

UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE

FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

METÓDY ASISTOVANEJ REPRODUKCIE

BAKALÁRSKA PRÁCA

2012

Lucia Lévyová

UNIVERZITA KONŠTANTÍNA FILOZOFA V NITRE
FAKULTA PRÍRODNÝCH VIED

METÓDY ASISTOVANEJ REPRODUKCIE
BAKALÁRSKA PRÁCA

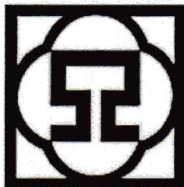
Študijný program: Učiteľstvo biológie a chémie (Učiteľské štúdium, bakalársky I. st., denná forma)

Školiace pracovisko: KZA – Katedra zoológie a antropológie

Školiteľ: RNDr. Barbora Matejovičová, PhD.

Nitra 2012

Lucia Lévyayová



Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre
Fakulta prírodných vied

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko študenta: Lucia Lévyová
Študijný program: učiteľstvo biológie a chémie (Učiteľské štúdium, bakalársky I. st., denná forma)
Študijný odbor: 1.1.1 učiteľstvo akademických predmetov
Typ záverečnej práce: Bakalárska práca
Jazyk záverečnej práce: slovenský
Sekundárny jazyk: anglický

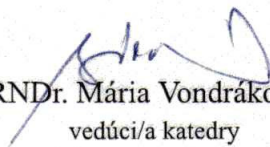
Názov: Metódy asistovanej reprodukcie

Anotácia: Práca sa bude zaoberať opisom jednotlivých metód asistovanej reprodukcie, ktoré v súčasnosti prinášajú nové možnosti riešenia problémov s reprodukciou, ale aj odкрývajú rad etických otázok.

Školiteľ: RNDr. Barbora Matejovičová, PhD.
Oponent: Mgr. Kristína Tománková
Katedra: KZA - Katedra zoológie a antropológie
Vedúci katedry: doc. RNDr. Mária Vondráková, CSc.

Dátum zadania: 13.10.2010

Dátum schválenia: 27.10.2010


doc. RNDr. Mária Vondráková, CSc.
vedúci/a katedry

Pod'akovanie

Ďakujem vedúcej bakalárskej práce RNDr. Barbore Matejovičovej, PhD., za jej odborné vedenie a cenné rady, ktorými ma usmerňovala pri vypracovaní tejto práce.

ABSTRAKT

LÉVAYOVÁ, Lucia: Metódy asistovanej reprodukcie. [Bakalárska práca]. Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre. Fakulta prírodných vied. Školiteľ: RNDr. Barbora Matejovičová, PhD. Stupeň odbornej kvalifikácie: Bakalár učiteľstva biológie a chémie. Nitra : FPV, 2012. 34 s.

Práca sa zaoberá príčinami neplodnosti, jej liečbou, metódami asistovanej reprodukcie ako aj etickým otázkam, ktoré sa spájajú s asistovanou reprodukciou. Neplodnosť je stále viac skloňovaný pojem v spoločnosti. Trápi mnohé páry, ktoré sa pokúšajú o splodenie dieťaťa a lekárov, ktorí sa zaoberajú touto problematikou. Ak už neplodné páry vyskúšali všetky možné dostupné spôsoby liečby neplodnosti a stále sa im nepodarilo splodiť dieťa, prichádza na rad asistovaná reprodukcia. Asistovaná reprodukcia s jej metódami pomohla už mnohým párom k ich vytúženému dieťaťu, ale odкрýva aj rad etických otázok s ktorými sa trápia mnohé veriace páry. Cieľom mojej práce je opísanie príčin neplodnosti, jej liečby, postupov práce pri asistovanej reprodukcii, jej právna úprava, ale aj zhrnutie etických otázok a reprodukčné straty.

Kľúčové slová: Neplodnosť. Embryo. Asistovaná reprodukcia. Spermia. Etické otázky

ABSTRACT

LÉVAYOVÁ, Lucia: The methods of assisted reproduction. [Bachelor Thesis]. Constantine the Philosopher University in Nitra. Faculty of Natural Sciences. Supervisor: RNDr. Barbora Matejovičová, PhD. Degree of Qualification: Bachelor of teaching biology and chemistry. Nitra : FNS, 2012. 34 p.

This work deals with the causes of infertility, its treatment, the methods of assisted reproduction as well as the ethical questions, connected with assisted reproduction. The notion of infertility is growing in society. It afflicts a lot of couples, who are trying to get children as well as physicians, who are dealing with this problem. When childless couples already tried all kinds of treatments against infertility and they still aren't able to get children, assisted reproduction is the next step. Assisted reproduction methods did already help many couples to get the children they longed for, but they also reveal ethical questions which are bothering a lot of faithful couples. The aim of my thesis is to write about the causes of infertility, its treatment, the methods of assisted reproduction, its correct application and also a summary of the ethical questions and the unsuccessful cases involved.

Key words: Infertility. Embryo. Assisted reproduction. Sperm. Ethical questions

OBSAH

TERMINOLOGICKÝ SLOVNÍK	5
ÚVOD	7
1 PREHĽAD LITERATÚRY	8
1.1 PRÁVO NA DIEŤA	8
1.2 POČATIE A PRENATÁLNY VÝVIN.....	8
1.2.1 Prenatálny vývin a jeho génová kontrola	9
1.3 PLÁNOVANÉ RODIČOVSTVO	10
1.4 NEPLODNOSŤ - STERILITA	11
1.4.1 Definícia a štatistika.....	11
1.4.2 Príčiny neplodnosti.....	11
1.4.3 Sterilita ženy.....	12
1.4.3.1 Sterilita hypotalamického pôvodu.....	12
1.4.3.2 Sterilita pri hyperprolaktinémii.....	13
1.4.3.3 Sterilita pri hyperandrogenémii.....	13
1.4.3.4 Cervikálna sterilita	13
1.4.3.5 Imunologicky podmienená sterilita	14
1.4.3.6 Organicky podmienená sterilita.....	14
1.4.4 Sterilita muža	14
1.4.5 Diagnostika	15
1.4.5.1 Diagnostika ženskej neplodnosti	15
1.4.5.2 Diagnostika mužskej neplodnosti	15
1.5 LIEČBA NEPLODNOSTI	16
1.5.1 Liečba ženskej neplodnosti.....	16
1.5.2 Liečba mužskej neplodnosti	16
1.6 ASISTOVANÁ REPRODUKČIA	17
1.6.1 Metódy asistovanej reprodukcie.....	18
1.6.1.1 Hormonálna liečba.....	18
1.6.1.2 Intrauterinná inseminácia – IUI	18

1.6.1.3 Asistovaný hatching (AH).....	20
1.6.1.4 In vitro fertilizácia	20
1.6.1.4.1 Technika fertilizácie in vitro	20
1.6.1.5 In vitro maturácia oocytov (IVM).....	22
1.6.1.6 Intracytoplazmatická injekcia spermíí	22
1.6.1.7 Priamy prenos gamét a zygót do vajčkovodov	25
1.6.2 Riziká asistovanej reprodukcie.....	25
1.6.3 Etické otázky v asistovanej reprodukcií	26
1.6.4 Kryokonzervácia.....	28
1.7 PRÁVNA ÚPRAVA ASISTOVANEJ REPRODUKcie V PODMIENKACH SLOVENSKEJ REPUBLIKY	28
1.8 REPRODUKČNÉ STRATY	29
ZÁVER.....	30
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	31
PRÍLOHY	34

