

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Karmela Majić**

**UTJECAJ RIZIČNIH ČIMBENIKA NA PARAMETRE  
SPERMIOGRAMA, ANALIZA SPERMIOGRAMA U CENTRU ZA  
MEDICINSKI POMOGNUTU OPLODNJU, KBC SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina: 2015./2016.**

**Mentorica: Doc.dr.sc. Jelena Marušić**

**Split, prosinac 2016.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Karmela Majić**

**UTJECAJ RIZIČNIH ČIMBENIKA NA PARAMETRE SPERMIOGRAMA,  
ANALIZA SPERMIOGRAMA U CENTRU ZA MEDICINSKI POMOGNUTU  
OPLODNJU, KBC SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina: 2015./2016.**

**Mentorica: Doc.dr.sc. Jelena Marušić**

**Split, prosinac 2016.**

## SADRŽAJ:

1. UVOD .....	1
1.1. PROBLEM I DEFINIRANJE NEPLODNOSTI.....	2
1.2. EPIDEMIOLOŠKI PODATCI .....	2
1.3. ETIOLOGIJA NEPLODNOSTI.....	2
1.4. RIZIČNI ČIMBENICI MUŠKE NEPLODNOSTI .....	3
1.4.1. Dob.....	3
1.4.2. Debljina.....	3
1.4.3. Pušenje .....	4
1.4.4. Alkohol .....	4
1.4.5. Kofein .....	4
1.4.6. Izloženost na radnom mjestu.....	4
1.4.7. Utjecaj visoke temperature na spermatogenezu.....	5
1.4.7.1. Donje rublje.....	5
1.4.7.2. Nošenje plastičnih pelena kod muške djece .....	5
1.4.7.3. Profesionalna izloženost viskom temperaturama .....	6
1.4.8. Prehrana .....	6
1.4.9. Okolinski faktori i epigenetski učinak na plodnost.....	7
1.5. MUŠKA NEPLODNOST.....	7
1.6. UZROCI MUŠKE NEPLODNOSTI.....	8
1.6.1. Predtestikularna neplodnost .....	8
1.6.2. Testikularna neplodnost .....	8
1.6.2.1. Kriptorhizam .....	8
1.6.2.2. Genetski poremećaji .....	9
1.6.3. Posttestikularna nepolodnost .....	10
1.6.4. Poremećaji ejakulacije .....	11
1.7. OSTALI UZROCI MUŠKE NEPLODNOSTI.....	11
1.7.1. Sindrom oligo-asteno-teratozoospermije (Sy OAT).....	11
1.7.1.1. Anomalije glave spermija.....	11
1.7.1.2. Anomalije repa spermija .....	12
1.7.2. Neopstruktivna azoospermia (NOA) .....	12
1.8. GRAĐA SPERMIJA .....	13

1.9. SPERMATOGENEZA .....	13
1.10. ANALIZA SPERMIOGRAMA I NORMALNE VRIJEDNOSTI SJEMENA.....	15
1.10.1. Makroskopski izgled ejakulata i pH.....	15
1.10.2. Mikroskopska analiza sjemena .....	15
1.10.2.1. Pokretljivost spermija.....	16
1.10.2.2. Morfologija spermija.....	16
1.10.2.3. Vitalnost spermija .....	16
1.10.2.4. Koncentracija spermija i njihov ukupan broj .....	17
1.11. POSTAVLJANJE DIJAGNOZE.....	19
1.12. LIJEČENJE .....	20
1.12.1. Liječenje predtestikularne neplodnosti .....	21
1.12.2. Liječenje testikularne neplodnost.....	21
1.12.2.1. Liječenje kriptorhizma .....	21
1.12.2.2. Liječenje genetskih poremećaja .....	21
1.12.2.3. Liječenje varikokele .....	22
1.12.3. Liječenje posttestikularne neplodnosti.....	22
1.12.3.1. Liječenje neopstruktivne azoospermije (NOA).....	22
1.12.3.2. Liječenje opstruktivne azoospermije (OA) .....	22
1.12.4. Liječenje poremećaja ejakulacije .....	23
2. CILJ I HIPOTEZE .....	24
3. ISPITANICI I METODE .....	26
4. REZULTATI.....	29
5. RASPRAVA.....	43
6. ZAKLJUČAK .....	49
7. LITERATURA.....	51
8. SAŽETAK.....	58
9. SUMMARY .....	60
10. ŽIVOTOPIS .....	63

*Od srca zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na vječnoj podršci kroz ovo akademsko putovanje.*

*Posebno zahvaljeujem prijatelju Silvesteru na ukazanoj pomoći i srdačnoj podršci.*

*Također, zahvaljujem i svojoj mentorici doc.dr.sc. Jeleni Marušić na pomoći pri izradi diplomskog rada.*

*Svoj rad posvećujem najdražoj i najboljoj majci, Jasminki.*



## **1. UVOD**

## **1.1. PROBLEM I DEFINIRANJE NEPLODNOSTI**

Neploidnost je ozbiljan globalni medicinski i socijalni problem. Stajališta o reprodukciji veoma su se promijenila, kako u zapadnim zemljama, tako i u Hrvatskoj. Izuzev cijelog niza medicinskih čimbenika koji bitno pridonose neplodnosti, veliku ulogu imaju i različiti nemedicinski čimbenici; socijalni i ekonomski čimbenici te današnji svjetonazor.

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) definira neplodnost kao stanje tijekom kojeg spolno aktivni muškarac i žena ne uspijevaju začeti dijete, a da pritom ne koriste kontraceptivna sredstva u razoblju od jedne godine (1).

## **1.2. EPIDEMIOLOŠKI PODATCI**

Demografski podatci koje je objavila SZO ukazuju na trend povećanja stope neplodnosti u svijetu za oko 5% posljednjih 30 godina te na zamjetno povećanje stope neplodnosti u razvijenim zemljama svijeta u odnosu na nerazvijene.

Procjenjuje se da je danas u razvijenim zemljama zapada 15-17% parova neplodno, a tome poprilično pridonosi trend rađanja u kasnijoj životnoj dobi. Zapravo, od prave neplodnosti pati 10-12% parova koji ne mogu zanijeti bez liječenja, dok subfertilnih parova ima 5-7% te oni mogu zanijeti bez liječenja ili uz minimalnu pomoć liječnika.

U našoj zemlji neplodnost ili umanjenu plodnost bilježi ukupno 80 000 parova. Više od polovice ih ne traži liječničku pomoć (2).

## **1.3. ETIOLOGIJA NEPLODNOSTI**

Međuodnos uzroka neplodnosti dosta se mijenja zadnjih tridesetak godina. Statistika pokazuje da su muška neplodnost, endometrioza, anomalije spolnog sustava te sve češće ginekološke operacije u porastu kao uzroci. Uzroci neplodnosti se mogu podijeliti na: ženske 35% (anovulacije, oštećenje tuba, endometrioza, nenormalnosti maternice i cervikalni faktor), muške 35% (subfertilnost i infertilnost) te zajedničke 30% (nerazjašnjena neplodnost, kombinirana, upale spolnog sustava, onkološki problemi) (2).



## **1.4. RIZIČNI ČIMBENICI MUŠKE NEPLODNOSTI**

### **1.4.1. Dob**

Rađanje u kasnijoj životnoj dobi, kao čimbenik rizika koji se može prevenirati, utječe na pojavu neplodnosti. Plodnost žene znatno se smanjuje nakon 32. godine, a muškaraca nakon 42. godine života. Dokazane promjene kod muškaraca s dobi su neprestani blagi pad volumena testisa i broja Sertolijevih i Leydigovih stanica, volumena ejakulata, koncentracije, pokretljivosti i normalnosti morfologije spermija te androgena i spolne funkcije (3).

### **1.4.2. Debljina**

Epidemija pretilosti je relativno nedavno postala ozbiljan globalni problem, pogotovo u razvijenim zemljama. Uzroci porasta pretilih pojedinaca su visoko kalorična prehrana i nedovoljna fizička aktivnost.

Smatra se da u muškaraca debljina i neravnoteža biosignala iz adipocita negativno utječu na kontrolu i funkciju testisa. Smanjena plodnost muškaraca zbog debljine se može očitovati subfertilnim sjemenom, hipogonadizmom, niskim androgenima i spolnom disfunkcijom (2).

Studije koje su proučavale povezanost povišenog BMI (Body Mass Index) s kvalitetom sjemena su kontroverzne; pojedine ukazuju na smanjenu kvalitetu sjemena, dok druge ne nalaze povezanost između povišenog BMI i kvalitete sjemena. Međutim, meta-analiza, koja uključuje 21 studiju i uzorak od 13 000 muškaraca, došla je do zaključka da preuhranjeni i pretili muškarci imaju veću prevalenciju oligozoospermije i azoospermije (4).

Kombinacija dijete i vježbanja kod pretilih ljudi dovodi do povećane pokretljivosti i bolje morfologije spermija, a istodobno smanjuje broj kisikovih radikala i oštećenje DNA samih spermija (5). Muškarci koji vježbaju najmanje 3 puta tjedno po sat vremena imaju bolje rezultate spermiograma, za razliku od muškaraca koji prakticiraju puno učestalije i rigoroznije vježbanje (6).

### **1.4.3. Pušenje**

Prosječno 37% muškaraca reproduktivne dobi su pušači. Prema statistici SZO, u Europi živi najveći broj pušača. U odnosu na nepušače, rizik od neplodnosti kod pušača je 60% viši. Negativni učinci pušenja duhana na plodnost muškaraca su manji volumen ejakulata, niža koncentracija spermija, više abnormalnih spermija i slabija pokretljivost spermija (7).

### **1.4.4. Alkohol**

Alkohol u muškaraca oštećuje spermatogenezu te usporava sazrijevanje spermija. Prekomjerno konzumiranje alkohola reducira pokretljivost i morfološka obilježja samih spermija. Centralno djelovanje alkohola na hipofizno-hipotalamusnu os rezultira hipotestosteronemijom te niskim, normalnim ili visokim gonadotropinima. Negativni učinci alkohola na plodnost muškarca mogu se djelomično povući nakon prestanka konzumiranja alkohola (8).

Prilikom mjerenja svih parametara kvalitete sjemena, osim smanjenog volumena i lošije morfologije, pronađen je i povišen broj leukocita kod ljudi koji su konzumirali alkohol te je konzumiranje alkohola u korelaciji je s većom učestalošću uretritisa (8).

### **1.4.5. Kofein**

Prekomjerno konzumiranje kofeina je problem na globalnoj razini te određene studije tome pripisuju povećan rizik od smrti (9). Pretjerano konzumiranje kofeina negativno utječe na plodnost. Oko 20% ljudi zapadnog svijeta i Hrvatske dnevno konzumira više od 300 mg kofeina (3 šalice kave) (2).

### **1.4.6. Izloženost na radnom mjestu**

Muškarci su, ovisno o vrsti radnog mjesta, izloženi raznim rizičnim čimbenicima kao što su otapala, boje, pesticidi, razne vrste zračenja, metali te visoka temperatura, a svi mogu negativno utjecati na mušku plodnost. Poljoprivrednici i vrtlari koji za rad koriste razne pesticide, imaju povećane koncentracije istih pesticida u urinu (10) te smanjene parametre

sjemena (11), oligozoospermiju (12), smanjen ukupan broj spermija (13) i koncentraciju spermija za 60% (14).

Slikari izloženi određenim bojama mogu doći u kontakt s olovom, kao i osobe koje izrađuju nakit, keramiku ili vitraj. Također, osobe koje su izložene teškim metalima ili pesticidima vrlo vjerojatno će imati smanjenu plodnost (15).

Izloženost različitim vrstama i količinama zračenja može imati trajne posljedice za zdravlje. Zračenja u obliku X-zraka i gama zraka mogu biti opasna za osjetljive stanice u ljudskom tijelu, uključujući zametne i Leydigove stanice.

Učestalo nošenje mobilnih telefona ima negativne učinke na mušku plodnost kao što su smanjena pokretljivost spermija, porast abnormalnih spermija i smanjen ukupan broj spermija, koji su posljedica radiofrekventnih elektromagnetskih valova (16,17). U studiji u kojoj su sudjelovala 52 muškarca koji su nosili mobilni telefon oko pojasa ili oko bokova, nađena je smanjena pokretljivost spermija u usporedbi sa muškarcima koji su svoje mobilne telefone nosili negdje drugo ili ih uopće nisu nosili (18).

#### **1.4.7. Utjecaj visoke temperature na spermatogenezu**

Visoka skrotalna temperatura negativno utječe na spermatogenezu.

##### *1.4.7.1. Donje rublje*

Postavlja se pitanje da li nošenje uskog donjeg rublja povisuje skrotalnu temperaturu i tako utječe negativno na kvalitetu sjemena. Studije su po tom pitanju kontroverzne, jedne su dokazale značajnu povezanost, dok druge nisu našle nikakvu povezanost između nošenja uskog donjeg rublja i kvalitete sjemena (19).

##### *1.4.7.2. Nošenje plastičnih pelena kod muške djece*

Većina roditelja nije ni svjesna kakvom riziku izlaže svoje dijete zbog 24h nošenja plastičnih pelena u prve 2-3 godine života. Nepropusni polimer te gel apsorbensi dodani za poboljšanje kvalitete pelena uzrokuju cijeli niz problema koji kasnije nastaju, poput kroničnog pelenskog osipa, respiratornih problema (astma), muške neplodnosti te čak i raka testisa (20).

#### *1.4.7.3. Profesionalna izloženost visokom temperaturama*

Profesionalna izloženost visokim temperaturama nepovoljno utječe na funkciju testisa, što uzrokuje djelomičan ili potpun prestanak spermatogeneze. Ličiocci, kuhari, ljudi koji rade sa visoko toplinskim pećima (talioci, varioci u brodogradilištima, pomorci, itd.) te muškarci sa varikokelom razvijaju hipertermiju testisa, što u konačnici dovodi do oligoastenoteratozoospermije (OAT) i azoospermije. Randomizirana kontrolirana studija analizirala je sjeme 122 neplodna muškarca, prema pravilniku SZO te je dokazala da je 106 muškaraca azoospermično, a 16 oligozoospermično. 20 azoospermičnih i 14 oligozoospermičnih muškaraca je imalo visoke testikuloepididimalne temperature, bilo zbog profesionalne izloženosti ili varikokele. Svih 14 oligozoospermičnih muškaraca je imalo visok postotak morfološki abnormalnih spermija sa smanjenom pokretljivošću te su oni klasificirani u podgrupu OAT. Rezultati studije ukazuju kako visoka intratestikularna temperatura uzrokuje djelomični ili potpuni prestanak spermatogeneze te može dovesti do povećanja morfološki abnormalnih spermija sa smanjenim motilitetom (21).

