

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd



Metody asistované reprodukce

-

Methods of assisted reproduction

(bakalářská práce)

Prostřednictvím této práce děkuji doc. MUDr. Josefu Herinkovi, DrCs. za cenné rady a odborné vedení při psaní této práce.

Obsah

1. Úvod	5
2. Neplodnost.....	8
2.1. Mužská neplodnost.....	9
2.1.1. Pretestikulární příčiny.....	9
2.1.1.1. Onemocnění hypotalamu.....	9
2.1.1.2. Onemocnění hypofýzy.....	10
2.1.1.3. Hormonální poruchy.....	11
2.1.2. Testikulární příčiny.....	11
2.1.2.1. Chromozomální příčiny.....	12
2.1.2.2. Noonanův syndrom.....	13
2.1.2.3. Myotonická dystrofie.....	13
2.1.2.4. Bilaterální anorchie.....	13
2.1.2.5. Aplazie zárodečných buněk.....	13
2.1.2.6. Léky, radiace, orchitida, trauma.....	14
2.1.2.7. Systémové onemocnění.....	14
2.1.2.8. Kryptorchismus.....	14
2.1.2.9. Varikokéla.....	15
2.1.2.10. Cystická fibróza.....	15
2.1.3. Posttestikulární příčiny.....	15
2.1.3.1. Nízký počet spermií.....	16
2.1.3.2. Abnormální morfologie.....	16
2.1.3.3. Postižení motility a funkce spermií.....	17
2.1.3.4. Protilátky proti spermiím.....	17
2.1.3.5. Sexuální dysfunkce.....	18
2.2. Ženská neplodnost.....	20
2.2.1. Ovulační selhání.....	20
2.2.2. Selhání transportu gamet a fertilizace.....	22
2.2.2.1. Blokáda tuby.....	22
2.2.2.2. Endometrióza.....	23
2.2.2.3. Myxomatóza.....	24
2.2.2.4. Aschermanův syndrom.....	25
2.2.2.5. Selhání imunity.....	25
2.2.2.6. Idiopatická neplodnost.....	28
3. Přehled metod vyšetřování neplodnosti.....	29
3.1. Vyšetření muže.....	29
3.1.1. Hodnocení ejakulátu.....	29
3.1.2. Vyšetření moči.....	30
3.1.3. Imunologické vyšetření.....	30
3.1.4. Genetické vyšetření.....	31
3.1.5. Hodnocení pro určení vhodné metody.....	31
3.2. Vyšetření ženy.....	31
3.2.1. Vyšetření ovulace.....	31
3.2.1.1. Měření bazální teploty.....	31
3.2.1.2. Měření hladiny progesteronu.....	32
3.2.1.3. Histologické vyšetření vzorku endometria.....	32
3.2.1.4. Ultrazvukové vyšetření.....	32
3.2.1.5. Měření hladiny luteinizačního hormonu (LH).....	32

3.2.1.6. Měření hladiny prolaktinu.....	32
3.2.1.7. Průchodnost děložního hltenu pro spermie.....	33
3.2.2. Vyšetření průchodnosti vejcovodů.....	33
3.2.2.1. Laparoskopie.....	33
3.2.2.2. Hysteroskopie.....	33
3.2.2.3. Hysterosalpingografie.....	33
3.2.3. Vyšetření na přítomnost myomů.....	33
3.2.4. Hormonální vyšetření.....	34
4. Asistovaná reprodukce	35
5. Přehled metod asistované reprodukce	37
6. Mimotělní oplodnění	40
6.1. Hormonální příprava.....	40
6.2. Načasování dozrávání vajíček.....	40
6.3. Odběr vajíček z folikulů.....	40
6.4. Mimotělní oplození vajíček v laboratoři.....	41
6.5. Kultivace vajíček a embryí.....	41
6.6. Transfer embrya do dělohy.....	41
7. Etické aspekty	43
8. Závěr	47
9. Souhrn	53
10. Seznam použité literatury.....	54
11. Příloha.....	55

1. Úvod

Léčba neplodnosti pomocí metod asistované reprodukce je jednou z nejprogresivnějších oblastí moderní medicíny. První známé úspěšné umělé oplodnění provedl a popsal r. 1799 John Hunter. Od té doby rozvoj lékařské vědy a farmaceutického průmyslu, výzkum a diagnostika neplodnosti zaznamenal veliký pokrok. Velký posun znamenalo narození dítěte „ze zkumavky“, pomocí tzv. in vitro fertilizace a transferu embrya do dělohy (IVF-ET), pomocí níž se narodila Louise Brownová ve Velké Británii v roce 1978 díky prvním průkopníkům asistované reprodukce, Edwardsovi a Steptoeovi.

Moderní léčba neplodnosti nabízí široké spektrum léčebných postupů, které jsou těžko navzájem srovnatelné. Další důležité aspekty, jako jsou náklady, doba potřebná k léčbě, podpora rodiny a okolí či trpělivost, to vše vyžaduje radu odborníka, zejména jde-li o nejvhodnější formu léčby a co největší pravděpodobnost úspěchu.

Výběr jednoho určitého postupu závisí na dané příčině neplodnosti. Všechny typy léčby se však snaží pomoci při nemožnosti početí přirozenou cestou. Z tohoto důvodu jsou tyto postupy léčby známé jako „asistovaná reprodukce“ nebo „asistované početí“.

Než se však přistoupí k vyšetření a samotné asistované reprodukci, snažíme se nejprve pokud možno o nejpřirozenější cestu k početí. Nemá smysl provádět vyšetření u dvojic, které se ještě o otěhotnění ani nepokusili (*Řezáčová, 2005*).

Oplodnění je proces při kterém je vajíčko oplodněno spermií během 10-12 hod po ovulaci, i když spermie přežívá v ženském pohlavním systému až 3 dny. Po ovulaci dojde vyplavení vajíčka z Grafova folikulu a vajíčko spolu s buňkami membrána granulosa, které ho obklopují, vstupují do vejcovodu. Pohyb vajíčka je usnadněn fimbriemi.

Vlastností spermie je pohyblivost pomocí bičíku, jehož rytmický pohyb zajišťuje energie z ATP vzniklá v mitochondriích. Po uvolnění ze semenotvorných kanálků při průchodu hlavou a tělem nadvarlete putují spermie do ocasu nadvarlete, kde jsou v období mezi ejakulacemi skladovány.

Po ejakulaci je ve vagíně 400 milionů spermií součástí 2,5 - 3,5 ml ejakulátu. Během 5-10 min přejde z vagíny uretrou do vejcovodu několik set spermií. V ženském pohlavním systému prodělává spermie další funkční změny jmenovitě kapacitaci a tzv. reakci akrosomu.

Kapacitace je změna vlastnosti spermií, které umožňují oplodnění. Tato změna probíhá až v pohlavním systému ženy. Sekret vylučovaný dělohou a vejcovodem ruší vliv inhibičních faktorů nutných k potlačení enzymové aktivity spermií v mužském pohlavním systému. Odbourává glykoproteinový plášť z plasmatické membrány pokrývající akrosom s váčky naplněné cholesterolem a zabraňuje vylití akrosomálních enzymů. Také zvyšuje vstup Ca^{2+} do buňky a tím aktivuje pohyblivost spermií (což je fyziologicky 4mm/min).

Jakmile dosáhne spermie bezprostřední blízkosti oocyty nastává akrosomální reakce. Dochází k mnohonásobnému splývání akrosomální membrány s plasmalemou spermie a uvolní se proteolytické enzymy obsažené v akrosomu. Jedná se hlavně o hyaluronidázu, která rozkládá kyselinu hyaluronovou, přítomnou v mezibuněčné hmotě, tím rozruší spojení mezi buňkami membrana granulosa obklopujícími vajíčko tak, aby spermie mohla vniknout k povrchové membráně vajíčka. Dalším enzymem je akrosin resp. proakrosin (*Trojan a kol., 2004*).

Když spermie k vajíčku proniknou, mikroklky vajíčka hlavičku jedné ze spermií obemknou, během asi 30 minut dojde ke spojení membrán spermie a vajíčka a nastává jejich fúze, která vyvolá změnu povrchových vlastností membrány vajíčka a tím zamezí pronikání dalších spermií. Během několika hodin vnikne do vajíčka celá spermie kromě bičíku a vyvíjí se zygota. Oocyt dokončí druhé zrací dělení, hlavička spermie se přemění v samčí prvojádru a obě prvojádru se k sobě přiloží.

Homologní chromosomy vytvoří páry a začne tzv. rýhovací dělení, kterým je zajištěn diploidní počet chromosomů nového jedince, tj. 46 chromosomů. Kombinace X chromosomu vajíčka s X nebo Y chromozomem spermie určí pohlaví nového jedince.

Poté nastává proces, který nazýváme nidace. K oplodnění dochází ve vejcovodu, zde pokračuje dělení buněk do rané blastocytu, odtud se pak za dalších 4 - 7 dnů dělicí se vajíčko dostane do dělohy, kde se nadále vyvíjí. Díky působení proteolytických enzymů trofoblastu se 7. den blastocysta zanořuje do

endometria. Endometrium je udržováno v sekreční fázi vlivem progesteronu produkovaného corpus luteum.

Proces nidace je ukončen asi 12. den po ovulaci. Od 16. dne po oplodnění se začne vyvíjet placenta, společný orgán matky (decidua basalis) a plodu (chorion frondosum). Placenta je nutná pro životní funkce plodu – výživové, metabolické, endokrinní, imunologické. Tento systém je také nazýván fetoplacentární jednotka (*proces nidace viz. obrazová příloha – obr. 1*).

Pokud nedojde k těmto fyziologickým procesům, pak přistupujeme k vyšetření, následné terapii a trpělivě čekáme na zdárný výsledek (*Trojan a kol., 2004*).

2. Neplodnost

Pojem sterilita, tedy neplodnost, je v poslední době velmi diskutované téma. Asi 2 miliony párů ročně mají problémy s neplodností (*Ulčová – Gallová, 1999*).

Pokud vycházíme z faktu, že vajíčko dozrává u zdravé ženy jen jednou za měsíc a pravděpodobnost, že během této doby dojde po pohlavním styku se zdravým mužem k oplození a zahnízdění oplozeného vajíčka v děloze, je plodnost velmi malá, přibližně 15 %. Po šesti měsících snažení otěhotnět, se to podaří asi 60% dvojic, do dvou let se to podaří asi 85 % párům. Zbývajících 15 %, kterým se nepodaří otěhotnět ani do dvou let považujeme za neplodné a navrhujeme vyšetření, popř. následnou léčbu (*Koryntová, 2000*).

Dříve stanovená hranice snažení o početí 2 roky, se v současnosti zkracuje na 1 rok intenzivního snažení o reprodukci. To souvisí především s moderním stylem života. Těhotenství se odkládá na pozdější dobu, přibývá totiž žen, které se nejprve snaží o dosažení profesionální kariéry, nebo určitého postavení ve společnosti a založení rodiny hraje „vedlejší roli“. Důvodem může být také ekonomická stránka (*Kubíček, 1996, Řežábek, 2002*).

Se stoupajícím věkem žen ale jejich plodnost klesá. Hlavním důvodem je především úbytek vajíček ve vaječnicích a jejich stárnutí, čímž se zhoršuje jejich genetická výbava. Každé ženě se všechna vajíčka vytvoří již v době, kdy se jako plod vyvíjí v děloze. Optimální biologický věk ženy pro početí prvního dítěte je někdy mezi 19. – 25. rokem života. U muže není vymezeno žádné nejplodnější období. Od 30. roku plodnost ženy významně klesá, po 40. roce nedosahuje ani 5% na 1 menstruační cyklus. Nezhoršuje se však jen pravděpodobnost přirozeného početí, ale i účinnost téměř všech léčebných metod neplodnosti. Proto se u žen nad 30 let se nedoporučuje vyčkávat s vyšetřením a eventuelní léčbou déle, než jeden rok (*Koryntová, 2006, Fong a McGovern, 2004*).

Mezi rizikové skupiny, u nichž by se mělo vyšetření uskípnit, patří nejen ženy nad 30. let, ale jedná se i o ženy s velmi nepravidelným menstruačním cyklem, které bez léčby nemenstruují vůbec, dále pak ženy po prodělaných operacích malé pánve, závažných zánětlivých onemocněních vnitřních rodidel apod. U

mužů jsou rizikem především stavy po operacích nesestouplých varlat či varikokély, neboli rozšířených cévních pletení v oblasti šourku, prodělané infekce v oblasti urogenitálu a pohlavně přenosná onemocnění (Kubíček, 1996, Řežábek, 2002).

Jednoznačná příčina nemožnosti početí na straně ženy byla nalezena asi ve třetině případů. Na poruchách plodnosti se podílí z poloviny muž a z poloviny žena.

2.1. Mužská neplodnost

Mužská plodnost je silně závislá na stavu spermií. Průměrný počet mužských pohlavních buněk klesl za posledních 50 let o 50%. Pro posouzení sterility jsou nejdůležitějšími faktory počet spermií, jejich morfologie a pohyblivost. Všeobecně platí, že mužská sterilita z výše jmenovaných důvodů se nedá léčit jinak než asistovanou koncepcí.

Příčiny mužské sterility můžeme rozdělit do několika bodů :

2.1.1. Pretestikulární příčiny –

onemocnění hypotalamu

onemocnění hypofýzy

hormonální příčiny

2.1.1.1. Onemocnění hypotalamu

Při onemocnění hypotalamu se objevuje „Izolovaný deficit gonadotropinů“, neboli Kalmannův syndrom. Příčinou tohoto syndromu je chybění gonadotropního hormonu (GnRH), který fyziologicky stimuluje sekreci FSH a LH. Onemocnění se vyskytuje familiárně, bývá v kombinaci s anosmií a kongenitální hluchotou, rozštěpovými vadami, kraniofaciální asymetrií, renálním postižením či barvoslepostí.

