

Asistovaná reprodukce v léčbě neplodnosti

MUDr. Jitka Řezáčová

Ústav pro péči o matku a dítě, Praha

***Populační přírůstek obyvatelstva jest
obrazem budoucnosti každého národa a státu...***

MUDr. František Pachner,
z knihy „O ženské neplodnosti“, vydané v r. 1926

Neplodnost je onemocnění které trápilo, trápí a bude trápit partnerské dvojice a bylo o něm napsáno mnoho populární i odborné literatury. První monografii o diagnostice a léčbě neplodnosti u nás napsal v r. 1926 Dr. František Pachner, primář gynekologického oddělení státní nemocnice na Ostravsku. V této knize autor píše, že na neplodnosti se podílejí partneři stejným dílem, a proto je třeba vyšetřovat a léčit oba souběžně. Uvádí dále, že v Evropě je nechtěně bezdětné každé 10. manželství. Za jednu z nejčastějších příčin neplodnosti považuje pohlavně přenosná onemocnění syphillis a kapavku. Zmiňuje se také o prvním známém úspěšném umělém oplození, které vykonal a popsál John Hunter r. 1799 (při hypospadii, jež činila muže impotentním, vpravil semeno stříkačkou do pochvy ženy).

Od vydání této knihy uplynulo bezmála 80 let. Rozvoj lékařské vědy, techniky a farmaceutického průmyslu se za tuto dobu významně projevil i v diagnostice a léčbě neplodnosti. Pomocí hormonálních vyšetření umíme odhalit ženskou anovulaci a také ji poměrně úspěšně léčit. Využíváme ultrazvuk k vyšetřování ženských i mužských pohlavních orgánů. Pomocí ultrazvuku a rentgenu nebo lépe hysteroskopicky a laparoskopicky zjišťujeme nepravidelnosti tvaru a uložení vnitřních rodidel, průchodnost vejcovodů, ložiska endometriózy či srůsty v břišní dutině ženy. U mužů víme, že je třeba do dvou let věku vyléčit kryptorchismus, abychom zabránili neplodnosti v dospělosti. Víme, že je vhodné včas odstranit varikokélu, která bývá rovněž příčinou neplodnosti mužů. Vyšetřujeme a léčíme hormonální poruchy mužů. Umíme diagnostikovat a léčit řadu pohlavně přenosných onemocnění, která se podílejí na neplodnosti partnerů, z nichž je nyní na předním místě infekce způsobená bakterií *Chlamydia trachomatis*. Umíme odhalovat chromozomální nepravidelnosti a imunologické příčiny sterility.

Moderní léčba neplodnosti vyžaduje mezioborovou spolupráci gynekologa, embryologa, androloga, endokrinologa, imunologa, genetika a psychologa.

Přesto počet neplodných párů přibývá. Dnes se udává, že je již přibližně každé 7. manželství nechtěně bezdětné a předpokládá se další pomalý nárůst nechtěné bezdětnosti.

Rozvojem asistované reprodukce (AR) jsme dali šanci mít geneticky vlastní děti i takovým partnerským dvojicím, které by dříve vlastní děti mít nemohly.

Asistovanou reprodukci označujeme všechny léčebné postupy a techniky, při kterých manipulujeme s gametami – oocyty a spermii. Patří sem tedy i výše zmíněný první úspěch Johna Huntera z r. 1799. Intrauterinní inseminaci (zavedení spermií přes vnitřní branku hrdla děložního přímo do děložní dutiny), kterou stále léčíme některé příčiny neplodnosti, poprvé dobře popsál Marion Sims

roku 1866 ve své příručce děložní chirurgie. Největší pozornost vzbudila fertilizace lidského oocytu in vitro a transfer embrya do dělohy (IVF-ET). Louise Brown, první dítě počaté po oplození metodou IVF-ET, se narodila v roce 1978 v Oldhamu v Anglii. Je často spojována s počátkem IVF. Pravda je, že k 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 oocytu, 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...

Po IVF-ET byly postupně vyvinuty další techniky, dnes nazývané asistovaná reprodukce.

Patří mezi ně:

GIFT – transfer gamet (spermie a vajíčka) do vejcovodu. První dítě po GIFT v Evropě se narodilo v Brně v r. 1982, po zákroku týmu vedeném prof. Pilkou.

ZIFT (PROST) – transfer zygot (oplozených oocytu) do vejcovodu (pronuclear stage oocyte transfer), Sevrout 1986

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 (1988 – laparoskopicky Henricksen, 1988 – transcervikálně Jansen).

(Tyto metody se dnes již takřka 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 zónu pellucida do oocytu. První dítě po ICSI se narodilo v r. 1993 v Belgii – A.C. van Steirteghem.

AH – asistovaný hatching – mechanické, chemické či laserové narušení zónu pellucida embrya, čímž se usnadní jeho uvolnění ze zóny před nidací do endometria. AH poprvé publikoval Cohen et al. v r. 1990.