#### **1.4.8. Prehrana**

Prehrana može imati utjecaj na mušku neplodnost. Konzumiranje namirnica bogatih ugljikohidratima, vlaknima, folnom kiselinom i likopenom, kao i konzumiranje voća i povrća korelira s poboljšanom kvalitetom sjemena (22). Konzumiranje manje količine proteina i masti poboljšava plodnost (23). Također, pozitivan utjecaj na plodnost mogli bi imati i antioksidansi koji čuvaju tijelo od štetnih učinaka slobodnih kisikovih radikala. Oksidativni stres stanica nastaje zbog djelovanja slobodnih kisikovih radikala koji su nastali kao nusprodukt staničnih procesa. Također, oksidativni stres može dovesti do disfunkcije spermija zbog djelovanja slobodnih kisikovih radikala na proteine, lipide i DNA spermija. Brojni antioksidansi su se pokazali korisnima u liječenju muške neplodnosti, npr. vitamin C, vitamin E, glutation i koenzim Q10. Niz terapija nutricionističkog tipa dovelo je do poboljšanja slike spermioograma, odnosno do povećanja broja i pokretljivosti spermija. U toj terapiji prehranom uključeni su karnitin, arginin, cink, selen i vitamin B12 (24).

Cochrane sustavni pregled, koji uključuje 34 studije, utvrđuje podatak da muškarci koji uzimaju oralne antioksidanse imaju značajan porast plodnosti u odnosu na kontrolu (25).

#### **1.4.9. Okolinski faktori i epigenetski učinak na plodnost**

U ljudskom okolišu i hrani postoje brojne i raznovrsne kemikalije, konzervansi, kozmetički proizvodi i izvori ionizirajućeg zračenja koji epigenetski djeluju štetno i smanjuju plodnost. Prehrana ili toksini ne izazivaju genetske, već epigenetske mutacije (26). Riječ je o promjenama ekspresije gena, aktivnosti gena i fenotipa, bez promjena slijeda DNA.

Sve je čvršće dokazano da brzi pad plodnosti muškaraca u posljednjih 30 do 50 godina, možemo povezati s rastućom izloženosti estrogenima i ksenobiotičima, anaboličkim steroidima, industrijskim proizvodima (plastika, teški metali, pesticidi, herbicidi i otapala), načinom života i zaposlenjem (pušenje, alkohol, droga, stres, ionizirajuće zračenje i povišena temperatura) (2).

#### **1.5. MUŠKA NEPLODNOST**

Razlikuje se primarna i sekundarna muška neplodnost. Primarna neplodnost podrazumijeva da muškarac nikada nije oplodio ženu, dok je kod sekundarne muške neplodnosti muškarac već ostvario trudnoću s partnericom, ali ga nema sa sadašnjom partnericom (1).

Brojni rizični čimbenici i stanja predisponiraju nastanku neplodnosti kod muškaraca te dovode do širokog skupa poremećaja koji kompromitiraju oplodnju jajne stanice i u konačnici ostvarivanje trudnoće. Među najčešće poremećaje koji uzrokuju neplodnost ubrajamo anomalije i infekcije urogenitalnog sustava, povišenu temperaturu unutar skrotalnih vreća (varikokela, uvjeti radnog mjesta i sl.), poremećaje endokrinog i imunskog sustava te genetske anomalije. Unatoč današnjim razvijenim dijagnostičkim metodama, u 30-40% slučajeva ne možemo utvrditi uzrok neplodnosti (idiopatska neplodnost muškarca) (27).

Neke novije studije ukazuju na povezanost muške neplodnosti i kasnije veću sklonost (i do 100 puta) nastanku novotvorina testisa (1).

## **1.6. UZROCI MUŠKE NEPLODNOSTI**

Uzroci muške neplodnosti dijele se na predtestikularne, testikularne i posttestikularne.

### **1.6.1. Predtestikularna neplodnost**

Osovina hipotalamus-hipofiza-testis ima značajnu ulogu u razvoju muških spolnih organa kao i kasnijem funkcionalnom razvoju testisa. Najčešći poremećaji koji remete funkciju osovine su: tumori hipofize (kraniofaringeomi, meningeomi, funkcijski adenomi), trauma glave, štetno djelovanje lijekova, upotreba steroida i drugo (28).

Razlikujemo dvije vrste poremećaja: hipogonadotropni hipogonadizam i hipergonadotropni hipogonadizam. Kod hipogonadotropnog hipogonadizma izostaje normalna sekrecija gonadotropin-oslobađajućeg hormona (GnRH), što rezultira sniženim vrijednostima folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH). Drugi poremećaj, hipergonadotropni hipogonadizam, obilježavaju visoke koncentracije FSH i LH ili prolaktina (PRL), a kod takvih bolesnika treba prvo pomisliti na funkcijski hipersekcijski adenom hipofize.

### **1.6.2. Testikularna neplodnost**

Uzroci testikularne neplodnosti su: nedostatak testisa, testikularna disgeneza (kriptorhizam), genetske abnormalnosti (Klinefelterov sindrom, Y-mikrodelecije i dr.), trauma, torzija testisa, postupalne promjene, vanjski čimbenici (lijekovi, pušenje, zračenje, vrućina, kemoterapijsko liječenje), sistemske bolesti, varikokela, operacije koje mogu dovesti do vaskularne ozljede testisa i idiopatski uzroci (28).

#### *1.6.2.1. Kriptorhizam*

Ako se testis ne spusti tijekom ranog djetinjstva u skrotum, već zaostane u trbušnoj šupljini ili preponskom kanalu, riječ je o kriptorhizmu. To je jedna od češćih kongenitalnih anomalija koja u relativno velikom postotku dječaka dovodi do infertilnosti u odrasloj dobi (28).

Testis koji nije u skrotumu izložen je djelovanju više temperature tijela, što trajno oštećuje spermatogenezu (29).

U 3-4% novorođenčadi i čak 30% nedonoščadi testisi se na rođenju ne nalaze u skrotumu (30). Prevalencija na kraju prve godine je 0,5% i gotovo da se ne mijenja do odrasle dobi, što znači da će nakon prve godine rijetko doći do spontanog descenzusa testisa u skrotum.

#### *1.6.2.2. Genetski poremećaji*

Pojavnost kromosomskih abnormalnosti u populaciji neplodnih pacijenata iznosi 5,8% (1).

Kalmanov sindrom je genetski poremećaj na razini X-kromosoma, a bolesnici boluju od hipogonadotropnog hipogonadizma, anosmije, testisa zaostalih u trbušnoj šupljini i drugih poremećaja.

Sindrom neosjetljivosti na androgene (Morrisov sindrom) uzrokovan je također poremećajem gena na X-kromosomu receptora za androgene. To je primjer muškog pseudohermafroditizma; muški kariotip (XY), ali su fenotipski žene. Testisi ne proizvode androgene, a još češća je pojava periferne neosjetljivosti na androgene. Povišen estrogen uzrokuje razvoj dojki pa im se radi gonadektomija zbog povišenog rizika od nastanka karcinoma iz zaostalih testisa. Genetski poremećaj na Y-kromosomu, odnosno mikrodelecije unutar Y-kromosoma su najčešći genetski poremećaj koji dovodi do teške oligozoospermije ili azoospermije, međutim, začecje je moguće. Djeca takvih roditelja su često fenotipski normalna, ali su muška djeca neplodna.

Cistična fibroza je autosomno recesivna bolest čiji genetski poremećaj zahvaća CFTR-gen. Spomenuti gen je također nužan za normalno formiranje ejakulatornih kanala, sjemenovoda, sjemenskih mjehurića i distalnih dviju trećina epididimisa (1). Više od 95% muškaraca s cističnom fibrozom je azoospermično i sterilno zbog nerazvijenosti sjemenovoda, dok su spolne funkcije očuvane (31).

Klinefelterov sindrom je također jedan od češćih genetskih poremećaja spolnog kromosoma; može se raditi o punom fenotipu (47, XXY) ili mozaicizmu (46, YY/47, XXY). Ovisno o genetskoj izraženosti različite su fenotipske osobine i stupanj neplodnosti. U takvih bolesnika postoji mogućnost začecja djeteta, ali su učestalije kromosomopatije kod potomaka. U bolesnika s koncentracijom spermija  $<1 \times 10^6$ /mL preporuča se genetsko testiranje (28).

### 1.6.2.3. Varikokela

Varikokela je patološko proširenje venskog pampiniformnog pleksusa, češće se pojavljuje na lijevoj strani testisa. Incidencija varikokele kod zdravih muškaraca je 15%, dok se u neplodnih muškaraca javlja sa učestalošću do 40% (32).

Etiologija nastanka varikokele je nepoznata, međutim, poznato je da jedan od načina kako varikokela oštećuje spermatogenezu jest povišenje temperature u skrotumu, koje smanjuje broj i pokretljivost spermija.

Dijagnoza varikokele se postavlja kliničkim pregledom, koji treba obuhvaćati pregled testisa u stojećem i ležećem položaju te Valsalvin manevar. Smatra se kako samo klinički palpabilna varikokela ima utjecaj na mušku neplodnost, zato dodatne pretrage nisu klinički potrebne (28).

Indikacije za operaciju varikokele su klinički palpabilan nalaz, poremećen spermogram i bolna varikokela.

### 1.6.3. Posttestikularna nepolodnost

Nedostatak spermija ili spermatogenih stanica u ejakulatu ili postejakulacijskom urinu govori u prilog opstruktivskoj azoospermiji (28).

Učestalost opstruktivske azoospermije je manja nego neopstruktivske azoospermije te iznosi 15-20%, a posljedica je obostrane opstrukcije ejakulatornih kanala. Od prirođenih uzroka najčešća je idiopatska opstrukcija epididimisa, a od stečenih upala, trauma ili raniji operativni zahvat.

Prilikom postavljanja dijagnoze važno je uzeti anamnezu pacijenta, odnosno saznati njegove prethodne bolesti genitourinarnog trakta. Pri kliničkom pregledu testisi su normalne veličine, epididimisi su zadebljani ili čvorasti, a vasa deferens može potpuno nedostajati. Hormonski status je normalan.

Volumen ejakulata je <1,5 mL, pH je nizak, a razina fruktoze sjemenne tekućine također je niska (28). Ultrazvuk (UZV) je jako korisna dijagnostička metoda, kojom vidimo zadebljanje epididimisa uz proširenje kanalića. Također se koristi i TRUS (transrektalni UZV), kojim možemo vidjeti zadebljanje sjemenih mjehurića. Analiza urina je obavezna kako bi provjerili ima li bolesnik retrogradnu ejakulaciju (1).



#### 1.6.4. Poremećaji ejakulacije

Anejakulacija uključuje potpuni nedostatak antegradne ili retrogradne ejakulacije. Uzroci mogu biti neurološki ili posredovani lijekovima.

Anorgazmija je psihološki poremećaj pri kojemu nedostaje osjećaj orgazma te kao posljedica izostaje ejakulacija.

Retrogradna ejakulacija je potpuni ili djelomični nedostatak antegradne ejakulacije, pri čemu sperma retrogradno ulazi u mokraćni mjehur. Uzroci su neurološki i farmakološki, uretralni ili slabost vrata mokraćnog mjehura.

Prerana ejakulacija podrazumijeva nemogućnost dovoljno duge kontrole ejakulacije pri vaginalnoj penetraciji. Uzroci mogu biti organski ili psihički (28).

### 1.7. OSTALI UZROCI MUŠKE NEPLODNOSTI

#### 1.7.1. Sindrom oligo-asteno-teratozoospermije (Sy OAT)

Ključni pokazatelji sindroma OAT su: snižena koncentracija spermija ( $<15 \times 10^6/\text{mL}$ ), manjak pokretnih spermija ( $<32\%$ ) i manje od 4% spermija normalne morfologije (1).

OAT sindrom popraćen je raznim poremećajima građe muških spolnih stanica. One se mogu podijeliti na anomalije glave, repa ili kombinirane anomalije (33).

##### 1.7.1.1. Anomalije glave spermija

Dvoglavi spermiji imaju dvije glave i zasebna dva dijela srednjeg repa koji se ujedinjuju u području anulusa u jedan glavni završni dio repa.

Glave spermija mogu biti izrazito velike (*macrospermia*) ili okrugle (*globozospermia*) (1).

Globozospermia je rijedak i težak poremećaj neplodnosti, uzrokovan nedostatkom akrosoma. Nedostatak akrosoma može se nadoknaditi samo ICSI (intracitoplazmatska injekcija spermija) metodom, čija je uspješnost kod takvih slučajeva niska. Mikrospermija ili spermij s glavom nalik na pribadaču („pin-head spermatozoa“) jeste poremećaj koji karakterizira vrlo mala glava spermija, dok im je pokretljivost nerijetko izrazito dobra. Međutim, zbog oštećene genetske informacije, ne dolazi do uspješne oplodnje.

Unutar glave spermija često možemo naići na membranske inkluzije koje mogu dovesti do deformacije jezgre i akrosoma.

Osim poremećaja glave možemo imati i poremećaje akrosoma, a on mora prekrivati 40-70% jezgre te biti odgovarajućeg oblika.

#### *1.7.1.2. Anomalije repa spermija*

Poremećaj može zahvaćati dužinu repa, što dovodi do smanjene pokretljivosti ili nepokretnih spermija. Također, moguće je naići na spermije sa dvostrukim repom ili poremećaj može nastati prilikom migracije centriola i mitohondrija. Za normalnu funkciju repa prijeko je potreban pravilan raspored mikrotubula i dineinskih ručica i zrakastih žibica koje povezuju periferne sa središnje položenim mikrotubulima (1). Poremećaj u bilo kojoj od ovih sastavnica repa uzrokuje poremećaj pokretljivosti. Nedostatak dineinskih ručica uzrokuje sindrom nepomičnih trepetljika (*Kartagenerov sindrom*) (34).

#### **1.7.2. Neopstruktivna azoospermia (NOA)**

Imamo dvije vrste azoospermije; opstruktivna (OA) i neopstruktivna (NOA). NOA se javlja sa učestalošću od 80%, dok na opstruktivnu otpada samo 20%. Uzroci NOA se uvelike preklapaju sa čimbenicima koji uzrokuju OA.

Prilikom uzimanja anamneze bolesnici često navode kriptorhizam u djetinjstvu, upale ili ozljede genito-urinarnog trakta, uzimanje određenih lijekova i dr. Tijekom fizikalnog pregleda može se uočiti smanjen volumen obaju testisa.