Dále můžeme najít tzv. Izolovaný deficit LH, neboli „syndrom fertilních eunuchů“. Charakteristický je parciální deficit gonadotropinů, kdy hladina LH dostačuje pouze ke stimulaci tvorby testikulárního testosteronu vedoucí

k spermiogenezi, nikoliv však již k virilizaci pacienta. Ejakulát obsahuje málo spermií a testes jsou zvětšena.

Podobně mluvíme o izolovaném deficitu FSH, který je vzácný. Sérové hladiny FSH jsou nízké, hladiny LH a testosteronu jsou normální, ale spermioqram vykazuje těžkou oligospermii až azoospermii (*Kubíček, 1996, Lisá a kol., 2002*).

2.1.1.2. Onemocnění hypofýzy

K insuficienci dochází z důvodů postižení tumorem, infarktem, iatrogením vlivem, infiltrativním či granulomatózním procesem.

Onemocnění se projevuje různě podle věku, v kterém propuká. Pokud se objeví před pubertou, způsobí růstovou retardaci s adrenálním a tyreoidálním deficitem. Jestliže onemocnění propukne u pohlavně zralého muže, dochází ke snížení libida, impotenci a infertilitě. K vymizení sekundárních pohlavních znaků dojde až později, pokud se současně nevyskytuje adrenální insuficience.

Snižuje se hladina testosteronu, gonadotropiny zůstávají v normě, nebo jsou nižší a podle stupně panhypopituitarismu klesají kortikosteroidy, TSH a růstový hormon (*Kubíček, 1996, Lisá a kol., 2002*).

Reprodukční a sexuální dysfunkci způsobuje hyperprolaktinémie. Zvýšenou sekreci prolaktinu mohou způsobit tumory, mikro- i makroadenomy. Dochází k impotenci, ztrátě libida, galaktoree, poruchám spermiogeneze a gynekomastii, což je zvětšení prsních žláz u mužů, které vzniká v důsledku hormonální nerovnováhy. Hladiny testosteronu jsou snižené, gonadotropiny mají snižené nebo normální hodnoty (*Vokurka a kol., 2002*).

Velmi častou příčinou testikulární dysfunkce je hemochromatóza. Je to autozomálně – recesivně dědičná choroba, při které dochází ke zvýšenému vstřebávání Fe ze střeva, poruchám jeho využití a nadměrnému ukládání Fe v těle. Hypogonadismus může být primární, při ukládání železa v testech, nebo sekundární, při depozitech železa v játrech. Železo bylo nalezeno i v hypofýze (*Kubíček, 1996; Silbernagl a Lang, 2001*).

2.1.1.3. Hormonální příčiny

Mezi nejčastější hormony způsobující sterilitu počítáme estrogeny a androgeny. Estrogeny potlačují sekreci gonadotropinů a tím dochází k sekundárnímu testikulárnímu selhání. Podobně androgeny, pokud jsou v těle v nadbytku, způsobí dočasnou sterilitu. Hormonálně aktivní tumory nadledviny, testes či kongenitální adrenální hyperplazie vedou k excessu androgenů. Často naopak dochází k deficitu kortizolu, nadměrné sekreci ACTH, kdy může druhotně dojít k další nadprodukci androgenů a s ním souvisejícím předčasným vývojem sekundárních pohlavních znaků a zvětšení penisu. Testes se však nevyvíjejí z důvodu inhibice gonadotropinů. K poruše spermiogeneze rovněž dochází v důsledku nadbytku glukokortikoidů. Plazmatická hladina kortizolu tlumí sekreci LH a dochází tak k sekundární testikulární dysfunkci.

Spermiogenezi rovněž tlumí nadbytek či nedostatek hormonů štítné žlázy. Hypertyreoidismus způsobuje jak testikulární, tak hypofyzární dysfunkci (*Kubíček, 1996; Silbernagl a Lang, 2001*).

2.1.2. *Testikulární příčiny –*

chromozomální příčiny

Noonanův syndrom (mužský Turnerův syndrom)

Myotonická dystrofie

Bilaterální anorchie

Aplazie zárodečných buněk

Léky, radiace, orchitida, trauma

Systémová onemocnění

Kryptorchismus

Varikokéla

Cystická fibróza

2.1.2.1. Chromozomální příčiny

a) Klinefelterův syndrom

Je to onemocnění při kterém mají muži ve své genetické výbavě navíc chromozom X. Karyotyp je nejčastěji 47 XXY, tzv. klasická forma, nebo tzv. mozaiková forma, kdy je karyotyp 46 XY/ 47XXY. Vyskytuje se ve frekvenci 1%. Do puberty jsou postižení bez příznaků, v pubertě se začínají vyskytovat eunuchoidní rysy, malá tuhá testes, obezita, gynekomastie a azoospermie. Dochází k hyalinizaci a skleróze semenotvorných tubulů, což vede k menším tvarům testes. Zvýšené jsou gonadotropiny, zejména FSH. Plasmatický testosteron bývá v normě, ale klesá s věkem. Zvýšená je hladina estradiolu. Feminizace a gynekomastie je výraznější, čím větší je nepoměr mezi hladinou estrogenů a testosteronu. U 10% pacientu se vyskytuje chromozomální mozaicismus, projevy Klinefelterova syndromu zde nejsou tak výrazné a pokud mají normální klony buněk v testes, mohou být fertillní (*Kubíček, 1996; Nečas, a kol., 2000*).

b) XX – onemocnění

Obdobou Klinefelterova syndromu s podobnými příznaky je XX – onemocnění. Pacienti ale mají menší hmotnost, obvyklé jsou hypospadiie (vrozený rozštěp močové trubice) a není přítomen mentální deficit. Karyotyp je 46 XX. Buňky mají antigen HY, který je normálně kódován na chromozomu Y, ale u pacienta je zapsán v jiném genotypu.

c) XXY- syndrom

Má variabilnější fenotyp než Klinefelterův syndrom. Můžeme nalézt azoospermii, ale i normální stav buněk v ejakulátu. U pacientů pozorujeme nadměrnou štíhlost, pustulární akné a někdy antisociální chování. Hladiny LH a testosteronu jsou v normě, na postižení spermiogeneze závisí hladina FSH (*Kubíček, 1996, Lisá a kol., 2002*).

2.1.2.2. Noonanův syndrom

Jedná se o mužský Turnerův syndrom (XO), neboli monosomii X-chromosomu. Charakteristické rysy jsou krátká postava, blanitý krk, nízko postavené uši, cubitus vagus, abnormality oční (ptosis) a kardiovaskulární poruchy. U pacientů s touto diagnózou se vyskytuje kryptorchismus, porušená spermiogeneze a infertilita. Parciální sexchromozomní variantou Turnerova syndromu je XO/XY mozaicismus, abnormality v karyotypu a sexchromozomech (*Kubíček 1996, Nečas a kol., 2000*).

2.1.2.3. Myotonická dystrofie

Toto onemocnění je autosomálně dominantně dědičné. Dochází k opoždění svalové relaxace po iniciální kontrakci. Dále se vyskytují záchvaty čochy, frontální slepota a testikulární atrofie. Samotné funkce Leidigových buněk a vývoj v pubertě nejsou omezeny (*Kubíček, 1996*).

2.1.2.4. Bilaterální anorchie

Jedná se o velmi vzácné postižení. Z důvodu absence testikulárních androgenů dochází k pohlavní nezralosti a testes nejsou hmatné. Hladiny testosteronu jsou velmi nízké, naopak FSH a LH extrémně vysoké (*Kubíček, 1996*).

2.1.2.5. Aplazie zárodečných buněk

K aplazii dochází z několika příčin, nejčastěji kongenitální absencí zárodečných buněk, genetickým defektem, nebo rezistencí k androgenům. Nalézáme azoospermi s normální virilizací, testes normální konzistence, ale menší velikosti (*Kubíček, 1996*).

2.1.2.6. Léky, radiace, orchitida, trauma

Příčinou může být také vliv toxických látek z vnějšího prostředí (záření, chemické látky), které devastují dělící se zárodečné buňky, Leidigovy buňky, mohou tlumit spermiogenezi, často dochází ke gynekomastii.

Orchitida neboli zánět varlat se objevuje asi u 10% postižených mužů, časem se může vyskytnout testikulární atrofie. Díky očkování je však toto onemocnění dnes již vzácné.

K mechanickému poškození dochází nejčastěji při sportu, nebo operaci, kdy bývá poškozeno cévní zásobení vývodný systém testis (*Kubíček, 1996; Jirsová, 2004*).

2.1.2.7. Systémové onemocnění

K těmto onemocněním počítáme renální selhání, při kterém dochází k zástavě funkce ledvin. Vzniká urémie, která je spojena s poklesem libida, impotencí, poruchou spermiogeneze a gynekomastií. V plazmě klesá hladina testosteronu, naopak se zvyšuje LH a FSH.

U velkého množství pacientů dochází při jaterní cirhóze k atrofii testis, impotenci a gynekomastii. Plasmatický testosteron je snížen, k čemuž může dojít účinkem etanolu, který inhibuje syntézu testikulárního testosteronu. V periférii je potom zvýšena hladina estradiolu (*Kubíček, , 1996; Silbernagl a Lang, 2001*).

2.1.2.8. Kryptorchismus

Jedná se o poruchu sestupu (descensu) varlete. Varlata by měla sestoupit během vývoje z břišní dutiny inguivální kanálem do šourku. Tento proces je důležitý pro správnou tvorbu spermií. Podle místa zadržení rozlišujeme dystopii, kdy dochází k zadržení varlete v místech, kudy probíhá sestup do šourku a ektopii, která je méně častá a při které je varle zadrženo v jiných místech např. v oblasti stehna, nebo perinea. Kvalita spermatu je špatná zejména u bilaterálního postižení (*Vokurka a kol., 2002; Kubíček, 1996*).

2.1.2.9. Varikokéla

Nejčastější příčinou mužské infertility je dilatace žilní pleteně v semenném provazci. Častěji se vyskytuje na levé straně. Primární varikokéla vzniká z neznámých příčin u mladých mužů, sekundární potom jako následek porušeného odtoku krve z důvodu nemoci nebo nádoru ledvin. Dochází ke kompresi vén, které jsou drenážní oblastí testikulárních vén. „Podle teorie prof. Mazo jsou hlavními patogenetickými faktory kongenitální insuficience chlopní ve v. spermatica a venózní renální hypertenze. To vede k retrográdnímu toku krve a hypertenzi v levé testis“ (*Vokurka. a kol., 2002; Kubíček, 1996*).

2.1.2.10. Cystická fibróza

Je to nejčastější autosomálně recesivní choroba u bělošských populací postihující přibližně 1 ze 3000 novorozenců. Toto onemocnění postihuje epitelální sekreci v plicích, pankreatu, játrech, genitálu, střevě, nosní sliznici a potních žlázách, z důvodu narušení epitelové transportní bílkoviny CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulátor). Pravděpodobně se jedná o chloridový kanál. Postižení způsobuje, že tekutina není secernována, ale resorbována. Onemocnění významně zkracuje život postižených, často se nedožijí 20 let a jsou postiženi mužskou infertility (*Silbernagl a Lang, 2001, Silber, 2005*).

2.1.3. *Posttestikulární příčiny -*

- Nízký počet spermií
- Abnormální morfologie
- Postižení motility
- Protilátky proti spermiím
- Sexuální dysfunkce

2.1.3.1. Nízký počet spermií

Oligospermie může snížit šanci na otěhotnění, protože snižuje pravděpodobnost, že jedna spermie dosáhne vajíčka a úspěšně jej oplodní. Počet spermií může dokonce být i nulový, pak mluvíme o tzv. azospermii, kdy se v ejakulátu nenachází žádné spermie (*Kubíček 1996; Jirsová, 2002*).

Důvodem oligospermie může být:

1. částečné nebo úplné selhání funkce varlat
2. porucha správného dozrávání spermií
3. zábrana na cestě mezi varlaty a penisem - sperma pak nelze ejakulovat
4. retrográdní neboli obrácená ejakulace — semeno se obrací špatným směrem v místě, kde se stýká chánovod s močovou trubicí, a končí v měchýři, místo aby odcházelo penisem ven.

2.1.3.2. Abnormální morfologie

Abnormální tvar spermie může zabránit spermiím dosažení vajíčka. Pokud mají spermie abnormální tvar, znemožní jim šanci na úspěšné oplození vajíčka.

Základní morfologické třídění spermií:

- a) oválné hlavičky (normals heads)
- b) malé hlavičky (small heads)
- c) obrovské hlavičky (giant heads)
- d) zdvojené hlavičky (double heads)
- e) kuželovité hlavičky (tapering heads)
- f) amorfní hlavičky (amorphous heads)
- g) nezralé spermie (immature)
- h) zdvojený bičík (double tail), (*morfologie spermií viz. Obrazová příloha – obr. 2*).

2.1.3.3. Postižení motility a funkce spermie

Spermie musí být dobře pohyblivé, aby mohly rychle plavat a přežít i několik hodin v ženském reprodukčním traktu. Mezi kongenitální defekty bičíku počítáme syndrom imotilních cilií, který je charakterizován sníženou motilitou, či špatnou motilitou spermíí. Dále se jedná o tzv. Kartagenerův syndrom, což je varianta imotilních cilií. U těchto onemocnění je spermíí dostatek, ale je špatná pohyblivost, nebo úplně chybí. Motilita je také špatná při chybění enzymu proteinkarboxymetylázy nacházejícího se v bičíku (*Kubíček, 1996*).

