

Komisiji Prirodno-matematičkog fakulteta za doktorske studije

Predlažem Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta da imenuje komisiju za ocjenu prijave teme doktorske disertacije pod nazivom „ Analiza sjemene tečnosti kod pacijenata sa varikocelom“ kandidata Kerim Hadžajlić, u sastavu:

1. prof dr Slavica Vujović, PMF, odsjek biologija, mentor
2. prof dr Andrej Perović, PMF, odsjek biologija, član
3. prof dr Anđelka Šćepanović, PMF, odsjek biologija, član

U Podgorici 02.12.2024

PRIJAVA TEME DOKTORSKE DISERTACIJE

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	mr Kerim Hadžajlić
Fakultet	Prirodno-matematički fakultet
Studijski program	Biologija
Broj indeksa	06/22
Ime i prezime roditelja	Rešad Hadžajlić
Datum i mjesto rođenja	11.07.1991 Bijelo Polje
Adresa prebivališta	Podgorica
Telefon	068 676 171
E-mail	kerimhadzajlic070@gmail.com
BIOGRAFIJA I BIBLIOGRAFIJA	
Obrazovanje	Srednja medicinska škola dr Branko Zogović 2010 godine Prirodno-matematički fakultet Biologija bachelor 2015 Prirodno-matematički fakultet Biologija specijalističke studije 2016 Prirodno-matematički fakultet Biologija magistarske studije 2018 godine
Radno iskustvo	Pripravnički staž odrađen na studijskom programu Biologija 2016 god Specijalna Bolnica Codra od 2020 godine do danas
Popis radova	/
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Na službenom jeziku	Analiza sjemene tečnosti kod pacijenata sa varikocelom
Na engleskom jeziku	Semen analysis in patients with varicocele
Obrazloženje teme	
Veliki broj ljudi širom svijeta se susrijeće sa problemom u ostvarivanju potomstva. Neplodnost se definiše kao nemogućnost ostvarivanja željene trudnoće kod seksualno aktivnog para bez upotrebe kontracepcijskih sredstava u toku jedne godine. Problemi i poteškoće u vezi sa postizanjem spontane trudnoće su rastući problem u savremenom svijetu i sve veći broj parova se sa njima suočava uslijed kasnijeg stupanja u brak, odlaganja majčinstva, egzistencijalnih problem i slično. Podaci Svjetske zdravstvene organizacije ukazuju da se 15-17% parova širom svijeta suočava sa ovim problemom, što neplodnost svrstava u veliki javno zdravstveni problem. Najčešći uzroci neplodnosti su ovulatorna disfunkcija, muški faktori neplodnosti i bolest jajovoda, dok približno 20% neplodnih parova ima neobjašnjivu neplodnost. Jedan od faktora koji može uticati na infertilitet kod muškaraca je i varikocela. Varikocela nastaje zbog zastoja krvi u venama pampiniformnog pleksusa. Zastoj dovodi do venskog refluksa i širenja samih vena, te povećanja temperature testisa što ima negativan uticaj na spermatogenezu. Brza dijagnoza i početak tretmana varikocеле ključni su za poboljšanje reproduktivne funkcije i kvalitete života pacijenata koji imaju varikocelu. S obzirom na to da je varikocela važan faktor rizika za nastanak muškog infertiliteta, i da je sve veći broj parova koji imaju problema u ostvarivanju potomstva i kako je u Crnoj Gori mali broj naučnih radova koji se bave ovom tematikom, otuda je i potekla ideja za temu ove doktorske disertacije.	

Pregled istraživanja

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (eng. World Health Organisation -WHO) definicija neplodnosti jeste nemogućnost postizanja trudnoće nakon godine dana redovnih i nezaštićenih polnih odnosa. U odnosu na način nastanka može se razlikovati primarni i sekundarni sterilitet.

