tjelesne mase od engleskog Body Mass Index

MPO : medicinski pomognuta oplodnja

IUI : unošenje sjemena u maternicu od engleskog In Utero Insemination

IVF : *in vitro* oplodnja od engleskog In Vitro Fertilization

ET : prijenos zametka od engleskog Embryo Transfer

ICSI : intracitoplazmatska injekcija sjemena od engleskog Intra Cytoplasmatic Sperm Injection

FET : prijenos zamrznutog zametka od engleskog Frozen Embryo Transfer

ASRM : Američko društvo za reprodukciju medicinu od American Society for Reproductive Medicine

SART : Društvo za pomognutu reprodukciju tehnologiju od engleskog Society for Assisted Reproductive Technology

KBC : Klinički bolnički centar

OR : omjer izgleda od engleskog Odds Ratio

IC: Interval pouzdanosti od engleskog Confidence Interval

UAE : Ujedinjeni arapski emirati

1. UVOD I SVRHA RADA

Neploidnost je jedan od vodećih i rastućih problema današnjice, budući da je otprilike 48.5 milijuna parova na svijetu 2010. godine bilo neploidno¹. Neploidnost kao stanje i bolest ne predstavlja samo zdravstveni i psihološki problem, već društveni, demografski i ekonomski teret. Širinu problema neploidnosti možemo uvidjeti već iz njene definicije, budući da Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) definira neploidnost na nekoliko načina, među kojima ćemo spomenuti onu kliničku, demografsku i društvenu. Prva definicija neploidnosti je ona klinička, pri čemu je "neploidnost bolest reproduktivnog sustava određena nemogućnošću postizanja kliničke trudnoće nakon 12 ili više mjeseci nezaštićenih spolnih odnosa². Sljedeća definicija neploidnosti je ona demografska, po kojoj je neploidnost "nemogućnost začeca i trudnoće u žena reproduktivske dobi (15-49 godina) koja završava živorođenim djetetom unutar 5 godina pokušavanja u trajnoj životnoj ili bračnoj zajednici, bez korištenja kontracepcije, bez dojenja i s prisutnom željom za rađanjem djeteta². Posljednja definicija neploidnosti je ona društvena prema kojoj WHO definira neploidnost kao invaliditet, budući da invaliditet predstavlja oštećenje na osobnoj, ali i društvenoj razini: „Budući da neploidnost dovodi do invaliditeta (definirano kao pogoršanje funkcije), pristup zdravstvenoj skrbi spada pod Konvenciju o ljudskim pravima sa invaliditetom“². Razlozi neploidnosti povezani su u 40% slučajeva s bolešću u muškarca, u 50% slučajeva radi se o bolesti u žene, dok u 10% slučajeva razlog nije u potpunosti poznat ili razjašnjen. U trećine parova uzroci neploidnosti su obostrani, dok su u 40% parova uzroci neploidnosti višestruki³.

U svrhu kliničke primjene, uzroci neploidnosti mogu se podijeliti kako slijedi u Tablici 1:

Tablica

1

UZROCI NEPLODNOSTI³

1.	Neodgovarajuća proizvodnja i/ili transport sjemena u muškarca (40%)
2.	Neodgovarajuća proizvodnja jajne stanice u žene (25%)
3.	Smetnje susreta gameta (oplodnja te transport i implantacija zigote), što ovisi o stanju puta oplodnje (25%)
4.	Nerazjašnjena neplodnost

Nakon pravilno i pravodobno postavljene dijagnoze neplodnosti, potrebno je započeti sa liječenjem čiji je cilj začeće i rađanje zdravog djeteta. Ovisno o etiologiji poremećaja koji je rezultirao neplodnošću para, terapijske mogućnosti su sljedeće:

- liječenje neplodnosti u muškaraca u domeni je androloga
- pri kroničnom izostanku ili neredovitoj učestalosti ovulacije liječenje se sastoji od indukcije ovulacije lijekovima sukladno uzroku kronične anovulacije ili nedostatne i insuficijentne ovulacije. Ukoliko se radi o ženama s poremećenim indeksom tjelesne mase (BMI, od engl. body mass index) ili sa sindromom policističnih jajnika, potrebno je korigirati tjelesnu masu
- ukoliko je neplodnost uzrokovana oštećenjem jajovoda postoji mogućnost kirurškog liječenja (npr. transvaginalna kateterizacija jajovoda, laparoskopska ili laparotomijska salpingoliza, fimbrioplastika ili salpingostomija)
- ukoliko prethodne metode liječenja nisu bile uspješne ili nisu primjenjive metoda izbora jesu metode medicinski pomognute oplodnje (MPO)

Metode medicinski pomognute oplodnje u čovjeka predstavljaju medicinski postupak u liječenju bračne neplodnosti pomoću kojih se kontrolira i pomaže oplodnja stanice, transport

gameta, implantacija i razvitak trudnoće³. Prva osoba rođena metodom izvantjelesne oplodnje bila je engleskinja Louise Brown rođena 1978. godine, dok je u Hrvatskoj prvo dijete začeto ovom metodom rođeno 1983. godine u Petrovoj bolnici u Zagrebu. Tako je Hrvatska postala sedmom zemljom u svijetu koja je postigla uspjeh ove metode. U Rijeci je prvo dijete začeto 1996. godine, a rođeno 1997. Do 2010. godine u Hrvatskoj je rođeno oko 20.000 djece metodom medicinski pomognute oplodnje, a broj raste iz godine u godinu. Nadalje uspješnost metoda medicinski pomognute oplodnje najbolje se može zamijetiti na temelju kumulativnih stopa uspješnosti: prije 30 godina ona je iznosila 45%, dok danas ona iznosi čak 85%³.

Medicinski pomognuta oplodnja obuhvaća dvadesetak tehnika od kojih su najčešće korištene inseminacija, odnosno unošenje sjemena u maternicu (**IUI**), *in vitro* fertilizacija i embriotransfer (**IVF** i **ET**), intracitoplazmatska injekcija spermija (**ICSI**) i transfer zamrznutog zametka (**FET** : *frozen embryo transfer*). Među svim tehnikama MPO, pa tako i među gore navedenima, najkontroverznija tehnika je prijenos zamrznutog zametka, odnosno FET. Kako bi se FET, mogao ostvariti, potrebno je proći sve etape *in vitro* fertilizacije, kontroliranom ovarijskom hiperstimulacijom razviti više jajnih stanica i oplodnjom stvoriti više kvalitetnih zametaka, te ih moguće krioprezervirati.

Krioprezervacija je metoda koja nadopunjuje IVF/ET odnosno, svi zametci koji se razvijaju, a nisu preneseni u maternicu moraju se zamrznuti i pohraniti na temperaturi od -196°C u tekućem dušiku. Indikacije za krioprezervaciju zametaka prikazane su u Tablici 2.

INDIKACIJE ZA KRIOPREZERVACIJU ZAMETAKA³

1.	Pohranjivanje zametaka za liječenje u budućnosti
2.	Nemogućnost prijenosa zametaka u aktualnom IVF ciklusu (npr. zbog bolesti pacijentice, sindroma hiperstimulacije, lošeg endometrija)
3.	Omogućavanje preimplantacijske dijagnoze nasljednih bolesti
4.	Pohrana zametka prije zračenja ili kemoterapije

Kao što je već napomenuto, neplodnost kao bolest predstavlja jedan od rastućih problema u cijelom svijetu, čemu svakako doprinose odgađanje trudnoće u stariju životnu dob, veća učestalost pretilosti, spolno prenosive bolesti i veća incidencija malignih bolesti u sve mlađih ljudi. Zahvaljujući napretku medicine, veća incidencija malignih bolesti u mladima ne znači nužno i veći broj smrtnih slučajeva, no mnogi terapijski postupci tokom liječenja dovode do oštećenja gonada. U takvim slučajevima, sasvim opravdano, se postavlja pitanje kako spriječiti neplodnost te kako sačuvati reproduktivno zdravlje. Postupci medicinski pomognute oplodnje od iznimne su važnosti u očuvanju fertiliteta i danas se kategoriziraju u tzv. onkofertilitetne postupke. Očuvanje plodnosti u žena ovisi o: dobi bolesnice, dijagnozi, načinu liječenja, o tome da li ima partnera, o mogućoj prisutnosti metastaza u jajnicima te o vremenskim mogućnostima odgađanja početka liječenja malignoma⁴. Metode očuvanja plodnosti u žena su navedene u Tablici 3:

Tablica 3**METODE OČUVANJA****PLODNOSTI U ŽENA⁴**

1.	Krioprezervacija embrija ili oocita (sa ili bez hormonske stimulacije)
2.	Krioprezervacija ovarijskog tkiva
3.	Ovarijska supresija
4.	Ovarijska transpozicija
5.	Konzervativni kirurški i iradijacijski pristup liječenja specifičnih karcinoma