Za razliku od nekih oblika OA bolesnici sa NOA obično imaju normalan volumen ejakulata (1). Vrijednosti FSH i LH su u većini slučajeva povišeni i odgovaraju slici hipergonadotropnog hipergonadizma, dok je testosteron u oko 90% slučajeva normalan, a može bit i snižen. Inhibin B je obično snižen.

## 1.8. GRADA SPERMIJA

Spermij se sastoji od **glave** i **repa** koji su spojeni tzv. spojnim dijelom koji čine proksimalni i dio distalnog centriola s pripadajućim matriksom.

**Glava** sadrži jezgru koja je u znatnoj mjeri prekrivena akrosomom. Akrosom sadrži mnoštvo kiselih hidrolaza, enzima kao što su proteaze, kiselu fosfataza, hijaluronidaza, neuraminidaza i dr., koji su veoma važni za otapanje zone pellucide i corone radiate prilikom penetracije spermija u oocitu (35).

**Rep** spermija sastoji se od tri dijela: srednjeg, glavnog i završnog, a svaki ima specifičnu građu koja mu određuje funkciju. U srednjem dijelu se nalaze spiralno zavijeni mitohondriji koji okružuju aksonemu građenu od mikrotubula i jednog centralno položenog para. Između mitohondrijskog omotača i aksoneme nalazi se devet tvorbi, tzv. gustih vlakana. Na tom mjestu mitohondriji prestaju, a aksonemi se pridružuje sedam gustih vlakana omeđenih sustavom elektronsko-mikroskopskih gustih fibroznih „rebara“. Izvana se još nalaze uzdužno raspoređena izbočenja, dijelovi fibrozne ovojnice. Završni dio repa je vrlo kratak i sastoji se od jednog centralnog para te perifernih parova mikrotubula omeđenih staničnom membranom. Periferne susjedne parove mikrotubula povezuje bjelančevina dinein u obliku ručica. Dinein je odgovoran za pokretljivost repa spermija (36). Oko središnjeg para mikrotubula nalazi se ovojnica prema kojoj se pružaju zrakasta vretena, tvorbe koje polaze iz perifernih mikrotubula (Slika 1).

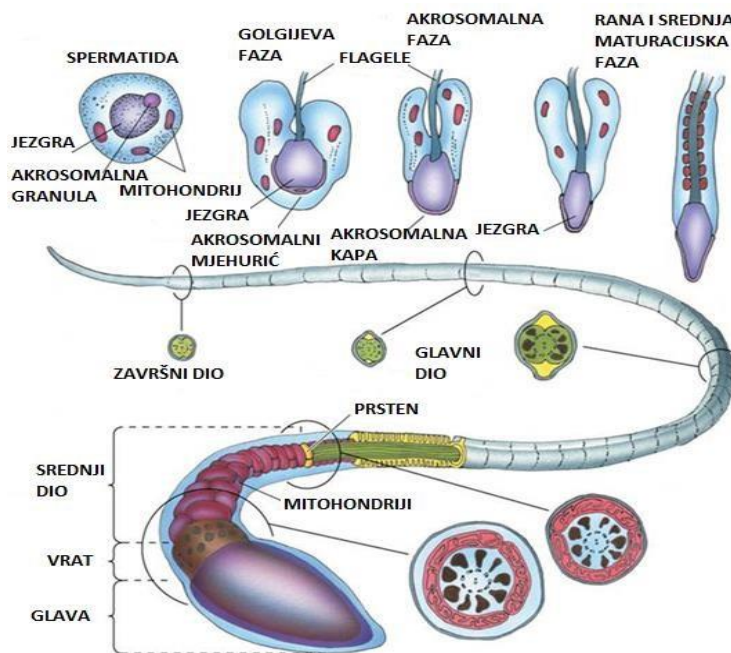
Gibanje repa je složeni proces koji uključuje mikrotubule, ATP i dinein koji ima djelovanje ATP-aze (37).

## 1.9. SPERMATOGENEZA

Spermatogeneza je potaknuta stimulacijskim djelovanjem gonadotropnih hormona adenohipofize i jedan je od najproduktivnijih samoobnavljajućih procesa diferencijacije čiji je konačni rezultat zreli spermij. Počinje u dobi od 13 godina, a nastavlja se do kraja života (38). Trajanje ciklusa spermatogeneze je 69-80 dana, prosječno 74 dana (39). Započinje s primitivnom spolnom stanicom, spermatogonijom i dijeli se u više faza (Slika 1).

- **Spermatocitogeneza:** spermatogonalne zametne stanice proliferiraju i diferenciraju se u diploidne spermatogonije i primarne spermatocite (najveće stanice spermatogenetske loze).

- **Mejoza I:** iz diploidnih primarnih spermatocita nastaju sekundarne haploidne spermatocite.
- **Mejoza II:** diobom svake sekundarne spermatocite nastaju dvije spermatide (jedna od najkritičnijih faza; dnevni masovni gubitak spermija (od 50 %) (38).
- **Spermatogeneza:** nastale jednostavne spermatide prolaze proces složene fiziološke, biokemijske i citomorfološke diferencijacije i pretvaraju se u visoko diferencirane spermije. Proces traje 22 dana.



**Slika 1.** Prikaz Golgijeve, akrosomalne i maturacijske faze tijekom diferencijacije spermija u spermiogenezi

(Izvor: <http://www.austincc.edu/apreview/NursingPics/ReproPics/Picture11.jpg>., pristup: 17.7.2016)

## **1.10. ANALIZA SPERMIOGRAMA I NORMALNE VRIJEDNOSTI SJEMENA**

Spermioqram (analiza sjemene tekućine) je jedan od prvih dijagnostičkih postupaka kod traženja uzroka neplodnosti. Bilježi se porast muške neplodnosti na koju danas otpada oko 30-50% ukupne neplodnosti para.

Prilikom analiziranja spermioqrana jako je važno pravilno prikupiti uzorak, da bi se nalaz mogao pravilno interpretirati (Prilog 1. – uputa pacijentima za dijagnostičku obradu sjemena). Muškarac mora apstinirati 2-7 dana prije davanja uzorka sjemena. Davanje uzorka se obavlja u zdravstvenoj ustanovi ili kući, ali uzorak ne smije biti stariji od 1h. Dijagnoza se postavlja na 2-3 uzorka (nikad na temelju jednog uzorka) u razmacima 3-6 mjeseci (Tablica 1) (35).

### **1.10.1. Makroskopski izgled ejakulata i pH**

*Boja* normalnog ejakulata je sivkastobijela. Izrazito bijela boja može upućivati na veliki broj spermija, ali i na prisutnost leukocita. Crvenkasta boja znak je prisutnosti eritocita u ejakulatu. Žuti ejakulat može biti znak infekcije ili pak žutice.

*pH-vrijednosti* veće od 8 upućuju na infekciju, a sniženi pH (oko 7) i smanjeni volumen ejakulata (1,5 mL) upućuju na opstruktivnu azoospermiju.

### **1.10.2. Mikroskopska analiza sjemena**

Analiziramo svježi uzorak („wet preparation“) koji je nerazrijeđen; analiza se obavlja pod mikroskopom s faznim kontrastom. Pipetom uzmemo mali volumen sjemena, stavimo ga na predmetno stakalce te uzorak pokrijemo pokrovnim stakalcem.

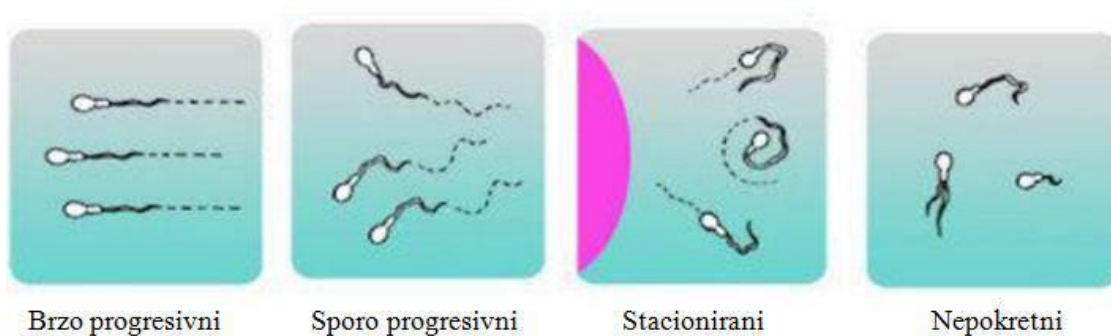
Važno je uočiti postoji li pojava aglutinacije spermija (glava na glavu, glava na rep i rep na rep) i njezin intenzitet upućuje na uredne imunolosne mehanizme.

Tablica 2 prikazuje donje referentne vrijednosti mikroskopske analize sjemena po kriterijima SZO-a.

### 1.10.2.1. Pokretljivost spermija

Analizu je poželjno obaviti 30 minuta nakon ejakulacije (najviše do 60 min), pri temperaturi od 37 °C (ili na sobnoj temperaturi 20-24 °C), na povećanju od 400 do 600 puta.

Spermiji se dijele na one koji se gibaju brzo i sporo progresivno (PR – linearno prema naprijed, u širokim lukovima), neprogresivno (NP – rep se miče, ali stanica stoji na mjestu, odnosno postoji pokretljivost u manjim krugovima) i nepomične (IM – ne postoje znakovi pokretljivosti) (Slika 2) (35).



**Slika 2.** Prikaz pokretljivosti spermija po kategorijama

(Izvor: <http://www.leonsaporta.com/en-male-infertility-physiology-causes.php>; preuzeto: 11.11.2016)

### 1.10.2.2. Morfologija spermija

Zbog viskoznosti sjemena, prilikom proučavanja morfologije spermija koristimo razmaz sjemena koji je sušen na zraku, fiksiran i obojen. Bojanje se primjenjuje sukladno preporukama SZO-a po Papanicolaouu, Schorru ili metodi Diffqik.

Spermiji sposobni za oplodnju su oni koji imaju pravilnu ovalnu glavu, vitak srednji dio te uredan glavni dio repa bez prekida i lomova. Akrosom mora biti dobro vidljiv te prekrivati 40-70% glave, a vakuole akrosoma ne smiju biti veće od 20% ukupnog akrosoma.

### 1.10.2.3. Vitalnost spermija

Ako imamo manje od 40% pokretljivih spermija treba utvrditi zašto su stanice slabo pokretne ili nepokretne, a jedan od najčešće primjenjivanih testova je eozinski test. Taj se test zasniva na činjenici da boja eozin u živućih vitalnih stanica ne prodire kroz staničnu membranu, a kod mrtvih stanica prodire pa se one oboje crveno (35).

#### 1.10.2.4. Koncentracija spermija i njihov ukupan broj

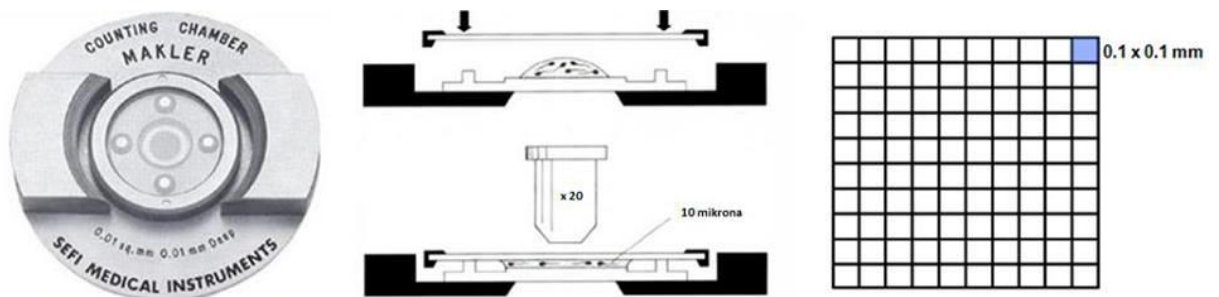
Za određivanje koncentracije i kinetike spermija najčešće se upotrebljava Makler komora (Slika 3). Klinički embriolog stavlja 20  $\mu\text{L}$  uzorka sjemena na predmetno stakalce Makler brojače komore i prekrije pokrovnim stakalcem s mrežicom. Svjetlosnim i fazno-kontrastnim mikroskopom (RU-2, RU-37) pod povećanjem  $100\times$  i  $200\times$  analizira se broj i kinetika pokretnih spermija. Tijekom brojenja uzimaju se u obzir samo intaktni spermiji s glavom i kompletnim repom. Broj spermija u 10 polja mrežice izražava se kao broj spermija u milijunima po mililitru uzorka ( $10^6/\text{mL}$ ).

Za određivanje koncentracije spermija također se može upotrebljavati modificirana komorica po Neubaeru, dubine  $100\mu\text{m}$ . Sjeme se promatra pod povećanjem od  $400\times$ , a razrjeđuje se najčešće bikarbonatnim formalinom.

Koncentracija spermija dobiva se množenjem faktora razrjeđenja i broja spermija u komorici definiranog volumena (40).

Ukupan broj spermija u ejakulatu dobiva se množenjem koncentracije spermija u mililitru sperme i ukupnog volumena ejakulata (40).

Kod slučaja sumnje na azoospermiju, sjeme se obavezno centrifugira, te se u talogu pokušavaju naći spermiji.