Primarni sterilitet smatra se ukoliko začecije nikada nije uspjelo, a sekundarni ukoliko postoji anamnestički podatak o prethodnim uspješnim začecima. U današnje vrijeme smatra se da je 10-15 % parova neplodno. Uzrok neplodnosti u 30 % slučajeva su muškarci, žene su uzrok neplodnosti u 35 % slučajeva, oba pola u 20 % slučajeva, a u 15 % slučajeva uzrok neplodnosti je nepoznat (WHO). Muški faktori rizika su uzrok neplodnosti kod 30-50% parova (Freeman S. i sar.2020). Kod muškaraca je potrebno uzeti detaljnu anamnezu i odraditi analizu sjemene tečnosti. Analiza sjemene tečnosti vrši se prema kriterijumima i referentnim vrijednostima za analizu prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO). Prilikom anamnestičke obrade muškog partnera bitno je ispitati trajanje neplodnosti, učestalost polnih odnosa, kao i njihov vremenski raspored zavisno o ciklusu žene (Krausz i sar.2018). Važno je isključiti postojanje seksualne disfunkcije koja uključuje probleme sa erekcijom i ejakulacijom (Otuncemur i sar.2015). Takođe je potrebno isključiti razvojne anomalije i bolesti koje su se javile u djetinjstvu kao i postojanje različitih sistemskih bolesti te prethodnih hirurških zahvata koji mogu uticati na plodnost. Podaci o uzimanju lijekova, posebno anaboličkih steroida i suplemenata kao što je testosteron koji mogu uticati na broj i pokretljivost spermatozoida (Kovac i sar.2015) kao i izloženost polno prenosivim bolestima te različitim toksinima i fizičkim traumama važan su dio anameze. Varikocela predstavlja važan faktor rizika koji može dovesti do neplodnosti kod muškaraca. Prema Alsaikhan i sar. (2016) varikocela je stanje koje se javlja kod 15% zdrave muške populacije, oko 35% muškaraca sa primarnim sterilitetom i oko 80% muškaraca sa sekundarnim sterilitetom). Sofikitis i sar. (2014) su ustanovili da se klinička varikocela dijagnostikuje u 11,7% neplodnih muškaraca s normalnim nalazom sjemene tečnosti i 25,4% neplodnih muškaraca s abnormalnim nalazom sjemene tečnosti. Od kako su Evers i Collins (2007) objavili svoju studiju prema kojoj operacija varikokele nema uticaja na fertilitet kod muškaraca, radjena su brojna druga istraživanja uključujući analize gdje su dokazane navedene hipoteze o uticaju varikokele na fertilitet kao i parametre sjemene tečnosti kod muškaraca (Shah i sar.2023; Çayan sar.2007; Takihara i sar.1991; Çayan i sar 2017). Uprkos široko prihvaćenoj činjenici da je varikocela važan uzrok infertiliteta, njen tačan patofiziološki mehanizam nije u potpunosti razjašnjen (Naughton i sar.2001). Potencijalni uzroci neplodnosti izazvane varikocelom uključuju hipoperfuziju koja dovodi do hipoksije, toplotnog stresa, oksidativnog stresa, hormonskog disbalansa (Agarwal i sar.2012). Konkretno, trenutni dokazi podržavaju teoriju da je oksidativni stres nastao kao rezultat varikokele ključni faktor koji dovodi do infertiliteta (Rotondo i sar. 2021).

Evers i Collins (2012) su objavili studiju u kojoj su zaključili da operativnim rješavanjem varikokele kod muškaraca sa nerazjašnjenim infertilitetom može doći do poboljšanja u parametrima sjemene tečnosti i pozitivnog ishoda na trudnoću. U istraživanju sprovedenom od strane Marmar i sar. (2007) potvrđena je hipoteza u kojoj je došlo do poboljšanja u parametrima spermograma za oko 33% muškaraca hirurški tretiranih zbog varikokele prilikom čega je došlo i do povećanja uspješnosti trudnoće, u poređenju sa 15.5% muškaraca kod kojih nije hirurški odstranjena varikocela. Dostupni podaci govore u prilog hipotezi da postoji povoljan efekat varikokelektomije na poboljšanje parametara spermograma, kao i na sam ishod trudnoće. Određene studije koje poriču korisnu ulogu varikokelektomije kritikovane su zbog uključivanja muškaraca sa subkliničkom varikocelom i kao i muškaraca sa parametrima spermograma koji se nalaze u referentnom opsegu (Çayan i sar.2009).

Imajući u vidu gore navedena istraživanja koja su potvrdila da hirurško uklanjanje varikokele može imati povoljne ishode na povećanje mogućnosti ostvarivanja trudnoće kao i na

poboljšanje parametara sjemene tečnosti i kako u Crnoj Gori postoji malo literaturnih podataka iz ove oblasti, rezultati ovog istraživanja će imati značajan doprinos nauci u našoj zemlji.