Među gore navedenim metodama posebno se ističe krioprezervacija embrija kao najuspješnija metoda do sada, no svakako ne treba zanemariti i krioprezervaciju oocita koja je moguća u oboljelih žena koje nemaju partnera ili se iz etičkih odnosno religioznih uvjerenja protive zamrzavanju embrija. Kako je navedeno u tematskom radu baziranom na pregledu objavljene literature u razdoblju od 1985. do 2006. godine: “Način dobivanja oocite u cijelosti je identičan onome kod prezervacije embrija, a istraživanja pokazuju da su neoplođene oocite podložnije oštećenju u procesu zamrzavanja uz smanjenu učestalost trudnoća u usporedbi sa standardnim IVF postupkom. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se povećala učestalost trudnoća, učinkovitost i sigurnost ove metode,,⁴ U navedenom razdoblju krioprezervacija oocita je bila eksperimentalna metoda, dok danas to više nije. Ranije su neoplođene oocite bile podložnije oštećenju tijekom krioprezervacije zbog:

- stvaranja ledenih kristala koji su uzrokovali oštećenje unutarstaničnih organela
- otvrdnuća *zona pellucida-e*
- toksičnosti otopina koje omogućavaju prijelaz iz tekućeg u kruto agregatno stanje
- iznenadnog pada unutarstaničnog osmotskog tlaka što je povezano sa staničnim bubrenjem i osmotskim šokom stanice tijekom zagrijavanja⁵

Daljnja istraživanja o krioprezervaciji oocita su pomogla razvitku nove metode krioprezervacije, odnosno vitrifikacije. Vitrifikacija predstavlja alternativni pristup zamrzavanju jajnih stanica, budući da se zasniva na teoriji da se sve metabolički aktivne stanice mogu zamrznuti tolikom brzinom koja neće dozvoliti formiranje leda. Tijekom vitrifikacije krioprotektivne supstance dodaju se odmah i u visokoj koncentraciji, sprječavajući tako oštećenja diobenog vretena. Učinkovitost i sigurnost metode vitrifikacije oocita toliko su porasle da je 1999. godine rođeno prvo dijete začeto nakon oplodnje vitrificirane oocite. Hrvatski liječnici svakako nisu kasnili sa spoznajom o novim metodama te je tako 2010. godine na Prvom hrvatskom kongresu o medicinskoj oplodnji struka izdala stručne smjernice u kojima se savjetuje da se u barem 50-60% pacijentica u MPO programu omogući krioprezervacija oocita te da je, prema sadašnjim spoznajama, vitrifikacija oocita uspješan postupak⁶. Daljnja istraživanja povezana su s velikim uspjehom u priznanju vitrifikacije oocita kao punoznačne metode MPO, te su tako 2013. godine Američko društvo za reproduktivnu medicinu (ASRM) i Društvo za pomognutu reproduktivnu tehnologiju (SART) objavili zajednički dokument, „*Mature oocyte cryopreservation: a Guideline*“, gdje navode da na temelju dosadašnjih medicinskih dokaza, moderne metode krioprezervacije, odnosno, vitrifikacije oocita nisu više eksperimentalne⁷. U duhu američkog proglašenja o sigurnosti i uspješnosti vitrifikacije oocita kao metode MPO, svrha ovog diplomskog rada bila je utvrditi uspješnost ove metode u liječenju neplodnosti pacijenata Zavoda za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i porodništvo Kliničkog bolničkog centra Rijeka u razdoblju između 2010. i 2015. godine. Liječenje ovom metodom se sastoji u prvom aktu u kontroliranoj ovarijskoj hiperstimulaciji tijekom koje se dobiju mnogobrojne jajne stanice (svježi ciklus). Dio stanica se iskoristi za oplodnju u tom ciklusu, a dio se vitrificira, pohranjuje i čuva. Ukoliko pacijentica ne zanese trudnoću nakon liječenja u svježem ciklusu, liječenje se nastavlja u sekundarnom IVF/ET ciklusu korištenjem vitrificiranih jajnih stanica.

Kod pacijentice se ultrazvučno prati od 7. - 8. dana mjesečnog ciklusa spontani rast, razvoj i ovulacija folikula ili ukoliko je potrebno praćenje se provodi uz primjenu lijekova za indukciju ovulacije što onda nazivamo modificirani prirodni ciklus. Na dan ultrazvukom utvrđene ovulacije vitrificirane oocite se zagrijavaju, a one koje prežive postupak zagrijavanja se oplođuju intracitoplazmatskom injekcijom spermija (ICSI metoda). Oplođene jajne stanice se razvijaju u zametke u laboratorijskim uvjetima kroz 3-5 dana, nakon čega slijedi prijenos zametka u maternicu (ET). Tri tjedna nakon ET se određuje serumski beta horionski gonadotropin koji je prvi dokaz zanesene trudnoće, koja se između 6.-7. tjedna gestacije potvrđuje ultrazvukom u maternici. Ovo istraživanje je planirano na temelju dostupne medicinske dokumentacije, a dobiveni rezultati su uspoređeni s ažuriranom i dostupnom literaturom na ovu temu. Ciljevi istraživanja su bili:

1. utvrditi raspodjelu sekundarnih IVF/ET ciklusa prema životnoj dobi liječenih pacijentica
2. utvrditi ukupni broj učinjenih sekundarnih IVF/ET ciklusa i broj odustajanja od postupka prije utvrđene ovulacije
3. utvrditi broj učinjenih prijenosa zametaka i broj ciklusa u kojima prijenos zametka nije učinjen
4. utvrditi udio prijenosa zametaka u odnosu na ukupni broj sekundarnih IVF/ET ciklusa kroz šestogodišnje razdoblje
5. utvrditi udio prirodnih i modificiranih prirodnih ciklusa u liječenju sekundarnim IVF/ET
6. utvrditi učinkovitost liječenja sekundarnim IVF/ET prema udjelu začelih trudnoća

2. ISPITANICE I POSTUPCI

Provedena je retrospektivna presječna (*cross-section*) studija o uspješnosti liječenja postupkom sekundarnog IVF/ET, oplodnjom prethodno vitrificiranih oocita. Svi rezultati istraživanja proizlaze iz podataka dobivenih pregledom dostupne medicinske dokumentacije (povijesti bolesti pacijentica) iz arhiva Zavoda za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i porodništvo KBC-a Rijeka u razdoblju od 2010. do 2015. godine, odnosno studija obuhvaća podatke iz ukupno 447 započetih sekundarnih IVF/ET ciklusa liječenja provedenih kroz 6 godina. Podaci iz medicinske dokumentacije koji su bili korišteni su sljedeći:

- životna dob pacijentica
- vrsta sekundarnog IVF/ET ciklusa (prirodni ili modificirani) u kojem su korištene vitrificirane oocite
- uzrok eventualnog izostanka prijenosa zametka:
 1. propadanje oocite uslijed otapanja ili izostanak oplodnje;
 2. zaostajanje u razvitku zametka, odnosno izostanak razvoja zametka
 3. muški čimbenik (nema spermija)
 4. nepoznati razlog (nepotpuna medicinska dokumentacija)

Istraživanje je bazirano na ciklusima liječenja, budući da je određeni broj pacijentica (parova) u ispitivanom razdoblju više puta pristupio liječenju na Zavodu. Od ukupnog broja ciklusa po analiziranoj godini u statističku obradu su ubrojeni samo oni ciklusi u kojima je došlo do ovulacije (ukoliko nije došlo do ovulacije, ciklus liječenja označava se sa slovom O – odustajanje, te kao takav nije ubrojen u statističku obradu podataka).

Raspodjela ciklusa prema životnoj dobi u kojoj su pacijentice liječene definirana je po skupinama na sljedeći način: pacijentice od 20 do 25 godina; 26 do 30 godina; 31 do 35 godina; 36 do 40 godina; 41 do 45 godina; pacijentice starije od 45 godina.