2.1.3.4. Protilátky proti spermíím

Jedná se protilátky proti spermíím u mužů tzv. autoprotiilátky – proti vlastním tkáním, nebo u žen tzv. izoprotiilátky – proti cizím tkáním. Protilátky shlukují spermie nejčastěji hlavičkami, bičíky, koncovými částmi bičíků, hlavičkami a bičíky současně. Tento jev se nejvíce vyskytuje u mužů, kteří někdy podstoupili reparaci vasktomie (*Ulčová – Gallová, 1999*).

Protilátky proti spermíím prokážeme přímo navázané na spermíích, v tekuté složce ejakulátu nebo v krevním séru. Cílem jsou antigenní znaky na spermii, které se vyskytují jak hlavičce, krčku, tak i bičíku spermie. Shluklé spermie nemohou vstoupit přes děložní hrdlo a nemůže dojít k oplození. Tyto shluky mají pouze kývavý pohyb. V seminální plazmě nacházíme protilátky třídy IgG, IgA, ojediněle IgE, v séru pak IgG a IgM (*Ulčová – Gallová, 1999, Madar, 2000*).

Protilátky mohou napadnout spermie tím, že je paralyzují a způsobují jejich shlukování nebo je obalí ochrannou látkou. Spermcytotoxické protilátky zasahují hlavně enzymatický aparát akrozomu. Tím se zabrání oplození vajíčka.

Protilátky proti spermíím prokážeme přímo navázané na spermíích, v tekuté složce ejakulátu, v cervikálním hlenu nebo v krvi některého z partnerů (*Ulčová – Gallová, 1999*).

2.1.3.5. Sexuální dysfunkce

Jedná se o kvantitativní a kvalitativní poruchy sexuální výkonnosti v oblastech sexuální apetence, sexuálního vzrušení, orgasmu a sexuálního uspokojení.

Pokud se dysfunkce vyskytuje u pacienta od počátku jeho pohlavního života, mluvíme o tzv. primární dysfunkci. Sekundární dysfunkce se vyskytují až po určitém období bezporuchového sexuálního života.

Dysfunkce jsou způsobeny organickou nebo psychogenní příčinou. Organické příčiny mohou být neurogení, hormonální, cévní, polékové nebo multifaktoriální v důsledku celkových onemocnění či anatomických anomálií. Mezi ně můžeme počítat např. erektilní dysfunkci. Porucha erekce (ztopoření penisu) je definována jako trvalá (minimálně 6 měsíců) neschopnost dosáhnout a/nebo udržet erekci penisu dostatečnou pro uspokojivou sexuální aktivitu.

Psychogenní dysfunkce zahrnují celou škálu příčin od nedostatečné stimulace, přes rušivě působící prožitky v minulosti, výchovy v dětství, problémy v partnerském vztahu, až po osobnostní rysy (neuroticismus) a poruchy osobnosti. Sem patří např. anorgasmie, což je neschopnost dosáhnout orgasmu.

Sexuální dysfunkce mohou být generalizované nebo selektivní.

Generalizovaná dysfunkce není vázána na aktuální partnerský vztah a je vzhledem ke konkrétnímu partnerovi autonomní. Selektivní dysfunkce je vázána na určitý partnerský vztah a jeho kvalitu (*Kubíček, 1996, Kratochvíl, 2003, Šrámková a Žáková, 2006*).

Poruchy ejakulace (ejakulatorní dysfunkce) nejsou častým onemocněním, o to jsou závažnější příčinou poruch fertility.

Anejakulace je úplná ztráta ejakulace. Je způsobena poruchou vypuzování ejakulátu z prostaty a semenných váčků do močové trubice. Pravá anejakulace je obvykle spojena s normálním pocitem orgasmu. Někdy, např. při paraplegii, se může vnímání orgasmu změnit nebo snížit.

Pravá anejakulace je vždy spojena s poruchou centrálního nebo periferního nervového systému anebo je způsobena léky (*Kratochvíl, 2003*).

a) Retardovaná ejakulace

Za mírnou formu anorgasmie je považována retardovaná ejakulace, kdy je potřeba k orgasmu s ejakulací abnormální stimulace ztopořeného penisu. Příčiny jsou psychogenní i organické, jako např. nekompletní míšňí poranění, iatrogenní poškození kavernózních nervů, nebo užívání některých antidepresiv, antihypertenziv a antipsychotik.

b) Retrográdní ejakulace

Retrográdní ejakulace je úplná ztráta antegrádní ejakulace, jelikož ejakulát prochází přes hrdlo do močového měchýře. Pacienti mívají, vyjma paraplegiků, normální nebo snížený pocit orgasmu. Častěji je retrográdní ejakulace kompletní. Částečná antegrádní ejakulace může být zaměněna se sekrecí bulbouretrálních žlázek.

c) Astenická (slabá) ejakulace

Astenická ejakulace, definovaná rovněž jako částečná neschopnost ejakulace nebo "ejaculation baveuse", je charakterizována normální fází emise a poruchou expulzivní fáze ejakulace. Pocit orgasmu je snížený a chybí též typické rytmické kontrakce spojené s ejakulací, které jsou však přítomny v případech astenické ejakulace na podkladě překážky v močové trubici.

d) Předčasná ejakulace

Předčasná ejakulace je rychlé a nezadržitelné vybavení ejakulačního reflexu, neschopnost kontrolovat ejakulaci po "dostatečně" dlouhou dobu před imisí.

O předčasné ejakulaci mluvíme tehdy, když muž nedokáže prodloužit soulož na dobu delší než jedna minuta. Soulož trvající méně než tři minuty nazýváme coitus brevis. Dojde-li k ejakulaci před nebo při imisi, mluvíme o ejaculatio ante nebo intra portas. Předčasná ejakulace může být psychogenní nebo organické povahy, vrozená nebo získaná. Při intravaginální ejakulaci není ovlivněna fertilita (*Kratochvíl, 2003*).

2.2. Ženská neplodnost

Může být způsobena:

- ovulačním selháním
- selháním transportu spermií, oocytu/ů, embrya/í, pick up fenoménu a fertilizačního prostředí v tubě, jakož i samotné fertilizace (kapacitace, akrosomální reakce, navázání a průnik zónou pellucidou)
- imunitním selháním

2.2.1. Ovulační selhání

Nejčastěji je způsobeno:

- syndromem retence oocytu
- syndromem luteinizovaného neprasklého folikulu (LUF)
- vlastní anovulací - příčiny jsou na různých úrovních. Správné dozrávání a uvolnění vajíčka na vaječnicku je výsledkem dokonalé souhry celé řady funkcí, a to především žláz s vnitřní sekrecí a metabolismu. Základní impuls vychází z hypothalamu. Odtud jsou řídicí působky odváděny do hypofýzy (při poruše funkce můžeme mluvit o tzv. hyper-, hypo-, či normogonadotropní anovulaci), která produkuje gonadotropiny, tzn. folikulostimulační hormon (folitropin, FSH) a luteinizační hormon (lutropin, LH). Ty se uvolňují do krve a přímo ovlivňují vaječnicku. Důležitou roli hraje také správná hladina hormonů štítné žlázy. U velkého počtu žen nacházíme obraz takzvané subklinické hypotyreózy, obtíže mohou nastat i při hypertyreóze. Dalším důležitým hormonem je prolaktin a hormony nadledvin, kdy dochází k poruše ovulace zejména z důvodu hyperandrogenismů.
- ovariální dysfunkcí - v neposlední řadě potom mezi ovulační selhání počítáme také primárně ovariální dysfunkce, kam řadíme:

a) syndrom rezistentního ovaria, což je vzácný případ ovariální rezistence na gonadotropiny. Ovaria jsou hypoplastická s nestimulovanými primordiálními folikuly a objevují se enzymatické ovariální defekty.

b) syndrom autoimunního selhání více žláz s vnitřní sekrecí, tzv. Schmittův syndrom charakterizovaný autoimunitně podmíněnou Addisonovou chorobou (adrenalitidou) ve spojení s autoimunitní tyroiditidou.

c) syndrom polycystických ovárií, Stein-Leventhalův syndrom je onemocnění charakterizované tvorbou cyst ve vaječnicích, neplodností, vynecháním menstruace, výrazným ochlupením, obezitou a hormonálními poruchami. Příčinou je zřejmě porušená hormonální regulace.

d) absence oocytů - primární- ovariální dysgeneze (např. součást Turnerova syndromu)

- sekundární - syndrom předčasného ovariálního selhání
- předčasná menopauza či climacterium

praecox, okultní ovariální selhání (FSH > 10 I.U.)

- neléčeným diabetem mellitu (*Košťál, 2007, Trojan a kol., 2004, Motlík a Živný, 2001, Vokurka a kol., 2002*).

Poruchu ovulace mohou mít ženy s nadváhou, stejně tak ženy s nízkou tělesnou hmotností, nebo ženy s hraniční váhou a velkým energetickým výdejem. Typickým příkladem v tomto směru mohou být sportovkyně nebo baletky. Tělesný tuk totiž, kromě jiného, ovlivňuje činnost žláz s vnitřní sekrecí. Ženy, které ho mají nadbytek, mají také zvýšenou produkci jak ženských pohlavních hormonů (estrogenů), tak mužských pohlavních hormonů (androgenů). To vede k poruše ovulace. Naopak, žena s malým množstvím tělesného tuku nemá žádné energetické rezervy. Těhotenství je však velmi energeticky náročné. Extrémně štíhlé ženy přestávají zpravidla menstruat v případě dosažení hranice 45 kg. V jejich případě se jedná o přirozený ochranný mechanismus. Přestože se menstruace dá podáváním hormonů navodit, není to bez příbrání na váze u extrémně hubených žen příliš vhodné. Je totiž prokázáno, že u těchto žen je zvýšené riziko porodu plodu o velmi nízké hmotnosti, což je zvýšeno s vyšším rizikem onemocnění nebo i úmrtí. K obnovení menstruace a ovulace dochází i po přírůstku hmotnosti velmi pomalu, proto je často nutné pokračovat v hormonální terapii. Naproti tomu u

obézních žen se efekt terapie dostavuje rychle.

Jednou z příčin nedozrání vajíček na vaječnicích také může být fakt, že se jejich zásoba již vyčerpala. Normální je to u žen starších, nad 40, nebo spíše 45 let. Někdy ale takový nález objevíme i u mladé ženy. V krvi nacházíme vysoké hladiny FSH, což znamená, že vaječník na něj nereaguje, a na ultrazvuku vidíme jen malé vaječníky bez drobných folikulů připravených k růstu. Příčinou tohoto stavu, který označujeme jako předčasné selhání vaječnicků, může být genetická vada, prodělaná agresivní onkologická léčba (např. transplantace kostní dřeně), autoimunitní porucha, nebo se příčina nezjistí vůbec. V každém případě ovulaci již nelze vyvolat a jedinou šancí je mimotělní oplození s darovanými vajíčky (*Koryntová, 2000, Uhlíková a kol., 2006*).

2.2.2. Selhání transportu gamet a fertilizace

Nejčastější příčiny:

- blokáda tuby, peritubální adheze
- endometriosis
- myomatosis
- intrauterinní adheze (Ashermanův syndrom)
- retroverze děložní-sklon podélné osy přímé dělohy nazad
- hostilita cervikálního hlenu
- skrytě probíhající tubulární a intrauterinní infekce (chlamydie, mykoplasmata, ureoplasma)

2.2.2.1. Blokáda tuby, neboli neprůchodnost vejcovodů.

Děloha je s oběma vaječníky spojena jemnými trubicovitými orgány - vejcovody (tuba uterina), což je párová součást ženského pohlavního ústrojí. Jedná se o trubicovitý orgán mezi vaječníky a dělohou tvořený hladkou svalovinou a sliznicí s řasami a řasinkami. K setkání obou gamet (spermie a vajíčka), oplození a správnému usídlení embrya v dutině děložní je nezbytná nejen mechanická průchodnost vejcovodů, ale i jejich správná funkce. Vějířovité nálevky volných konců vejcovodů zajišťují zachycení vajíčka (pick-up fenomén), jejich svalovina a výstelka umožní transport spermie k vajíčku a posun zárodku

do dutiny děložní.

Dojde-li k narušení tohoto mechanismu, ať již z důvodů organických či funkčních, nenastane oplození, nebo proběhne implantace na nesprávném místě, tehdy vznikne mimoděložní těhotenství (téměř vždy ve vejcovodech). Neprůchodnost vejcovodů vzniká nejčastěji následkem proběhlého zánětu děložních přívesků (adnex), tedy vejcovodů a vaječnicků. Zánět může probíhat jako převážně jednostranný a zanechat neprůchodný pouze jeden vejcovod. Většinou však zánět postihne obě strany i dělohu, potom hovoříme o pánevní zánětlivé nemoci (Pelvic inflammatory disease-PID). Ta bývá způsobena smíšenou bakteriální infekcí, hlavně bakteriemi *Chlamydia trachomatis* a původcem kapavky *Neisseria Gonorrhoe*. Ne každý zánět adnex zanechává trvalé následky ve formě neprůchodnosti. V ohrožení jsou především mladé, dosud nerodivší ženy. Pánevní zánět, vážně postihující vejcovody, může proběhnout i zcela nepozorovaně nebo jen s mírnými, netypickými obtížemi. Sekundárně může být poškození adnex vyvoláno i přestupem zánětu z infikovaného appendixu (*Košťál, 2007, Mára, 2007*).