Cilj i hipoteze**CILJEVI :**

1. Odrediti koncentraciju sjemen tečnosti kod pacijenata sa dijagnozom varikokele s obzirom na činjenicu da pacijenti koji imaju varikocelu imaju smanjen volumen sjemene tečnosti u odnosu na zdrave pacijente.
2. Odrediti motilitet spermatozoida kod pacijenata sa varikocelom jer pacijenti kod kojih je postavljena dijagnoza varikokele imaju smanjenu pokretljivost spermatozoida u uzorku.
3. Odrediti Body mass index kod pacijenata sa varikocelom s obzirom na brojna istraživanja koja potvrđuju povezanost gojaznosti sa lošim nalazom spermograma samim tim i uticaj na fertilitet kod ispitanika sa povećanom tjelesnom masom.
4. Odrediti razlike između ukupnog volumena sjemene tečnosti, motiliteta spermatozoida kod pacijenata prije postavljanja dijagnoze varikokele. Pored ultrazvučne dijagnostike određivanje ukupnog volumena kao i ostalih parametara spermograma predstavlja osnovne dijagnostičke metode za postavljanje dijagnoze kod pacijenata sa varikocelom.
5. Odrediti razlike između ukupnog volumena i motiliteta spermatozoida kod pacijenata nakon hirurškog uklanjanja varikokele. Kod pacijenata nakon hirurškog rješavanja proširenih spermatičnih vena prema brojnim istraživanjima bi trebalo doći do poboljšanja parametara spermograma.
6. Na osnovu dobijenih podataka iz ovog istraživanja cilj je i potvrđivanje hipoteze da se parametri spermograma kod pacijenata sa varikocelom poboljšavaju nakon operacije uklanjanja varikokele s obzirom na to da su određene studije potvrdile i suprotnu teoriju prema kojoj nakon varikokelektomije ne dolazi do poboljšanja u kvalitetu sjemene tečnosti.

HIPOTEZE :

1. Pacijenti kod kojih je postavljena dijagnoza varikokele imaju lošije parametre spermograma u poređenju sa zdravim osobama. Kako kod pacijenata sa proširenim spermatičnim venama dolazi do refluksa krvi, takođe dolazi i do povećanja tjelesne temperature što nepovoljno utiče na brojnost i pokretljivost spermatozoida kao i na ukupni volumen sjemene tečnosti.
2. Grupisanjem pacijenata prema godinama starosti i određivanjem korelacije sa parametrima spermograma između starosnih grupa prije operativnog liječenja varikokele i nakon operativnog liječenja će se testirati hipoteza da u određenim starosnim grupama postoje razlike u volumenu, pokretljivosti i brojnosti spermatozoida.
3. Analiziranjem starosne dobi kod pacijenata sa varikocelom i njen uticaj na ukupni volumen i pokretljivost spermatozoida prije operativnog liječenja, ispitivat će se hipoteza da i kod ispitanika muškog pola sa porastom godina starosti dolazi do smanjenja fertiliteta.
4. Analizom BMI (Body Mass Index) i određivanjem korelacije sa parametrima spermograma utvrdiće se uticaj gojaznosti na fertilitet kod ispitanika prije i nakon operativnog liječenja varikokele, s obzirom na činjenicu da povećan BMI kod ispitanika muškog pola negativno utiču na fertilitet.
5. Analizom ukupnog volumena, brojnosti i pokretljivosti spermatozoida u uzorku prije i nakon operativnog liječenja varikokele kod pacijenata, i određivanje korelacije između ispitivanih grupa će se utvrditi i sama efikasnost operativnog liječenja na parametre spermograma kod ispitivanih grupa.

Materijali, metode i plan istraživanja

Laboratorijske metode istraživanja:

Pacijentima kojima je dijagnostikovana varikocela će se odraditi spermogram prije i nakon operativnog liječenja varikokele. Analiza sjemene tečnosti će biti sprovedena u skladu sa standardima i smjernicama Svjetske Zdravstvene Organizacije (WHO eng. World Health Organisation) i uključivaće sledeće parametre: zapreminu sjemene tečnosti (ml), koncentraciju sjemene tečnosti (miliona/ml), ukupan broj spermatozoida (milioni), viskozitet, progresivna pokretljivost, ukupna pokretljivost. Pacijenti će uzorke sjemene tečnosti dostavljati u sterilnim čašicama proizvođača Romed i u vremenskom intervalu ne većem od 30 min nakon davanja uzorka kako spoljašnja temperatura i dehidracija ne bi uticale na rezultate analize.