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 5milimetrových incisí na varleti se extrahují semenotvorné kanálky, v nichž embryolog při preparaci pod mikroskopem hledá spermie).

Po MESA-TESE vždy následuje ICSI.

Indikace pro léčbu sterility metodou mimotělního oplodnění jsou uzavřené vejcovody, stav po bilaterální salpingectomii či peritubární srůsty, zhoršená plodnost muže, endometrióza, která se zjišťuje až u 40 % neplodných žen, poruchy funkce vaječnicků, včetně předčasného ovariálního selhání a dárčovství oocytů, imunologické, ale i idiopatické příčiny.

Při léčbě neplodnosti se vždy vyšetřují partneři souběžně. Jestliže je třeba neplodnost léčit asistovanou reprodukcí, je nutné oba náležitě poučit a doplnit základní vyšetření před IVF. Patří sem gynekologická prohlídka ženy s odběrem stěrů z hrdla děložního na onkologickou cytologii, *Chlamydia trachomatis*, *Ureoplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*, ultrazvukové vyšetření vaginální sondou, hormonální analýza z krve nabrané 2.–5. den menstruačního cyklu a vyšetření sexuálně přenosných onemocnění (STD).

U muže se vyšetřuje spermiogram po 3–5denní sexuální abstinenci a STD – stejně jako u ženy se mu z krve vyšetřuje HIV I, II, hepatitis B, C a syphillis. V případě těžké patospermie se před zařazením do programu ICSI-ET doporučuje vyšetření genetikem, většinou se provádí u obou partnerů společně.

V indikovaných případech se doplní vyšetření imunologické, endokrinologické, diabetologické, urologické, atd.

Vlastní IVF-ET lze rozdělit do čtyř kroků.

- 1) **Hormonální příprava ženy** a monitorování stimulace ultrazvukovým měřením růstu folikulů a tloušťky endometria (v proliferační fázi má být vidět tzv. triple line – dvojitá šíře sliznice děložní) a sledováním hladiny estradiolu (E2), eventuálně luteinizačního hormonu (LH) a progesteronu (P) v krvi. Hovoříme o tzv. kontrolované ovariální hyperstimulaci (KOH). Při KOH je třeba včasným podáváním injekčních gonadotropinů (především folikulostimulačního hormonu – FSH), zabránit atrézii folikulů (dutinek ve kterých zrají oocyty) a navodit jejich kodominanci s cílem, aby dozrál větší počet vajíček (oocytů). Preovulační folikul má v průměru 17–20 mm. Při alespoň třech preovulačních folikulech se aplikuje jednorázově lidský choriový gonadotropin (hCG). Po jeho aplikaci by došlo asi za 40 hodin k ovulaci. Těsně před ovulací se provádí odběr oocytů.
- 2) **Odběr oocytů** (egg collection, ovum pick up – OPU) v krátkodobé celkové narkóze, punkcí folikulů přes postranní poševní klenbu, pod ultrazvukovou kontrolou. Folikulární tekutinu ve zkumavkách předává gynekolog embryologovi a ten pod mikroskopem vyhledává v tekutině oocyty.
- 3) **Oplození oocytů in vitro a kultivace embryí** trvá nejméně 48 a nejvíce 120 hodin od OPU. Všechny manipulace s gametami před a po oplození provádí specializovaný embryolog.
- 4) **Embryotransfer** jednoho či dvou embryí (výjimečně tří) pomocí jemného katetru, který se zavede přes vnitřní branku hrdla do děložní dutiny, většinou pod ultrazvukovou kontrolou abdominální sondou.

Ad bod 1) Před hormonální přípravou musí lékař zvolit stimulační protokol, typ gonadotropinu a určit jejich dávky.

Stimulační protokoly lze rozdělit na s antagonisty GnRH a s agonisty GnRH.

Protokol s agonisty GnRH se dále dělí na krátký a dlouhý. Dlouhý stimulační protokol se zahajuje z folikulární nebo luteální fáze menstruačního cyklu.

Při volbě stimulačního protokolu zohledňuje lékař věk pacientky, riziko ovariálního hyperstimulačního syndromu – OHSS (zvýšené riziko OHSS je u PCO, či velmi mladých žen), reakci pacientky na hormonální stimulaci v cyklech předchozích atd.

Gonadotropiny se mohou použít starší, tak zvané menopauzální FSH nebo FSH s LH, které jsou získávány z moči žen po přechodu. Tyto preparáty se aplikují intramuskulárně.

Novější rekombinantní gonadotropiny jsou vysoce čištěné, vyrábějí se laboratorně a mohou se aplikovat podkožně pomocí speciálního pera (podobné peru inzulinovému).

Ovulaci časuje gynekolog podáním injekčního choriového gonadotropinu (hCG). K ovulaci dochází přibližně za 40 hodin po aplikaci hCG.

Ad bod 2) Odběr oocytů se provádí za 34–36 hodin po aplikaci hCG, a to transvaginální punkcí pod UZ kontrolou v krátkodobé narkóze.