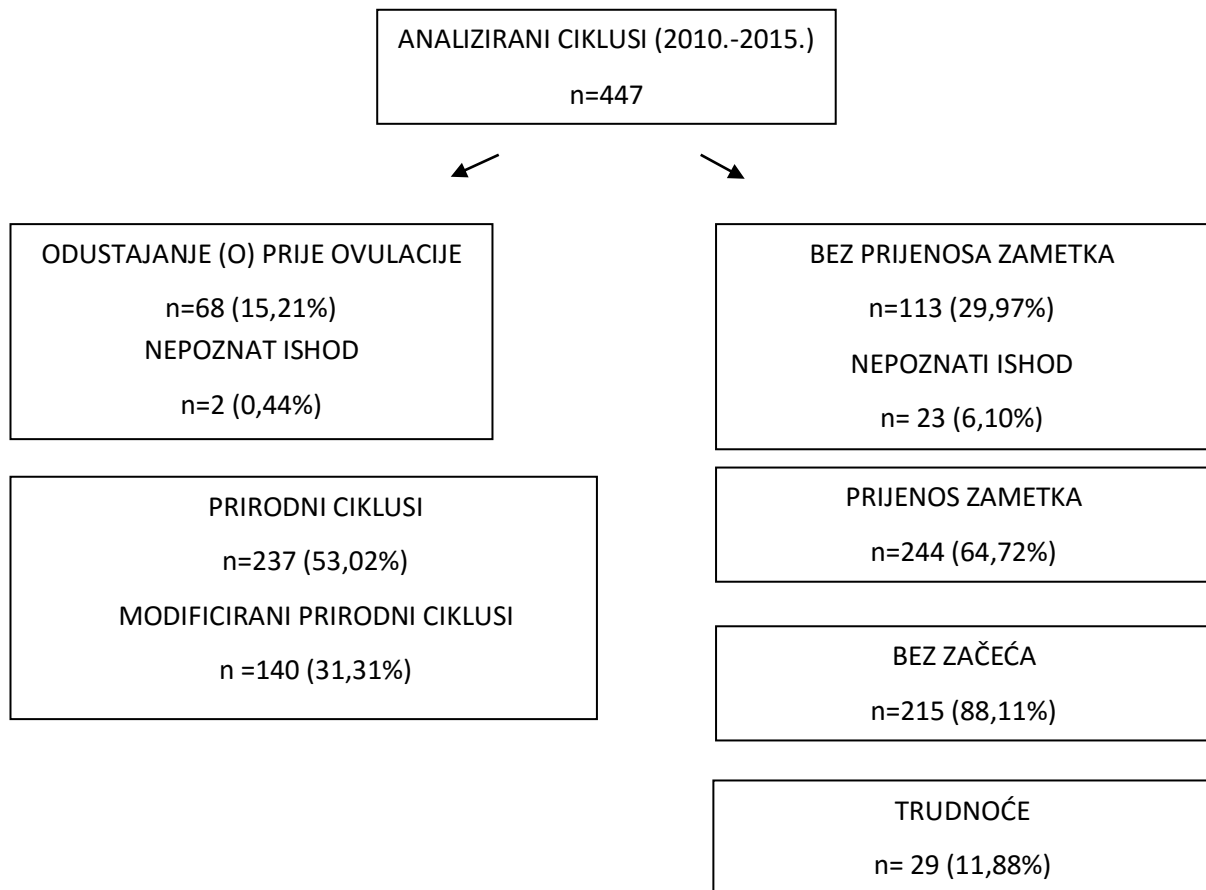
Vrsta sekundarnog IVF/ET ciklusa u istraživanju označava se kao prirodni ili modificirani. Prirodni ciklus ne podrazumijeva primjenu lijekova za indukciju ovulacije, dok modificirani ciklus podrazumijeva primjenu: klomifen citrata, humanog horionskog gonadotropina, Andol 100 i tablete estrogena i progesteronski gel ili globule za vaginalnu primjenu.

Dan ciklusa kada je izvršen prijenos zametka (ET) označava točan dan prijena zametka u odnosu na prvi dan menstruacije koji ujedno označava i prvi dan ciklusa u kojem pacijentica pristupa liječenju. Ovisno o razvoju i broju zametaka, ET biva izvršen 3. ili 5. dan od ultrazvučno potvrđene ovulacije u ciklusu u kojem se provodi liječenje.

Svi započeti ciklusi (n=447) podijeljeni su u 2 velike skupine:

1. Skupina O (n=68) u kojoj je došlo do odustajanja od postupka prije utvrđene ovulacije, neovisno o razlogu
2. Preostala skupina sekundarnih IVF/ET ciklusa (n=377), koja je zatim podijeljena u 2 podskupine:
 - ciklusi dovršeni uspješnim prijenosom zametka (n=244)
 - nedovršeni ciklusi, bez prijena zametka (n=112). Ovi ciklusi označeni su u 4 kategorije ovisno o uzroku neuspjeha kako slijedi:
 - S skupina : oocita nije preživjela odmrzavanje ili nije došlo do oplodnje
 - Z skupina : zametak nije nastavio razvoj
 - M skupina : muški čimbenik bilo koje etiologije (nema spermija)
 - N skupina : razlog nije naveden u dostupnoj medicinskoj dokumentaciji

Na Slici 1 je prikazana organizacija i raspodjela prikupljenih podataka vezanih uz liječenje sekundarnim IVF/ET ciklusima.



Slika 1. Organizacija i raspodjela prikupljenih podataka

Cilj istraživanja je utvrditi uspješnost liječenja neplodnosti u razdoblju nakon uvođenja metode vitrifikacije jajnih stanica.

Pristup arhiviranim medicinskim podacima odobren je od strane Etičkog povjerenstva KBC-a Rijeka, a svi rezultati prikazani su grafički i numerički, te je time svaka pacijentica ostala anonimna.

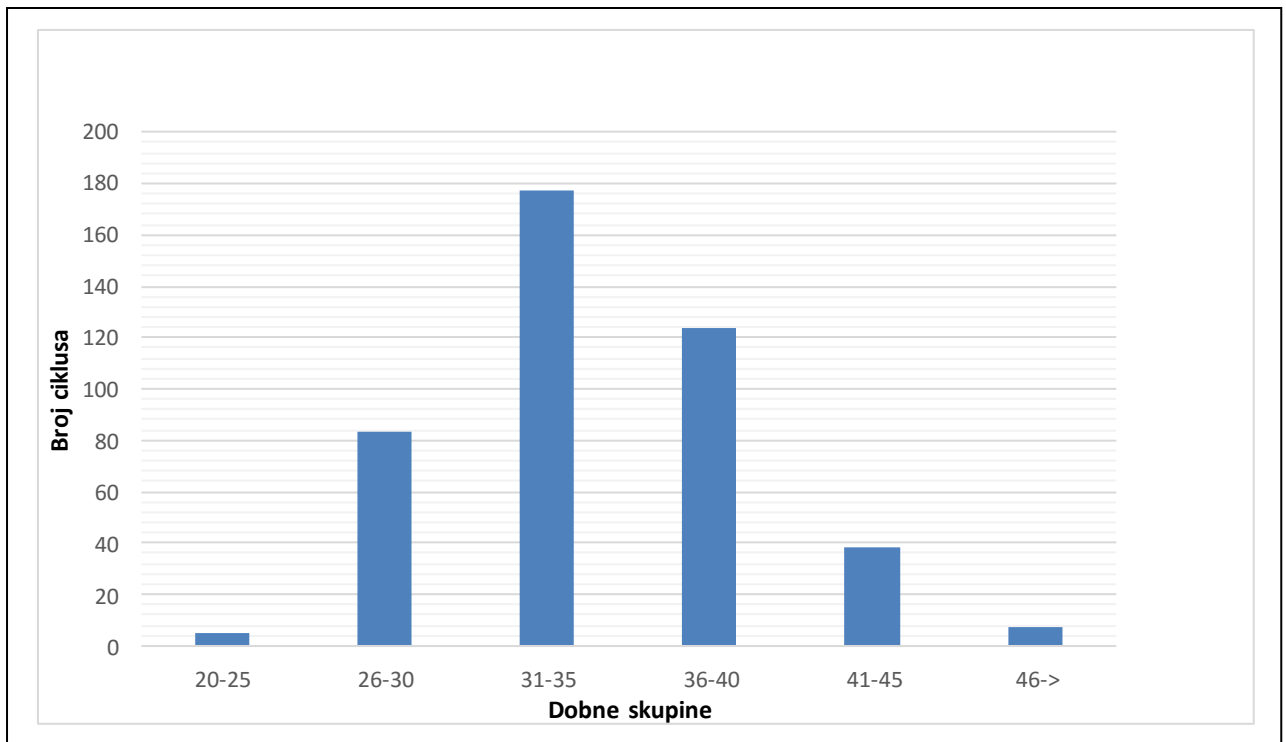
3. REZULTATI

3.1. Raspodjela sekundarnih IVF/ET ciklusa prema životnoj dobi pacijentica

Podaci o životnoj dobi pacijentica bili su dostupni u 434 ukupno započelih ciklusa. Najmlađa liječena pacijentica imala je 24 godine, a najstarija 48 godina. Rezultati su prikazani u Tablici 4 i na Slici 2.

Tablica 4. Raspodjela sekundarnih IVF/ET ciklusa prema životnoj dobi pacijentica

Životna dob	N	%
20-25	5	1,15
26-30	83	19,12
31-35	177	40,78
36-40	124	28,57
41-45	38	8,75
46 - >	7	1,61
Ukupno	434	100



Slika 2. Raspodjela sekundarnih IVF/ET ciklusa prema životnoj dobi pacijentica (n = 434, nedostaju podaci za 13 ciklusa).