Priprema i obrada sjemene tečnosti će se sprovести u centru za asistiranu reprodukciju bolnice Codra. Svi pacijenti su upozoreni o periodu apstiniranja u trajanju od 2-3 dana prije davanja uzorka sjemene tečnosti za analizu.

- Likvefakcija uzorka- U prvih 5 minuta vrši se likvefakcija uzorka stavljanjem uzorka sjemene tečnosti u inkubator na 37 °C ili na podlogu sa grijanjem. Likvefakcijom se omogućava da sjemena tečnost postane homogenija i vodenija, sa samo nekim djelovima koagulacije. Spermatozoidi koji su imobilisani u koagulumu dobijaju sposobnost kretanja. Likvefakcija može potrajati do 60 minuta.
- Određivanje zapremine (ukupni volumen) sjemen tečnosti se mjeri pomoću graduisane staklene pipete proizvođača Isolab
- Mikroskopiranje uzoraka sjemene tečnosti će se sprovести upotrebom Makler komore za brojanje spermatozida proizvođača Sefi-Medical Instruments i upotrebom mikroskopa CX22 proizvođača Olympus.

Body mass index (BMI) kod ispitanika će se određivati standardizovanom metodom koja obuhvata mjerenje visine i težine ispitanika prema formuli :

$$\text{BMI} = \frac{\text{težina (kg)}}{\text{visina}^2 \text{ (m)}}$$

Plan istraživanja

Prvi dio istraživanja predstavljao je dijagnostikovanje i trijaža pacijenata sa dijagnozom varikocela u centru za urologiju specijalne bolnice Codra u Podgorici. Dijagnoza se postavlja na osnovu nekoliko parametara od kojih su najrelevantniji ultrazvučni pregled testisa koja će se raditi upotrebom ultrazvučnog 2D aparata proizvođača Samsung electronics, palpacija vena testisa kao i određivanje spermograma kod pacijenata kod kojih se sumnja na varikocelu. Pacijenti će biti pregledani od strane nadležnog specijaliste urologije koji postavlja dijagnozu varikokele.

Drugi dio istraživanja predstavlja prikupljanje podataka o pacijentima uključujući Body mass index i određivanje spermograma prema gore navedenoj metodologiji prije operativnog liječenja varikokele. Nakon operativnog liječenja varikokele pacijentima se 3 mjeseca nakon odrađene intervencije određuje kontrolni spermogram sa istim parametrima koji su rađeni i prije same intervencija a po već definisanoj i gore opisanoj metodologiji.

Na samom kraju istraživanja dobijeni podaci će biti obrađivani statistički. Prilikom čega će se određivati srednje vrijednosti, standardne devijacije parametarski i neparametarski statistički testovi u odnosu na način raspodjele podataka kao i korelacija između ispitivanih grupa. Statistička obrada podataka će se obaviti upotrebom statističkog paketa SPSS 20.0 IBM.

Očekivani naučni doprinos

Kako je na samom početku prijave navedeno u našoj zemlji postoji relativno mali izvor literaturnih podataka koji se bave problematikom kvaliteta sjemene tečnosti naročito kvaliteta sjemene tečnosti kod pacijenata sa proširenim spermatičnim venama. S obzirom na slabu istraženost ove tematike u Crnoj Gori podaci dobijeni o kvalitetu sjemen tečnosti (volumen, likvefakcija, ukupan broj spermatozoida, pokretljivost) prije i nakon operativnog liječenja varikokele, predstavljaće jedan novi pregled rezultata koji će biti dobijeni ovim istraživanjem. Pored toga ovaj rad bi mogao poslužiti kao materijal i za procjenu opravdanosti operativnog liječenja proširenih vena s obzirom na to da pojedini radovi koji su se bavili sličnim istraživanjem su dobili podatke koji sugerišu na to da se kvalitet sjemen tečnosti nakon operativnog liječenja varikokele ne mijenja u poređenju sa onim rezultatima dobijenim prije same intervencije. S obzirom na relativno mali broj radova u Crnoj Gori o muškom fertilitetu ovaj rad će svakako doprinijeti boljem sagledavanju različitih aspekata liječenja infertiliteta kod muškaraca kako bi se pružila šansa za potomstvo bračnim parovima koji se susrijeću sa problemom infertiliteta.