Terminologický slovník

Adhézia – príľnavosť

Adheziolýza – chirurgické odstránenie zrastov

Agonista – chemická látka, ktorá sa viaže na receptor a spúšťa reakciu tejto bunky, agonisti napodobňujú prirodzene sa vyskytujúce látky

Amenorea – absencia menštruácie u ženy v reprodukčnom veku

Antagonista – opačne pôsobiaca látka brániaca účinku inej látky

Aspirácia – vdychovanie, vniknutie cudzieho telesa do dýchacích ciest

Empirický funkcionalizmus - filozofický smer, ktorý uznáva začiatok ľudskej existencie už okamžikom koncepcie, stvorenie sa stáva osobou až v nejakom ďalšom vývojovom stupni

Endometrióza – ochorenie, pri ktorom sa čiastočky maternice nachádzajú mimo maternice

Enukleácia – metóda chirurgického odstránenia nádoru

Etiopatogenéza - súbor príčin a mechanizmov vedúcich ku vzniku choroby / náuka o príčinách vzniku chorôb a ich patologických prejavoch

Genomický imprinting – genetický jav, pri ktorom miera expresie niektorého génu závisí na rodičovi, od ktorého bol tento gén zdedený

Germinálny vezikul – zárodočné mechúrikovité útvary

Gestácia - tehotenstvo u žien, brezivosť, kotnosť u samíc, gravidita / uhniezdenie vajíčka v sliznici maternice

GnRH – gonadotropný uvoľňujúci hormón

Gradualizmus – názor o vhodnosti postupnej reformy

HMG - menopauzálny gonadotropín

Hyperandrogenémia – zvýšená hladina androgénov v krvi

Hyperprolaktinémia – zvýšená hladina prolaktínu v krvi

Hysterosalpinografia – diagnostická laparoscopia pomocou kontrastnej látky

Chromozómové aberácie - zmeny v tvare a štruktúre chromozómov, odchýlka v štruktúre alebo počte chromozómov

Konizácia – odstránenie časti krčka maternice

Leydingové bunky – bunky produkujúce hormón testosterón

Myóm – nezhubný tumor zo svalových buniek maternice

Ontologický personalizmus - považuje osobu za stredobod medicínskej etiky

Oocyt – primárna ženská pohlavná bunka

Polycystické ovária – osobitá forma funkčných cýst

Polypy - nezhubné červenkasté stopkovité výrastky, vyskytujúce sa najčastejšie v dutine alebo na krčku maternice, ktoré vyrastajú zo sliznice

Preembryo - pre-implantačné embryo, vývinové štádium entity počas prvých štrnástich dní od oplodnenia

Punkcia – prepichnutie telovej dutiny na liečebné alebo diagnostické účely

Septum – priehradka

Utilitarizmus - prelom 19.stor., etická teória, ktorá pokladá za úplné kritérium mravnosti konania jeho užitočnosť

Varikotéla – rozšírenie žíl v oblasti mieška

(Vokurka a kol., 2007)

Úvod

Cesta k rodičovstvu je pre niekoho rýchlejšia, než si predstavoval, pre iného sa kľukatí ako horská serpentína a vyjsť až k cieľu je pre mnohé páry veľmi zložitú, dokonca až nemožnú. V súčasnej dobe je neplodnosť stále väčším problémom. Neplodnosť páru, ktorý túži splodiť dieťa je skutočne veľmi stresujúca záležitosť. Následky sú závažné pre pár ako aj pre celú spoločnosť, ktorej pôrodnosť sa stále pomaly znižuje. Vo vyspelých krajinách je dnes približne každý siedmy pár nechcane bezdetný, a bohužiaľ, predpokladá sa ďalší pomalý nárast. Až v 90% si s tým však vedia lekári poradiť.

Pomoc lekárov a odborníkov na medicínskom poli sa stala neoddeliteľnou súčasťou pokusov o vytúženú graviditu pre neplodné páry. Rozvoj techniky, ale aj neobvyklý záujem manželského či partnerského páru o liečbu ich neplodnosti viedlo k vytvoreniu špeciálneho odboru asistovanej reprodukcie.

Od čias Luise Brownovej, ktorá sa narodila v roku 1978 ako prvé „dieťa zo skúmavky“ sa po celom svete narodilo vďaka „umelému oplodneniu“ viac ako 4,3 milióna detí. Za posledné desaťročia sú metódy asistovanej reprodukcie najzásadnejším vedeckým a terapeutickým objavom, ktorý zásadným spôsobom prispel k liečbe neplodnosti. Stále sa zdokonalujúce metódy asistovanej reprodukcie dávajú nádej pre mnohé páry a zvyšujú tak ich možnosť počať dieťa. Cieľom vývoja týchto metód je dosiahnutie gravidity, ale aj odstránenie možnosti komplikácií, ktoré sú spojené s touto liečbou.

S novými metódami, ktoré umožňujú počatie dieťaťa aj tým ženám, ktorým sa nedarí spontánne otehotnieť sa vynárajú právne ale aj etické otázky. Niektoré metódy asistovanej reprodukcie sú etikmi veľmi často diskutované a pre veriace páry neprípustné, ako napríklad redukcia viacpočetného tehotenstva, kryokonzervácia, prenatalná diagnostika, klonovanie či výskumy a pokusy s preembryami. Avšak väčšina párov, ktoré sa snažia počať dieťa, nepozera na to, či to je etické alebo nie, ich túžba po dieťati je tak silná, že prekonáva akékoľvek predsudky.

Mňa osobne táto tématika veľmi zaujíma a chcela som sa o nej dozvedieť čo najviac. Preto som sa v práci zaoberala dôvodmi, pre ktoré musia páry vyhľadať pomoc odborníkov a aj postupom pri liečbe neplodnosti. Taktiež som sa venovala jednotlivým metódam asistovanej reprodukcie, ich rizikám a v neposlednom rade etickým otázkam a právnej úprave asistovanej reprodukcie, ktorá je poslednou šancou na splodenie dieťaťa pre neplodné páry.

1 Prehľad literatúry

1.1 Právo na dieťa

V každej spoločnosti existuje pomerne značný sociálny tlak na to, aby človek uzavrel manželstvo a splodil dieťa. Tieto tlaky sú veľmi jemne vsunuté do našej každodennosti, takže si ich manipulatívne pôsobenie ani neuvedomujeme. Socializáciou bolo človeku už od útleho detstva vštepované, že byť mamou a otcom je tá najlepšia vec na svete. S týmto zakoreneným názorom sa postupne väčšina z nás identifikuje a keď nastane doba, kedy je relevantné rozhodovať sa pre plodenie detí, chápeme toto svoje rozhodnutie ako celkom prirodzené a dobrovoľné. M.S. Ireland zhodne s našimi podmienkami uvádza, že možno práve preto sa zvlášť žena necíti „skutočnou ženou“, pokiaľ sa nestane matkou (Ireland, 1993).

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) uvádza, že muži a ženy zrelého veku majú právo bez obmedzenia rasy, národnosti alebo náboženstva uzavrieť manželstvo a založiť si rodinu. Postoj verejnosti sa k otázke rodičovstva postupom času stále mení. V našich podmienkach je dobrovoľná bezdetnosť ako sociologický jav príliš neznámy, alebo je to pre nás doposiaľ nový fenomén.