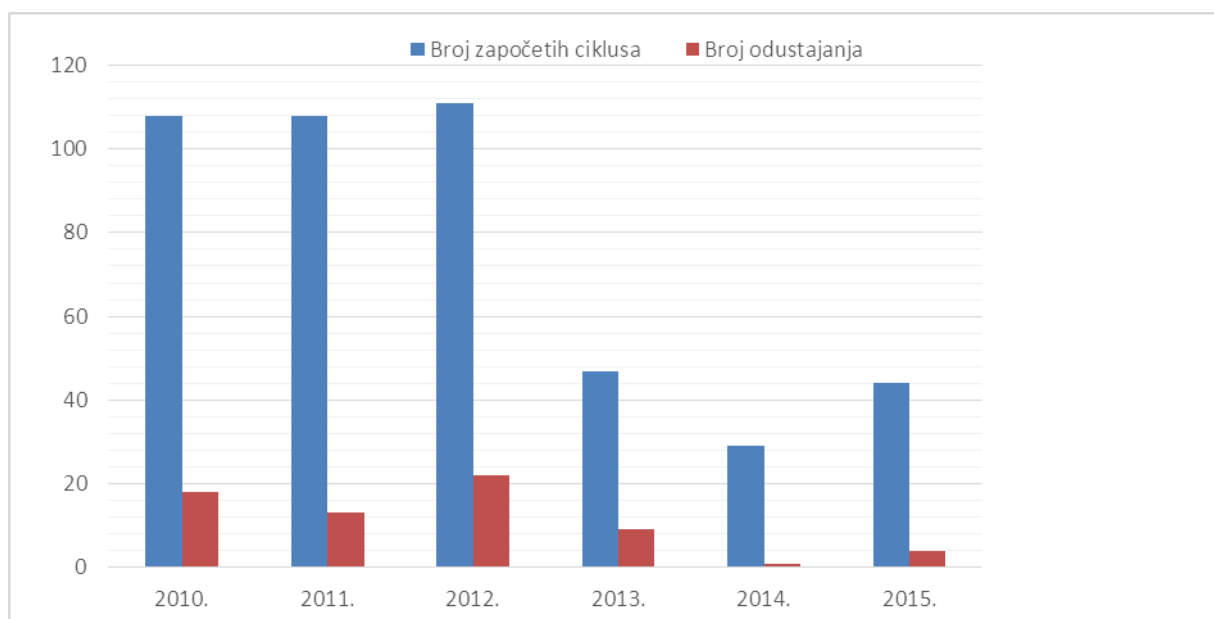
3.2 Ukupan broj postupaka i odustajanja od liječenja po kalendarskim godinama

Od ukupno 447 sekundarnih IVF/ET ciklusa bilo je 68 odustajanja (15,21%) od daljnjeg postupka prije ultrazvučno potvrđene ovulacije, te u 2 ciklusa nije bio poznati ishod (0,44%).

(Tablica 5, Slika 3).

Tablica 5. Broj sekundarnih postupaka IVF/ET i odustajanja od liječenja prema kalendarskim godinama (n = 447)

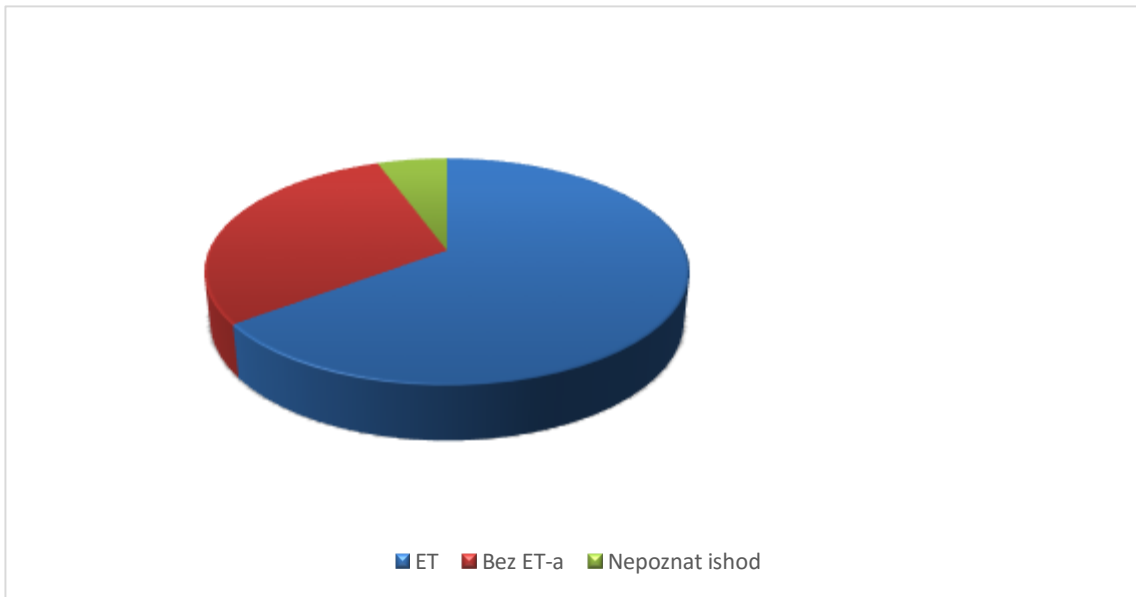
Kalendarska godina	Sekundarni IVF/ET ukupno	Sekundarni IVF/ET odustajanje	%
2010.	108	18	16,7
2011.	108	13	12,0
2012.	111	22	19,81
2013.	47	9	19,1
2014.	29	1	3,4
2015.	44	5	11,3
Ukupno	447	68	15,21



Slika 3. Broj sekundarnih IVF/ET ciklusa prema kalendarskim godinama i broj odustajanja od liječenja prije potvrđene ovulacije

3.3 Prijenos zametaka u sekundarnim IVF/ET ciklusima

Ukupan broj sekundarnih IVF/ET ciklusa dovršenih prijenosom zametka iznosi 244 (64,72 %), dok ukupan broj sekundarnih ciklusa bez prijenosa zametka iznosi 113 (29,97%). Za 23 ciklus (6,10 %) ishod nije poznat zbog nepotpune medicinske dokumentacije. Rezultati su prikazani na Slici 4.



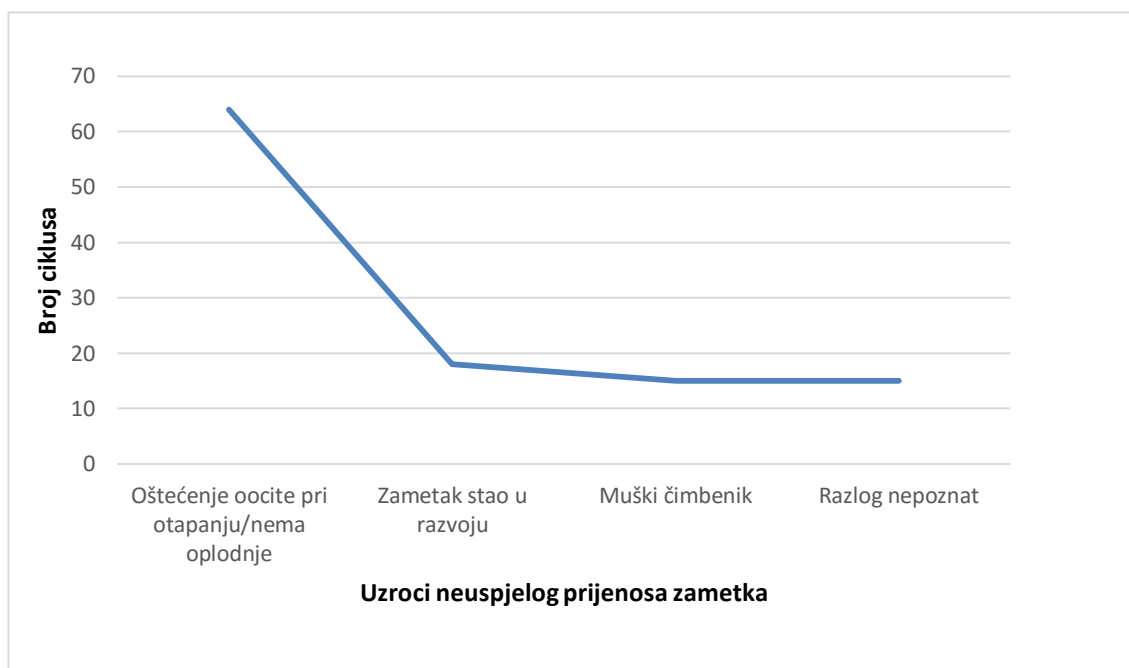
Slika 4. Sekundarni IVF/ET ciklusi i prijenos zametaka (n = 377).