2.2.2.2. Endometrióza

Neprůchodnost tub může být způsobena i jinými příčinami než zánětem: endometriózou, přítomností vrozené vady rodidel nebo adhezemi (srůsty) po předchozích operacích (*Mára, 2007, Motlík a Živný, 2001, Vokurka a kol., 2002*).

Endometrióza je u neplodných žen velmi častým nálezem. Vyskytuje se u nich (dle zjištěných laparoskopických nálezů) asi ve 25-40% případů. Můžeme ji definovat jako ektopickou přítomnost tkáně, která morfoloicky i biologicky odpovídá děložní sliznici (endometriu), mimo své normální uložení, tedy mimo dutinu děložní. Nejčastěji se vyskytuje na pobřišnici (peritoneu) nebo na orgánech malé pánve (vejcovody vaječnicků, střevo, močový měchýř, aj.). Projevy endometriózy na pobřišnici však mohou být velmi proměnlivé a netypické. Endometrióza se může také vyskytovat ve formě meziorgánových srůstů v oblasti malé pánve, jako typické cesty vaječnicků (Samsonské cesty s tmavě krvavým, „čokoládovým“ obsahem), nebo ve formě tuhých, bolestivých uzlů ve tkáni mezi pochvou a konečníkem.

S endometriózou může být spojena zhoršená funkce vaječnicků (porucha

folikulogeneze), vejcovodů (porucha funkce až úplná mechanická neprůchodnost) i spermií (jsou napadány imunitním systémem ženy, např. makrofágy). Dále pak narušená implantace embrya v děloze, bolestivost pohlavního styku a některé další faktory ovlivňující fertilitu.

Endometriózu lze klasifikovat podle lokalizace ložisek na: peritoneální (na pobřišnici), ovariální (na vaječnicích), retroperitoneální (v septu mezi konečníkem a pochvou), vnitřní (neboli adenomyózu, uvnitř děložní svaloviny) a extragenitální (mimo pohlavní orgány). Podle míry postižení dělíme endometriózu do 4 stupňů: minimální, mírnou, střední a těžkou. Mezi hlavní příznaky endometriózy patří bolest především při menstruaci, pohlavním styku, dále při stolici nebo také chronické pánevní bolesti bez závislosti na cyklu a sterilita (*Mára, 2007, Motlík a Živný, 2001*).

2.2.2.3. Myomatóza

Jedná se o výskyt většího počtu myomů. Počátky myomů spadají do mladého dospělého věku. Rozvíjejí se v období pohlavní zralosti, kdy se vyskytují u každé 4. ženy. Jsou nalézány histopatologicky u 70-75% preparátů po hysterektomiích. Jejich růst bývá akcentován v těhotenství, zatímco v klimakteriu se často zpomaluje a v postmenopauze se zpravidla zastavuje. Myomy dělohy jsou benigní nádory, vznikající z buněk hladké svaloviny (leiomyomy). Leiomyom se jeví jako dobře ohraničená, tuhá masa drobných vírů s bělavým až žlutohnědým povrchem. Nenalezneme však známky nekrózy ani jaderných atypií. Řada uvedených skutečností nasvědčuje závislosti leiomyomů na estrogenech. Není zcela dokázáno, zda se odvozují od myometrálních buněk nebo hladkých svalových buněk myometrálních cév. Mají expanzivní růst a často deformují dělohu. Jsou solitární nebo mnohočetné, malé od několika milimetrů až po obrovské (10 i více centimetrů), vystupující z malé pánve vysoko do dutiny břišní.

Myomy jsou často klinicky zcela němé – asymptomatické. Jsou potom náhodným zjištěním při pravidelné gynekologické prohlídce nebo ultrazvukovém vyšetření. Klinické projevy myomů jsou různé formy nadměrného děložního krvácení (velmi silné, či prodloužené menses, krvácení i mimo cyklus, apod.), s čímž je často druhotně spojena anémie. Myomy se mohou projevovat i pánevní bolestí (podbřišku či zad, při menses i mimo cyklus, při pohlavním styku),

obtížným či častým močením, pocitem oteklého podbříšku a nadmutí, zácpou atd. Podle umístění myomů ve vztahu k jednotlivým vrstvám děložní stěny se rozlišují myomy podslizniční (submukózní, vyklenující se do dutiny děložní), intramurální (zajímající významnou část děložní stěny – myometria) a subserózní (expandující z dělohy navenek do dutiny břišní).

Neplodnost těchto žen může být mj. způsobena zhoršenou možností embrya usídlit se v dutině děložní, zejména u myomů podslizničních a intramurálních, které se částečně vyklenují do dutiny děložní, nebo výrazně narušují architekturu a celkovou funkci orgánu. Tento druh myomů může být příčinou opakovaných potratů. Myxomatózní děloha může komplikovat vývoj embrya krvácením a bolestmi, potratem nebo předčasným porodem, nekrózou či torzí myomu a horší funkcí dělohy při porodu (*Mára, 2007, Motlík a Živný, 2001, Giuntoli a kol., 2006*).

2.2.2.4. Ashermanův syndrom

Tento syndrom je vlastně sekundární amenorea v důsledku srůstů (synechií) po kyretáži, myomektomii či po poškození endometria (amenorrhoea traumatica, amenorrhoea atretica). Při tomto onemocnění může dojít ke sterilitě či poruchám vývoje placenty v těhotenství (*Vokurka a kol., 2002*).

2.2.2.5. Selhání imunity

- antispermatozoidální protilátky - místní cervikální
 - celkové - cirkulující v krvi
- antizonální protilátky – proti zoně pellucidě
- antiembryonální protilátky - selhání časné imunosuprese, poruchy fertilizace, rané potraty

Místní (lokální) cervikální antispermatozoidální protilátky

Mohou být vytvářeny reprodukčním traktem ženy již při prvním setkání se spermii. Tyto protilátky pak bývají zprvu zjistitelné pouze v hlenu hrdla děložního. V ostatních částech jako je děložní dutina, vejcovod, dutina břišní či krevní sérum nalézáme protilátky po delší a opakované imunizaci antigeny spermii. Imunologickou příčinou sterility je zvýšená činnost makrofágů

v ženském traktu proti spermiím. V děložní dutině nalézáme plazmatické buňky produkující protilátky proti spermiím (především Ig A a Ig G), dále pak T-lymfocyty, které nevytváří protilátky, ale působí cytotoxicky. U zdravé ženy je v období ovulace protilátková aktivita nejnižší (Ulčová – Gallová, 1999).

U 127 pacientek, jejichž průměrný věk byl 32 let byla provedena studie na průkaz místních antispermatozoidálních protilátek, kdy bylo měřeno pH, arborizace a penetrace spermií kapilárou naplněnou ovulačním sekretem za jednotku času (Kremerův test).

Současně byli vyšetřovány lokální spermaglutinační protilátky nepřímým smíšeným antiimunoglobulinovým testem tzv. i-Mar testem, kde principem je navázání čistých antisér kovalentními vazbami na červené krvinky nebo na polyakrylamidové kuličky a sledování protilátkové aktivity ve vyšetřovaném vzorku na povrchu živých spermií) pro Ig G, A, M, E

Bylo zjištěno, že pH ovulačního hlenu 7,4-9,6 (fyziologické rozmezí) mělo 94/127 pacientek (74%), pH<7,4 bylo u 33 (26%). U pacientek s fyziologickým pH bylo nalezeno v 60% Kremerův test nad 2cm/hod (normální penetrace spermií ovulačním hlenem), u 40% došlo ke snížené penetraci spermií (<2cm/hod, swelling, shaking, cytotoxicita). Protilátky proti spermiím byly nalezeny v ovulačním hlenu u 24% pacientek s pH <7,4 a u 22% s pH fyziologickým. U 111 pacientek s pravidelným menstruačním cyklem byla zjištěna v 81% klasická arborizace ovulačního hlenu na sklíčku, ve 14% tento fenomén nebyl prokázán. Ve skupině 16 pacientek s nepravidelným menstruačním cyklem byla klasická arborizace nalezena u 11 z nich. Lokální protilátky proti spermiím byly zjištěny jen u 13% z celkového počtu žen, tj. u 17 pacientek, jejichž ovulační sekret vykazoval pozitivní arborizaci. V kontrolní skupině 30 plodných zralých žen byl pouze 1 patologický nález všech sledovaných parametrů.

Závěrem tedy můžeme říci, že patologické pH ovulačního hlenu, hormonální dysbalance a přítomné lokální spermaglutinační protilátky jednoznačně nepříznivě ovlivňují penetraci spermií hrdlem děložním. Přítomnost vaginálních patogenů může způsobit zkříženou antigenicitu s povrchovými epitopy spermií. Jedna ze známek ovulace, tzn. arborizace ovulačního hlenu s výskytem lokálních protilátek proti spermiím přímo nesouvisí, i když nedostatečná estrogenizace je známkou snížení suprese v oblasti cervikálního kanálu.

Cervikální hlen je hydrogel s 2-12% pevné složky složené z glykoproteinů s postranním oligosacharidovým řetězcem. Sekrece cervikálního hlenu narůstá během folikulární fáze pod vlivem estrogenu, dosahuje vrcholu v době ovulace, kdy je to řídký, fluidní, alkalický, acelulární gel příznivý k fyziologickým vlastnostem spermií.

K nepřímému hodnocení estrogenizace slouží cervikální index, součástí je i arborizace ovulačního hlenu.

Během peri-ovulační doby se objevuje typická arborizace, která je doprovázena zvýšeným obsahem vody a koncentrací elektrolytů (NaCl, KCl) Cervikální hlen z kanálu hrdla děložního byl skladován při -20°C (Gruberová a kol., 2006).

Antizonální protilátky

Zona pellucida je nebuněčná glykoproteinová vrstva, která zabraňuje oplodnění několika spermiemi najednou a chrání časně oplozené vajíčko při cestě do dutiny děložní. Proti této vrstvě se vytváří autoprotilátky schopné zabránit oplození, které lze nalézt v krvi, v tekutině obklopující vajíčko (folikulární tekutina) a vnitřní břišní orgány (peritoneální tekutina). Protílátky jsou většinou charakteru Ig G, M a A (Ulčová – Gallová, 1999).

Antifosfolipidové protilátky (APA)

Jsou to lupus antikoagulanty(LA) a antikardiolipinové protilátky jsou protilátky, jejichž cílovým antigenem jsou makromolekulární struktury navázané na negativně nabitě povrchy, nejčastěji fosfolipidové. Mezi LA rozlišujeme dvě skupiny inhibitorů a to:

- protilátky proti $\beta 2$ - glykoproteinu I
- protilátky proti protrombinu

Protílátky proti $\beta 2$ - glykoproteinu I mají významnou asociaci s trombotickými stavy a tudíž i s těhotenstvím jakožto nepochybně trombofilním stavem. Smrt fetu a opakované spontánní potraty jsou hlavními gynekologickými kritérii v diagnostice tzv.antifosfolipidového syndromu. Prevalence tohoto syndromu, je asi 15-20%, s častějším výskytem lupus antikoagulans.

Mechanismy, jimiž APA mohou vést k nepříznivému ovlivnění probíhající gravidity je celá řada. Patří sem např. mechanismus apoptózy, vazba APA

cestou vazby β 2- glykoproteinu I, tím aktivace endoteliálních buněk či trombocytů a následná aktivace trombózy, nebo předčasná cévní okluze v placentě. APA mohou také negativně působit na diferenciaci trofoblastu, blokovat sekreci gonadotropinů, či zasahovat do aktivity anexinu V.

Antifosfolipidový syndrom, nebo jen pozitivita APA může být závažnou komplikací v těhotenství (*Galli, 2003, Bulíková a Crha, 2006, Branch, 1987, 1998, Koji a kol., 1995*).

2.2.2.6. Idiopatická neplodnost

Bohužel i v případě, že žena ovuluje a má průchozí vejcovody a její partner má normální spermiogram, může být tento pár neplodný. U 25% neplodných párů se skutečně nezjistí žádná nepravidelnost při rutinních ani při specializovaných vyšetřeních, což vede k diagnóze idiopatická neplodnost (*Mitwally, 2006*).

3. Přehled metod vyšetřování neplodnosti

Vyšetření neplodného páru vychází z fyziologie rozmnožování. Musíme proto zjistit, zda jsou u obou partnerů přítomny pohlavní buňky a zda se mohou spojit a dát vznik novému životu.

Nejlepší je vždy prevence, proto se snažíme odstranit faktory, o nichž víme, že mají na tvorbu spermií nepříznivý vliv. Je třeba omezit kouření, alkohol, vyhnout se nadměrné expozici tepla, vyvarovat se užívání drog, dbát opatrnosti při provozování některých sportů, radikálně léčit případnou infekci močového a pohlavního ústrojí, konzultovat, případně změnit po dohodě s lékařem léky nasazené k léčbě jiného onemocnění.

3.1. Vyšetření muže

K základním vyšetřovacím metodám v případě muže patří zevní vyšetření pohmatem, hormonální vyšetření a vyšetření semenné tekutiny (ejakulátu) – spermioqram (SPG). Jde o mikroskopické vyšetření vzorku spermatu. Optimální doba pro vyšetření spermioqramu je po 3-6 denní pohlavní abstinenci, vyšetření je vhodné provést již při první návštěvě sterilního páru. Doporučují se raději 2 vzorky v odstupu alespoň 1 týdne. Objem ejakulátu by měl být 2-5 ml (*Silber, 2005, Koryntová, 2007, Kočí, 2007*).