Nositelkou plodnosti je žena a zmeny, ktoré so sebou moderná a postmoderná spoločnosť prináša, sa dotýka predovšetkým jej. Žene sa nesmierne otvorili životné šance. A tak zatiaľ čo v minulosti bolo materstvo a rodina údelom ženy, dnes sa stali jej voľbou. Preto sa tiež posunul vek ženy pri narodení prvého dieťaťa. Nie je teda výnimkou, keď si mladé ženy súčasnej generácie najskôr chcú vybudovať kariéru, cestovať, študovať. Plánovanie rodiny nie je pre človeka vo veku pod 30 rokov v jeho pomyslenom rebríčku hodnôt na prvom mieste. Podľa Tomáša Kučera dnešná populácia žien stále častejšie prekračuje hranicu 30. roku ako bezdetná. Priemerný vek ženy pri narodení prvého dieťaťa medzi rokmi 1990 a 2008 narástol takmer o 5 rokov na aktuálnu hodnotu 27,3 roku a táto hodnota sa s ohľadom na dnešné možnosti nezadržateľne blíži k hranici 30 rokov (Kučera, 2009).

1.2 Počatie a prenatálny vývin

Život každého jedinca je do značnej miery naprogramovaný v okamihu jeho počatia. Genetická výbava zygoty určuje druhovú príslušnosť, základné morfológické

i fyziologické vlastnosti a jeho rodičia predurčili aj prostredie, v ktorom sa narodí a ktoré ho bude dotvárať.

1.2.1 Prenatálny vývin a jeho génová kontrola

Vývin jedinca začína oplodnením vajíčka spermiou. K ich stretnutiu dochádza vysoko vo vajíčkovodoch. Oplodnené vajíčko (zygota) sa ryhuje a putuje vajíčkovodmi do maternice. V tejto fáze môže z každej bunky vzniknúť samostatný zárodok. Náhodné rozdelenie zárodku v tomto období vedie ku vzniku jednovaječných dvojčiat. Približne 6. deň po oplodnení sa plodové vajce usadzuje v maternici (nidácia) a prechádza štádiom blastuly. V období medzi tretím až desiatym týždňom po oplodnení sa diferencujú základy jednotlivých orgánov (organogéza). V nasledujúcich týždňoch sa dotvorí vnútorná štruktúra a diferenciacia orgánov plodu (histogéza) a aktivuje ich metabolizmus (funkčné zrenie).

Na genotype potomka sa obaja rodičia podieľajú haploidnou sadou chromozómov. Pred pár rokmi sa predpokladalo, že s výnimkou X a Y, ktoré sú viazané dedičnosťou, nie je fenotyp podľa Mendelových zákonov dedičnosti ovplyvnený materským či otcovským pôvodom alel. Nové poznatky ukázali, že to tak úplne nie je, a tento jav je označovaný ako nemendelovská dedičnosť. Vplyv pôvodu niektorých alel sa dá vysvetliť rozdielnym „príspevkom“ spermie a vajíčka pri oplodnení a ďalej tzv. genomickým imprintingom. Spermia vnáša do zygoty len sadu otcovských chromozómov. Vajíčko, ktoré je najväčšou ľudskou bunkou (priemer 0,1 mm), prináša nielen sadu materských chromozómov, ale aj cytoplazmu s množstvom zásobných látok a všetky mitochondrie. DNA mitochondrií tvorí len asi 2 % z celkového množstva DNA bunky, ale dnes poznáme niekoľko desiatok chorôb, ktoré sú vyvolané mutáciami mitochondriálnej DNA a dedí sa len cez matku (matroklinná dedičnosť).

Rozdiely v génovej expresii medzi alelami materského a otcovského pôvodu sú dôsledkom genomického (parentálneho) imprintingu. Imprinting je podmienený reverzibilnou zmenou metylácie bázy, ktorá spôsobuje inaktiváciu príslušnej časti DNA, nemení však jej sekvenciu. Celý proces ontogenézy je riadený reťazcom génov. Prvé gény reťazca sú inaktivované už v priebehu zrenia vajíčka a spermie. V tejto dobe nastáva imprinting, ktorý určuje pôvod niektorých génov (od otca alebo od matky).

Význam kombinácie materskej a otcovskej sady chromozómov pre normálny vývin zygoty dokumentujú štúdie zárodkov s dvomi otcovskými alebo dvomi materskými

sadami. Experimenty na myšiach dokázali, že pokiaľ je bezjadrové vajíčko oplodnené dvomi spermiami, vyvíja sa v neorganizovanú masu buniek (molu). Prítomnosť len materských sád vytvorí síce podmienky pre vývin plodu, ale placenta sa vyvíja nedostatočne. V oboch prípadoch končí tehotenstvo neúspešne. Podobne je to aj u ľudského zárodka s tromi sadami chromozómov (triploidia). Po oplodnení vajíčka dvomi spermiami dochádza k nadmernému rastu trofoblastov a cystickým zmenám placenty (parciálna mola).

Parentálny imprinting bol dokázaný aj pre jednotlivé gény lokalizované na autozómoch. Ich mutácia sa manifestuje rôzne, fenotyp závisí od toho či sú mutácie zdedené od otca alebo od matky. Klasickým a najlepšie preštudovaným príkladom demonštrujúcim význam imprintingu sú Prader – Williho syndróm a Angelmanov syndróm. Oba syndrómy môžu byť podmienené zhodnou zmenou (najčastejšie deléciou) na chromozóme 15. Vplyvom genomického imprintingu sa vyvinie úplne odlišný fenotypový obraz pri mutácií chromozómu, ktorý pochádza od matky (Angelmanov syndróm), respektíve od otca (Prader – Willov syndróm) (Otová a kol., 2009).

1.3 Plánované rodičovstvo

V dnešnej dobe končí reprodukcia závislá len na biologických podmienkach. Do popredia sa dostáva plánovaná reprodukcia a s ňou však súčasne rastúce aj reprodukčné problémy. Nie je jednoduché skĺbiť základné ľudské právo na plánované rodičovstvo, slobodné rozhodnutie o počte detí podľa situácie, keď nedobrovoľnou bezdetnosťou trpí 15 až 20 % párov vo vyspelých európskych krajinách a 8 až 10 % párov vo svete.

Priemerný vek matky pri pôrode je u nás rovnaký ako priemer v Európskej únii (29rokov). Oproti priemeru Európskej únie (7%) je však podiel detí narodených pomocou umelého oplodnenia na Slovensku nižší, pričom v Dánsku sa po metódach asistovanej reprodukcie rodí v súčasnosti 18% detí, u nás sú to necelé 4 %. Najvyšší podiel umelých oplodnení má už spomínané Dánsko, ďalej Belgicko a Fínsko. Je preto jasné, že plodnosť pod hranicou reprodukcie obyvateľstva bude mať minimálne za následok úbytok a starnutie populácie. Otázka reprodukcie sa stavia do pozície, kedy nedochádza len k jej plánovaniu, ale súbežne tak aj k jej liečbe a taktiež aj k výberu liečebných metód (Burcin, 2009).

1.4 Neplodnosť - sterilita

1.4.1 Definícia a štatistika

Manželstvo alebo partnerstvo, ktoré zostáva proti vôli partnerov bezdetné, označujeme ako sterilné. Sterilita môže mať podklad v *impotentia coeundi* alebo v *impotentia concipiendi*. Pod pojmom infertilita rozumieme zas neschopnosť ženy po oplodnení donosiť a porodiť plod (*impotentia gestandi*). Sterilita sa delí na primárnu a sekundárnu. O primárnej hovoríme vtedy, keď počas jedného roka pri pravidelnom a nechránenom pohlavnom styku žena, ktorá si želá mať dieťa, neotehotnie. O sekundárnej sterilite hovoríme vtedy, keď už bola žena jeden alebo viackrát tehotná a teraz dlhšie obdobie pri pravidelnom a nechránenom styku neotehotnie. Podľa najnovších štatistík zostáva asi sedmina manželstiev bezdetných (Martinus a kol., 1997).