3.4 Uzroci izostanka prijenosa zametka u sekundarnim IVF/ET ciklusima

Sveukupno 112 (25,05%) sekundarnih IVF/ET ciklusa koji nisu dovršeni prijenosom zametka podijeljeno je u 4 zasebne kategorije prema uzroku neuspjeha:

1. Oštećenje oocite pri otapanju ili nije došlo do oplodnje - 64 ciklusa (57,14%);
2. Zametak je stao u razvoju -18 ciklusa (16,07%);
3. Muški čimbenik (nema spermija za oplodnju) -u 15 ciklusa (13,39%)
4. Nepotpuna medicinska dokumentacija - 15 ciklusa (13,39%).

Rezultati su prikazani na Slici 5.



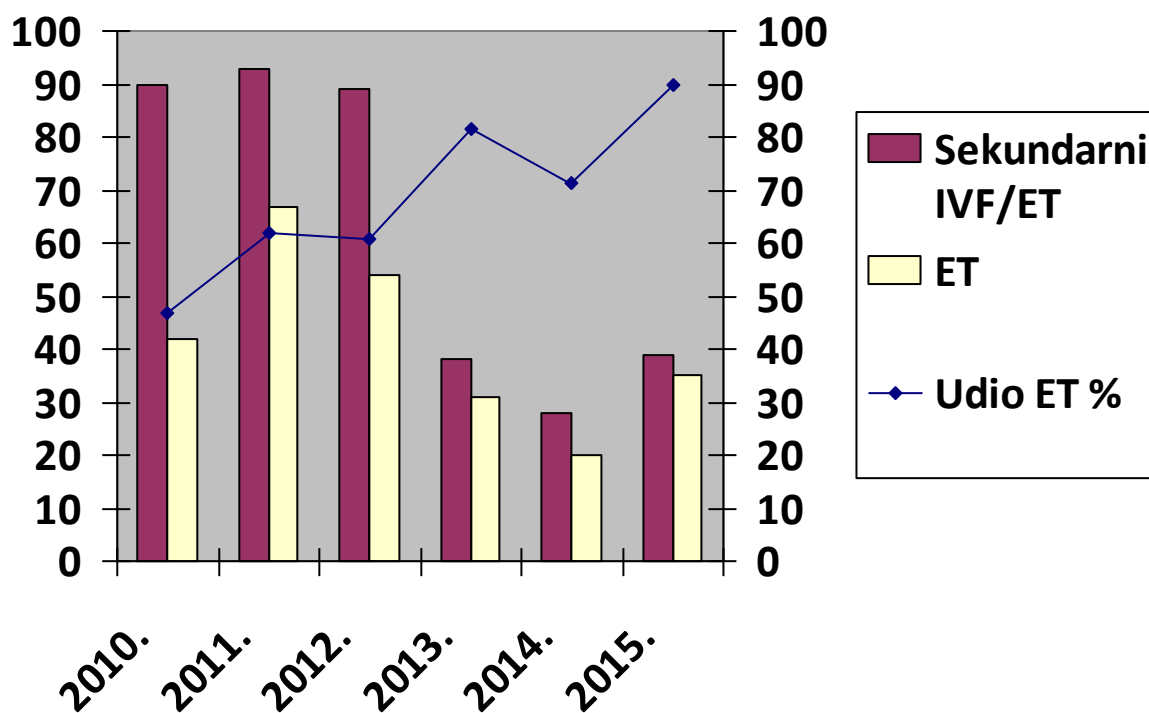
Slika 5. Uzroci neuspjelog prijenosa zametka u sekundarnim IVF/ET ciklusima (n=112)

3.5 Uspješnost prijenosa zametaka u sekundarnim IVF/ET ciklusima kroz šestogodišnje razdoblje (krivulja-učenja)

Rezultati su prikazani u Tablici 6 i na Slici 6.

Tablica 6. Uspješnost prijenosa zametaka u sekundarnim ciklusima tijekom šestogodišnjeg razdoblja (n = 377)

Kalendarska godina	Broj sekundarnih IVF/ET ciklusa	Broj prijenosa zametaka	%
2010.	90	42	46,66
2011.	93	62	66,66
2012.	89	54	60,67
2013.	38	31	81,57
2014.	28	20	71,42
2015.	39	35	89,74
Ukupno	377	244	64,72

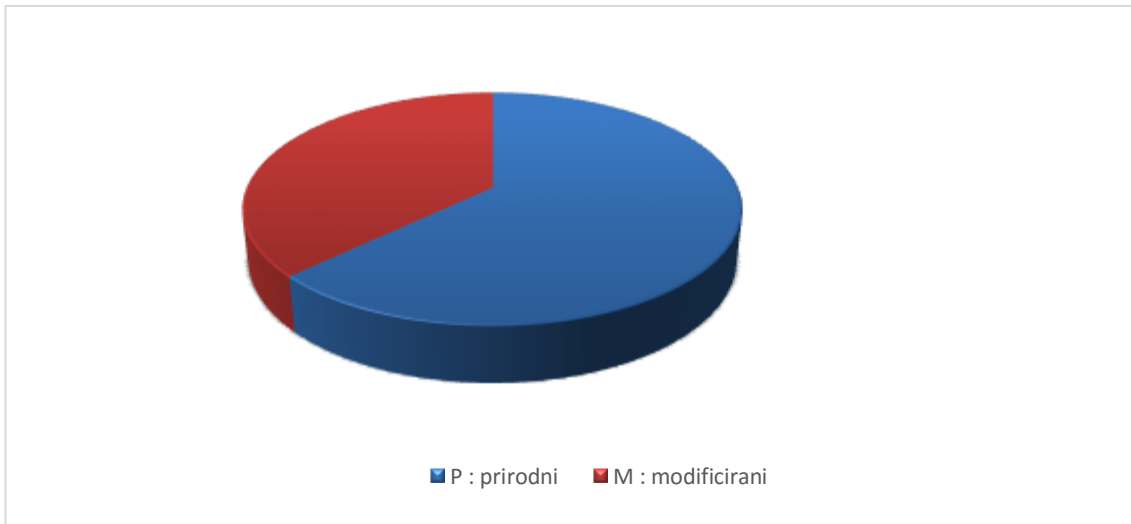


Slika 6. Udio prijenosa zametaka u sekundarnim IVF/ET ciklusima tijekom 6 godina (krivulja učenja).

3.6 Udio prirodnih, odnosno, modificiranih prirodnih ciklusa u sekundarnom IVF/ET-u

Ukupan broj prirodnih (P) ciklusa tijekom istraživačkog razdoblja iznosi 237 (62,86%), dok ukupan broj modificiranih (M) ciklusa iznosi 140 (37,13%)

Rezultati su prikazani na Slici 7.



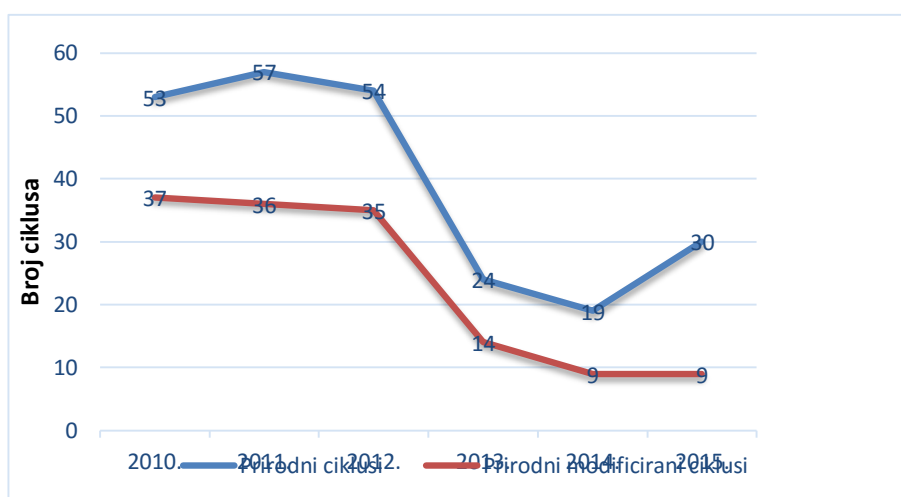
Slika 7. Udio prirodnog i modificiranog prirodnog ciklusa u sekundarnom IVF/ET. (n=377)

3.7 Udio prirodnih, odnosno, modificiranih prirodnih ciklusa u sekundarnom IVF/ET tijekom šestogodišnjeg razdoblja po godinama

Rezultati su prikazani u Tablici 7 i Slici 8.