**Slika 3.** a) Maklerova komorica, b) Shematski prikaz komorice, c) Mrežica u kojoj se broje spermiji

(Izvor: [http://www.sefimedical.com/images/makler\\_chamber\\_shema.gif](http://www.sefimedical.com/images/makler_chamber_shema.gif), preuzeto: 11.11.2016)

**Tablica 1. Najčešće upotrebljavani termini za analizu sjemena**

Termin	Značenje
<b>Normozoospermija</b> (uredan nalaz)	Parametri vezani za ukupan broj, koncentraciju, pokretljivost, vitalnost i morfologiju spermija jednaki ili viši od donjih referentnih vrijednosti.
<b>Oligozoospermija</b> (<15 milijuna)	Ukupan broj, koncentracija spermija ispod donjih referentnih vrijednosti.
<b>Asthenozoospermija</b> (>32%)	Postotak ili koncentracija spermija s progresivnom pokretljivošću ispod donje referentne vrijednosti.
<b>Teratozoospermija</b> (<4%)	Postotak ili koncentracija morfološki normalnih spermija ispod donje referentne vrijednosti.
<b>Oligoasthenozoospermija</b>	Ukupan broj ili koncentracija i postotak spermija s progresivnom pokretljivošću ispod donjih referentnih vrijednosti.
<b>Oligoteratozoospermija</b>	Ukupan broj ili koncentracija i postotak morfološki normalnih spermija ispod donjih referentnih vrijednosti.
<b>Asthenoteratozoospermija</b>	Postotak progresivno pokretnih i morfološki urednih spermija ispod donjih referentnih vrijednosti.
<b>Oligoasthenoteratozoospermija</b>	Ukupan broj ili koncentracija te postotak spermija s progresivnom pokretljivošću i normalnom morfologijom ispod donjih referentnih vrijednosti.
<b>Cryptozoospermija</b>	Spermiji odsutni u svježem uzorku, ali prisutni nakon centrifugiranja (3000g/15min.).
<b>Necrozoospermija</b>	Niski postotak živućih i visoki postotak nepomičnih spermija u ejakulatu.
<b>Azoospermija</b>	Potpuni nedostatak spermija u ejakulatu (i nakon centrifugiranja).
<b>Leukospermija</b>	Prisutnost leukocita u ejakulatu. (leukocytospermija, pyospermija)
<b>Haemospermija</b>	Prisutnost eritrocita u ejakulatu (haemospermija)
<b>Aspermija</b>	Nedostatak sjemena (ili retrogradna ejakulacija)



## Tablica 2. Donje referentne vrijednosti parametara sjemena

(SZO 2010., 5.precentila, 95% interval pouzdanosti)

Parametri u sjemenu	Referente vrijednosti
Volumen sjemena	1,5 (1,4-1,7)
Ukupan broj spermija (10 <sup>6</sup> u ejakulatu)	39 (33-46)
Koncentracija spermija (10 <sup>6</sup> /mL)	15 (12-16)
Ukupno pokretni spermiji (PR + NP %)	40 (38-42)
Progresivno pokretni spermiji (PR%)	32 (31-34)
Vitalnost (%)	58 (55-63)
Morfologija spermija (normalni oblici, %)	4 (3,0-4,0)

### 1.11. POSTAVLJANJE DIJAGNOZE

Svaka obrada neplodnog muškarca započinje određivanjem spermograma. Potrebno je imati dva nalaza spermograma u razmaku od najmanje mjesec dana kako bi se dijagnosticirala neplodnost. Pri obradi pacijenta potrebno je uzeti detaljnu osobnu anamnezu iz koje možemo saznati o preboljelim dječjim bolestima (zaušnjacima), ranijim operacijama preponske kile, torzije testisa, operacije hidrocele i dr. Također je potrebno saznati pacijentove prehrambene navike (npr. učestalost konzumiranja kave, alkohola, pušenje i druge ovisnosti) i izloženost štetnim čimbenicima na radnom mjestu (kemikalijama, zračenjima i drugo).

Kliničkim pregledom trebamo ustanoviti izgled spolovila, veličinu i konzistenciju testisa, pregledati funikulus, učiniti digitorektalni pregled te obratiti pozornost na sekundarne muške osobine.

Nakon anamneze i kliničkog pregleda postoji cijeli niz radioloških i laboratorijskih pretraga koje nam mogu pomoći u traženju uzroka neplodnosti. Radiološka obrada uključuje UZV CD skrotuma, TRUS prostate te po potrebi magnetsku rezonancu (MR) spolnih organa. Također radimo hormonski status muškarca koji minimalno uključuje FSH i testosteron, a mogu se još raditi LH, prolaktin, PSA, inhibin B i hormoni štitnjače.

U dijagnostici neplodnosti možemo raditi biokemijsku analizu ejakulata, briseve uretre (kod sumnje na infekciju) i genetska testiranja (npr kod sumnje na mikrodelecije Y-kromosoma) (28).

## 1.12. LIJEČENJE

Liječenje muške neplodnosti veliki je izazov urolozima i androlozima. Dobri rezultati liječenja postižu se u malog broja bolesnika kod kojih je dijagnosticiran anatomski uzrok neplodnosti. Najteže je liječiti muškarce koji imaju idopatsku neplodnost, a njih je oko 30%.

Najčešći zahvati koji se izvode u najzahtjevnijih bolesnika s muškom neplodnosti su:

- PESA - perkutana epididimalana aspiracija sperme
- MESA - mikroskopska epididimalana aspiracija sperme
- TESE - testikularna ekstrakcija sperme (biopsija testisa)
- microTESE - mikroskopska biopsija testisa

Biopsijom testisa se postižu najbolji rezultati, čak i u bolesnika sa potpunom azoospermijom (28). U današnje se vrijeme više ne preporuča primjena biopsije testisa samo u dijagnostičke svrhe nego se istodobno uzima dio tkiva i za krioprezervaciju koji se u najboljem trenutku može iskoristiti za ekstrakciju spermija i ICSI metodu liječenja. Krioprezervacija je postupak kojim se dobiveni uzorci spermija ili komadići tkiva testisa smrjavaju te čuvaju u tekućem dušiku (28).

Biopsiju testisa obavlja urolog u lokalnoj, regionalnoj ili općoj anesteziji. Potrebne su višestruke biopsije, jer jedan dio zamrzavamo u određenom kriomediju, a drugi histološki analiziramo (histološka analiza bioptata 1-10, 1-bez zametnoga epitela, a 10-normalan nalaz). Najbolji se rezultati postižu microTESE postupkom pri kojemu se rabe povećala ili mikroskop.

U tijeku su brojna znanstvena istraživanja koja ispituju učinak antioksidanasa na kvalitetu sperme. Postoje razni pripravci antioksidanasa kao što su vitamin C i E, selen, L-

karnitin, fruktoza, koenzim Q10, cink, folna kiselina i vitamin B12 za koje neka istraživanja pokazuju da povećavaju pokretljivost i brojnost spermija, dok druga govore u prilog poboljšanja kvalitete DNA. Potrebna su daljnja istraživanja koja će potvrditi učinkovitost antioksidanasa u liječenju muške neplodnosti (41,42).

### **1.12.1. Liječenje predtestikularne neplodnosti**

Ako je poremećaju uzrok tumor, većina se tumora operativno odstranjuje, dok se jedan dio tumora može i medikamentom liječiti.

U bolesnika s nedostatkom gonadotropina može se potaknuti spermatogeneza pulsatilnom primjenom gonadotropina. Nakon uspješnog začeća, može se prijeći na terapiju testosteronom radi održavanja sekundarnih muških spolnih osobina, libida i spolne aktivnosti (28).

### **1.12.2. Liječenje testikularne neplodnosti**

#### *1.12.2.1. Liječenje kriptorhizma*

U liječenju kriptorhizma se primjenjivao humani korionski gonadotropin, međutim, danas se smatra da je kirurški oblik liječenja jedini i ispravan. Orhidopeksija (operacija spuštanja i fiksiranja testisa u skrotumu) se preporuča u prvoj godini života (28).

#### *1.12.2.2. Liječenje genetskih poremećaja*

U bolesnika sa Klinefelterovim sindromom postoji mogućnost začeća djeteta. Liječenje se provodi TESE/ICSI postupkom ili u težim slučajevima micro-TESE metodom. Micro-TESE se radi pod kontrolom operacijskog mikroskopa, pretražuju se sjemenski kanalići dok se ne naiđe na one većega promjera, jer oni u sebi mogu sadržavati spermije koji se onda izoliraju. Savjetuje se liječenje u centrima sa predimplantacijskom genetskom dijagnostikom (PGD) zbog povećane učestalosti kromosomskih anomalija kod takve djece.

Spermatogeneza kod Kallmanovog sindroma (hipogonadotropni hipogonadizam) može se kod većine bolesnika izazvati nadomjesnom terapijom gonadotropinima.

Kod mikrolelecije Y-kromosoma začeće je moguće u bolesnika sa izoliranim spermijima; djeca budu fenotipski normalna, ali su muška djeca neplodna. Za liječenje nepotpune mikrolelecije Y kromosma koristi se TESE/ICSI metoda, ali je također povećan rizik od kromosomopatija kod djece začete nakon takvih postupaka pa se prije same terapije provodi genetsko savjetovanje i PDG (28).

#### *1.12.2.3. Liječenje varikokele*

U slučaju da pacijent ima klinički palpabilan nalaz, poremećen spermogram, dokazanu neplodnost para te ako je partnerica reproduktivno zdrava i ako postoje bolovi u području skrotuma, preporučuje se kirurško liječenje varikokele. Uspješnost liječenja svim pristupima (retroperitonealni, ingvinalni i laparaskopski) iznosi 90% (28). Preporučuje se praćenje nakon kirurškog zahvata, ponavljanje spermograma svaka 3-4 mjeseca, pogotovo unutar godine dana ili do uspješnog začeća (43).

### **1.12.3. Liječenje posttestikularne neplodnosti**

#### *1.12.3.1. Liječenje neopstruktivne azoospermije (NOA)*

Terapija NOA je otvorena biopsija testisa, obično se radi bilateralna biopsija jer se tako povećava broj mogućih uzoraka za kombinirani TESE/ICSI postupak. Iz svakog se sjemenika odstrani više komadića parenhima i jedan dio se krioprezervira, dok se drugi koristi za histološku analizu.

#### *1.12.3.2. Liječenje opstruktivne azoospermije (OA)*

Liječenje OA ovisi o mjestu opstrukcije.

U slučaju intratestikularne opstrukcije, najčešće su metode aspiracije spermija tankom iglom (TEFNA) ili biopsija sjemenika s kriopohranom (TESE).

Opstrukcija pasjemenika se također liječi aspiracijskim metodama: PESA (perkutana aspiracija spermija iz epididimisa) ili MESA (mikrokirurška aspiracija epididimisa). MESA omogućuje dovoljno spermija za višestruke MESA/ICSI zahvate, ali PESA je jednostavnija.

Oštećenja i opstrukcije sjemenovoda liječe se mikrokirurški (vazo-vazostomija ili epididmo-vazostomija). Mullerove ciste, ciste urogenitalnog sinusa i ejakulatornih kanalića moraju se odstraniti kirurški.

Metoda izbora kod opstruktivne i neopstruktivne azoospermije je TESE (1).

#### **1.12.4. Liječenje poremećaja ejakulacije**

Liječenje ovisi o uzroku ejakulacijskog poremećaja.

Kod prerane ejakulacije dobri se rezultati postižu psihoterapijom, upotrebo lokanih anestetika na glans penisa te upotrebom antidepresiva koji povećavaju razinu serotonina.

Kod retrograne ejakulacije treba isključiti anatomske poremećaje i farmakološke uzroke, a od lijekova se rabe: efedrin sulfat, midrin, bromfeniramin, imipramin i dezipramin (28).

## **2. CILJ I HIPOTEZE**

Cilj ovog istraživanja je analizirati spermioleme ispitanika, te istražiti mogući utjecaj nekih štetnih čimbenika na kvalitetu i kvantitetu sjemena kod muškaraca koji su upućeni na obradu sjemena u Centar za medicinski pomognutu oplodnju, KBC-a Split od 30. ožujka do 30. lipnja 2016. godine.

Hipoteze su:

1. Kod ispitanika starijih od 42 godine i ispitanika nižeg stupnja obrazovanja nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.
2. Kod ispitanika izloženih štetnom čimbeniku na radnome mjestu i ispitanika koji su apstinirali manje od 2 dana nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.
3. Kod ispitanika koji imaju BMI veći od  $25 \text{ kg/m}^2$  i ispitanika koji se bave fizičkom aktivnošću manje od 2 puta tjedno nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.
4. Kod ispitanika koji piju više od 3 alkoholna pića tjedno nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.
5. Kod ispitanika koji konzumiraju više od 2 kave na dan i puše više od 5 cigareta na dan nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.
6. Kod ispitanika koji se ne hrane zdravo i ne uzimaju dodatke prehrani nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.
7. Kod ispitanika koji nose usko i sintetičko donje rublje nalaze se snižene vrijednosti promatranih parametara spermiolema.

### **3. ISPITANICI I METODE**



**Organizacija istraživanja:** Prospektivno kohortno epidemiološko istraživanje.

**Ispitanici:** Svi muškarci koji su došli na analizu spermiograma u tromjesečnom razdoblju, od 30.ožujka do 30.lipnja 2016.godine.

**Mjesto studije:** Centar za medicinski pomognutu oplodnju, KBC Split.

**Metode prikupljanja podataka:** Podaci su prikupljeni iz povijesti bolesti, te prilikom uzimanja anamneze pacijentima koji su dali uzorak sjemena na analizu u Centar za medicinski pomognutu oplodnju KBC-a Split.

**Promatrani parametri:**

- Statistička analiza podataka dobivenih iz spermiograma, prema pravilniku SZO iz 2010. godine (Prilog 2. – Pretraga sjemena):
  - Volumen ejakulata (>1,5 mL)
  - Dani apstinencije
  - Koncentracija spermija (>15x10<sup>6</sup>/mL)
  - Ukupan broj spermija u ejakulatu (>39x10<sup>6</sup>)
  - Pokretljivost spermija (a+b>32%):
    - a) brzo usmjereno pokretnih
    - b) sporo usmjereno pokretnih
    - c) neusmjereno pokretnih
    - d) nepokretnih
- Demografski i klinički podaci dobiveni anamnezom pacijenta:
  - dob
  - školska sprema (osnovna škola (OŠ)/srednja stručna sprema (SSS)/viša stručna sprema (VSS)/i drugo)
  - zanimanje
  - visina
  - težina
  - BMI
  - bolesti (dijagnoze do sada)
  - lijekovi koje uzima
  - indikacija upućivanja na spermiogram

- Navike i potencijalni rizični čimbenici dobiveni anamnezom pacijenata:
  - Izloženost na radnom mjestu (visokoj temperaturi, zračenju, bojama, otapalima i drugo)
  - Fizička aktivnost (koliko puta/tjedan)
  - Pušenje (broj cigareta/dan)
  - Prehrana (pazi na prehranu/pokušava/ne pazi na prehranu)
  - Dodaci prehrani
  - Tip donjeg rublja (slip gaćice, bokserice ili mix)
  - Kofein (broj kava/dan)
  - Alkohol (broj pića/tjedan)

**Statistička analiza:** Statistička obrada podataka rađena je pomoću računalnog programa SPSS. Za analizu je korištena deskriptivna statistika te testovi Pearsonov test (hi-kvadrat test,  $\chi^2$ ) i Fisherov egzaktni test.

#### **4. RESULTATI**

U promatranom vremenskom razdoblju, od 30. ožujka do 30. lipnja 2016. godine, u Centru za medicinski pomognutu oplodnju KBC-a Split na analizu spermograma upućeno je 257 muškaraca od kojih je 99 (38,5%) s normalnim nalazima spermograma, a 158 (61,5%) muškaraca s dijagnozom neplodnosti.

U istraživanju su prikupljene opće karakteristike ispitanika: dob, težina, visina i BMI (Tablica 3).