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) je presvedčená, že 60 - 80 miliónov párov na svete je neplodných. 2-10 % párov nie je schopných počať dieťa prirodzeným spôsobom a ďalších 10-25% nie je schopných počať ďalšie dieťa. Odhaduje sa, že asi jeden zo šiestich párov hľadá pomoc pri dosiahnutí tehotenstva. Pomoc sa môže pohybovať v medziach základného poradenstva u lekára až po podstúpenie oplodnenia metódami asistovanej reprodukcie (Internet 1).

1.4.2 Príčiny neplodnosti

Bezdetnosť môže mať viac príčin. Veľký význam sa pripisuje veku partnerov. Po 35. roku života sa vyhliadka na otehotnenie výrazne znižuje. Približne 20% žien, ktoré sa vydávajú medzi 30. a 35. rokom života, zostáva bezdetných. Toto percento stúpa s vekom. Príčiny bezdetného manželstva môžeme hľadať v 35-40% v andrologických poruchách a v 40-50 % v poruchách fertility ženy. Asi v 15 % sú príčinou obaja partneri. Približne 40-50 % žien je bezdetných v dôsledku funkčnej poruchy vaječníkov (funkčne podmienená sterilita). K tomu sa ešte pripája cervikálna funkčná patológia. Organické príčiny, ako nepriechodnosť vajčkovodov, anomálie polohy, vývinové chyby a nádory maternice, ako aj jazvovité zmeny na krčku maternice a zápaly pošvy tvoria asi 40% príčin sterility. Uvedené percentuálne podnety sa však môžu v rôznych oblastiach dosť líšiť. V 10-20 % manželstiev sa príčina sterility nezistí (idiopatická sterilita). Často je príčina multifaktoriálna. Imunologicky podmienená sterilita na báze protilátok proti spermiami v sére a cervikálnom hliene ženy má len minimálny podiel. Psychogénne faktory, napr.

disharmónia medzi partnermi, spazmy vajčkovodov a psychoreaktívne poruchy cyklu, tvoria asi v 10-20 % príčinu sterility partnerov.

Záver o plodnosti partnerov sa dajú odvodit' aj z poskoitálneho Simsovho – Huhnerovho testu, ktorý sa vykonáva v strede menštruačného cyklu, v predovulačnej fáze : asi 12 hodín po styku sa odoberie cervikálny hlien, ktorý sa nanesie na podložné sklíčko a pozoruje sa pod mikroskopom – hodnotí sa kvalita cervikálneho hlienu, počet a pohyblivosť spermií (Ulčová – Gallová, 2006).

1.4.3 Sterilita ženy

a) Funkčne podmienená sterilita

V tejto počtom najväčšej skupine príčin sterility majú dôležitú úlohu psychické faktory. K nim sa pripájajú poruchy funkcie hypotalamu, hyperprolaktimémia, hyperandrogenémia a funkčná dysregulácia cervixu.

b) Psychická genéza sterility

Poruchy normálnej sexuality spojené s dyspareuniou (bolesť pri pohlavnom styku), stratou libida, frigiditou a anorgazmiou, prípadne vaginizmom (spazmus pošvy) majú často pôvod v psychických konfliktových situáciách. Tieto fenomény prirodzene obmedzujú normálny sexuálny život a môžu byť príčinou sterility. Tou môže byť aj impotencia muža s nedostatočnou erekciou a chýbajúcou ejakuláciou. Všetky tieto súvislosti sa dajú zistiť iba pri citlivo vedených rozhovoroch s oboma partnermi. V ľahších prípadoch majú tieto rozhovory aj terapeutický charakter. V závažnejších prípadoch sa odporúča návšteva u psychoterapeuta (Martinus a kol., 1997).

1.4.3.1 Sterilita hypotalamického pôvodu

Funkčné poruchy hypotalamu s nedostatočnou alebo desynchronizovanou sekréciou GnRH môžu byť príčinami ovariálnej dysfunkcie s anovulačnými cyklami, insuficiencie žltého telieska, primárnej alebo sekundárnej amenorey, a tým aj sterility. Podkladom hypotalamickej funkčnej poruchy môžu byť psychické faktory, ktoré vedú ku klinickému obrazu *anorexia nervosa*, anorektických reakcií a bulímie. Aj chronické stresové situácie, záťaž spojená so skúškami či intenzívny telesný tréning u vrcholových športovkýň môžu spôsobiť ovariálnu dysfunkciu. Symptómy ovariálnej dysfunkcie a ich klasifikácia sú opísané v 18. kapitole WHO. Dôležitou pomôckou na diagnostiku anovulačného cyklu

alebo luteálnej insuficiencie je krivka bazálnych teplôt. Príčinou oboch dysfunkcií je porucha dozrievania folikulov, spojená s vynechaním ovulácie v adekvátnom čase. Veľký význam v diagnostike sterility má vyšetrenie cervikálneho hlienu, pri ktorom sa hodnotí šírka vonkajšieho otvoru cervikálneho kanála, množstvo hlienu, jeho ťažnosť a arborizačný fenomén. Súčasne možno posúdiť správanie spermií v cervikálnom hliene (Simsov – Hunhnerov test). Pri zistení amenorey a po vylúčení gravidity sa môže diferencovať porucha funkcie pomocou 10 – dňového podávania gestagénov. Pozitívny gestagénový test svedčí o normogonadotropnej ovariálnej insuficiencii. Test je pozitívny vtedy, keď po ukončení podávania gestagénu nastane krvácanie zo spádu. Pri pozitívnom teste sa vychádza z toho, že endometrium sa nachádzalo v štádiu proliferácie, t. j. pod vplyvom estrogénov. Pri hypogonadotropnej ovariálnej insuficiencii je gestagénový test negatívny, rovnako ako pri primárnej hypergonadotropnej ovariálnej insuficiencii, pretože ovariálna sekrécia estrogénov je nedostatočná (Mardešič, 1996).

1.4.3.2 Sterilita pri hyperprolaktinémii

Podľa stupňa závažnosti vedie hyperprolaktinémia k obmedzeniu vylučovania FSH a LH hypofýzou a k vymiznutiu pulzatility. Zvýšené hladiny prolaktínu nepriamo potláčajú sekréciu FSH a LH z predného laloka hypofýzy. Na normalizáciu hodnôt prolaktínu sa podávajú antagonosti dopamínu, ako sú bromokriptín alebo lizurid (Martinus a kol., 1997).

1.4.3.3 Sterilita pri hyperandrogenémii

V popredí liečby sterility spojenej so syndrómom polycystických ovárií je podávanie klomifénu. Polycystické vaječníky majú však sklon k ovariálnej hyperstimulácii, preto je potrebné sledovanie liečby, na čo je vhodná vaginálna sonografia. Táto liečba je úspešná v 15 až 30 %. Viac plodové gravidity sú častejšie ako zvyčajne (Řežábek, 2008a).

1.4.3.4 Cervikálna sterilita

Medzi príčinami cervikálnej sterility zaberá popredné miesto dysmukorea. Je to sekrécia menej ťažného viskózneho cervikálneho hlienu, ktorý je pre spermie ťažko priepustný. Pri liečbe klomifénom vzniká v dôsledku jeho antiestrogénového pôsobenia takáto situácia pomerne často. Zmeny v cervikálnom hliene sa zistia postkoitálnym Simsovým – Huhnerovým testom. V tomto prípade ide o výskyt malého množstva pohyblivých spermií. Cervikálnu sterilitu možno preklenúť intrauterinnou insemináciou.