Tablica 7. Odnos prirodnog ciklusa i modificirnog prirodnog ciklusa u sekundarnom IVF/ET prema kalendarskim godinama

Kalendarska godina	Prirodni ciklus	Modificirani prirodni ciklus	Prirodni c./ Modificirani p.c.	Ukupno
2010.	53	37	1,4	90
2011.	57	36	1,6	93
2012.	54	35	1,5	89
2013	24	14	1,7	38
2014.	19	9	2,1	28
2015.	30	9	3,3	39
Ukupno	237	140		377



Slika 8. Odnos prirodnih i modificiranih prirodnih ciklusa u sekundarnom IVF/ET (n=377)

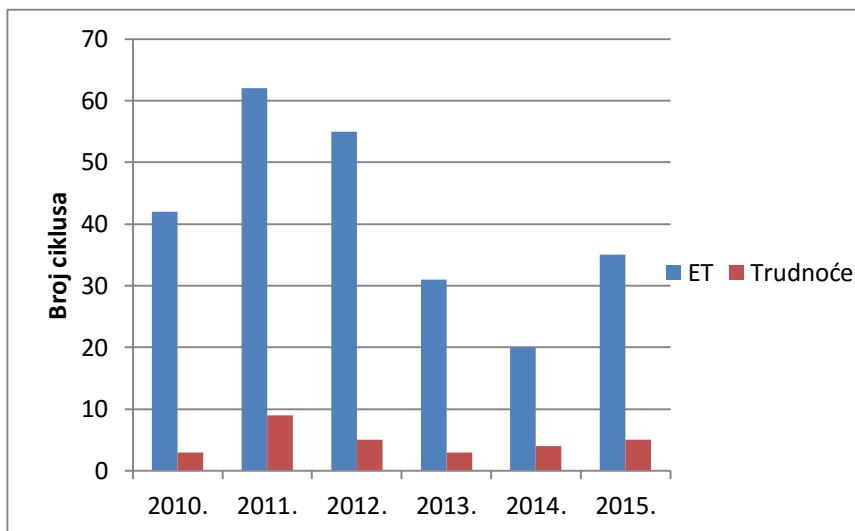
3.8 Učinkovitost liječenja u sekundarnom IVF/ET ciklusu

Učinkovitost liječenja neplodnosti vitrificiranim oocitama u sekundarnom ciklusu izračunata je po godinama i ukupno na temelju ukupnog broja učinjenih ET-a i broja zanesenih trudnoća. Na ukupan broj učinjenih ET (n =244) tijekom razdoblja od 2010. do 2015. godine zaneseno je ukupno 29 trudnoća, što čini uspješnost od 11,93 %.

Rezultati su prikazani u Tablici 8 i Slici 9.

Tablica 8. Broj zanesenih trudnoća u odnosu na broj prijenosa zametaka u sekundarnom IVF/ET prema kalendarskim godinama.

Kalendarska godina	Prijenos zametka (n)	Trudnoće (n)	%
2010.	42	3	7,14
2011.	62	9	14,51
2012.	54	5	9,25
2013.	31	3	9,67
2014.	20	4	20
2015.	35	5	14,28
Ukupno	244	29	11,93



Slika 9. Broj zanesenih trudnoća u odnosu na broj prijenosa zametaka u sekundarnom IVF/ET-u tijekom šestogodišnjeg razdoblja.

4. RASPRAVA

U šestogodišnjem razdoblju, uspješnost liječenja neplodnosti u sekundarnim ciklusima IVF/ET korištenjem vitrificiranih jajnih stanica na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i porodništvo u Rijeci iznosila je 11,93% u liječenoj populaciji, što je značajno ispod prirodnog fekundabiliteta koji iznosi 20-25% po mjesečnom ciklusu u žena reproduktivne dobi. Ovakav ukupni rezultat liječenja se može povezati s karakteristikama populacije neplodnih pacijenata, budući da je gotovo trećina sekundarnih ciklusa provedena u pacijentica starijih od 36 godina života, koje su ujedno imale i zapreku začeća zbog nekog od oboljenja reproduktivskih organa. Reprodukcijsko zdravlje i prokreacija predstavlja jedno od osnovnih životnih želja i nagona svakog čovjeka, a pravo na reprodukciju i liječenje neplodnosti smatra se jednim od temeljnih ljudski prava⁸ koje se ostvaruje u javno-zdravstvenim ustanovama poput naše, za svakog pacijenta uz indikaciju, bez iznimke. U tom smislu izostaje selekcija pacijentica koje imaju slabiju prognozu liječenja neplodnosti, što može biti povezano s ukupnom niskom uspješnosti liječenja kada se promatra izolirano liječenje u sekundarnim ciklusima IVF/ET. U istraživanom razdoblju udio sekundarnih ciklusa IVF/ET dovršenih prijenosom zametka se stalno povećavao, što je odraz konstatnog poboljšanja kvalitete vitrifikacije i odmrzavanja oocita, usavršavanja laboratorijskih tehnika i probira pacijentica na Zavodu za humanu reprodukciju. U prilog poboljšanju tehnike i kvalitete laboratorija, te stručnosti osoblja idu i podaci o začetim trudnoćama. U prvoj godini primjene vitrificiranih oocita uspješnost liječenja neplodnosti iznosila je svega 7%, a s vremenom najveća postignuta uspješnost je iznosila 20%, što predstavlja poboljšanje učinka gotovo 200%. Potrebno je napomenuti da se učinkovitost liječenja vitrificiranim oocitama kumulativno pribraja svježem stimuliranom ciklusu IVF/ET iz kojeg vitrificirane oocite potječu. Na taj način se postiže učinkovitost cijelog programa liječenja (IVF/ET + sekundarni IVF/ET) između 40-50%. Neuspjeh liječenja sekundarnim ciklusom IVF/ET povezan je

najčešće s oštećenjem jajnih stanica prilikom odmrzavanja ili izostankom oplodnje jajne stanice (57,14%), dok su ostali uzroci vezani na zastoj u razvoju zametka ili muški čimbenik neplodnosti (42,86%). Svi prikazani rezultati dokazuju poboljšanje i usavršavanje tehnike vitifikacije, odmrzavanja i oplodnje jajnih stanica tijekom razdoblja istraživanja.

4.1. Zakonska regulativa u Republici Hrvatskoj 2009. godine

Uvođenje postupka vitifikacije oocita u Hrvatskoj pokazalo se kao višestruka dobit, na mnogim aspektima. Ishodište uvođenja ove metode bila je stroga zakonska regulativa o MPO, odnosno, Zakon o medicinskoj oplodnji iz 2009. godine (NN, 88/2009) gdje se u članku 15. jasno definiralo da se u jednom postupku MPO mogu koristiti najviše 3 oplođene jajne stanice, a višak preostalih spolnih stanica pohranjuje se i čuva za daljnje korištenje. Istovremeno se člankom 26. zabranjuje zamrzavanje zametaka, odnosno prema Zakonu, dozvoljeno je samo zamrzavanje spermatozoida i jajnih stanica⁹. U to doba u kliničku praksu uvedena je potpuno nova metoda koja je još uvijek smatrana eksperimentalnom. Početni rezultati liječenja u sekundarnim ciklusima IVF/ET u smislu začeca bili su manji u odnosu na svježe cikluse što su pokazali i naši rezultati. Međutim, kumulativni učinak sekundarnih ciklusa IVF/ET značajno povećava ukupnu učinkovitost liječenja svježeg stimuliranog ciklusa i kao takav je dobrobit u liječenju neplodnih pacijentica. Negativni aspekt ovog Zakona prema nekim izvorima vidljiv je iz podataka o udjelu trudnoća po krio-ciklusu prije i poslije nove legislative: prije 2009.godine udio trudnoća iznosio je 20%, a poslije samo 4%. Udio višeplođnih trudnoća prije novog Zakona iznosio je 18,4%, dok je poslije iznosio 25%; udio spontanih pobačaja iznosio je 10,5% u odnosu na 25% poslije donošenja novog Zakona⁹.