3.1.1. Hodnocení ejakulátu

V ejakulátu hodnotíme:

- počet spermií
- pohyblivost spermií
- morfologii spermií

a) Počet spermií

Za normu počtu spermií je považována v současné době koncentrace 20 mil/ ml. Ve 2,5-3,5ml ejakulátu by mělo být přibližně 400 milionů spermií, pokud počet poklesne pod 20 milionů, pak mluvíme o oligozoospermii. Úplné vymizení spermií potom azoospermii.

b) Pohyblivost spermií

Normální množství je 60% pohyblivých spermií. Pozorujeme-li v ejakulátu malou pohyblivost, označujeme tento stav jako asthenospermii.

c) Morfologie spermií.

Jestliže má normální tvar méně než 30% spermií, označujeme tento stav jako teratozoospermii.

Nacházíme-li zhoršení všech parametrů spermií, označujeme tento nález jako oligoastenozoospermii. Netvoří-li se ejakulát jde o aspermii. Dále se hodnotí počet bílých krvinek v ejakulátu, shlukování a přítomnost jiných buněk. Při podezření na infekci je vhodné vyšetřit kultivaci (přítomnost zánětu) v ejakulátu.

3.1.2. Vyšetření moči

Dále můžeme při mužské neplodnosti provádět vyšetření moči, které pomáhá odhalit zánět močových cest či předstojné žlázy (prostaty), případně některé další choroby, které mohou výrazným způsobem negativně ovlivnit plodnost muže (například diabetes mellitus).

3.1.3. Imunologické vyšetření

K dalším možným vyšetřením patří vyšetření imunologické, vyšetření hormonálních hladin a v některých případech je nutno provést i biopsii varlete.

3.1.4. Genetické vyšetření

Z hlediska genetického lze identifikovat genetickou výbavu muže a zjistit tak pravděpodobnost přenosu poruchy na potomstvo.

3.1.5. Hodnocení pro určení vhodné metody

A v neposlední řadě ohodnocení semene z pohledu řady metod asistované reprodukce. Na základě kvality a počtu spermií lze doporučit vhodnou metodu asistované koncepce.

(Silber, 2005, Koryntová, 2007, Kočí, 2007)

3.2. Vyšetření ženy

Pokud se jedná o vyšetření ženské neplodnosti, provádí se:

3.2.1. Vyšetření ovulace

K průkazu ovulace slouží několik metod:

3.2.1.1. Měření bazální teploty:

V době ovulace stoupá bazální teplota bezprostředně po ovulaci o 0,3 až 0,7 °C (podle místa měření) a zůstává zvýšená po celý zbytek cyklu až do další menstruace. Vzestup teploty je způsoben progesteronem, produkovaným ve žlutém tělísku. Důležité je, aby měření probíhalo za standardních podmínek ráno po probuzení a to vždy na stejném místě - v ústech, v konečníku nebo v pochvě.

3.2.1.2. Měření hladiny progesteronu:

Pro měření progesteronu odebíráme krev většinou v polovině luteální fáze cyklu, 5 až 10 dní před očekávanou menstruací. Podle hladiny můžeme určit, zda ovulace proběhla či nikoliv. Jedná se o rychlejší a spolehlivější vyšetření než je měření bazální teploty.

3.2.1.3. Histologické vyšetření vzorku endometria:

V době ovulace, pozorujeme na děložní sliznici (endometriu) působením progesteronu typické sekreční změny, které sliznici připravují na případnou implantaci oplozeného vajíčka. Tyto změny můžeme odhalit pomocí histologického vyšetření sliznice pod mikroskopem.

3.2.1.4. Ultrazvukové vyšetření:

Principem ultrazvukového vyšetření je použití ultrazvukových vln o vysoké frekvenci. Tyto vlny prochází tělem a odráží se od jednotlivých orgánů.

Odražené vlny potom můžeme převést a pozorovat na monitoru. V případě posuzování ovulace se provádí ultrazvukové vyšetření vaječníků i děložní sliznice. U vaječníků se hodnotí velikost největšího folikulu, který spěje k ovulaci, když dosáhne rozměrů 18 až 26 mm. U endometria pak hodnotíme jeho výšku a charakter.

3.2.1.5. Měření hladiny luteinizačního hormonu (LH):

LH test je vlastně startovacím hormonem pro ovulaci, proto jeho výrazný vzestup signalizuje začátek ovulace

3.2.1.6. Měření hladiny prolaktinu:

Prolaktin je hormon, který se tvoří v adenohipofýze a jeho hlavní funkcí je v období kojení stimulovat v prsních žlázách tvorbu mléka. Pokud se ve zvýšené míře vyplavuje i mimo kojení, má to negativní vliv na dozrávající vajíčka. Odběr krve provádíme minimálně 3 hodiny po probuzení, protože ve spánku je jeho hladina nejvyšší.

3.2.1.7. Průchodnost děložního hlenu pro spermie

Provedeme tzv. postkoitální test. Vyšetřovaná žena musí mít asi 3 – 15 hodin před vyšetřením pohlavní styk, abychom mohli v hlenu najít nějaké spermie. Lékař potom na vyšetření odebere vzorek hlenu, který kontroluje pod mikroskopem. Pokud nalezne v hlenu alespoň jednu pohyblivou spermii, je hlen pro spermie průchodný (*Řežábek, 2002, Koryntová, 2007, Trojan a kol., 2004*).

3.2.2. Vyšetření průchodnosti vejcovodů

3.2.2.1. Laparoskopie:

Vyšetření se provádí většinou v celkové anestézii, během které se malým řezem v břišní stěně zavádí do břišní dutiny laparoskop s velmi citlivou optikou. Pomocí této optiky lze snadno prohlédnout vnitřní pohlavní orgány, především vaječníky a vejcovody. Všimáme si zevních změn na těchto orgánech, jako jsou jejich zvětšení, rozšíření, změny tvaru atd. Poté se pomocí speciální kontrastní směsi vstříknuté do dělohy sleduje zda tato prošla vejcovody (*Schlaerth a Abu-Rustum, 2006*).

3.2.2.2. Hysteroskopie:

Jde o zavedení optického přístroje do děložní dutiny, které umožňuje odhalit nejrůznější patologické odchylky, které mohou hrát roli v neplodnosti. Tato metoda se často provádí současně s laparoskopií (*Holečková, 2006*).

3.2.2.3. Hysterosalpingografie:

Při tomto vyšetření se průchodnost vejcovodů sleduje pomocí speciální fluorescenční nebo rentgen kontrastní látky, která se ženě zavádí přes vagínu. Pohyb této směsi vejcovody je sledován zařízením citlivým na rentgenové nebo fluorescencenční záření (*Řežábek, 2004*).

3.2.3. Vyšetření na přítomnost myomů

Myomy lze diagnostikovat při gynekologické prohlídce nebo ultrazvukovém vyšetření. Dále také pomocí CT nebo magnetické rezonance, tato vyšetření se však využívají jen výjimečně (*Kačírek, 2006*).

3.2.4. Hormonální vyšetření

Stanovujeme hlavně hladiny FSH, estradiolu (E2), LH, případně prolaktinu imunoanalýzou, nebo pomocí separačních technik (GC,LC,LC-MS).

4. Asistovaná reprodukce

Asistovanou reprodukcí označujeme všechny léčebné postupy a techniky při kterých manipulujeme s gametami, tedy oocyty a spermii. Intrauterinní inseminace, neboli zavedení spermií přes branku hrdla děložního přímo do děložní dutiny, pomocí které se léčí některé příčiny neplodnosti byly poprvé popsány již roku 1866.

Velkou pozornost vzbudila již výše zmíněná in vitro fertilizace a transfer embrya do dělohy (IVF-ET), provedená v roce 1978. Prvnímu lidskému IVF-ET vedla dlouhá cesta, která začala v Edinburgu ve Skotsku o 20 let dříve. Vědci Ruth Fowler a Robert Edwards první popsali superovulaci u myších samic. Brzy na to, v r. 1962 a následně v r.1965 popsal R. Edwards stadia zrání lidského vajíčka ve zkumavce. Ve stejné době, tedy v r.1962 byla poprvé popsána embryonální kmenová buňka (R.Edwards, J. Paul a R. Cole), která se diferencovala in vitro. Ve stejnou dobu také Richard Gardner popsal preimplantační diagnostiku u králíků. První fertilizaci lidského oocyty, který dozrál in vitro popsal Barry Bavister. Robert Edwards začal spolupracovat s Dr. Patrickem Steptoe v r. 1968, po tom, co si přečetl v odborném časopisu Lancet jeho článek s popisem vejcovodů při laparoskopii. Celých deset let intenzivní spolupráce nakonec vedlo ke společnému úspěchu a v r. 1978 se narodilo první dítě ze zkumavky.

Poté byly vyvinuty další techniky, dnes již označované jako asistovaná reprodukce.

Metody AR indikujeme v případech:

- d) tuboperitoneální faktor
- e) poruchy plodnosti muže
- f) endometrióza
- g) imunologický faktor
- h) nejasná příčina neplodnosti
- i) příčina neplodnosti vyžadující dárcovství vajíčka

Zařazení do programu AR a použité metodě rozhoduje skupina specialistů ve spolupráci gynekologa, androloga, embryologa, genetika, imunologa a dalších specialistů (Řezáčová, 2005, Drbohlav, 2007).

5. Přehled metod asistované reprodukce

K nejstarší metodě léčby mužské neplodnosti patří inseminace - umístění spermie přímo do dělohy. Metoda se používá při lehkých a středních poruchách mužské plodnosti, kdy můžeme laboratorně upravit kvalitu ejakulátu.

Rozlišujeme:

- AIH, tzv. homologní inseminace, kdy do dělohy umísťujeme pročištěné spermie manžela
- AID, tzv. heterologní inseminaci, neboli umístění spermií od dárce do dělohy ženy.

Tyto spermie jsou zamraženy a několikrát testovány na HIV, žloutenku, syfilis, dále se provádí vyšetření SPG, fyzické a psychické předpoklady. Pro inseminaci je nutné, aby spermioqram dosahoval koncentrace spermií 10 mil/ml. Jedná se o ambulantní zákrok bez narkózy, v období kdy ve akčním dozrávají vajíčka. Úspěšnost je přibližně 10 - 15%. (*Jirsová, 2007*).

Mezi další techniky AR zařazujeme:

GIFT - transfer pouze gamet (spermie a vajíčka) do vejcovodu matky.

ZIFT (PROST,) - transfer zygot (oplozených oocytu) do vejcovodu (pronuclear stage oocyte transfer),

PZD - parciální disekce zóny pellucidy oocytu (mechanické naříznutí zóny mikro Jehlou a tím usnadněna penetrace spermií)

SUZI - subzonální inseminace, při níž se do perivitellinního prostoru oocytu zavedlo několik spermií.

TET - přenesení embrya do vejcovodu a to buď laparoskopicky, nebo transcervikálně. Tyto metody se dnes již téměř neprovádějí.

V současnosti se k metodě IVF-ET velmi úspěšně používají tzv.

mikromanipulační techniky:

ICSI - intracytoplasmatická injekce spermie. Jde o IVF výkon, při kterém je pod mikroskopem vždy jedna spermie zavedena tenkou jehličkou přes zóna pellucida do oocytu. Do oocytu je injikována jediná spermie s nejlepší pohyblivostí a vlastnostmi (*ICSI viz obrazová příloha, obr. 3*).

AH - asistovaný hatching - mechanické, chemické či laserové narušení zóna

pellucida embrya, čímž se usnadní jeho uvolnění ze zóny před nidací do endometria (*AH viz obrazová příloha, obr. 4*).

KET - kryoembryotransfer - transfer rozmraženého embrya do dělohy

MESA - mikrochirurgická aspirace spermií z epididymis při obstrukční azoospermii (používá se speciální punkční jehla a výkon se provádí pod lupou)

TESE - extrakce spermií z testes při azoospermii (z cca 5ti milimetrových incisí na varleti se extrahují semenotvorné kanálky, v nichž embryolog při preparaci pod mikroskopem hledá spermie). (*MESA, TESE viz obrazová příloha, obr. 5*).

Po MESA-TESE vždy následuje ICSI (*Řezáčová, 2005, Drbohlav, 2007*).

V poslední době se využívá nových trendů, mezi které můžeme počítat:

PGD - Preimplantační genetickou diagnostiku, což je metoda umožňující genetické vyšetření embrya ještě před zavedením do dělohy, čímž pomáhá odhalit specifické genetické abnormality budoucího plodu. PGD je indikována při dědičném onemocnění partnerů a porodu dítěte s genetickou vadou v anamnéze. Někdy se doporučuje i při opakovaných potratech, opakovaných neúspěších IVF, věku ženy nad 35 let a muže nad 45 let, kdy riziko vzniku abnormality roste a muže nad 45 let. Standardně se vyšetřuje 7 chromozomů: 13,16,18,21,22,X,Y. Embryo zákrokem není poškozeno a pokud se potvrdí genetická patologie, není embryo přeneseno do dělohy (*Řezáčová, 2005, Hüttllová, 2005, Bečvářová, 2006, Drbohlav, 2007*).

Dárcovství oocytu – Tato metoda je využívána ve zvláštních případech u žen se zachovalou funkcí vaječníků a u žen bez funkčních vaječníků. Do dělohy je přeneseno embryo vzniklé oplozením vajíčka cizí dárkyně partnerovou spermií.

Dárcovství embryí – Je možné přenést nepoužitá embrya od určitého páru do dělohy ženy jiného páru.

Kryokonzervace – v této metodě dochází k zamražení a tím k uchování tkáně, u mužů je to sperma případně testikulární tkáň, u žen potom vajíčka a ovariální tkáň, která je po rozmražení opět použita pro AR. Využívá se toho

např. u mladých onkologických pacientů s dobrou prognózou onkologické léčby. Úspěšnost oplodnění po rozmražení je zatím bohužel nízká a porody výjimečné. U kryokonzervace oocytů je šance na otěhotnění asi 10-20%.