Spisak objavljenih radova kandidata

/

Popis literature

Agarwal A., Hamada A., and Esteves S. C., Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 1, *Nature Reviews Urology*. (2012) 9, no. 12, 678–690

Alsaikhan, B.; Alrabeeah, K.; Delouya, G.; Zini, A. Epidemiology of Varicocele. *Asian J. Androl.* 2016, 18, 179

Freeman, S.; Bertolotto, M.; Richenberg, J.; Belfield, J.; Dogra, V.; Huang, D.Y.; Lotti, F.; Markiet, K.; Nikolic, O.; Ramanathan, S.; et al. Ultrasound Evaluation of Varicoceles: Guidelines and Recommendations of the European Society of Urogenital Radiology Scrotal and Penile Imaging Working Group (ESUR-SPIWG) for Detection, Classification, and Grading. *Eur. Radiol.* 2020, 30, 11–25

WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Male. Available online: <https://www.who.int/publications/i/item/9780521774741> (accessed on 20 August 2024).

Kovac JR, Scovell J, Ramasamy R, Rajanahally S, Coward RM, Smith RP, et al. Men regret anabolic steroid use due to a lack of comprehension regarding the consequences on future fertility. *Andrologia* 2015;47:872-8.

Krausz C, Riera-Escamilla A. Genetics of male infertility. *Nat Rev Urol.* 2018;15(6):369–384.

Naughton C. K., Nangia A. K., and Agarwal A., Pathophysiology of varicoceles in male infertility, *Human Reproduction Update*. (2001) 7, no. 5, 473–481

Otuncemur A, Bozkurt M, Besiroglu H, Polat EC, Ozcan L, Ozbek E. Erectile dysfunction is positively correlated with mean platelet volume and platelet count, but not with eosinophil count in peripheral blood. *Urol J.* 2015;12(5):2347–2352

Rotondo J. C., Lanzillotti C., Mazziotta C., Tognon M., and Martini F., Epigenetics of male infertility: the role of DNA methylation, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. (2021) 10-13

Sofikitis N., Stavrou S., Skouros S., Dimitriadis F., Tsounapi P., Takenaka A., Mysteries,

Facts, and Fiction in Varicocele Pathophysiology and Treatment, European Urology Supplements, Volume 13, Issue 4, 2014, Pages 89-99.

Shah, R.; Agarwal, A.; Kavoussi, P.; Rambhatla, A.; Saleh, R.; Cannarella, R.; Harraz, A.M.; Boitrelle, F.; Kuroda, S.; Hamoda, T.A.A.M.; et al. Consensus and Diversity in the Management of Varicocele for Male Infertility: Results of a Global Practice Survey and Comparison with Guidelines and Recommendations. World J. Men's Health 2023, 41, 164.

Takahara, H.; Sakatoku, J.; Cockett, A.T.K. The Pathophysiology of Varicocele in Male Infertility. Fertil. Steril. 1991, 55, 861–868.

Çayan, S.; Woodhouse, C.R.J. The Treatment of Adolescents Presenting with a Varicocele. BJU Int. 2007, 100, 744–747.

Çayan, S.; Sahin, S.; Akbay, E. Paternity Rates and Time to Conception in Adolescents with Varicocele Undergoing Microsurgical Varicocele Repair vs Observation Only: A Single Institution Experience with 408 Patients. J. Urol. 2017, 198, 195–201

Evers, J.L.H.; Collins, J.A. Assessment of Efficacy of Varicocele Repair for Male Subfertility: A Systematic Review. Lancet 2003, 361, 1849–1852

Evers, J.L.H.; Collins, J.; Clarke, J. Surgery or Embolisation for Varicoceles in Subfertile Men. Cochrane Database Syst. Rev. 2009, 10, CD000479; Update in: Cochrane Database Syst. Rev. 2012, 10, CD000479

Çayan, S.; Shavakhabov, S.; Kadioglu, A. Treatment of Palpable Varicocele in Infertile Men: A Meta-Analysis to Define the Best Technique. J. Androl. 2009, 30, 33–40.

SAGLASNOST PREDLOŽENOG/IH MENTORA I DOKTORANDA SA PRIJAVOM

Odgovorno potvrđujem da sam saglasan sa temom koja se prijavljuje.

Prvi mentor	prof.dr sc. med. Slavica Vujović	<i>S. Vujović</i>
Drugi mentor		
Doktorand	Msc Hadžajlić Kerim	<i>H. Kerim</i>

IZJAVA

Odgovorno izjavljujem da doktorsku disertaciju sa istom temom nisam prijavio ni na jednom drugom fakultetu.

U (Podgorica),
(02.12.2024)

Ime i prezime doktoranda

Kerim Hadžajlić
H. Kerim