4.2. Prednosti vitrifikacije oocita sa medicinskog stajališta

Plodnost žene ponajviše određuje njena životna dob, a sama životna dob određuje broj i kvalitetu jajnih stanica: ženski fetus u 20. tjednu gestacije ima otprilike 6 do 7 milijuna oocita, nakon porođaja žensko novorođenče ima 1 do 2 milijun, dok djevojčica na početku puberteta ima oko 500-600 tisuća oocita¹⁰. Broj oocita ubrzano opada tijekom reproduktivne dobi, posebno nakon 37. godine života, te tako žena u 51. godini života ima otprilike 1000 preostalih oocita¹¹. Kako opada broj oocita, tako opada i njihova kvaliteta, primarno zbog disfunkcije diobenog vretena, što rezultira povećanim brojem aneuploidnih oocita u starijih žena¹². Takve greške u mejotskom razdvajanju rezultiraju većim brojem kromosomskih aberacija ploda, što dovodi do većeg broja pobačaja i težeg začeća. Pretpostavlja se da je nakon 45. godine života gotovo 100% oocita aneuploidno¹³. Nadalje, uspješnost MPO ponajviše ovisi o „starosti“ jajne stanice, a ponajmanje o „starosti“ maternice.¹⁴ Budući da je uspješnost začeća determinirana jajnom stanicom, vitrifikacija jajnih stanica nameće se kao logičan postupak u žena koje moraju odgoditi rađanje djece uslijed maligne bolesti. Liječenje i oporavak mogu trajati godinama i žena može dostići kritičnu dob kada je sve veći broj jajnih stanica aneuploidan, no zahvaljujući prezerviranoj oociti mogućnost za začeće i zdravi plod odgovaraju mogućnostima biološke dobi prezervirane jajne stanice, a ne biološkoj dobi žene u ciklusu MPO-e. Dodatna prednost ove metode u odnosu na krioprezervaciju embrija je što žena oboljela od maligne bolesti nije obavezna, u vrijeme kriopohrane jajne stanice, imati stalnog partnera ili posegnuti za donacijom sperme sa ciljem oplodnje jajne stanice. Prema meta-analizi iz 2006. godine koja obuhvaća 5 studija, uspješnost MPO vitrificiranim jajnim stanicama približava se uspješnosti MPO svježim jajnim stanicama i zamrznutim zametcima: omjer oplodnje vitrificiranih jajnih stanica iznosi 74% (637/859), omjer kliničkih trudnoća po ET-u iznosi 45,5% (61/134) te omjer živorođene djece po ET-u iznosi 36,6% (49/134)¹⁵. U studiji Cobo i sur. (2016) 1468

žena podvrgnulo se elektivnoj vitrifikaciji oocita sa ciljem očuvanja plodnosti zbog napredovanja životne dobi ; od ukupnog broja 137 žena (9%) posegnulo je za liječenjem vitrificiranim jajnim stanicama pri čemu je omjer živorođene djece iznosio 50% za žene mlađe od 35 godina i 23% za žene starije od 36 godina¹⁶. Osim visoke uspješnosti oplodnje vitrificiranih jajnih stanica u odnosu na svježije jajne stanice, vitrificirane jajne stanice pokazuju bolje rezultate i u odnosu na klasično, sporo zamrznute jajne stanice. Prema meta-analizi 5 studija iz 2011. Godine¹⁷ (4282 vitrificirane oocite, 3524 svježih oocita, 361 sporo smrznuta oocita) vitrificirane oocite, u usporedbi sa sporo smrznutim oocitama, imale su:

- veću stopu preživljavanja (OR 2.46, 95% CI 1.82-3.23)
- veću stopu oplodnje (1.50, 95% CI 1.07-2.11)
- veću stopu visoko kvalitetnih zametaka (22% : 8% ; OR 3.32, 95% CI 1.37-8.02)
- veću stopu brazdanja zametka (2. dan : 64,6%:47,7% ; OR 2.00, 95% CI 1.33-3.00
3. dan : 53%:33.3% ; OR 2.25, 95% CI 1.32-3.85)

Slične stope imala je i studijska grupa svježih oocita¹⁷. Sumirane prednosti liječenja neplodnosti vitrificiranim oocitama navedene su u Tablici 9.

Tablica 9. Prednosti liječenja vitrificiranim oocitama

PREDNOSTI MPO-e VITRIFICIRANIM OOCITAMA	
1.	Očuvanje plodnosti u pacijentica oboljelih od malignoma
2.	Izbjegavanje etičkih, religijskih i zakonskih implikacija
3.	Manja stopa oštećenja oocite kod smrzavanja i otapanja, u odnosu na sporo zamrzavanje oocita
4.	Očuvanje plodnosti kod gubitka reproduktivske sposobnosti zbog genetskih abnormalnosti
5.	Ovarijski hiperstimulacijski sindrom
6.	Skupina pacijentica sa slabim odgovorom na stimulaciju gonadotropinima (low-responderi)

4.3. Religijski stavovi o medicinski pomognutoj oplodnji

Medicinski pomognuta oplodnja predmetom je javne rasprave dugo vremena, a najkontroverzniji aspekt predstavlja zamrzavanje zametaka i njihov prijenos (FET). Srž kontroverze oko zamrzavanja zametaka i esenciju svih rasprava o etičnosti čini vječno pitanje na koje je teško dati potpuni i svima zadovoljavajući odgovor: “Gdje počinje život?”. Naime, prema današnjoj uvriježenoj i znanstvenoj tvrdnji, život počinje u četvrtom tjednu gestacije, odnosno, kada srce počne kucati, no znanost i religija, osobna uvjerenja i moralna i etička stajališta razlikuju se od osobe do osobe, te tako mnogi smatraju da život počinje začecem. Stajališta tri najveće svjetske religije su definirana, te je tako stajalište Katoličke crkve da je umjetna oplodnja dozvoljena, dok je zamrzavanje zametaka zabranjeno. U enciklici *Donum Vitae*, papa Ivan Pavao II. Ističe da: “ljudski embrij nastao umjetnom opodnjom ima dostojanstvo kao i odrasla osoba, jer je Božje stvorenje. Stoga zaslužuje brigu i pažnju kao i bilo koje drugo ljudsko stvorenje. Crkva se protivi zamrzavanju embrija,

eksperimentiranju nad njima ili korištenju u kozmetičke svrhe. “Crkva nije protiv djece rođene umjetnom oplodnjom”¹⁸. Stav Islama je da se liječenje bračne neplodnosti treba podržati i da neplodne parove treba motivirati na liječenje svim tehnikama, pa tako i FET-om¹⁹, no usprkos tomu 2010. godine u Dubai-u, UAE, donešena je zakonska odluka o uništenju postojećih zamrznutih embrija te o zabrani svih budućih krioprezervacija. Prema svetim knjigama Judaizma, MPO u bračnih parova koji su neplodni nije samo dozvoljena, već je i obavezna; nadalje, prema Talmudu, duša ne ulazi u tijelo prije 40. dana od začeca te tako i preimplantacijska genetička dijagnostika (PGD) ne predstavlja rizik već moralnu obvezu. Ukoliko je potrebno, dozvoljeno je i vršiti istraživanja na zametcima pod uvjetom da će to dovesti do znanja koje će u budućnosti spasiti živote²⁰. Iz svega navedenog moguće je zaključiti kako se od 3 velike religije svijeta jedna, Kršćani Katolici, izričito protivi zamrzavanju embrija, druga, Islam, se ne protivi no zakonodavstvo u određenim zemljama određuje drugačije, a treća religija, Judaizam, dozvoljava zamrzavanje zametaka. U svakoj od prethodno navedenih tvrdnji ističe se riječ *zametak* i upravo se oko zametka kao osnovnog oblika života vode najveće rasprave. Jajna stanica, sa druge strane, nigdje se ne spominje kao život, već kao dio tijela te stoga nije podložna kontroverzi.

4.4. Zakonska regulativa u Republici Hrvatskoj 2012. godine

U Republici Hrvatskoj je 2012. godine izglasan novi Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji (NN/12) koji dopušta zamrzavanje zametaka, odnosno u Članku 9., među postupcima kojima se provodi medicinski pomognuta oplodnja, pod rednim brojem 4. navodi se sljedeće: “*zamrzavanje i odmrzavanje spolnih stanica, spolnih tkiva i zametaka*”. Prema članku 33. zametci se pohranjuju i čuvaju u zdravstvenim ustanovama koje su ovlaštene za njihovo pohranjivanje, uz slobodan ovjereni pristanak te se čuvaju do pet godina

od prvog dana pohranjivanja, pri čemu, se uz pisani zahtjev, rok može produljiti za još pet godina²¹. Zamrzavanjem embrija omogućava se smanjivanje višeplođnih trudnoća u jednom ciklusu liječenja, a samo odbacivanje ili zamrzavanje embrija ne predstavlja čedomorstvo, što je bio postulat stroge zakonske regulative 2009. godine, već predstavlja najraniji stupanj pobačaja, što se događa sasvim prirodno⁹. Unatoč odredbi novog zakona i činjenici da zamrzavanje zametaka ima mnogo pozitivnih aspekata, metoda MPO koja uključuje oplodnju vitrificirane jajne stanice i dalje ostaje kao sastavni dio svakodnevne prakse.