Na jej vykonanie je nevyhnutná príprava spermií podľa metódy swim – up (Martinus a kol., 1997).

1.4.3.5 Imunologicky podmienená sterilita

V malom percente prípadov môžu byť príčiny sterility antispermatoidné protilátky. Môže ísť o protilátky imobilizujúce spermie alebo o aglutinačné faktory. Pre diagnostiku tejto poruchy je dôležitý dôkaz protilátok proti spermiám v cervikálnom hliene. Význam imunologických príčin sterility sa často preceňuje. Terapeutické odporúčania, ako používanie kondómu pri pohlavnom styku a liečba glukokortikoidmi, sú pochybné. Aj liečebné úspechy intrauterinnej iseminácie, *fertilizácie in vitro* a intratubárneho transferu gamét sa dajú len ťažko objektivizovať (Ulčová – Galová, 1999).

1.4.3.6 Organicky podmienená sterilita

K najčastejším anatomicky podmieneným príčinám sterility patria pozápalové zmeny vajčíkovodov s ich nepriechodnosťou a adhéziami. Infekcia sa šíri ascendentne a spôsobená je rôznymi mikroorganizmami, ako sú gonokoky, streptokoky, stafylokoky, mykoplazmy a chlamýdie. Najčastejšie pri tom vzniká uzáver ampulárneho ústia vajčíkovodu. Adhézie môžu ovplyvniť motilitu vajčíkovodov alebo mechanizmus zachytenia vajčeka. Okrem dôsledkov zápalu je aj endometrióza organicky podmienenou príčinou sterility. K uterinej príčine sterility patria vývinové anomálie maternice a myómy. Nepravidelné polohy maternice majú v príčinách sterility len podradnú úlohu. Strata endometria forsírovanou kyretážou po potrate vedie takisto k sterilite. Anatomické zmeny na cervixe, napr. stav po konizácií, môžu sťažiť alebo znemožniť oplodnenie. To isté platí o anatomických anomáliách pošvy, ako je stenóza alebo zdvojenie (Ulčová – Gallová, 1999).

1.4.4 Sterilita muža

V 35 – 40 % prípadoch je sterilita manželského páru zapríčinená zníženou fertilitou mužského partnera. Môže ísť o poruchy spermiogenézy, poruchy transportu spermií a poruchy endokrínnej funkcie semenníkov. Ako *impotentia coeundi* sa označuje neschopnosť muža mať pohlavný styk na podklade nedostatočnej erekcie. Túto poruchu nemožno stotožňovať s *impotentia generandi*, čo znamená neschopnosť oplodnenia, neplodnosť (Kubiček, 1996).

1.4.5 Diagnostika

Diagnostika neplodnosti rozlišuje základné a špeciálne vyšetrenia ženy a muža.

1.4.5.1 Diagnostika ženskej neplodnosti

Na zistenie priechodnosti vajčkovodov sa používa hysterosalpingografia s kontrastným znázornením dutiny maternice a vajčkovodov. Toto vyšetrenie by sa však malo robiť iba po vylúčení akútnych zápalových ochorení genitálií. Na RTG obraze možno pozorovať prienik kontrastnej látky maternicou, vajcovodmi a jej voľné vytekanie do brušnej dutiny. Normálna dutina maternice má trojuholníkový tvar. Zdvojenie alebo submukózne myómy a polypy sa zobrazujú vyjasnením v kontrastnom obraze. Na zistenie priechodnosti a pohyblivosti vajčkovodov sa osvedčila laparoscopia a pelviscopia. Týmto diagnostickými metódami sa dajú veľmi dobre posúdiť pozápalové zmeny, adhézie, endometrotické ložiská, priechodnosť vajčkovodov a makroskopická anatómia vaječníkov. Na zistenie priechodnosti vajčkovodov sa pomocou adaptéra aplikuje do dutiny maternice farebná látka indigokarmín. Priechodnosť sa potvrdí vytekaním farbiva z ústia vajčkovodov. Súčasne možno pri diagnostickej laparoscopií vykonať jednoduché terapeutické zákroky. Hysteroscopia umožňuje endoskopické vyšetrenie dutiny maternice a môže doplniť hysterosalpingografiu. Výhodiskovým testom plodnosti je aj gynekologické vyšetrenie načasované na dobu ovulácie ženy, tzv. postkoitálny test. V tomto prípade je však potrebné mať tri hodiny pred vyšetrením pohlavný styk, po ktorom sa žena nemôže umývať ani oplachovať. Lekár pri ňom odoberie ster z hlienu krčka maternice, v ktorom sa ukáže či sa spermie pohybujú. Toto vyšetrenie dokáže v hliene preukázať prítomnosť protilátok na spermie partnera. Medzi ďalšie vyšetrenia ženy patria genetické, imunologické, psychologické a sexuologické vyšetrenia (Martinus a kol., 1997).

1.4.5.2 Diagnostika mužskej neplodnosti

Dôležitou metódou na posúdenie plodnosti muža je okrem anamnézy a klinického nálezu spermigram. Čestvé semeno, získané masturbáciou, sa vyšetrí po mikroskopom, pričom sa hodnotí množstvo ejakulátu, počet a motilita spermií. Podľa návrhu WHO platia pre normospermiu tieto kritéria: množstvo ejakulátu: 2 – 6 ml, hodnota pH: 7,0 – 7, 8, čas skvapalnenia: 15 – 30 minút, počet spermií: 20 – 80 mil./ml, motilita : 60 – 70 %, morfológia: menej ako 20 % abnormálnych spermií. Oligospermiou rozumieme počet spermií pod 20 mil. / ml, azospermiou chýbanie zrelých spermií a pod aspermiou úplný

nedostatok všetkých foriem zárodočných buniek. O polyspermií hovoríme vtedy, keď počet spermíí prevyšuje 250 mil. / ml. Ak je počet morfológicky normálnych spermíí nižší ako 60 %, ide o teratozoospermiu. Súčasný výskyt oligoasteno – a teratospermie sa označuje ako syndróm OAT. V spermatickej tekutine sa zisťuje obsah fruktózy a koncentrácia karnitínu. Najdôležitejšími endokrinnými parametrami na posúdenie funkcie semenníkov je stanovenie hladín FSH a testosterónu v plazme. Zvýšené koncentrácie svedčia o ireparabilnom poškodení tubulov. Znížené hodnoty testosterónu sú znakom insuficiencie Leydingových buniek. Vážnou príčinou sterility môže byť aj varikokéla. Výskyt spermatozoidných protilátok sa pokladá za príčinu imunologickej podmienenej mužskej sterility (Šušková, 2011).