Ad bod 3) Kultivace oocytů

První dvě hodiny po odběru se vajíčka nechávají v kultivačním boxu v 5% CO₂ ve vzduchu při teplotě 37 °C. Po této době hodnotí embryolog zralost vajíček a zjišťuje přítomnost pólového tělíska.

Pro ICSI se vybírají oocyty s prvním pólovým tělískem (metafáze II). Ostatní vajíčka jsou ponechána v kultivačním boxu 4 až 6 hodin k dozrání.

Přibližně ve stejnou dobu, kdy se ženě odebírají oocyty, odevzdává její partner čerstvé, masturbačně získané sperma.

Spermie se připravují k oplození in vitro tak, že se nejdříve centrifugací a swim up odstraní seminální plazma, pak spermie kapacitují v kultivačním médiu obvykle 6 hodin.

Po cca 6 hodinách od aspirace se spermie přidávají do média s oocyty. Počet oplozených vajíček (přítomnost prvojader) zjišťuje embryolog přibližně za 17–22 hodin od jejich odsátí.

Ad bod 4) Embryotransfer tenkým katétrem zavedeným za vnitřní branku hrdla děložního provede gynekolog za 48–120 hodin od punkce oocytů.

Úspěšnost transferu závisí na kvalitě a počtu transferovaných embryí, technice transferu a stavu endometria v době transferu.

Všechna kvalitní nadpočetná embrya je možné zamrazit. Pozdější kryoembryotransfer rozmražených embryí se provádí buď v přirozeném ovulačním cyklu ženy nebo po hormonální přípravě endometria.

Jaká jsou rizika asistované reprodukce?

Vícečetné těhotenství (gemini se po spontánním početí vyskytují přibližně 1 : 80, po asistované reprodukci 1 : 4).

Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS). OHSS je iatrogenní komplikace spojená s kontrolovanou ovariální hyperstimulací gonadotropiny. Základním patogenetickým článkem vzniku OHSS je akutní porucha permeability kapilár, při níž uniká tekutina z intra- do extravaskulárního prostoru. Míra ohrožení pacientky přímo koreluje s mírou úniku tělesné tekutiny

z intravaskulárního do třetího prostoru (ascites, hydrothorax, anasarka). OHSS se dělí na mírný, střední, těžký a kritický. Střední stupeň nepřesahuje 8 % a těžký 2 % na 100 stimulací.

Mimoděložní či heterotopické těhotenství. Mimoděložní gravidita po asistované reprodukci stoupá z 0,5 %, po spont. početí, na 5–7 %. Větší je i riziko heterotopické gravidity, kdy jeden plod je uložen v děložní dutině a druhý mimoděložně.

Po AR je asi 2× zvýšené riziko samovolných potratů a 5× předčasných porodů oproti samovolnému početí.

Císařský řez se po asistované reprodukci u jednočetné gravidity provádí ve 25–30 % a u vícečetného těhotenství v 80–90 %.

Po AR není prokázán větší počet vrozených vývojových vad než po běžném početí.

Úspěšnost u IVF se pohybuje mezi 30–40 % těhotenství na embryotransfer. Po ICSI je to 40–45 %. Po KET 20–30 %.

Nové trendy v asistované reprodukci:

Stimulace ovarií nízkými dávkami gonadotropinů a častější využívání antagonistů GnRH snižuje riziko OHSS. Doporučují se rekombinantní gonadotropiny, které jsou vysoce čištěné a vzhledem k jejich jednoduché podkožní aplikaci perem si je mohou pacientky aplikovat po náležitém zaučení samy. Při embryotransferu se zavádí do dělohy jedno či dvě embrya, čímž se snižuje počet vícečetných gravidit.

Stále častěji centra reprodukční medicíny spolupracují s onkology ve snaze zachovat reprodukci mladých onkologických pacientů s dobrou prognózou onkologické léčby. U mužů se před zahájením chemoterapie zmrazuje sperma, eventuálně testikulární tkáň. U žen se provádí farmakologická ochrana gonád, mražení oocytů, embryí a ovariální tkáň.

U vybraných skupin pacientů se doporučuje preimplantační genetická diagnostika (PGD), genetické vyšetření embrya před jeho zavedením do dělohy. Nejčastější indikace k PGD jsou dědičná onemocnění partnerů a porod dítěte s genetickou vadou v anamnéze. PGD se někdy doporučuje i při opakovaných potratech, opakovaných neúspěších IVF, věku ženy nad 35 let a muže nad 45 let. Standardně se vyšetřuje 7 chromozomů: 13, 16, 18, 21, 22, X, Y.

Cílem lékařů, kteří se specializují na léčbu neplodnosti, je pomoci co největšímu počtu partnerských dvojic mít geneticky vlastní děti, při minimalizaci rizik, která s léčbou souvisí.

J. Řezáčová
Podolské nábř. 157
147 00 Praha 4