**Tablica 3. Podatci o općim karkteristikama ispitanika**

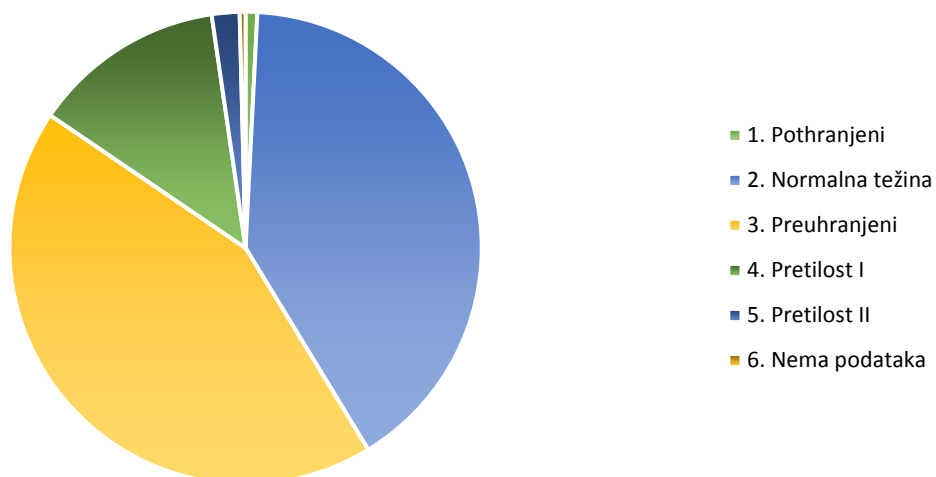
Parametri	Aritmetička sredina	Minimalno	Maximalno	Standardna devijacija (SD)
Dob (godine)	32,3	16	57	8,5
Težina (kg)	89,2	56	136	13,5
Visina (cm)	184,3	167	210	6,4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,3	18,1	39,7	3,6

BMI prema SZO (Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji) možemo podijeliti na:

1. <18,5 – pothranjenost
2. 18,5 – 24,9 – normalna težina
3. 25,0 – 29,9 – preuhranjenost
4. 30,0 – 34,9 – pretilost I
5. 35,0 – 39,9 – pretilost II
6. >40 – pretilost III

2 (0,8%) ispitanika su pothranjena, 104 (40,5%) ispitanika imaju normalnu težinu, dok je preuhranjenih ispitanika 111 (43,2%). Broj pretilih ispitanika iznosi 39 (15,1%). Po kategorijama pretilosti 34 (13,2%) ispitanika se ubrajaju u kategoriju pretilosti tip I, dok se 5 (1,9%) ispitanika ubrajaju u kategoriju pretilosti tip II. Nije bilo ispitanika koji spadaju u kategoriju pretilosti tip III (Slika 4).

### BMI (Body mass index)



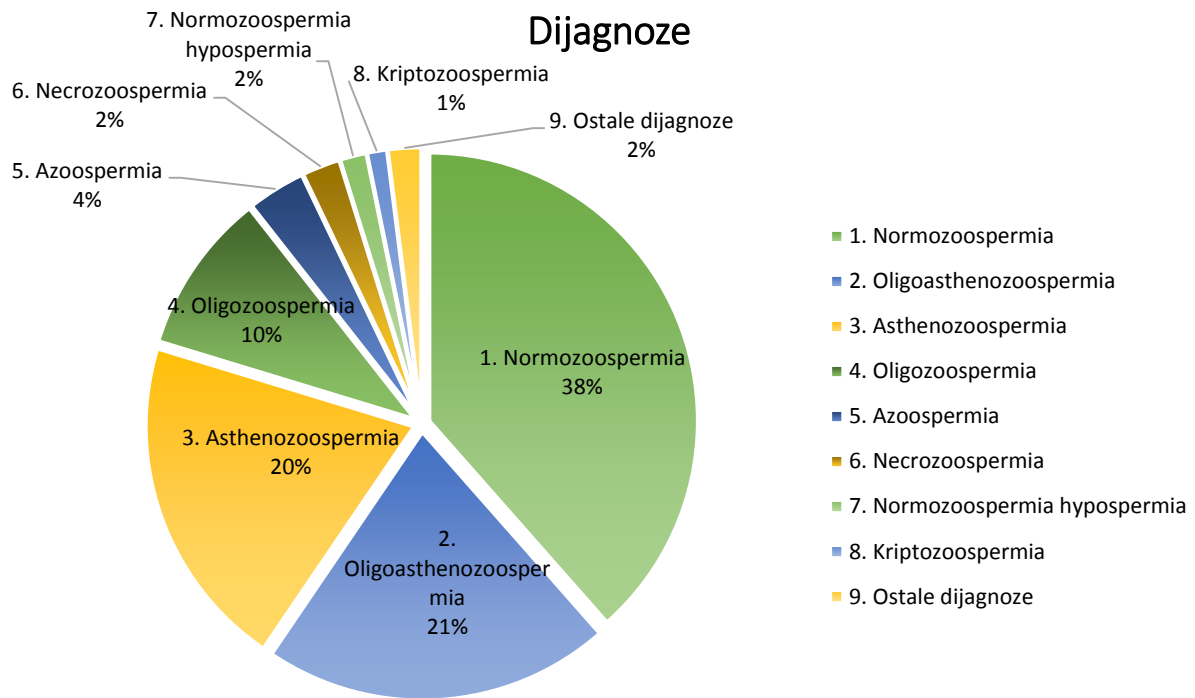
**Slika 4.** Podjela ispitanika prema BMI

U ovom istraživanju provjerene su životne navike ispitanika kao što su: pušenje, fizička aktivnost, te konzumacija alkohola i kave (Tablica 4).

**Tablica 4.** Životne navike i njihova učestalost kod ispitanika

Parametri	Aritmetička sredina	Minimalno	Maximalno	Standardna devijacija (SD)
Broj cigareta/dan	16	1	70	10,4
Fizička aktivnost/tjedan	3	1	7	1,4
Broj kava/dan	2	1	6	0,9
Broj alkoholnih pića/tjedan	4	1	40	4,7

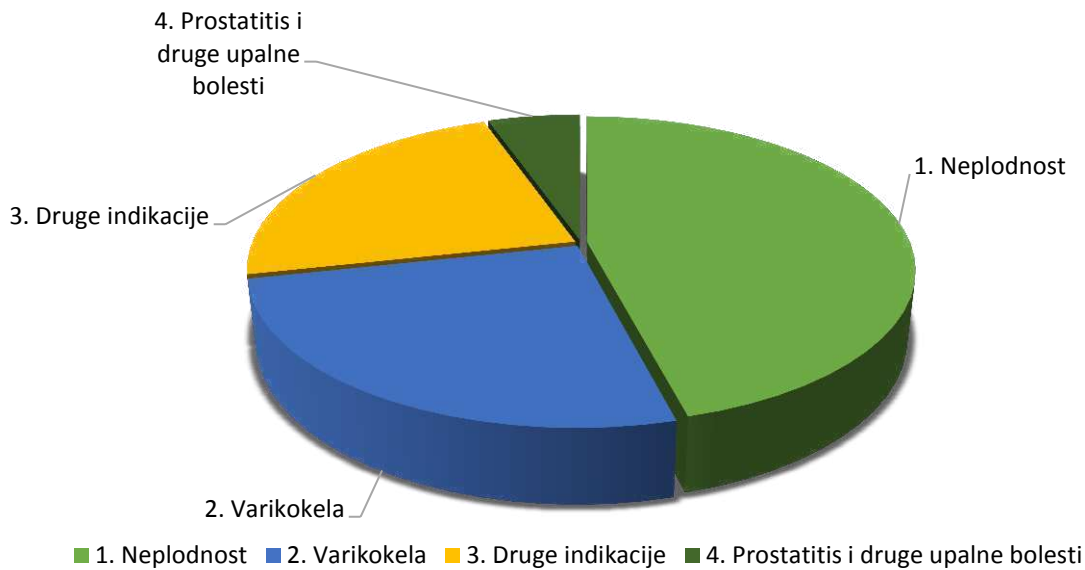
Prilikom davanja sjemena na analizu, praćeni su određeni parametri: volumen sjemena, koncentracija, ukupan broj, pokretljivost i morfologija spermija. Potom je postavljena radna dijagnoza svakom pacijentu (Slika 5).



**Slika 5.** Podjela ispitanika prema dijagnozi

Pod ostale dijagnoze spadaju: oligoasthenozoospermia hipospermia, oligozoospermia hipospermia, azoospermia hipospermia, oligoasthenoteratozoospermia i azoospermia leukospermia, te se svaka pojedinačno javlja sa učestalošću od 0,4% (1 muškarac/dijagnozi).

## Indikacije



**Slika 6.** Podjela ispitanika prema indikaciji

Najčešći razlog upućivanja ispitanika na analizu sjemena je neplodnost (45,9%) kao što je vidljivo iz slike 6. Drugi najčešći razlog jest varikokela (25,7%). Prostatitis i druge upalne bolesti zauzimaju čine 5,4%, dok ostale indikacije zauzimaju 23%.

**Tablica 5.** Podjela spermograma po dobi

Varijable		Dob <42 god N=230	Dob ≥42 god N=27	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	23 (10%)	6 (22,2%)	0,058
	>1,5	207 (90%)	21 (77,8%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	82 (35,7%)	16 (59,3%)	<b>0,017</b>
	>39	148 (64,3%)	11 (40,7%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	72 (31,3%)	14 (51,9%)	<b>0,032</b>
	>15	158 (68,7%)	13 (48,1%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	115 (50%)	19 (70,4%)	0,076
	>32	115 (50%)	8 (29,6%)	

Nije pronađena statistički značajna razlika u volumenu sjemena ( $P=0,058$ ) i pokretljivosti spermija ( $P=0,076$ ) između dvije dobne skupine. Međutim, postoji statistički značajna razlika u ukupnom broju ( $P=0,017$ ) i koncentraciji spermija ( $P=0,032$ ) prema dobi (Tablica 5).

**Tablica 6. Podjela spermograma po obrazovanju**

Varijable		Niža školska sprema N=178	Viša školska sprema N=79	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	24 (13,5%)	5 (6,3%)	0,094
	>1,5	154 (86,5%)	74 (93,7%)	
Ukupan broj spermija ( $\times 10^6$ )	<38,9	78 (43,8%)	20 (25,3%)	<b>0,005</b>
	>39	100 (56,2%)	59 (74,7%)	
Koncentracija ( $\times 10^6$ /mL)	<14,99	68 (38,2%)	18 (22,8%)	<b>0,016</b>
	>15	110 (61,8%)	61 (77,2%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	94 (52,8%)	40 (50,6%)	0,905
	>32	84 (47,2%)	39 (49,4%)	

Nije pronađena statistički značajna razlika u volumenu sjemena ( $P=0,094$ ) i pokretljivosti spermija ( $P=0,905$ ) između dvije dobne skupine. Međutim, postoji statistički značajna razlika u ukupnom broju ( $P=0,005$ ) i koncentraciji spermija ( $P=0,016$ ) između ispitanika po obrazovanju (Tablica 6).



**Tablica 7. Podjela spermograma u odnosu na izloženost na radnom mjestu**

Varijable		Nisu izloženi N=186	Izloženi 1 štetnom čimbeniku* N=57	Izloženi ≥ 2 štetnih čimbenika* N=14	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	17 (9,1%)	12 (21,1%)	0 (0%)	<b>0,018</b>
	>1,5	169 (90,9%)	45 (78,9%)	14 (100%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	69 (37,1%)	26 (45,6%)	3 (21,4%)	0,213
	>39	117 (62,9%)	31 (54,4%)	11 (78,6%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	64 (34,4%)	19 (3,3%)	3 (21,4%)	0,611
	>15	122 (65,6%)	38 (66,7%)	11 (78,6%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	100 (53,8%)	30 (52,6%)	4 (28,6%)	0,217
	>32	86 (46,2%)	27 (47,4%)	10 (71,4%)	

\* zračenje, visoka temperatura, otapala, boje i drugo

Skupina koja je izložena jednom štetnom čimbeniku ima statistički značajno manji volumen sjemena (P=0,018) u odnosu na druge dvije skupine kao što se uočava iz tablice 7.

Za ostale parametre: ukupan broj (P=0,213), koncentraciju (P=0,611) i pokretljivost spermija (P=0,217) nije pronađena statistički značajna razlika između skupina.

**Tablica 8. Podjela spermograma u odnosu na broj dana apstinencije**

Varijable		<1 dana N=6	≥2 dana N=251	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	3 (50%)	26 (10,4%)	<b>0,002</b>
	>1,5	3 (50%)	225 (89,6%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	3 (50%)	95 (37,8%)	0,677
	>39	3 (50%)	156 (62,2%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	0 (0%)	86 (34,3%)	0,183
	>15	6 (100%)	165 (65,7%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	3 (50%)	131 (52,2%)	1,000
	>32	3 (50%)	120 (47,8%)	

Ispitanici koji su apstinirali do jednog dana imaju statistički značajno manji volumen spermija ( $P=0,002$ ) što se i uočava u tablici 8. Međutim, ne postoji statistički značajna razlika u ukupnom broju ( $P=0,677$ ), koncentraciji ( $P=0,183$ ) i pokretljivosti spermija ( $P=1,0$ ) između skupina prema broju dana apstinencije.

**Tablica 9. Podjela spermograma u odnosu na BMI**

Varijable		Normalan BMI N=104	Povećan BMI N=150	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	15 (14,4%)	14 (9,3%)	0,210
	>1,5	89 (85,6%)	136 (90,7%)	
Ukupan broj spermija ( $\times 10^6$ )	<38,9	37 (35,6%)	59 (39,3%)	0,544
	>39	67 (64,4%)	91 (60,7%)	
Koncentracija ( $\times 10^6$ /mL)	<14,99	29 (27,9%)	56 (37,3%)	0,117
	>15	75 (72,1%)	94 (62,7%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	51 (49 %)	82 (54,7%)	0,448
	>32	53 (51%)	68 (45,3%)	

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena ( $P=0,021$ ), te ukupan broj ( $P=0,544$ ), koncentraciju ( $P=0,117$ ) i pokretljivost ( $P=0,448$ ) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između ispitanika koji imaju normalan odnosno povišen BMI (Tablica 9).

**Tablica 10. Podjela spermograma u odnosu na tjednu fizičku aktivnost**

Varijable		Nijednom ili <1 x tjedno N=153	≥2 tjedno N=98	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	20 (13,1%)	8 (8,2%)	0,228
	>1,5	133 (86,9%)	90 (91,8%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	60 (39,2%)	35 (35,7%)	0,577
	>39	93 (60,8%)	63 (64,3%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	56 (36,6%)	28 (28,6%)	0,188
	>15	97 (63,4%)	70 (71,4%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	80 (52,3%)	51 (52 %)	0,964
	>32	73 (47,7%)	47 (48%)	

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena (P=0,228), te ukupan broj (P=0,577), koncentraciju (P=0,188) i pokretljivost (P=0,964) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između skupina s obzirom na tjednu fizičku aktivnost (Tablica 10).