1.5 Liečba neplodnosti

1.5.1 Liečba ženskej neplodnosti

Organicky podmienené poruchy sterility sa dajú korigovať chirurgicky. Pri myomatóze maternici prichádza do úvahy konzervatívna enukleácia myomatózneho uzla, pri zdvojení maternice prípadné odstránenie septa. Väčšina operácií sa týka tubárne podmienenej sterility s cieľom obnovenia priechodnosti vajíčkododov. Indikácia na tento výkon by však mala byť zdržanlivá v závislosti od rozsahu poškodenia. Najjednoduchšou operáciou na zlepšenie motility vajíčkododov je adhéziolýza. Relatívne priaznivú prognózu má operácia pri distálnom uzávere vajíčkododu s dobre zachovaným endosalpingom. Ide o obnovenie fimbriálneho lievika tzv. fimbrioplastikou, čím sa umožní správne zachytenie vajíčka. Zákroky na vajíčkodode sa vykonávajú mikrochirurgickou technikou za pomoci lupy, prípadne operačného mikroskopu. Úspech operácie závisí od dokonalého zastavenie krvácania. Mikrochirurgia je zvlášť úspešná pri refertilizácií po tubárnej sterilizácií. V tomto prípade sa vykonáva tubotubárna anastomóza. Úspešnosť výkonu je najnižšia, t. j. asi 15 %, v prípade pozápalových zmien a najvyššia - až 60 % - pri mikrochirurgickej anastomóze po prechádzajúcej sterilizácií (Řežábek, 2004).

1.5.2 Liečba mužskej neplodnosti

Liečba mužskej sterility sa riadi podľa etiológie, ak je známa. Hypogonadotropný hypogonadizmus, napr. pri Kallmanovom syndróme, sa dá úspešne liečiť pulzatílnou substitúciou GnRH alebo kombináciou HMG / HCG. Vo väčšine prípadov sa tak dosiahne normalizácia spermioenézy. Pri primárnom poškodení tubulov sú terapeutické možnosti

obmedzené. Spočívajú v perorálnej substitúcii účinnými androgénmi, alebo v podávaní liekov zvyšujúcich prekrvenie. Efektívnosť týchto opatrení sa však dostatočne nepotvrdila. Pri oligozoospermii alebo pri poruche kohabitácie možno terapeuticky použiť insemináciu. Predpokladom však je príprava ejakulátu tzv. metódou *swim – up*. Ejakulát sa prevrství kultivačným médiom a pohyblivé spermie sa vlastným pohybom dostanú do média. To sa potom centrifuguje a opäť prevrství médiom. Po opätovnej centrifugácií sa v sedimente nachádzajú dobre pohyblivé spermie, ktoré sa zachytia do 50 – 100 μ l média a inseminujú do maternice. Opakovaným pobytom v kultivačných médiách prešli spermie zároveň kapacitným procesom, takže sú schopné oplodnenia. Pravdaže, inseminácia sa musí vykonať v čase ovulácie, ktorú môžeme predpokladať na základe vyšetrenia cervikálneho sekrétu, šírky vonkajšieho otvoru cervikálneho kanála a posúdenia veľkosti folikulov ultrazvukom (Řežábek, 2008a).

1.6 Asistovaná reprodukcia

Asistovaná reprodukcia je v dnešnej dobe nielen veľmi frekventovaným pojmom, ale aj eticky a morálne diskutovanou témou na poli teológov a etikov. Asistovaná reprodukcia je využívaná v prípadoch zlyhania všetkých predchádzajúcich postupov štandardnej liečby neplodnosti a to ako pri ženskej, tak aj pri mužskej neplodnosti. Karel Řežábek definoval asistovanú reprodukciu ako „medicínsky odbor, ktorý pracuje vnútri i mimo tela človeka so spermiami, vajíčkami a embryami, s cieľom oplodniť ženu“ (Řežábek, 2008b).

Prvými, ktorí dokázateľne opísali fertilizáciu *in vitro* ľudského oocytu boli Edwards, Bavister a Steptoe v roku 1969. O niekoľko rokov neskôr uverejnili Steptoe a Edwards správu o mimomaternicovom tehotenstve po oplodnení *in vitro* a prenose embrya u človeka. Zavŕšením snahy o *in vitro* fertilizáciu a transfer embrya u človeka s normálnym priebehom tehotenstva bol úspech Steptoea a Edwardsa v roku 1978 s narodením prvého dieťaťa počatého týmto spôsobom. Trounson a Mohr opísali tehotenstvo u človeka po kryokonzervácií a následnom transfere 8 – bunkového embrya. O prvom tehotenstve dosiahnutom laparoskopickým prenosom gamét do vajíčkovodu – GIFT referovali Asch a kol. v roku 1984 (Dvořák a kol., 1990).

Na deti zo skúmavky mnohí pozerajú ako na úplnú degradáciu rodičovstva. Iný pohľad na asistovanú reprodukciu je podstatne liberálnejší, pretože úspešnosť prirodzeného počatia je v dnešnej dobe akousi sexuálnou lotériou. Preto sú niektoré

techniky vnímané ako prijateľné. A posledný pohľad skúma metódy asistovanej reprodukcie ako celkom oprávnený spôsob otehotnenia pre neplodné manželstvá (Konečná, 2003).

1.6.1 Metódy asistovanej reprodukcie

Metódy asistovanej reprodukcie zahŕňajú celý rad moderných technologických postupov, pri ktorých sú oocyty odoberané z vaječníkov, oplodnené mimo ženského tela a potom zavedené späť do maternice (Doherty, 2006).

1.6.1.1 Hormonálna liečba

Hormonálna liečba je najmenej záťažovou metódou asistovanej reprodukcie. Ide o medikamentózne, konkrétne hormonálne, spôsoby vyvolania ovulácie. Liečenému páru je k hormonálnym liekom vystavený taktiež harmonogram ovulácie ženy podľa užívaných liekov s presne určeným dňom pre pohlavný styk, kedy by mohlo byť úspešné počatie dieťaťa.

K hormonálnej liečbe nie sú žiadne etické výhrady, pretože dochádza k užitiu prostriedkov, ktoré následne vôbec nebránia, ale naopak napomáhajú pohlavnému styku a počatiu dieťaťa (Doherty, 2006).

1.6.1.2 Intrauterinná inseminácia – IUI

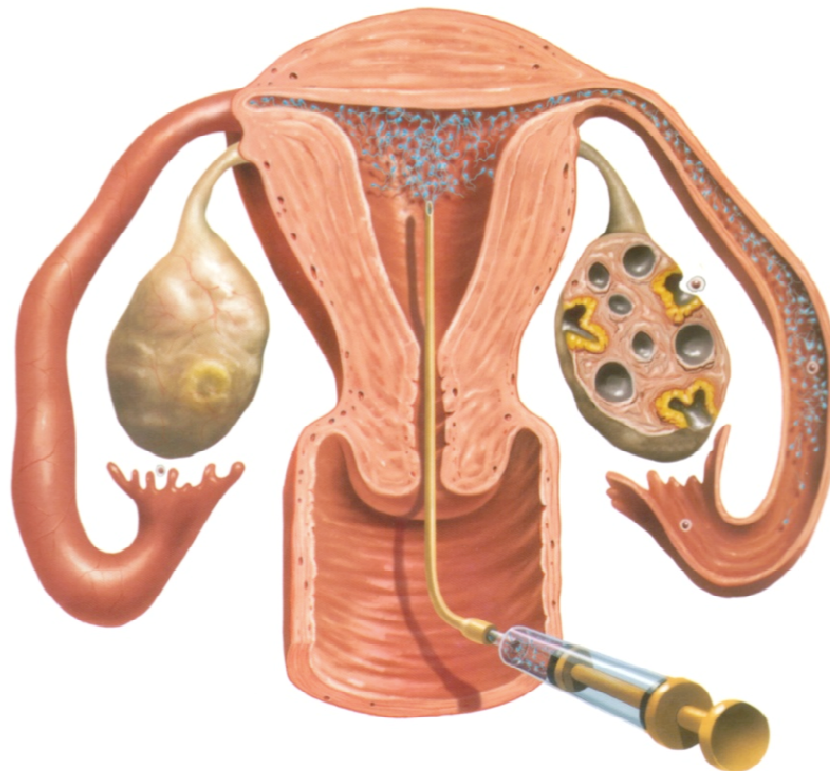
Ide o jednu z najstarších techník liečby neplodnosti. K oplodneniu sa buď používajú spermie manžela, ktorého spermiogram dosahuje aspoň hraničné hodnoty, alebo sa využívajú spermie darcu. Tie sa zavedú trubicovým nástrojom priamo do maternicovej dutiny ovulujúcej ženy. Pre zvýšenie percentuálnej úspešnosti je dobré, aby pacientka podstúpila stimuláciu ovulácie.