Zaključno možemo kazati da liječenje neplodnosti vitrificiranim jajnim stanicama predstavlja relativno novu metodu liječenja neplodnosti, sa mnogim prednostima na svim aspektima:

- Pravni aspekt: ne podliježe zakonskim zabranama
- Religijski aspekt: jajna stanica se smatra tkivom i dijelom tijela, a ne zasebnim oblikom života
- Financijski aspekt: određeni broj jajnih stanica se može preuzeti i prezervirati u praktički jednom ciklusu te se tako smanjuje cijena kompletnog postupka liječenja
- Medicinski aspekt: oocite su rezistentne na oštećenja prilikom manipulacije; moguće je očuvanje plodnosti u žena koje se podvrgavaju kemoterapiji ili iradijacijskoj terapiji; prevencija gonadotoksičnog efekta; umanjuje se incidencija ovarijskog hiperstimulacijskog sindroma²²
- Osobni i emocionalni aspekt: omogućava očuvanje plodnosti ženama bez partnera

Istraživanje ovog tipa do sada nije provedeno u Hrvatskoj, te su rezultati dobiveni na relativno malom uzorku pacijenata, pri čemu su analizirani ciklusi, a ne liječene pacijentice. Rezultati dobiveni istraživanjem idu u prilog činjenici da se svaka nova metoda mora dobro uvježbati, te da se sa svakim novim postupkom, tehnike i metode sve više usavršavaju za što je potrebno

vrijeme. Zasigurno, potrebna su daljnja istraživanja o učinkovitosti liječenja neplodnosti vitrificiranim jajnim stanicama na većem uzorku pacijenata kroz duže vremensko razdoblje.

5. ZAKLJUČCI

1. Najveći broj sekundarnih ciklusa IVF/ET učinjen je u pacijentica starosne dobi između 31.-35. godine života (40,78%). Trećina postupaka učinjena je u životnoj dobi nakon 36 godina.
2. Udio odustajanja od liječenja sekundarnim ciklusom IVF/ET prije utvrđene ovulacije bio je 15,21% .
3. Udio prijenosa zametaka u sekundarnom ciklusu IVF/ET iznosi 64,72%
4. Udio prijenosa zametaka u sekundarnom ciklusu IVF/ET raste u šestogodišnjem razdoblju (46,66% - 89,74%)
5. Udio prirodnog ciklusa (P) u liječenju sekundarnim ciklusom IVF/ET je kontinuirano veći u odnosu na modificirani prirodni ciklus (M). Omjer P:M raste kroz šestogodišnje razdoblje od 1,4 – 3,3.
6. Udio začelih trudnoća (učinkovitost liječenja) tijekom šestogodišnjeg razdoblja iznosi 11,93%. Utvrđeno je povećanje učinkovitosti od gotovo 200% (7% min-20% max).

6. SAŽETAK

Neploidnost je nemogućnost začeća tijekom 12 mjeseci nezaštićenih spolnih odnosa. Među mnogim dostupnim metodama liječenja neploidnosti, nalazi se i medicinski pomognuta oplodnja koja podrazumijeva i primjenu vitrificiranih jajnih stanica. Vitrificirane jajne stanice dobivaju se na isti način kao i klasično krioprezervirane jajne stanice, no one se podvrgavaju postupku brzog smrzavanja sa visokim koncentracijama krioprotektivnih tvari, te se tako smanjuje pojavnost oštećenja jajne stanice u cijelosti. U svrhu izrade ovog diplomskog rada učinjeno je retrospektivno presječno istraživanje o uspješnosti liječenja neploidnosti vitrificiranim jajnim stanicama na Zavodu za humanu reprodukciju Klinike za ginekologiju i porodništvo KBC-a Rijeka. Prednosti liječenja neploidnosti vitrificiranim jajnim stanicama su medicinske, legislativne, religijske, financijske, osobne i emocionalne naravi, pri čemu su one medicinske naravi potvrđene pregledom strane literature i našim rezultatima. Budući da je istraživanje provedeno na relativno malenom uzorku ispitanika, preporučljiva su daljnja istraživanja, na većem uzorku ispitanika i kroz duže vremensko razdoblje.

Ključne riječi: neploidnost, liječenje neploidnosti, vitrifikacija, jajna stanica

7. SUMMARY

Infertility is a disease defined by the impossibility of conception within 12 months of unprotected sexual intercourse. Among the many available methods of infertility treatment there is the medically assisted reproduction technology that involves infertility treatment with vitrified oocytes also. Vitrified oocytes are retrieved the same way as the slow-frozen oocytes, but the process consists of rapid freezing with high concentration of cryoprotective solutions, preventing so oocyte cell damage. A retrospective cross-section study has been made at the Department for Human reproduction (tertiary center) of the Clinic for gynaecology and obstetrics, Clinic and Hospital centre of Rijeka, with the purpose of making this graduate thesis. The advantages of infertility treatment with vitrified oocytes are of medical, legal, religious, financial, emotional and personal nature, where the medical advantages of the procedure are confirmed by the review of foreign literature and our study results. Whereas the research has been done on a relatively small sample of patients, further research on a wider patient sample and longer time period are strongly recommended.

Key words: infertility, infertility treatment, vitrification, oocyte

LITERATURA

1. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA
National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. PLoS Med 9(2012): e1001356.
doi:10.1371/journal.pmed.1001356
2. World Health Organization **Infertility definitions and terminology** dostupno na :
<http://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/definitions/en/>
3. Šimunić Velimir i suradnici, **Ginekologija** , Zagreb : *Naklada Ljevak*, 2001, str. 349-367
4. Mamula O, Smiljan Severinski N, Haller H, **Očuvanje plodnosti, medicinski potpomognuta oplodnja i maligna bolest**, *Medicina*, 2007; 43: 295-302
5. Jain JK, Paulson RJ. **Oocyte cryopreservation.** *Fertil Steril* 2006; 86:1037.
6. Šimunić Velimir, **Prvi hrvatski kongres o medicinskoj oplodnji** , *Gynaecol Perinatol* 2010; 19(3)
7. American College of Obstetricians and Gynecologists, **Oocyte cryopreservation. Committee opinion No. 584** , *Obstet Gynecol* 2014;123:221–2.
8. Vlaisavljević V, **Dobra klinička praksa u potpomognutoj reprodukciji : Izvješće ESHRE – Lipanj 2008** , *Gynaecol Perinatol* 2008; 17(4):237-240
9. Duić V, **Kontroverzni učinci primjene Zakona o medicinskoj oplodnji iz 2009. godine na uspješnost postupaka u Hrvatskoj**, *JADR* 2012; 3(5): UDK 34:818
10. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. **Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause.** *Hum Reprod* 1992; 7:1342.

11. Stolwijk AM, Zielhuis GA, Sauer MV, et al. **The impact of the woman's age on the success of standard and donor in vitro fertilization.** *Fertil Steril* 1997; 67:702.
12. Volarcik K, Sheean L, Goldfarb J, et al. **The meiotic competence of in-vitro matured human oocytes is influenced by donor age: evidence that folliculogenesis is compromised in the reproductively aged ovary.** *Hum Reprod* 1998; 13:154.
13. Pellestor F, Andréo B, Arnal F, et al. **Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes.** *Hum Genet* 2003; 112:195.
14. Rao GD, Chian RC, Son WS, et al. **Fertility preservation in women undergoing cancer treatment.** *Lancet* 2004; 363:1829.
15. Oktay K, Cil AP, Bang H. **Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis.** *Fertil Steril* 2006; 86:70.
16. Cobo A, García-Velasco JA, Coello A, et al. **Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation.** *Fertil Steril* 2016; 105:755.
17. Cobo A, Diaz C. **Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.** *Fertil Steril* 2011; 96:277.
18. Fuček Ivan, **Moralno-duhovni život, Život-Smrt**, Split : *Verbum* 2008.
19. Fadel HE, **Islamic Shari'ah rulings on new reproductive choices,** *Jima*, 2005 ;37: 77
20. Silber SJ, **Judaism and reproductive technology,** *Cancer Treat Res*, 2010; 156: 471-480
21. **Zakon o medicinski pomognutoj oplodnji,** *NN 86/12*, dostupno na :
www.zakon.hr

22. Cil AP, Seli E, **Current trends and progress in clinical applications of oocyte cryopreservation**, *Curr Opin Obstet Gynecol* 2013; 25(3) : 10.1097

ŽIVOTOPIS

Ivona Bušac, rođena 1. kolovoza 1990. godine u Rijeci.

Pohađa talijansku osnovnu školu Dolac, te talijansku gimnaziju u Rijeci, Scuola elementare

superiore di Fiume.

2009. godine maturira sa odličnim i upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Beogradu.

Akadske godine 2011./12. vraća se u Rijeku gdje upisuje 2. godinu studija medicine i

razlikovne predmete.

Od 2013. do 2014. godine vrši dužnost glavnog tajnika međunarodne udruge studenata

medicine CroMSIC.

Tečno govori 2 jezika (engleski i talijanski), a služi se španjolskim i njemačkim.