Náhradní matka – Náhradní matce je do dělohy přeneseno embryo od jiného páru, celé těhotenství a porod probíhají u náhradní matky. Po porodu je potom dítě dobrovolně předáno tomu páru, který dal embryo. Tato metoda obnáší velké množství etických a právních problémů a u nás zatím není povolena.

Redukce vícečetného těhotenství – Mnohočetné těhotenství je velkým rizikem jak pro zdraví matky, tak jejích plodů. Nejčastěji dochází ke spontánním potratům či předčasným porodům, proto jsou více jak dvojčetná těhotenství redukována na jedno- či dvojčetná. Pro tento účel se využívá techniky aplikace látky přímo do srdce plodu v 10. – 11. týdnu těhotenství. Odumřelé plody zůstávají v děloze. Výkon se provádí přes břicho a dělohu matky pod kontrolou ultrazvuku. Snažíme se ale pomocí preventivních postupů zabránit vzniku takového těhotenství, protože tato redukce přináší riziko ztráty celého těhotenství (*Řezáčová, 2005, Drbohlav, 2007*).

6. Mimetělní oplodnění

Je to základní metoda asistované reprodukce při léčbě neplodnosti. Původně byla tato metoda vyvinuta pro léčbu tuboperitoneálního faktoru, dnes se již používá téměř u všech poruch plodnosti. IVF je základní metodou mimotělního oplodnění, tzv. „děti ze zkumavky“.

U IVF můžeme rozlišit několik fází:

6.1. Hormonální příprava

Tato úvodní část spočívá v aplikaci hormonů stimulujících vaječníky, aby bylo možné odebrat na jednou více vajíček. Proto chceme-li, aby folikulů dorůstalo více, podáváme injekčně gonadotropiny (nejčastěji FSH) na začátku cyklu nebo můžeme podat klomifen citrát, který stimulací adenohipofýzy zvýší tvorbu FSH, zabránit tak atrézii folikulů, a navodit jejich kodominanci s cílem, aby dozrál větší počet oocytů. Tomuto procesu říkáme kontrolovaná ovariální stimulace. Dalším důvodem stimulace je vyšší kvalita vajíček v komplexně řízených cyklech. Měli bychom zabránit vzestupu hladin LH, který by způsobil předčasnou samovolnou ovulaci a tím snížil naději na těhotenství. Tato fáze trvá obvykle 1-3 týdny a je nejčastěji kontrolována ultrazvukem.

6.2. Načasování dozrání vajíčka

Folikul musí dorůst do správné velikosti, asi 18 mm. Pokud bychom nechali folikul růst dále, samovolně by praskl a vajíčko by se vyplavilo z vaječníku. Tomu musíme při IVF předejít. Folikul musíme napíchnout jehlou a vajíčko odebrat těsně před prasknutím folikulu. Fyziologicky praská folikul 36 – 40 hodin po prudkém zvýšení hladiny LH, v důsledku stimulu z adenohipofýzy. Sledovat hladiny LH bylo velmi nepraktické, proto se dnes používá umělá stimulace, léčivo s vysokou dávkou lidského choriogonadotropinu (hCG), který má stejný účinek jako LH a spustí poslední fázi dozrání vajíčka.

6.3. Odběr vajíček z folikulů

V krátkodobé celkové anestezii, punkcí folikulů, neboli pick – up, přes postranní poševní klenbu, pod ultrazvukovou kontrolou. Folikulární tekutinu ve zkumavkách předává gynekolog embryologovi a ten pod mikroskopem vyhledává v tekutině oocyty. Celý oocyt i se svými obaly vytváří paprscitou strukturu, s velikostí asi 3-5mm. Pod mikroskopem kontrolujeme zda je oocyt v pořádku. V embryologické laboratoři jsou potom vajíčka umístěna do kultivačního média, které poskytuje stejné podmínky jako lidské tělo, tedy teplotu 37 °C, vzduch je obohacen kyslíčkem uhlíčitým. Pracujeme samozřejmě v nejvyšší čistotě a sterilitě.

6.4. Mimetelní oplození vajíček v laboratoři

Po krátké době inkubace (2-6 hod) dojde k oplození oocytů. To probíhá buď klasickou metodou, tedy přidání 50.000 – 100.000 spermií do kultivačního média, nebo některou mikroinseminační metodou. Nejvíce se používá ICSI, která vpravuje do vajíčka jedinou jedinou spermii s nejlepšími vlastnostmi. Tato metoda dává možnost i mužům s těžkou poruchou plodnosti, zvláště ve spojení s TESE, či MESA. Oplození trvá nejméně 48 a nejvíce 120 hodin.

6.5. Kultivace vajíček a embryí

Oplozená vajíčka jsou přenesena do nového kultivačního média a přibližně za 24 hodin dochází k rýhování. U správně oplozeného vajíčka nalézáme 2 prvojádra, což jsou chromozomy, jeden mateřský jeden otcovský. Někdy nalézáme 3 prvojádra, nebo žádné, taková vyřazujeme z kultivace. Dále se oocyt rozdělí na dvě buňky a postupně se vzniklé embryo dělí na 4, 8, 16 buněk, atd.

6.6. Transfer embrya do dělohy

Pokud je vývoj embrya normální, zavedeme kanylu se 2 – 3 embryi do dělohy přes pochvu a hrdlo děložní a tekutinu s embryi pomalu vypustíme. Výkon je ambulantní, nebolestivý, trvá asi 5 minut. Kontrolu provádíme ultrazvukem s abdominální sondou. Úspěšnost implantace zvyšuje AH či

prodloužená kultivace (*postup mimotělního oplození viz obrazová příloha, obr.6*).

Do dělohy přinášíme 1 – 3 embrya, kdy o počtu rozhoduje matka. Snažíme se zabránit vzniku vícečetných těhotenství. Pokud bylo získáno více embryí, je možné tyto zamrazit a uchovat při teplotě -196°C . Po rozmrazení mohou být opět přenesena do těla matky, i když s menší šancí na oplození. Úspěšnost je uváděna 20 – 45% na jeden léčebný cyklus. Výsledky jsou ale ovlivněny řadou faktorů, jako je věk, hormonální příprava, kvalita spermií, kvalita a technika transferu a počet transferovaných embryí. Hrazeny jsou v ČR 3 léčebné cykly (*Drbohlav, 2007, Řezáčová, 2005, Mardešić, 1996, Řežábek, 2002*).

S asistovanou reprodukcí jsou však spojena i určitá rizika. Nejvýraznějším rizikem je již jmenované vícečetné těhotenství, které se vyskytuje u gemini po spontánním početí přibližně 1:80, kdežto po AR je to 1:4.

Dalším nepříznivým vlivem je ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS), což je iatrogenní komplikace spojená s kontrolovanou stimulací gonadotropiny. Základním patogenetickým stimulem vzniku OHSS je akutní porucha permeability kapilár, při níž uniká tekutina z intra do extravaskulárního prostoru. Míra postižení pacientky přímo koreluje s množstvím tekutiny uniklé do třetího prostoru (ascites, hydrothorax, anasarka). Můžeme rozlišit lehký, střední, těžký a kritický OHSS, přičemž střední stupeň nepřesahuje 8% a těžký 2% na 100 stimulací.

Také výskyt heterotopického těhotenství vzrůstá na 5-7% po AR z 0,5% při spontánním početí. Obzvláště rizikové je heterotopické těhotenství, kdy jeden plod je uložen v děložní dutině a jeden mimoděložně.

Po AR je 2x zvýšené riziko samovolných potratů a 5x předčasných porodů oproti běžnému početí, stejně jako počet císařských řezů se u jednočetné gravidity provádí ve 25-30% a u vícečetného těhotenství dokonce v 80 – 90 % Výskyt vrozených vývojových vad po AR zatím nebyl prokázán (*Scoccia, 2007, Řezáčová, 2005, Mydla a Havlas, 2006*).

7. Etické aspekty

Léčba neplodnosti metodami asistované reprodukce nám dává velké možnosti. Je to však zásah do přirozeného koloběhu života, mnohdy se překračují etické i morální meze a proto se zde objevují stále nové a nové otázky, zda je správné využívat tyto metody? Odpovědi závisí na daném kulturním prostředí, náboženství a tradicích dané společnosti. Názor od názoru se liší. Každý stát má vymezené zákony, každý povoluje něco jiného. Vznikají nové a dosud neznámé právní situace.

Mnoho etických otázek již bylo v minulosti vyřešeno, takže si je ani neuvědomujeme. Patří mezi ně přípustnost mimotělního oplodnění, kryokonzervace a následného uchovávání embryí.

Etické otázky jsou rozebírány etickými komisemi, které jsou zřízeny v nemocnicích, na ministerstvu zdravotnictví i jinde. Jejich závěry jsou v zásadě jen doporučením, ale v praxi mají téměř váhu pokynu, jak postupovat.

Etické pohledy tvoří základ, který se následně zčásti přenáší do zákonů, jejichž dodržování je už vymáhateľné. Příkladem je zákon o darování spermatu nebo zákon o interrupcích.

Otázka, zda je správné používat sperma dárců, je v našem kulturním prostředí vesměs kladná. V zemích s výrazným vlivem islámu je použití darovaného spermatu rovno cizoložství a tedy zcela nepřijatelné.

Nejčastější otázky řešené etickými komisemi a právníky:

Máme léčit neplodnost, když lidí na Zemi je tak mnoho, že mnozí umírají hladem?

Ano. Existence mnoha dětí ve vzdálené zemi je nepodstatná pro manžele, kteří nemají doma dítě žádné. Druhý důvod je genetický. Přesto, že nevíme, jaké dítě se narodí, je přece jen velká pravděpodobnost, že bude svým rodičům vzhledem, ale i povahově a jinak podobné. Mnozí lidé intuitivně vidí v dětech pokračování svého života, a proto chtějí, aby děti,

kteřé vychovávají, byly skutečně geneticky jejich potomky. Adopce je vždy krokem do neznáma.

Má přednost právo dítěte znát svého genetického otce, nebo právo dárce spermatu zůstat anonymní?

Ve Švédsku odpověděli kladně na první možnost, u nás a v dalších zemích platí pravidlo uvedené na druhém místě. Lze pochopit obojí přístup. Je však diskutabilní, zda uplatnění práva dítěte, znát svého genetického otce, mu přinese nějaký prospěch, či spíše psychický problém, se kterým se bude muset vyrovnávat.

Jsou embrya v laboratoři člověkem?

V zásadě ano, neboť umožníme-li jim další vývoj, postupně se přemění v člověka takového, jakého jsme zvyklí vídat. Není žádný vývojový skok ve vývoji embrya, který by nás opravňoval říci, že člověkem je až od této chvíle. Skutečnost, že plod a rané embryo je člověku zcela nepodobné, není důležitá. Podstata embrya a dospělého člověka je stejná, pouze se tak nejeví jednomu našemu smyslu – zraku.

Můžeme zničit embrya?

V zásadě nemůžeme, neboť se jedná o potenciálního člověka. Je sice jisté, že většina embryí by nebyla, např. z důvodu vrozených vad atd.... schopna do samostatně žijícího člověka dospět, ale to na věci nic nemění, neboť my nerozeznáme, která to jsou. Proto bychom se všemi měli zacházet jako s potenciálními lidmi. Proti tomuto teoretickému etickému pohledu stojí realita, kdy musíme rozlišovat embrya různého morfologického vzhledu a tedy i různého růstového potenciálu a řešit i otázky dalšího osudu embryí, která jejich rodiče již nechtějí.

Máme se snažit odchovat lidský plod v děloze jiného tvora, například krávy?

Ne, důvody pro zamítnutí jsou převážně etické, jen minimálně vědecké. Existují teoretické obavy z infekcí získaných od krávy, ale v každém průniku do neprobádaných oblastí existuje riziko neočekávaných jevů, např. vzniku

lidských chimér, což samo o sobě není důvodem, abychom nikdy nic nového nezkoušeli. V současnosti takové pokusy etické komise nepovolují.

Máme embrya klonovat, tedy rozdělit na dvě stejná a tak nechat vzniknout dva identické lidi?

Odpověď zní nikoliv. Důvody pro zamítnutí jsou opět jen etické, a spíše vyjadřují strach z neznáma, než skutečnou etickou závadnost takového počínání. Vždyť jednovaječná dvojčata se občas narodí, a žádný etický problém v tom není.

Je správné provádět výběr pohlaví budoucího dítěte podle přání rodičů?

Nikoliv. Důvodem je nejen etický pohled na rovnost muže a ženy, ale i praktický dopad stavu, kdy by výrazně převážil počet mužů nebo žen. Právě zde se ukazuje, že etické doporučení není závazné a vymáhateľné: existují na světě pracoviště, která provedou vyšetření, a jde-li o děvče, následuje potrat.

Lze provádět výzkum na embryích?

Eticky nikoliv, neboť se jedná o potenciálního člověka. Protože ale praxe ukazuje nezbytnost takového počínání, byl definován termín preembrya. Je to embryo do stáří přibližně 14 dnů a výzkum vedoucí k prospěchu jiných embryí je na něm v některých zemích možný. Nesmí však jít o výzkum s cílem např. testování kosmetických přípravků.

Komu patří embryo před embryotransferem, tedy např. embryo zmrazené?