**Tablica 11. Podjela spermograma u odnosu na rizični čimbenik – pušenje**

Varijable		Nijednom ili <1 x tjedno N=153	≥2 tjedno N=98	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	20 (13,1%)	8 (8,2%)	0,808
	>1,5	133 (86,9%)	90 (91,8%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	60 (39,2%)	35 (35,7%)	0,691
	>39	93 (60,8%)	63 (64,3%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	56 (36,6%)	28 (28,6%)	0,745
	>15	97 (63,4%)	70 (71,4%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	80 (52,3%)	51 (52 %)	0,549
	>32	73 (47,7%)	47 (48%)	

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena (P=0,808), te ukupan broj (P=0,691), koncentraciju (P=0,745) i pokretljivost (P=0,549) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između pušača i nepušača (Tablica 11).

**Tablica 12. Podjela spermograma s obzirom na broj popušanih cigareta na dan**

Varijable		<5 cigareta/dan N=159	≥5 cigareta/dan N=97	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	17 (10,7%)	12 (12,4%)	0,681
	>1,5	142 (89,3%)	85 (87,6%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	62 (39%)	35 (36,1%)	0,641
	>39	97 (61%)	62 (63,9%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	52 (32,7%)	34 (35,1%)	0,700
	>15	107 (67,3%)	63 (64,9%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	83 (52,2%)	51 (52,6%)	0,964
	>32	76 (47,8%)	46 (47,4%)	

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena (P=0,681), te ukupan broj (P=0,641), koncentraciju (P=0,7) i pokretljivost (P=0,964) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između muškaraca koji puše <5 cigareta/dan ili onih koji puše ≥5 cigareta/dan (Tablica 12).

**Tablica 13. Podjela spermograma s obzirom na postojeće dijagnoze ispitanika**

Varijable		Nemaju N= 145	Imaju N=112	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	12 (8,3%)	17 ( 15,2%)	0,083
	>1,5	133 (91,7%)	95 (84,8%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	54 (37,2%)	44 (39,3%)	0,738
	>39	91 (62,8%)	68 (60,7%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	52 (35,9%)	34 (30,4%)	0,354
	>15	93 (64,1%)	78 (69,6%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	79 (54,5%)	55 (49,1%)	0,400
	>32	66 (45,5%)	57 (50,9%)	

Ispitanici u ovoj skupini spermograma (Tablica 13) podijeljeni su:

1. muškarci koji imaju ili su imali neku od navedenih dijagnoza; ingvinalna kila, varikokela, parotitis, tumor testisa, sistemske bolesti (diabetes mellitus ili hipertenzija), prostatitis, infekcije mokraćnih puteva, epididimitis, te 2 ili više bolesti) i

2. muškarci koji nisu imali niti imaju jednu od navedenih dijagnoza.

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena ( $P=0,083$ ), te ukupan broj ( $P=0,738$ ), koncentraciju ( $P=0,354$ ) i pokretljivost ( $P=0,4$ ) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između skupina.

**Tablica 14. Podjela spermograma s obzirom na uzimanje lijekova**

Varijable		Atidepresivi N=5	Vitaminski pripravci i cink N=17	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	1 (20%)	0 (0%)	0,227
	>1,5	4 (80%)	17 (100%)	
Ukupan broj spermija ( $\times 10^6$ )	<38,9	1 (20%)	5 (29,4%)	1,000
	>39	4 (80%)	12 (70,6%)	
Koncentracija ( $\times 10^6/\text{mL}$ )	<14,99	1 (20%)	5 (29,4%)	1,000
	>15	4 (80%)	12 (70,6%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	2 (40%)	13 (76,5%)	0,274
	>32	3 (60%)	4 (23,5%)	

Ispitanici u ovoj skupini spermograma (Tablica 14) su podijeljeni:

1. muškarci koji uzimaju lijekove štetne za plodnost (antidepresivi) i

2. muškarci koji uzimaju lijekove korisne za plodnost (vitaminski pripravci, cink i dr.).

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena ( $P=0,227$ ), te ukupan broj ( $P=1,0$ ), koncentraciju ( $P=1,0$ ) i pokretljivost ( $P=0,274$ ) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između skupina.

**Tablica 15. Podjela spermograma s obzirom na kvalitetu prehrane**

Varijable		Paze na prehranu N=95	Srednje paze na prehranu N=126	Ne paze na prehranu N=35	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	9 (9,5%)	15 (11,9%)	5 (14,3%)	0,715
	>1,5	86 (90,5%)	111 (88,1%)	30 (85,7%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	35 (36,8%)	50 (39,7%)	13 (37,1%)	0,902
	>39	60 (63,2%)	76 (60,3%)	22 (62,9%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	32 (33,7%)	44 (34,9%)	10 (28,6%)	0,781
	>15	63 (66,3%)	82 (65,1%)	25 (71,4%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	54 (56,8%)	66 (52,4%)	14 (40%)	0,250
	>32	41 (43,2%)	60 (47,6%)	21 (60%)	

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena (P=0,715), te ukupan broj (P=0,902), koncentraciju (P=0,781) i pokretljivost (P=0,25) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između skupina (Tablica 15).

**Tablica 16. Podjela spermograma s obzirom na uzimanje dodataka prehrani**

Varijable		Uzimaju N=38	Ne uzimaju N=219	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	1 (2,6%)	28 (12,8%)	0,068
	>1,5	37 (97,4%)	191 (87,2%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	10 (26,3%)	88 (40,2%)	0,104
	>39	28 (73,7%)	131 (59,8%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	10 (26,3%)	76 (34,7%)	0,312
	>15	28 (73,7%)	143 (65,3%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	24 (63,2%)	110 (51,4%)	0,109
	>32	14 (36,8%)	109 (48,6%)	

U ovoj skupini spermograma za: volumen sjemena (P=0,068), te ukupan broj (P=0,104), koncentraciju (P=0,312) i pokretljivost (P=0,109) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između ispitanika koji su uzimali odnosno nisu uzimali dodatke prehrani (Tablica 16).

**Tablica 17. Podjela spermigrama s obzirom na tip donjeg rublja**

Varijable		Bokserice* N=188	Slip** N=47	Mix*** N=20	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	24 (12,8%)	3 (6,4%)	1 (5%)	0,307
	>1,5	164 (87,2%)	44 (93,6%)	19 (95%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	72 (38,3%)	16 (34 %)	9 (45%)	0,692
	>39	116 (61,7%)	31 (66%)	11 (55%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	63 (33,5%)	17 (36,2%)	6 (30%)	0,881
	>15	125 (66,5%)	30 (63,8%)	14 (70%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	99 (52,7%)	23 (48,9%)	11 (55%)	0,844
	>32	89 (47,3%)	24 (51,1%)	9 (45%)	

\* široko i pamučno donje rublje

\*\* usko i sintetičko donje rublje

\*\*\* kombinacija bokserica i slip gaćica

U ovoj skupini spermigrama za: volumen sjemena (P=0,307), te ukupan broj (P=0,692), koncentraciju (P=0,881) i pokretljivost (P= ,844) spermija nije pronađena statistički značajna razlika između skupina (Tablica 17).

**Tablica 18. Podjela spermigrama s obzirom na broj konzumiranih kava na dan**

Varijable		≤1 kava/dan N=127	≥2 kava /dan N=110	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	15 (11,8%)	14 (12,7%)	0,830
	>1,5	112 (88,2%)	96 (87,3%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	50 (39,4%)	43 (39,1%)	0,965
	>39	77 (60,6%)	67 (60,9%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	41 (32,3%)	41 (37,3%)	0,421
	>15	86 (67,7%)	69 (62,7%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	69 (54,3%)	60 (54,5%)	0,845
	>32	59 (45,7%)	50 (45,5%)	

U ovoj skupini spermigrama za: volumen sjemena (P=0,83), te ukupan broj (P=0,965), koncentraciju (P=0,421) i pokretljivost (P=0,845) spermija nije pronađena

statistički značajna razlika između muškaraca koji piju <2 kave/dan i onih koji piju ≥2 kave/dan (Tablica 18).

**Tablica 19. Podjela spermograma s obzirom na konzumaciju alkoholnih pića na tjedan**

Varijable		<3 pića/tjedan N=167	≥3 pića/tjedno N=70	P
Volumen ejakulata (mL)	<1,49	21 (12,6%)	8 (11,4%)	0,806
	>1,5	146 (87,4%)	62 (88,6%)	
Ukupan broj spermija (x10 <sup>6</sup> )	<38,9	73 (43,7%)	20 (28,6%)	<b>0,029</b>
	>39	94 (56,3%)	50 (71,4%)	
Koncentracija (x10 <sup>6</sup> /mL)	<14,99	65 (38,9%)	17 (24,3%)	<b>0,031</b>
	>15	102 (61,1%)	53 (75,7%)	
Pokretljivost (%)	<31,99	91 (54,5%)	37 (52,9%)	0,761
	>32	76 (45,5%)	33 (47,1%)	

Nije pronađena statistički značajna razlika za volumen sjemena (P=0,806) i pokretljivosti spermija (P=0,761) između skupina.

Međutim, postoji statistički značajna razlika između skupina ispitanika i to u smjeru da ispitanici koji piju ≥3 alkoholna pića/tjedan imaju statistički značajno veći ukupan broj (P=0,029) i koncentraciju spermija (P=0,031), istaknuto je u tablici 19.



## **5. RASPRAVA**

Plodnost čovjeka je u blagom, ali trajnom opadanju, posebno u razvijenom svijetu. Svakako je potrebno istaknuti promijenjena stajališta o reprodukciji u zapadnim zemljama, pa tako i u Hrvatskoj. Brojni socioekonomski čimbenici, učestale rastave, kasni ponovni brakovi te odgađanje rađanja uzroci su smanjenja broja djece u obiteljima (2). Oni su doveli do demografske tranzicije, koja je posljedica niske fertilitnosti. Po nekim demografskim modelima naša je zemlja u proteklih 10-15 godina imala na godišnjoj razini gubitak od oko 8 000 novorođene djece (1).

Agarwal, Mulgund i suradnici su istraživali raspoređenost muške neplodnosti po svjetskim regijama. Prema njihovim rezultatima ima najmanje 30 milijuna neplodnih muškaraca diljem svijeta, a najviše ih ima u Africi i Istočnoj Europi (44).

Danas gotovo 15% parova pri nezaštićenom spolnom odnosu unutar godine dana ne može začeti dijete. Muška neplodnost je uzrok tome u čak 40% slučajeva (28).

Mnogi životni čimbenici kao što su dob u kojoj se zasniva obitelj, prehrana, tjelesna težina, tjelovježba, psihološki stres, izloženost na radnom mjestu i drugo, mogu imati značajan utjecaj na plodnost. Također, životne navike kao što su pušenje cigareta, ovisnost o narkoticima, prekomjerna konzumacija alkohola i kofeina mogu negativno utjecati na plodnost, dok druge životne navike, odnosno određene preventivne mjere mogu biti izuzetno korisne u pogledu poboljšanja plodnosti (19).

Neplodnost je javno zdravstveni problem od iznimne važnosti te stoga mnoge zdravstvene organizacije, kao što je Healty People 2020, imaju za cilj smanjenje neplodnosti na globalnoj razini (45).

U radu su prikazani spermioagrami u odnosu na rizične čimbenike kojima su ispitanici izloženi. Ukupan broj ispitanika uključenih u studiju je 257 muškaraca. Uključeni su svi muškarci koji su u promatranom razdoblju dali sjeme na analizu u Centar za medicinski pomognutu oplodnju. Najčešći razlog upućivanja muškaraca u Centar za medicinski pomognutu oplodnju je neplodnost sa 45,9%, a drugi najčešći razlog dolaska muškaraca na analizu sjemena je varikokela sa 25,7%, koja je najčešći reverzibilni uzrok muške neplodnosti.

Muškarcima koji su dali svoje sjeme za analizu postavljena je radna dijagnoza. Sukladno tome, 99 muškaraca (35,5%) ima normalan nalaz spermioograma, dok je neplodnih muškaraca 158 (61,5%) te su njihove dijagnoze podijeljene po učestalosti: 1.oligoasthenozoospermia, 2.asthenozoospermia, 3.oligozoospermia, 4.azoospermia i druge.

Prosječna dob muškaraca u studiji je 32,3 godine (16-57 godina). U ovoj studiji prikazano je da ispitanici stariji od 42 godine imaju statistički značajno manji ukupan broj ( $P=0,017$ ) i koncentraciju ( $P=0,032$ ) spermija od muškaraca koji imaju mlađih od 42 godine.

Neke studije su dokazale da starenjem muškaraca volumen sjemena, pokretljivost spermija i postotak spermija s normalnom morfologijom ima tendenciju opadanja (46,47).

U istraživanju koje su proveli Stone, Alex i suradnici uzeti su uzorci sjemena 5081 muškarca u rasponu od 16 do 72 godine, kako bi istražili utjecaj dobi na parametre sjemena. Uočeno je pogoršanje kvalitete i kvantitete sjemena poslije 35. godine od muškaraca te je time smanjena vjerojatnost oplodnje žene koja ima snošaj sa muškarcem starijim od 34 godine, s tim da je faktor dobi žene isključen (48).

Spermioگرامи prema dobi muškaraca prikupljeni u ovom istraživanju uspoređeni su s drugim istraživanjima te je utvrđeno da s porastom dobi muškarca kvaliteta i kvantiteta sjemena opadaju, što je u korelaciji sa drugim istraživanjima.

Muškarci prije davanja sjemena na analizu moraju apstinirati 2-7 dana (35). Apstinencija prije davanja sjemena na analizu bitna je prvenstveno zbog mogućeg smanjenja volumena sjemena ukoliko je osoba apstinirala manje od dva dana. U ovoj studiji osobe koje su apstinirale do jednog dana imaju statistički značajno manji volumen sjemena od osoba koje su apstinirale dva i više dana.

U ovom istraživanju pronađena je povezanost obrazovanja sa kvalitetom spermiograma. Rezultati ukazuju da osobe višeg stupnja obrazovanja imaju statistički značajno veći ukupan broj i koncentraciju spermija, za razliku od osoba nižeg stupnja obrazovanja.