V prvom rade sa zaháji hormonálna terapia na podporu dozretia viacerých vajčiek v priebehu jedného cyklu. Pokiaľ žena prirodzene ovuluje, nie je táto stimulácia nutná, ale zvyšuje nádej na úspešnosť liečby. Počas stimulácie sa kontrolujú ultrazvukom vaječníky a ich odpoveď na hormonálnu terapiu.

Vhodnou stimuláciou sa dosiahne ovulácia v správnom čase a tak sa dá načasovať presne deň, kedy sa vykoná prenos spermií. Príprava spermií je nenáročná a prebehne v deň transportu. Trvá zhruba hodinu. Manžel spermie získa masturbáciou, pri ktorej musí dodržať prísne hygienické pravidlá, aby spermie neobsahovali infekciu. Spermie sa

skvapalnia, premyjú. Ku získaniu najkvalitnejších a najpohyblivejších spermií sa používajú dve metódy. Je to centrifugácia a metóda *swim up*.

Procedúra zavádzania spermií sa podobá bežnému gynekologickému vyšetreniu, kedy sa žene zavedie cez krček do maternice trubka s priemerom 0,5 mm a aplikuje sa jej tam 0,5 – 1 ml roztoku so spermiami ako je možné vidieť na obrázku č.1. Celý proces je nebolestivý a nevyžaduje hospitalizáciu. Spermiami sa po zavedení do maternice skrúti cesta a zvýši sa šanca na otehotnenie (Války, 2007).



Obr. č.1: Intrauterinná inseminácia

[<http://bodycheckinternational.com/splash/?p=600>]

Podmienky pre IUI:

1. Partnerove spermie musia mať určitú konzistenciu a musia byť normálneho tvaru. Dôležitá je dobrá pohyblivosť spermií.
2. Žena musí byť zdravá, musí mať normálne fungujúce vaječníky, ktorých aktivita sa hodnotí podľa hladiny hormónov v krvi.
3. Touto metódou sa môžu liečiť aj ženy so stredným stupňom endometriózy.

Priemerná cena IUI sa pohybuje okolo 73€ (Internet 2).

1.6.1.3 Asistovaný hatching (AH)

Asistovaný hatching je mikromanipulačný výkon, ktorý robí embryológ na obale embrya pomocou mikroskopu pre prenosom embrya do maternice. Ihlou alebo laserovým lúčom sa vytvorí otvor v *zone pellucida*, ktorý uľahčí jeho vycestovanie a neskoršie zahniezdenie (Internet 3).

V 5. – 6. deň svojho vývinu opúšťa embryo ochranný obal (*zona pellucida*), ktorý ho do tej doby chránil aj pred poškodením pri mimotelovej manipulácií. Tento proces, nazývaný „*hatching*“ je nevyhnutný pre kontakt embrya s bunkami maternice, v ktorej sa musí uhniezdiť. Niektoré embryá nie sú schopné tento proces ukončiť a uviaznu v obale. Z tohto dôvodu bol navrhnutý tento proces, pri ktorom je *zona pellucida* mikromanipulačne lokálne otvorená pre uľahčenie „*hatchingu*“. Účinnosť tejto metódy je diskutabilný, prevažuje však názor, že zdravé embryo asistovaný *hatching* nepotrebuje. Preto by sa nemala preceňovať jeho účinnosť.

Indikácie AH sú: vek pacientky nad 35 rokov, opakovane nedosiahnuté tehotenstvo po transfere kvalitných embryí, zvýšená hodnota FSH u pacientky, zistenie silnejšieho obalu embrya. Vykonáva sa taktiež na žiadosť pacientky (Internet 4).

1.6.1.4 In vitro fertilizácia

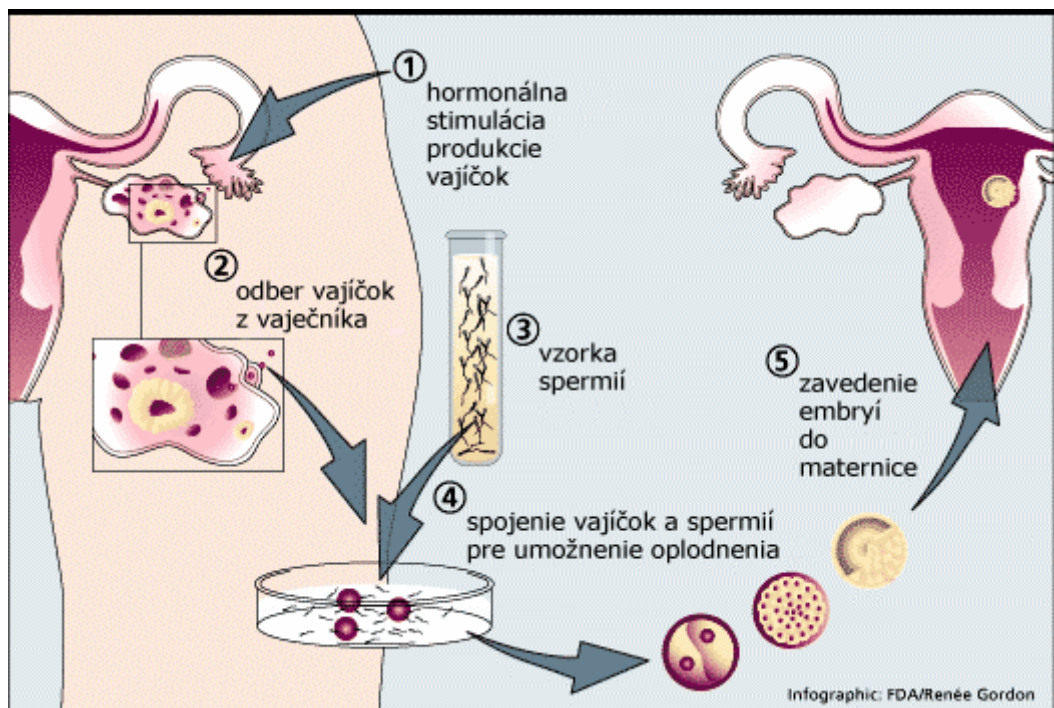
Najznámejšou a zároveň najčastejšou formou asistovanej reprodukcie je IVF. IVF je skratka z latinsko-anglického *in vitro fertilisation*. *In vitro* doslova znamená „v skle“ a pri tejto forme asistovanej reprodukcie sa oplodnenie skutočne realizuje v laboratórnom skle. Akýkoľvek proces asistovanej reprodukcie, pri ktorom sa oplodnenie uskutočňuje mimo organizmus ženy, je formou IVF. Metóda IVF bola pôvodne vyvinutá na prekonanie problému neplodnosti spôsobenej nepriechodnými alebo chýbajúcimi vajíčkovodmi. V dnešnej dobe sa IVF uplatňuje aj pri liečbe mnohých iných problémov reprodukcie vrátane nepravidelnej ovulácie, nízkeho počtu spermií, zlej pohyblivosti spermií a ostatných doteraz neobjasnených porúch. Neustále sa rozvíjajúce embryonálne kultivačné a mraziace techniky poskytujú kvalitné laboratórne prostredie na uchovanie zdravých embryí na dlhšiu dobu (Řežábek, 2008b).