Embryo patří stejnou měrou otci i matce. To je rozdíl oproti embryu vyvíjejícímu se v matčině těle – tam o embryu dle současných právních norem rozhoduje jen žena sama (do 12 týdnů jeho stáří). Nebudou-li úmysly obou rodičů embrya ohledně dalšího nakládání s embryem shodné, je potřebí rozhodnout, jak se bude postupovat dále. Protože v zájmu embrya je dále se vyvíjet, bude „svěřeno do péče“ tomu z rodičů, který tento jeho zájem chce naplnit. Tedy bude přeneseno matce do dělohy, i když jeho otec je žádá zničit, nebo naopak bude přeneseno nové manželce otce do dělohy, i když genetická matka s dalším vývojem embrya nesouhlasí. Zde však nutno konstatovat, že pohledy na řešení této situace nejsou jednotné.

Umělé oplodnění je velkým zásahem do života a hlavně církve vystupuje proti tomuto řešení neplodnosti. Každý má však právo a dnes již i možnost mít vlastní dítě. Jak někteří říkají : „Boří se klasický vzorec rodiny a s dětmi se zachází jako se zbožím“. Věda však jde stále vpřed, stále se zdokonalují techniky, metody, vyšetření a snaží se pomoci neplodným párům, je těžké zastavit. Stojí tu proti sobě dva názory a je těžké rozhodnout, co je správné. Nechat vše na přírodě, nebo jí trochu pomoci? (*Řežábek, 2004*)

8. Závěr

V dnešním „urychleném“ světě se zdá, že není čas vůbec na nic. Dosáhnout co nejvyššího postu, uznání, postavení ve společnosti, to dnes již není otázkou jen mužské populace, ale i ženy se snaží prosadit na postech, kde by to ještě před časem nebylo možné a odsouvá se věková hranice pro rodičovské povinnosti.

Bohužel právě u žen hraje věk při snaze otěhotnět velkou roli, se zvyšujícím se věkem se snižuje možnost fyziologického početí. Je to samozřejmě celkový životní styl, zvýšený stres, špatné stravovací návyky, málo či naopak přespříliš fyzické aktivity, co přispívá ke vzniku neplodnosti. Svou roli zde hraje ale i dědičný faktor. Někdy se pomocí vyšetření odhalí „banální“ příčina, která se dá odstranit ambulantně, někdy vyžaduje dlouhodobější léčbu. V mnoha případech však pomocí skalpelů, laparoskopů a i přes dokonalou péči a léčbu lékařů, nejde příčinu neplodnosti odstranit.

Naštěstí věda pokračuje stále vpřed a přináší nové možnosti. Když v roce 1799 John Hunter provedl a popsal první umělé oplození, jistě ještě netušil, že tím rozběhne nespočetné množství výzkumů, pokusů a debat.

Je to právě asistovaná reprodukce, která dává naději párům, které nemohou počít dítě přirozenou cestou. Vznikají stále nové metody, zdokonalují se staré techniky, objevují se nová fakta. Svě prvenství, co do používanosti si drží „in vitro fertilizace“ (IVF) spojená s „embryo transferem“ (ET), také známé pod pojmem mimotělní oplození.

Za dobu své existence si asistovaná reprodukce našla spoustu svých příznivců, ale i odpůrců. Pro neplodné páry je to světlo na konci tunelu, pro někoho zásah do přírodního procesu a rozbití klasického pohledu na rodinu. Může se zdát, že existuje spousta dětských domovů a v nich děti čekající na nové rodiče, ale „vlastní dítě“ je nositelem našich genů, pokračovatelem rodu a proto hlavně z tohoto důvodu se přikláním na stranu příznivců asistované koncepce.

Ať už se však na asistovanou reprodukci díváme z pohledu odpůrce či příznivce, je to krok vpřed, možná i krok do neznáme, neboť existují i rizika, ale je to určitá naděje. Nikdo z nás neví, jestli se neocitne v takové situaci a pak možná i ti největší odpůrci zvolí cestu umělého oplození.

9. Souhrn:

Asistovaná reprodukce je moderní léčba neplodnosti. Práce nejprve popisuje příčiny vzniku mužské a ženské neplodnosti. Příčiny mužské neplodnosti jsou děleny na pretestikulární, testikulární a posttestikulární. Důležitou úlohu hrají i hormonální vlivy. Ženská neplodnost závisí hlavně na stavu ženských pohlavních orgánů i imunologických faktorech. U žen, ve srovnání s muži, hraje podstatnou úlohu i samotný věk.

V další části práce jsou popsány základní metody asistované reprodukce včetně nezbytných vyšetření. Závěrem jsou zmíněny i etické aspekty léčby neplodnosti.

Summary:

The assisted reproduction means a modern trend in the treatment of sterility. At first this work describes the causes of rising masculine and feminine infertility. We can classify the masculine cause of infertility into pretesticular, testicular and posttesticular. Hormonal influences are also very important. The feminine fertility especially depends on the disposition of female genitalias and immunologic factors. In the comparison of genders we have to say there is very serious argument in the case the women – the age.

In the other part of this work we describe basic methods of assisted reproduction inclusive of the inevitable investigation. Last the ethic aspects of treatments infertility are mentioned.

Použitá literatura:

Monografie:

Kubíček, V.: Mužská infertilita a erektilní dysfunkce, 1. vyd., Galén, 1996, počet str.148.

Lisá, L.: Poruchy sexuální diferenciacce, 1. vyd., Maxdorf 2002, počet str.281.

Mardešić, T.: Mimetelní oplodnění, Galén, Praha, 1996, str. 11-70

Motlík, K., Živný, J.: Patologie v ženském lékařství, 1. vyd. Praha, Grada Publishing, 2001, počet str. 550, 36 str. obr. příloha.

Nečas, E. a spol.: Patologická fyziologie orgánových systémů, část II. Karolinum, Praha, 2004, počet str. 380.

Nečas, O. a kol.: Obecná biologie pro lékařské fakulty, H&H, Brno, 2000, počet str. 554.

Řežábek, K.: Léčba neplodnosti, 3. vyd., Grada Publishing, 2004, počet str. 120.

Silbernagl, S., Lang F.:Atlas patofyziologie člověka, Grada Publishing, 2001, počet str.404.

Trojan, S. a kol.: Lékařská fyziologie, 4. vyd. Praha, Grada Publishing, 2004, počet str. 772.

Ulčová – Gallová, Z.: Diagnóza – neplodnost, Nakladatelství Petrklíč, 1999, počet str.120.

Vokurka, M., Hugo, J a kol.: Praktický slovník medicíny, Maxdorf, Praha, 2000, počet str. 490.

Časopisy:

Bečvářová, V.: Preimplantační genetická diagnostika a její místo v současné asistované reprodukci, Gynekolog – časopis ženských lékařů, 15, 2006, str. 225-228.

Branch, D.W.: Immunological disease and fetal death, Clinical obstetrics and gynecology, 30, 1987, str. 295-311.

Branch, D.W.: Antiphospholipid antibodies and reproductive outcome: the current state of affairs, *Journal of reproductive immunology*, 38, 1998, str. 75-87.
Černá, S.: Právní problematika AR v ČR, *Gynekolog – časopis ženských lékařů*, 14, 2005, str. 280-282.

Galli, M.: Antiphospholipid antibodies and pregnancy, *Best practice & Research clinical hematology*, 16, 2003, str. 211-255.

Giuntoli, R. L., Bristow, R. E.: Nádory vycházející z hladké svaloviny děložní stěny, *Gynekologie po promoci*, 6, 2006, str. 16-23.

Gruberová, J. a kol., Ovulační hlen a jeho pH, arborizace a jeho spermaglutinační protilátky u pacientek s poruchou plodnosti, *Česká gynekologie*, 9, 2006, str. 36-40.

Holečková, D.: Ambulantní hysteroskopie v současném pohledu sestry pracující na operačním sále, *Moderní babictví*, 4, 2006, str.

Hüttelová, R.: Preimplantační diagnostika, *Moderní babictví*, 3, 2005, str.

Koji, A a kol.: Clinical significance of β 2-glycoprotein I-dependent anti cardiolipin antibodies in the reproductive autoimmune failure, *American journal of obstetrics and gynecology*, 172, 1995, str. 926-931.

Mitwally, M. F., Casper, R. F.: Využití inhibitorů aromatázy ke stimulaci ovarií, *Gynekologie po promoci*, 6, 2006, str. 29-32.

Mydla, P., Havlas, R.: Zvýšená incidence ektopické gravidity při IVF-ET a PID, *Gynekolog – časopis ženských lékařů*, 15, 2006, str. 69-71.

Mardešić, T. : Vícečetná těhotenství a asistovaná reprodukce, *Moderní gynekologie a porodnictví*, 9, 2000, str. 617-619.

Řezáčová, J.: Asistovaná reprodukce v léčbě neplodnosti, *Moderní babictví*, 3, 2005, str.

Scoccia, B: Seznámení pacientek s riziky asistované reprodukce, *Gynekologie po promoci*, 7, 2007, str. 58.

Schlaerth, A. C., Abu-Rustum, N. R.: Pokroky v laparoskopických technikách gynekologické chirurgie, *Gynekologie po promoci*, 6, 2006, str. 19.

Silber, S. J.: Vyšetření mužské infertility, *Gynekologie po promoci*, část 1, 5, 2005, str. 39-41.

Silber, S. J.: Mikrochirurgické metody v léčbě mužské infertility, *Gynekologie po promoci* část 2, 5, 2005, str. 16-21.

Šrámková, T., Žáková, J.: Muž s erektilní dysfunkcí v programu asistované reprodukce, Praktická gynekologie, 11 , 2006, str.247.

Uhlíková, P. a kol.: Asistovaná reprodukce u pacientek s poruchou příjmu potravy – klinické a etické aspekty, Česká gynekologie, 9 , 2006, str. 339-341.

Ulčová – Gallová, Z. a kol.: Sérové protilátky proti annexinu V a jiným fosfolipidům u žen s poruchou plodnosti, Česká gynekologie, 9 , 2006, str. 200-203.

Internetové odkazy:

<http://www.porodnice.cz/default.asp?rubrika=1&podrubrika=38>, staženo 20.10.2006.

http://www.reprofit.cz/main.php?main_id=140& sect_id=190& art_id=199&PH PSESSID=6acea5a843106a452a6581293e0190c7, staženo 20.10.2006.

http://www.marchofdimes.com/professionals/14332_1155.asp , staženo 25.10.2006.

http://www.urologickelisty.cz/pdf/ul_06_01_03.pdf, staženo 10.11.2006.

http://www.lf3.cuni.cz/studium/materialy/modul2c/k16_syllabus_rozsireny.rtf, staženo 20.2.2007.

www.gyne.cz/studium/neplodnost-cz.doc, staženo 22.2.2007.

http://www.neplodnost.cz/web/verejnost/diagnostika/vysetreni_muze/, staženo 22.2.2007.

http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/transfer_blastocyst.html, staženo 26.4.2007.

http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/muzska_neplodnost.html, staženo 26.4.2007.

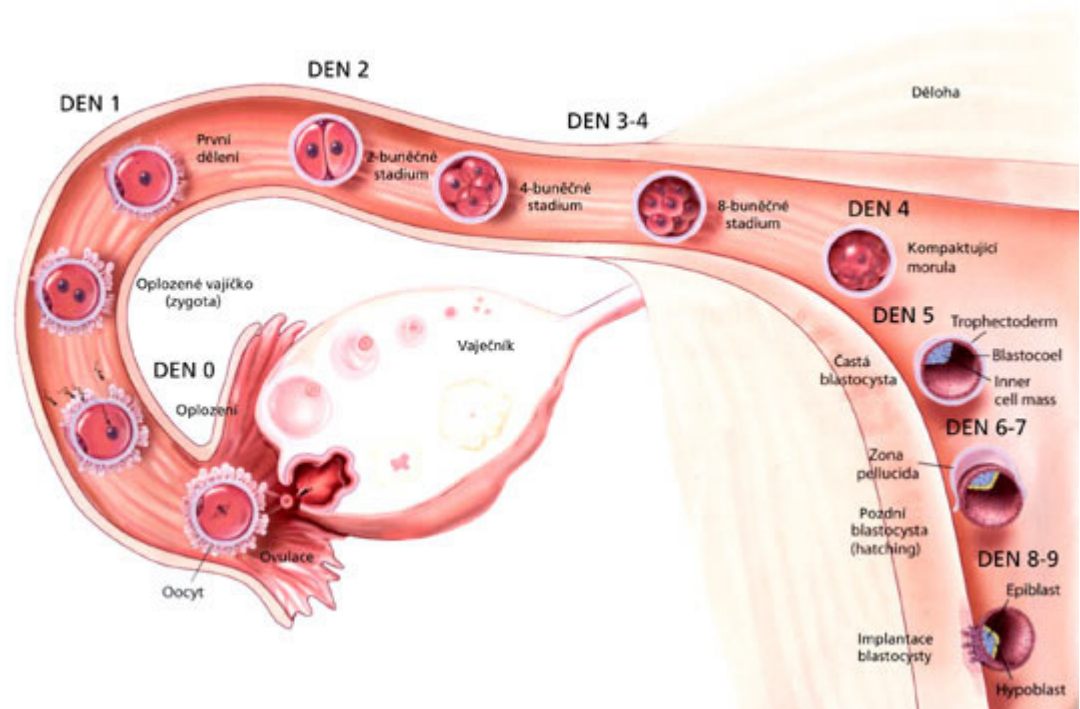
<http://www.neplodnost.cz/web/verejnost/fotogalerie/ivf/>, staženo 26.4.2007.

<http://www.ivf-motol.cz/ivf.aspx>, staženo 26.4.2007.

http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/umele_oplo_diag.html, staženo 26.4.2007.

<http://www.gest.cz/ivf/vyv-rad-emb.php?pg=2>, staženo 26.4.2007.