Rezultati vezani za izloženost na radnom mjestu i kvalitetu spermiograma, mogu se tumačiti dvojako. Ispitanici su podijeljeni u tri skupine prema izloženosti na radnom mjestu: 1. nisu izloženi, 2. izloženost 1 faktoru i 3. izloženost 2 i više faktora. Rezultati dovode do zaključka da osobe koje su bile izložene jednom rizičnom faktoru na radnom mjestu, imaju manji volumen sjemena za razliku od drugih skupina. Jedan smjer tumačenja ovih rezultata jest, da volumen sjemena je značajno manji kod osoba izloženih jednom faktoru rizika, napram onima koji nisu izloženi ni jednom faktoru rizika na radnom mjestu. Suprotno od očekivanih rezultata, drugi smjer tumačenja ukazuje da je volumen sjemena značajno manji kod osoba koje su izložene jednom rizičnom faktoru, naspram onima koji su izloženi 2 i više rizičnih faktora na svom radnom mjestu.

Brojne studije su dokazale negativan utjecaj raznih kemikalija, bojila, pesticida, radijacije, teških metala i drugih sličnih faktora na reprodukcijski sustav u smislu smanjenja parametara sjemena (49, 50, 51).

Dobiveni rezultati, vezani za kvalitetu spermograma prema konzumaciji alkohola su paradoksalni, u odnosu na objavljena znanstvena istraživanja vezna za tu temu. U ovoj studiji postoji statistički značajna razlika između dvije skupine ispitanika i to u smjeru da ispitanici koji piju više od 3 pića/tjedan imaju veći ukupan broj i koncentraciju spermija.

Kod muškaraca, konzumacija alkohola je povezana sa mnogo negativnih učinaka kao što su testikularna atrofija, smanjen libido i smanjen ukupan broj spermija (52, 53, 54).

Meta-analizom koja uključuje 57 studija, te ima oko 30 000 ispitanika, pronađena je statistički značajna povezanost između volumena sjemena i konzumacije alkohola (55).

Rezultati ove studije o utjecaju konzumacije alkohola na spermogram nisu u korelaciji sa postojećim istraživanjima.

Prosječni BMI kod ispitanika je  $26,3 \text{ kg/m}^2$ . Prehranjenih muškaraca (BMI 25–29,9  $\text{kg/m}^2$ ) u studiji je 43,2%, a pretilih (BMI  $>30 \text{ kg/m}^2$ ) 15,1 %.

Podaci SZO za Hrvatsku iz 2008 godine, procjenjuju da prehranjenih odraslih muškaraca ( $>20$  godina) ima 57,7% , a pretilih 24,2% (56).

Postotak prehranjenih i pretilih muškaraca u ovoj studiji je nešto niži nego što bilježi SZO.

60,7% ispitanika su pušači; prosjek popušanih cigareta/dan kod pušača je 16, dok kavu konzumira u prosijeku 65,8% ispitanika. Ni za jedan parametar spermograma (volumen sjemena te ukupan broj, koncentracija i pokretljivost spermija) nije pronađena statistički značajna razlika za navedene rizične faktore između različitih skupina.

Pušači imaju lošije rezultate spermograma od nepušača, smanjene slijedeće parametre: volumen sjemena, pokretljivost spermija, ukupan broj spermija i kapacitet oplodnje te nenormalnu morfologiju spermija (57,58,59).

Za razliku od ovog istraživanja, Gerhard i Runnebaum su u svom istraživanju dokazali nepovoljan utjecaj kave na plodnost muškaraca (60).

Fizička aktivnost, kojom se bavi 50,2% ispitanika, nije u korelaciji ni s sa jednim promatranim parametrom spermograma.

Sharma i suradnici su u svojoj studiji dokazali da muškarci koji umjereno treniraju imaju bolju morfologiju spermija (15,2%), u usporedbi sa muškarcima koji se bave natjecateljskim sportovima (9,7%) ili profesionalnih sportaša (4,7%) ( $P<0,001$ ) (19).

Također, Vaamonde i Da Silva tvrde da muškarci koji vježbaju najmanje 3 puta/tjedan, barem 1h vremena imaju najviše parametre sjemena u usporedbi sa muškarcima koji češće i intenzivnije treniraju (6).

Nije pronađena statistički značajna povezanost utjecaja prehrane, dodatka prehrani, tipa donjega rublja, lijekova koje ispitanik uzima te dotadašnjih dijagnoza s parametrima spermograma.

Multifaktorijski terapijski pristup, u svrhu poboljšanja muške neplodnosti, uključuje utvrđivanje rizičnih čimbenika i profesionalnih faktora te korigiranje temeljnih prehrambenih navika u svrhu što bolje proizvodnje i funkcije spermija (24).

U trenutnoj kliničkoj praksi, pomognuta oplodnja je najuspješnija metoda za liječenje muškog faktora neplodnosti (61).

Otkrivanje uzroka neplodnosti i liječenje veliki su izazov za pacijente. Analiza sjemena je prvi korak u pretragama neplodnog muškarca. Odstupanja od normale mogu usmjeriti na urološke, hormonske i mikrobiološke analize. Na temelju daljnjih rezultata dijagnostičkih postupaka odlučuje se o terapiji. Međutim, dok se čekaju rezultati, pacijenti bi trebali započeti s promjenom svojih životnih navika, koje po današnjim istraživanjima doprinose ostvarenju očekivane trudnoće. Prema tome pretkonceptijski savjeti su: prestati pušiti (pušenje je povezano sa smanjenom stopom zanošenja i većim neuspjehom IVF postupka), smanjiti konzumaciju kave (najviše 3 šalice na dan) i alkohola (najviše 3-4 pića tjedno), prekid upotrebe opojnih sredstava, zdrava prehrana (uz izbjegavanje: konzervansa, pesticida, bisfenola, anaboličkih steroida, nezdravih dijeta, itd.), spriječiti nutritivni nedostatak (joda, vitamina D, željeza, selena cinka i dr.), izbjegavanje nepovoljnih okolinskih uvjeta i štetnih zaposlenja (otapala, teški metali, visoka i niska temperatura, ionizirajuće zračenje itd.), izbjegavanje nekih lijekova (psihofarmaci, kortikosteriodi, antiandrogeni i dr.) i redovita tjelovježba (62).

Za plodnosti muškarca optimalna razina testosterona je jako bitna, a njegovo lučenje možemo potaknuti slijedećim postupcima kao što su vježbe snage te uzimanje vitamina C, D i E. Tri najbolje namirnice za poticanje lučenja testosterona su: orasi (bučine sjemenke, orasi, indijski oraščić), plodovi mora (sitna plava riba, kamenice) te voće i povrće (mandarina, šipak, kelj) (19).

Akupunktura, kao i posebni botanički lijekovi, prikazani su u nekolicini studija da imaju pozitivan učinak na parametre spermograma (21).

Nakon obrade i otkrivanja uzroka neplodnosti, liječnik će napraviti detaljan plan liječenja postupcima pomognute oplodnje. To su inseminacija sjemnom suproga (intrauterino-AIH, intratubarno-ITI), izvantjelesnom oplodnjom-IVF, mikroinjekcijom spermija pri izvantjeloj oplodnji-ICSI ili u krajnjem slučaju inseminacija sjemenom davatelja donora-AID.

Ova studija ukazuje na važnost životnih navika i na njihovu korelaciju sa parametrima spermograma. Zbog malog uzorka ispitanika i neadekvatno provedene metodologije za sve čimbenike nije dokazana povezanost te su potrebna daljna, bolje ustrojena istraživanja.

## **6. ZAKLJUČAK**

Analizom 257 spermograma prema rizičnim čimbenicima i životnim navikama ispitanika, na temelju anamnestički prikupljenih podataka u Centru za medicinski pomognutu oplodnju, KBC Split, u razdoblju od 30. ožujka do 30. lipnja 2016. godine, mogu se donijeti slijedeći zaključci:

1. Ispitanici stariji od 42 godine i ispitanici nižeg stupnja obrazovanja imaju statistički značajno manji ukupan broj i koncentraciju spermija.
2. Ispitanici koji su apstinirali manje 2 dana i ispitanici izloženi štetnom čimbeniku na radnome mjestu imaju statistički značajno manji volumen ejakulata.
3. Nije pronađena povezanost BMI i fizičke aktivnosti ni s jednim promatranim parametrom spermograma.
4. Ispitanici koji piju više od 3 alkoholna pića tjedno imaju statistički značajno veći ukupan broj i koncentraciju spermija.
5. Nije pronađena povezanost broja popušanih cigareta na dan ni broja konzumiranih kava ni s jednim promatranim parametrom spermograma.
6. Nije pronađena povezanost kvalitete prehrane i dodataka prehrani ni s jednim promatranim parametrom spermograma.
7. Nije pronađena povezanost tipa donjeg rublja ni s jednim promatranim parametrom spermograma.



## **7. LITERATURA**

1. Ježek D. Poremećaj građe i funkcije muške spolne žlijezde i neplodnost muškarca. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 309-21.
2. Šimunić V. Plodnost i neplodnost čovjeka. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 119-40.
3. Sharma R, Agarwal A, Rohra VK, Assidi M, Abu-Elmagd M, Turki RF. Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol.* 2001;19:13:35.
4. Sermondade N, Faure C, Fezeu L, Shayeb AG, Bonde JP, Jensen TK i sur. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2013;19(3): 221–231.
5. Palmer NO, Bakos HW, Owens JA, Setchell BP, Lane M. Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2012;302:768–780.
6. Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, Garcia-Manso JM, Vaamonde-Lemos R, Swanson RJ, Oehninger SC. Response of semen parameters to three training modalities. *Fertil Steril.* 2009;92:1941–1946.
7. Sharma R, Harlev A, Agarwal A, Esteves S. Cigarette Smoking and Semen Quality: A New Meta-analysis Examining the Effect of the 2010 World Health Organization Laboratory Methods for the Examination of Human Semen. *Eur Urol.* 2016;21.
8. La Vignera S, Condorelli RA, Balercia G, Vicari E, Calogero AE. Does alcohol have any effect on male reproductive function? A review of literature. *Asian J Androl.* 2013;15(2):221–225.
9. Greitzer E1. Heavy coffee drinking and age-dependent all-cause mortality. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(12):1492-3.
10. Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobnis EZ, Redmon JB i sur. The Study for Future Families Research Group. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect.* 2003;111:1478–1484.
11. Swan SH. Semen quality in fertile US men in relation to geographical area and pesticide exposure. *Int J Androl.* 2006;29(1):62-8;105-8.

12. Wong WY, Zielhuis GA, Thomas CM, Merkus HM, Steegers-Theunissen RP. New evidence of the influence of exogenous and endogenous factors on sperm count in man. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110:49–54.
13. Oliva A, Spira A, Multigner L. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Hum Reprod.* 2001;16:1768–1776.
14. Abell A, Ernst E, Bonde JP. Semen quality and sexual hormones in greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health.* 2000;26:492–500.
15. De Fleurian G, Perrin J, Ecochard R, Dantony E, Lanteaume A, Achard V i sur. Occupational exposures obtained by questionnaire in clinical practice and their association with semen quality. *J Androl.* 2009;30:566–579.
16. Agarwal A, Deepinder F, Sharma RK, Ranga G, Li J. Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: An observational study. *Fertil Steril.* 2008;89:124–128.
17. Agarwal A, Desai NR, Makker K, Varghese A, Mouradi R, Sabanegh E i sur. Effects of radiofrequency electromagnetic waves (RF-EMW) from cellular phones on human ejaculated semen: An in vitro pilot study. *Fertil Steril.* 2009;92:1318–1325.
18. Kilgallon SJ, Simmons LW. Image content influences men's semen quality. *Biol Lett.* 2005;1:253–255.
19. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwalcorresponding A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:66.
20. Umachitra G, Bhaarathidhurai. Disposable baby diaper--a threat to the health and environment. *J Environ Sci Eng.* 2012;54(3):447-52.
21. Dada R, Gupta NP, Kucheria K. Spermatogenic arrest in men with testicular hyperthermia. *Teratog Carcinog Mutagen.* 2003;1:235-43.
22. Wong WY, Zielhuis GA, Thomas CM, Merkus HM, Steegers-Theunissen RP. New evidence of the influence of exogenous and endogenous factors on sperm count in man. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110:49–54.
23. Mendiola J, Torres-Cantero AM, Vioque J, Moreno-Grau JM, Ten J, Roca M i sur. A low intake of antioxidant nutrients is associated with poor semen quality in patients attending fertility clinics. *Fertil Steril.* 2010;93:1128–1133.

24. Patel S, Panda S, Nanda R, Mangaraj M, Mohapatra PC. Influence of oxidants and anti-oxidants on semen parameters in infertile males. *J Indian Med Assoc.* 2009;107(2):78-80, 82.
25. Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;(1):CD007411.
26. Rajender S, Avery K, Agarwal A. Epigenetics, spermatogenesis and male infertility. *Mutat Res.* 2011;727(3):62-71.
27. Imamovic Kumalic S, Pinter B. Review of Clinical Trials on Effects of Oral Antioxidants on Basic Semen and Other Parameters in Idiopathic Oligoasthenoteratozoospermia. *Biomed Res Int.* 2014;2014:426951.
28. Kaštelan Ž, Hauptman D. Muška neplodnost. U: Šimunić V i sur. *Reprodukcijaska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF.* Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 421-32.
29. Batinica S. Spolni organi. U: Šoša T, Stulić Ž, Stanec Z, Tonković I, urednici. *Kirurgija.* Zagreb: Naklada lijevak; 2007. str. 1040-42.
30. Dumić M. Bolesti endokrinog sustava. U: Mardešić D i sur. *Pedijatrija.* Zagreb: Školska knjiga; 2003. str. 579-633.
31. Mardešić D. Bolesti dišnih organa. U: Mardešić D i sur. *Pedijatrija.* Zagreb: Školska knjiga; 2003. str. 763-813.
32. Jo J, Kim H, Jerng UM. Improvements in Scrotal Thermoregulation in Patients with Varicoceles Treated by Using Traditional Korean Medicine: Two Case Reports. *J Acupunct Meridian Stud.* 2016;9(3):156-60.
33. Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Asian J Androl.* 2006;8(2):143-57.
34. Ortega C, Verheyen G, Raick D, Camus M, Devroey P, Tournaye H. Absolute asthenozoospermia and ICSI: what are the options? *Hum Reprod Update.* 2011;17(5):684-92.
35. Ježek D. Normalna građa i funkcija muške spolne žlijezde U: Šimunić V i sur. *Reprodukcijaska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF.* Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 69-89.
36. Suchanek E, Šimunić V. Gamete, oplodnja i rani razvoj zametka. U: Ciglar S i Suchanel E. *Ginekologija.* Zgreb: Naklada lijevak; 2001. str. 61-79.

37. Johnson GD, Lalancette C, Linnemann AK, Leduc F, Boissonneault G, Krawetz SA. The sperm nucleus: chromatin, RNA, and the nuclear matrix. *Reproduction*. 2011;141(1):21-36.
38. Guyton A, Hall JE. Reprodukcijske i hormonske funkcije u muškaraca; epizfa. U: Kukulja Tardi S, Andreis I. *Medicinska fiziologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2006. str. 996 – 1009.
39. Junqueira LC, Carneiro J. Muški spolni sustav. U: Krznarić-Vohalski G. *Osnove histologije udžbenik i atlas prema 10.američkom izdanju*. Zagreb: Školska knjiga; 2005. str. 431 - 447 .
40. Cooper TG, Noonan E, Eckardstein S, Auger J, Baker HWG, Behre HM i sur. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update*. 2010;16(3):231-45.
41. Jungwirth (Chair) A, Diemer T, Dohle GR, Giwercman A, Kopa Z, Krausz C i sur. *Guidelines of male infertility*. European Association of Urology. 2015.
42. Wespes E, Amar E, Eardley I, Giuliano F, Hatzichrisou D, Hatzimouratidis K i sur. *Guidelines on Male Sexual Dysfunction: Erectile dysfunction and premature ejaculation*. European Association of Urology. 2009.
43. Chiba K, Fujisawa M. Clinical Outcomes of Varicocele Repair in Infertile Men: A Review. *World J Mens Health*. 2016;34(2):101-9.
44. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13:37.
45. ODPHP: Healthy People 2020 [Internet]. Washington, DC: Office of Diseases Prevention and Health Promotion; 2010 Dec 2 [citirano 1. prosinca 2016.] Dostupno na: <https://www.healthypeople.gov/2020/pp-initiative/national-public-health-action-plan-detection-prevention-and-management>.
46. Agarwal A, Sekhon LH. Oxidative stress and antioxidants for idiopathic oligoasthenoteratospermia: Is it justified? *Indian J Urol*. 2011;27:74–85.
47. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. The effects of male aging on semen quality, sperm DNA fragmentation and chromosomal abnormalities in an infertile population. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28:425–32.
48. Stone BA, Alex A, Werlin LB, Marrs RP. Age thresholds for changes in semen parameters in men. *Fertil Steril*. 2013;100:952–8.

49. Luccio-Camelo DC, Prins GS. Disruption of androgen receptor signaling in males by environmental chemicals. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127:74–82.
50. Phillips KP, Tanphaichitr N. Human exposure to endocrine disrupters and semen quality. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2008;11(3–4):188–220.
51. Tournaye HJ, Cohlen BJ. Management of male-factor infertility. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012;26(6):769-75.
52. Donnelly GP, McClure N, Kennedy MS, Lewis SE. Direct effect of alcohol on the motility and morphology of human spermatozoa. *Andrologia.* 1999;31:43–47.
53. Olsen J, Bolumar F, Boldsen J, Bisanti L. Does moderate alcohol intake reduce fecundability? A european multicenter study on infertility and subfecundity. european study group on infertility and subfecundity. *Alcohol Clin Exp Res.* 1997;21:206–212.
54. Li Y, Lin H, Li Y, Cao J. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: Systematic review and meta-analyses. *Fertil Steril.* 2011;95:116123.
55. Chalupka S, Chalupka AN. The impact of environmental and occupational exposures on reproductive health. *JOGNN.* 2010;39:84–102.
56. WHO: Physical Activity and Obesity Croatia [Internet]. Europa: World Health Organization; 2013 [citirano 22. prosinca 2016.]. Dostupno na: [http://www.euro.who.int/data/assets/pdf\\_file/0003/243291/Croatia-WHO-Country-Profile.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0003/243291/Croatia-WHO-Country-Profile.pdf?ua=1).
57. Calogero A, Polosa R, Perdichizzi A, Guarino F, La Vignera S, Scarfia A i sur. Cigarette smoke extract immobilizes human spermatozoa and induces sperm apoptosis. *Reprod Biomed Online.* 2009;19:564–571.
58. Soares SR, Melo MA. Cigarette smoking and reproductive function. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008;20:281–291.
59. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril.* 2005;84:919–924.
60. Gerhard I, Runnebaum B. Harmful substances and infertility. *Substances of abuse. Geburtshilfe und Frauenheilkunde.* 1992;52(9):509-515.
61. Šimunić V. Početno istraživanje neplodnosti. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 361-69.

62. Šimunić V. Prevencija neplodnosti. U: Šimunić V i sur. Reprodukcijska endokrinologija i neplodnost; Medicinski potpomognuta oplodnja, IVF. Zagreb: Školska knjiga; 2012. str. 141-44.

## **8. SAŽETAK**



**Cilj:** Cilj ovog istraživanja je analizirati spermioleme ispitanika, te istražiti mogući utjecaj nekih štetnih čimbenika na kvalitetu i kvantitetu sjemena kod muškaraca koji su upućeni na obradu sjemena u Centar za medicinski pomognutu oplodnju, KBC-a Split od 30. ožujka do 30. lipnja 2016. godine.

**Ispitanici i metode:** U studiju su uključeni svi muškarci koji su dali sjeme na analizu u Centar za medicinski pomognutu oplodnju u navedenom razdoblju. Na temelju anamnestički dobivenih podataka, analizirane su demografske i opće karakteristike ispitanika te njihove životne navike. U drugom dijelu statističke obrade podataka, tražena je povezanost navedenih rizičnih čimbenika i životnih navika ispitanika sa parametrima spermiolema koristeći hi-kvadrat test ( $\chi^2$ ), te Fisherov egzaktni test.

**Rezultati:** U ovom istraživanju je sudjelovalo 257 ispitanika, od čega je 158 neplodnih (61,5%) dok 99 ispitanika (38,5%) ima normalan nalaz spermiolema. Najčešći razlog dolaska je neplodnost (45,9%). Prosječna dob ispitanika je 32,3 godine. Prosječna težina iznosi 89,2 kg, prosječna visina je 184,3 cm i prosječni BMI 26,3 kg/m<sup>2</sup>. Pušača je 60,7%, a nepušača 39,3%. Fizičkom aktivnošću se bavi 50,2% ispitanika. 65,8% ispitanika konzumira kavu, dok alkohol konzumira 45,5%. Ispitanici niže školske spreme imaju manji ukupan broj spermija (P=0,005). Muškarci stariji >42 godine imaju manji ukupan broj (P=0,017) i koncentraciju (P=0,032) spermija. Muškarci izloženi jednom rizičnom faktoru na radnom mjestu imaju manji volumen sjemena (P=0,018). Ispitanici koji su apstinirali do jednog dana imaju statistički značajno manji volumen spermija (P=0,002). Muškarci koji konzumiraju  $\geq 3$  alkoholna pića/tjedan imaju statistički značajno veći ukupan broj (P=0,029) i koncentraciju spermija (P=0,031).

**Zaključci:** Ispitanici stariji od 42 godine i ispitanici nižeg stupnja obrazovanja imaju statistički značajno manji ukupan broj i koncentraciju spermija. Ispitanici izloženi jednom rizičnom faktoru na radnome mjestu i ispitanici koji su apstinirali <2 dana imaju statistički značajno manji volumen ejakulata. Ispitanici koji piju  $\geq 3$  alkoholna pića tjedno imaju statistički značajno veći ukupan broj i koncentraciju spermija. Nije pronađena povezanost ni sa jednim od navedenih parametara: BMI, učestalost tjelesne aktivnosti, pušenje, broj popušanih cigareta/dan, bolesti, lijekovi, prehrana, dodatci prehrani, tip donjeg rublja i broj kava/dan.

## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis title:** The influence of risk factors on the parameters of spermiogram, analysis of spermiograms at the Centre for medically assisted reproduction, KBC Split.

**Objective:** The aim of this study was to analyze spermiograms and subjects, and possible influence of adverse factors in quality and quantity of semen that was addressed to analyze at the Centre for medically assisted reproduction, KBC Split in the period between 30 of March 2016 and 30 of June 2016.

**Design:** Prospective study.

**Patients and methods:** Male subjects, which semen was proceeded to analysis in laboratory at the Centre for medically assisted reproduction in the period mentioned above, were included in this study. Based on anamnestically derived data, demographic and general characteristics and life habits of subjects were analysed. In the second part of statistical analysis of data, connection of these risk factors and lifestyle habits of the participants according to the parameters of spermiogram were sought using chi-square test ( $\chi^2$ ) and Fischer`s Exact test.

**Results:** This study included 257 participants, of which 158 were infertile (61.5%), while 99 (38.5%) had normal results of spermiogram. The most common reason for visit to the Centre for medically assisted reproduction in this period was infertility (45.9%). The average age of participants was 32.3 years. The average age of respondents was 32.3 years. The average weight was 89.22 kg, height 184.33 cm and mean BMI 26.25 kg/m<sup>2</sup>. There was 60.7% smokers and 39.3% of non-smokers. 50.2% participants were engaged in physical activity. 65.8% participants drunk coffee and 45.5% consumed alcohol. Participants with lower level of school education had lower total sperm count (P=0.005). Men >42 years had smaller total number (P=0.017) and concentration (P=0.032) of sperm. Men exposed to one factor in the workplace had decreased semen volume (P=0.018). Participants who abstained to one day had significantly lower volume of sperm (P=0.002). Men who consumed  $\geq 3$  alcoholic drinks per week had a significantly higher total number (P=0.029) and sperm concentration (P=0.031).

**Conclusion:** Subjects older than 42 years and subjects with lower level of school education have significantly lower total sperm count and concentration. Subjects exposed to one risk factor in the workplace and subjects who abstained for less than 2 days have a significantly lower volume of ejaculate. Subjects who drink  $\geq 3$  alcoholic drinks a week have a significantly higher total number and concentration of sperm. There was no connection with any of these observed parameters: BMI, frequency of physical activity, smoking, number of cigarettes smoked per day, diseases, medications, diet, dietary supplements, type of underwear and the number of coffee per day.



## **OSOBNI PODATCI**

**IME I PREZIME:** Karmela Majić

**DATUM I MJESTO ROĐENJA:** 6. travnja 1991. godine, Zagreb, Republika Hrvatska

**DRŽAVLJANSTVO:** Hrvatsko

**ADRESA:** Matice hrvatske 10a, 21 000 Split

**BROJ TELEFONA:** +385 98 9773379

**E-ADRESA:** karmela-majic@hotmail.com

## **OBRAZOVANJE**

1997. – 2005. godine pohađala Osnovnu školu „Lučac” u Splitu.

2005. – 2009. godine pohađala prirodoslovnu gimnaziju „Prirodoslovna tehnička škola“ u Splitu

2010. godine upisala Medicinski fakultet u Splitu, smjer doktor medicine

2016. godine izradila diplomski rad na temu „Utjecaj rizičnih čimbenika na parametre spermograma, analiza spermograma u Centru za medicinski pomognutu oplodnju, KBC-a Split”, pod mentorstvom doc.dr.sc. Jelene Marušić.

Vještine: aktivno se služim engleskim jezikom i završila sam osnovnu glazbenu školu „Josip Hatze“.

## Prilog 1.

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT  
 Klinika za ženske bolesti i porode  
 Zavod za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju  
 Centar za medicinski pomognutu oplodnju

MBO broj pacijenta:

Datum:

**PRETRAGA SJEMENA**

Ime i prezime:		Godina rođenja:	
Izgled:	Normal	Likvefakcija:	normal
Viskoznost:	Normal		
Volumen (>1,5 ml):	Ml		
Apstinencija:	Dana		
Koncentracija spermija (> 15x10 <sup>6</sup> /ml):		x 10 <sup>6</sup> /ml	
Ukupan broj spermija u ejakulatu (> 39x10 <sup>6</sup> )		x 10 <sup>6</sup>	
Aglutinacija:	Ne		
Pokretljivost (a+b>32%):	(a) brzo usmjereno pokretnih (x10 <sup>6</sup> /ml)		%
	(b) sporo usmjereno pokretnih (x10 <sup>6</sup> /ml)		%
	(c) neusmjereno pokretnih (x10 <sup>6</sup> /ml)		%
	(d) nepokretnih (x10 <sup>6</sup> /ml)		%
Opća ocjena pokretljivosti (0-4):			
Morfologija	- normalni oblici (>4%)		%
Vitalnost	- živi spermiji (>58%)		%
DNA fragmentacija spermija	- DFI (<30%)		%
HBA	- pokretni vezani spermiji (>60%)		%
Ostali elementi u spermi:			
Dg:			
Napomena:			
Izradio/la:	Odobrio/la:		

Referentne vrijednosti sjemenih parametara prema naputku Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, 2010)

## Prilog 2.

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT  
Klinika za ženske bolesti i porode  
Zavod za ginekološku endokrinologiju i humanu reprodukciju  
Centar za medicinski pomognutu oplodnju

### UPUTA PACIJENTIMA ZA DIJAGNOSTIČKU OBRADU SJEMENA

1. Za dijagnostičku obradu sjemena pacijent treba uzeti uputnicu za spermogram od svog liječnika obiteljske medicine.
2. Termin pretrage pacijent može dobiti ili telefonskim pozivom (tel: 021 551 422) od **13-14 h** ili osobno na šalteru medicinske sestre.
3. Pretraga se vrši radnim danom od **10-11 h**.
4. Na dan termina pacijent može donijeti uzorak sjemena od kuće koji ne smije biti stariji od 45 min ili može dati uzorak u zato predviđenoj prostoriji Kliničkog odsjeka.
5. **Pacijent je dužan apstinirati 2-4 dana prije termina pretrage.**
6. Uputnica za spermogram donosi se sestri na šalter, gdje se dobije sterilna bočica s Vašim imenom. Nakon davanja uzorka u prostorija za prikupljanje uzoraka, uzorak se ostavi u istoj na za to označeno i predviđeno mjesto. Ukoliko se uzorak donese iz kuće, isti se također nakon označavanja, odnese u prostorija za prikupljanje uzoraka na označeno mjesto za spermogram od **10-11 h**.
7. Prilikom prikupljanja uzorka sjemena medicinska sestra identificira pacijenta te uzima podatke o točnom vremenu ejakulacije i apstinenciji.
8. Osim ispitivanja standardnih parametara sjemena (koncentracija, pokretljivost i morfologija spermija), kod indikacije vrši se i dodatna androloška obrada (HOS test vitalnosti spermija, HALOSPERM test DNA fragmentacije spermija i HBA test maturacije spermija)
9. Nalazi se izdaju dan poslije obavljanja pretrage između **14-15 h** na šalteru medicinske sestre.
10. Konzultacije pacijenata (**dr.sc. Andrea Ćukušić Kalajžić, mag. biol. Ana Smolčić**) obavljaju se u vremenu izdavanja nalaza spermograma od **13 – 14 h**.