Příloha:



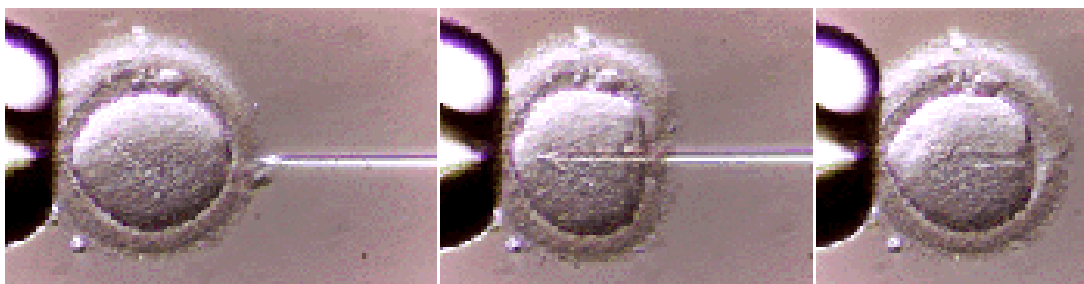
Obr. 1: Fyziologický průběh nidace

(http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/transfer_blastocyst.html, 2007)



Obr. 2: Morfologie spermií

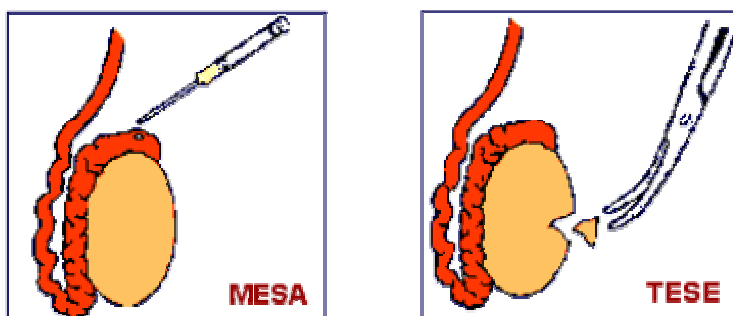
(http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/muzska_neplodnost.html, 2007)



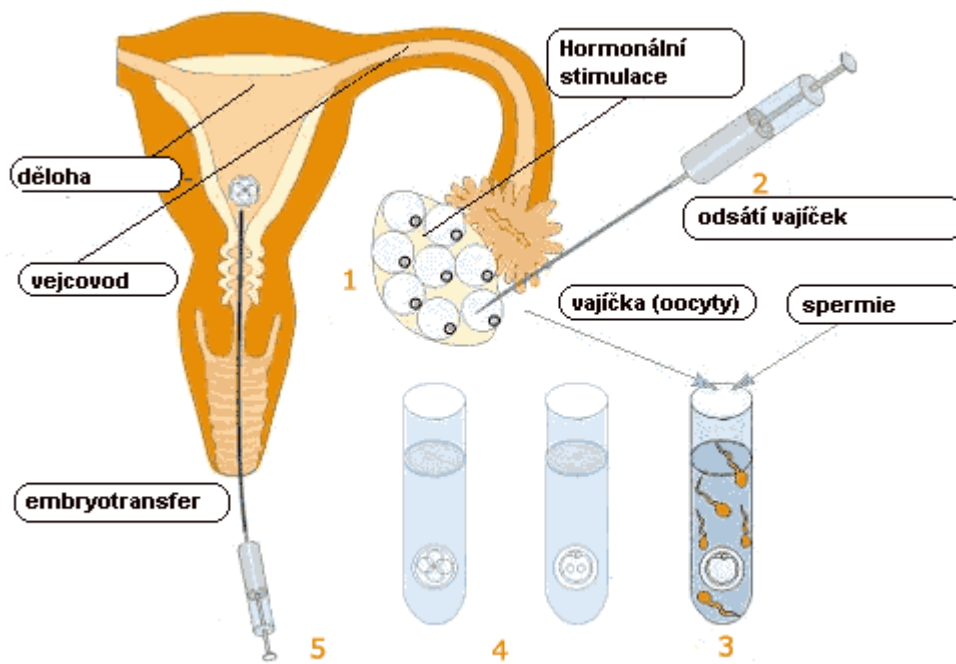
Obr. 3: ICSI - intra cytoplasmatic sperm injection
http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/muzska_neplodnost.html, 2007)



Obr. 4: AH - asistovaný hatching
<http://www.neplodnost.cz/web/verejnost/fotogalerie/ivf/>, 2007)



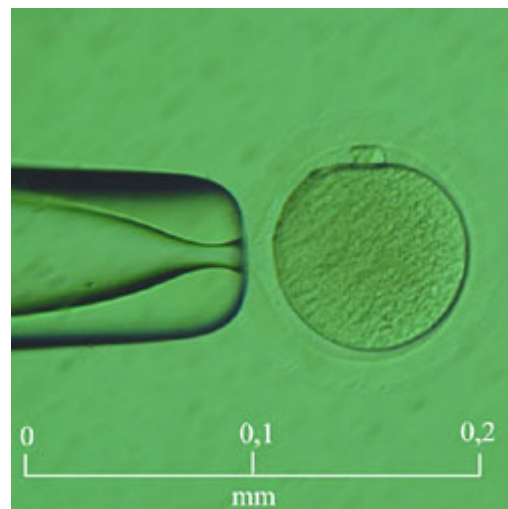
Obr. 5: MESA - micro epididymal sperm aspiration a TESE - testicular sperm extraction
http://www.reprofit.cz/main.php?main_id=140§_id=190&art_id=199&HPSESSID=6acea5a843106a452a6581293e0190c7, 2006)



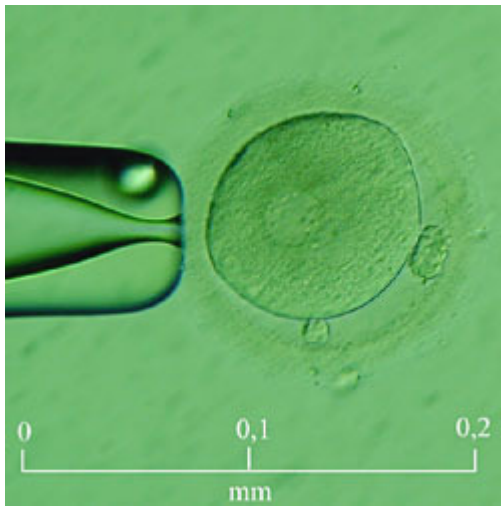
Obr. 6: IVF + ET – in vitro fertilizace + embryotransfer, mimotělní oplození
<http://www.ivf-motol.cz/ivf.aspx>, 2007)



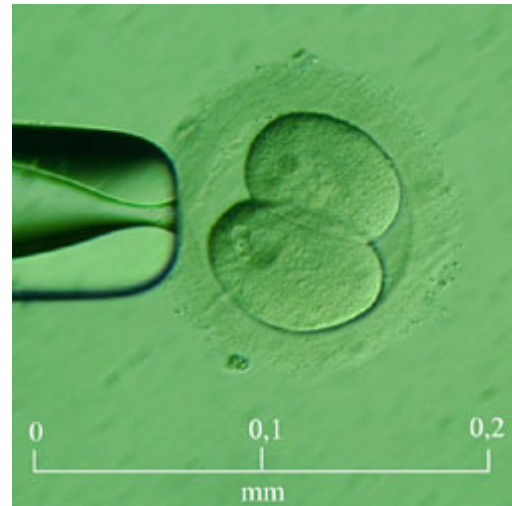
Obr. 7: Vývojová řada embryí:
 Oocyt s dvěma prvojádry



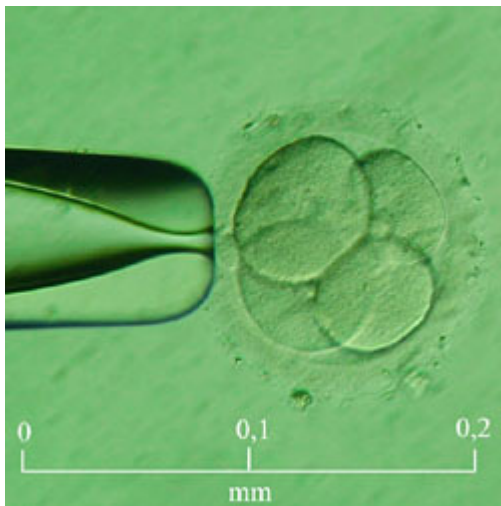
Zralý oocyt zbavený kumulárních buněk



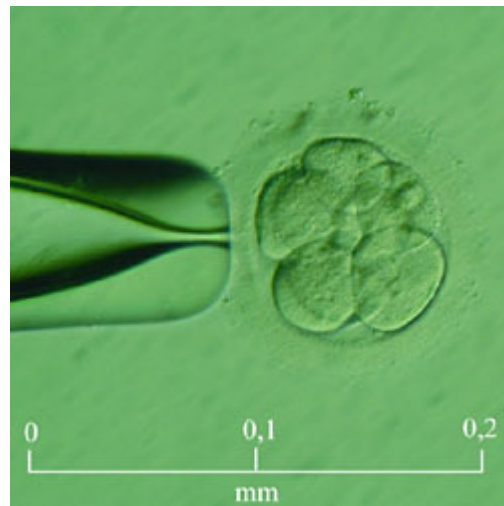
24 hodin po oplození



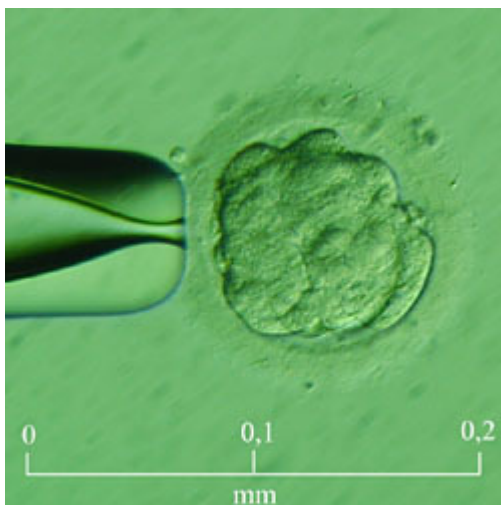
36 hodin po oplození



48 hodin po oplození



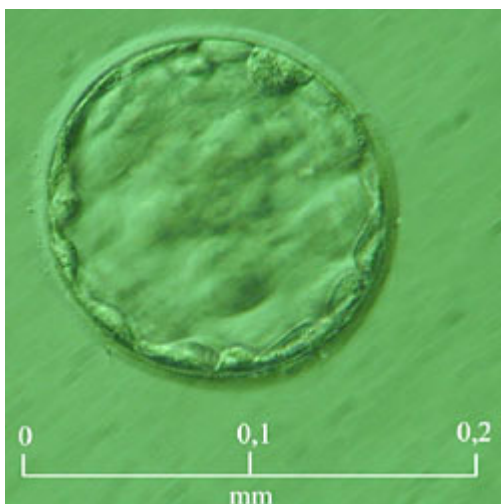
72 hodin po oplození



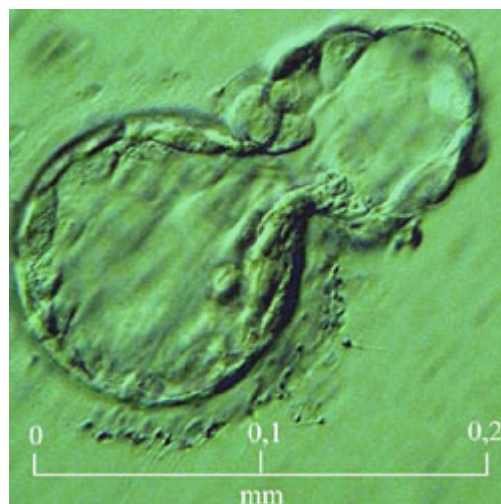
96 hodin po oplození



110 hodin po oplození



120 hodin po oplození



130 hodin po oplození

(http://www.sanatoriumhelios.cz/ivf/umele_oplo_diag.html,
<http://www.gest.cz/ivf/vyv-rad-emb.php?pg=2>, 2007)

Obr. 8: VZOR Prohlášení manželů.....

Jméno a příjmení manžela rok nar. čís. OP

.....

Bydliště pracoviště

.....

Jméno a příjmení manželky rok nar. čís. OP

.....

Bydliště pracoviště

Prohlašujeme, že jsme byli poučeni o právních důsledcích umělého oplodnění, o jehož provedení jsme požádali, a že jsme o sobě sdělili všechny údaje rozhodné pro posouzení, zda jsou splněny podmínky pro umělé oplodnění. Prohlašujeme zároveň, že souhlasíme s tím, aby umělé oplodnění bylo provedeno semenem jiného muže, kterého zvolí lékař pověřený provedením tohoto výkonu.

Jsme si vědomi toho, že otcovství k dítěti narozenému v době mezi stoosmdesátým dnem a třístým dnem od umělého oplodnění provedeného se souhlasem manžela matky nelze popřít, ledaže by se prokázalo, že matka dítěte otěhotněla jinak, než v důsledku umělého oplodnění.

Uvědomujeme si, že přestože umělé oplodnění bude provedeno podle současných vědeckých poznatků, mohou nastat komplikace, které jsou spojeny s každým těhotenstvím a mateřstvím.

V zájmu dítěte zachováváme mlčenlivost o všech skutečnostech spojených s umělým oplodněním.

.....

.....

čitelné podpisy

V dne.....

<http://www.porodnice.cz/default.asp?rubrika=1&podrubrika=1193>, 2007)