1.6.1.4.1 Technika fertilizácie in vitro

Začína sa stimuláciou zrenia folikulov pomocou klomifénu a HMG. HMG sa môže použiť aj v kombinácií a agonistami GnRH. Cieľom ovariálnej stimulácie je vyvolať zrenie

čo najväčšieho počtu folikulov. Tento proces je kontrolovaný stanovením hladín 17 – β -estradiolu a vaginálnou sonografiou. Keď dosiahne folikul priemer 20 mm, podá sa 10 000 jednotiek HCG. Oocyty sa získavajú transvaginálnou punkciou folikulov za kontroly ultrazvuku. Punkcia sa zvyčajne vykonáva bez narkózy. V odsatej folikulárnej tekutine sa pod mikroskopom ľahko rozpoznajú oocyty obklopené *cumulus oophorus* a zhodnotí sa ich kvalita. Po 4 – 6 hodinovej preinkubácii sa do média pridajú kapacitované spermie. Kapacitácia spermií sa vyvolá 4 – 6 hodinovou preinkubáciou v špeciálnom kultivačnom médiu. Takto získajú spermie schopnosť preniknúť cez *corona radiata* a *zona pellucida*. Asi 8 až 20 hodín po inseminácii sa zisťuje prítomnosť pronukleónov vo vajíčkach. V štádiu pronukleónov sa môžu oplodnené vajíčka zmraziť a v niektorom z nasledujúcich cyklov znovu rozmraziť a transferovať do maternice. Asi 40 – 48 hodín po inseminácii možno pozorovať prvé delenie buniek. Embryá v 4 – 8 – bunkovom štádiu sú najvhodnejšie na retransfer (Martinus a kol., 1997).

Celá táto technika je znázornená na obrázku číslo 2.



Obr. č. 2: Mimotelové oplodnenie (IVF)

[http://www.fertility.sk/sk_SK/riesenie-problemov/techniky-asistovanej-reprodukcie.html]

1.6.1.5 In vitro maturácia oocytov (IVM)

Odber nezrelých oocytov z nestimulovaných ovárií v kombinácií *in vitro* maturácie oocytov a fertilizácie vzbudzuje stále väčší záujem. *In vitro* maturácia má potenciálne veľa predností pred konvenčnou *in vitro* fertilizáciou. Profituje hlavne z kratších stimulačných protokolov, minimálnej spotreby liekov, z nižšej ceny liekov. Nedochoádza k riziku život ohrozujúcej komplikácie IVF cyklov – rozvoju ovariálneho hyperstimulačného syndrómu. Pokračovanie meiózy v zrelom oocyte, rozpad germinálneho vezikulu, vylúčenie prvého pólóvého telieska a získanie fertilizačnej schopnosti oocytu sa dá dosiahnuť *in vitro* maturáciou. Nezrelé oocyty sú aspirované z malých folikulov (>2mm). Následne sú oocyty kultivované *in vitro* v maturačných médiách 36 – 48 hodín.

Maturácia oocytov sa skladá z troch aspektov:

1. z nukleárnej maturácie, ktorá je spojená s vylúčením pólóvého telieska,
2. maturácie membrány oocytu, ktorá je nevyhnutná k fixácii spermií na *zonu pellucidu* a jej následnú penetráciu,
3. cytoplazmatickej maturácie, ktorá je spojená so syntézou proteínov potrebných pre normálne oplodnenie a embryonálny vývin

In vitro maturácia je vhodná pre:

- a) pacientky so syndrómom polycystických ovárií
- b) pacientky s normálne prebiehajúcou ovuláciou (natívne cykly)
- c) pacientky, ktoré nedostatočne reagujú na bežnú liekovú prípravu, pri nezrelých oocytoch oplodňovaných metódou ICSI (Rabe, 2000).

1.6.1.6 Intracytoplazmatická injekcia spermií

Jednou z mikromanipulačných techník využívaných v liečbe neplodnosti patriacich medzi IVF je *Intra Cytoplasmatic Sperm Injekction* (ICSI). Vývoj nových techník reprodukčnej medicíny môže niektoré etické a právne dilemy vyriešiť alebo ich aspoň nahradiť, pretože páry sa nemusia uchýľovať k heterológnemu umelému oplodneniu. Tak je to v prípade ICSI, ktorá bola po prvýkrát uskutočnená v roku 1992 a dnes patrí k bežným technikám (Řežábek, 2008b).

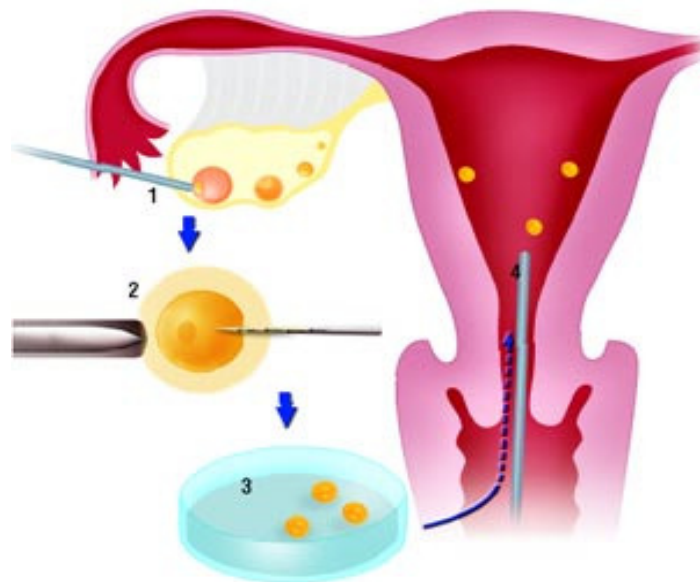
Názov „Intra-cytoplazmatická metóda“ je doslovným opisom zákroku, kde ide o priame vloženie spermie do cytoplazmy vajíčka. ICSI sa využíva u párov v prípadoch,

kde negatívnu úlohu pri neúspešnosti počatia zohráva mužská infertility alebo v prípadoch, kde je oplodnenie náročné alebo ohrozené u vyšších vekových skupín.

Pri ICSI embryológ vloží spermium priamo do oocyta. Celý proces vyzerá nasledovne: embryológ vyberie spermium (ľudská spermia je 7 krát tenšia ako ľudský vlas), ktorá sa javí ako zdravá a zachytí ju do ultratenkej injekčnej ihly a odstráni bičík spermie. Oocyt sa potom špeciálnou pipetou (*holding pipeta*) pridrží a ihlou sa doň vloží spermia, tak ako je to uvedené na obrázku č.3. Potom sa ihla mimoriadne opatrne vyberie. Celý proces netrvá dlhšie ako 1-2 minúty. Ďalší postup je identický s IVF metódou.

V roku 1993 Palermo a kol. po prvýkrát úspešne uskutočnili ICSI a narodil sa živý jedinec. Od tohto dátumu nastal prudký rozvoj tejto techniky. Na úspešnosť tejto techniky má vplyv viacero faktorov:

1. životaschopná spermia
2. kvalita oocyta a efektívna aktivácia oocyta
3. tolerancia oocyta voči intracytoplazmatickým mikromanipuláciám. (Strejček a kol., 2007)



Obrázok č.3: Postup práce pri ICSI

[<http://www.kinderwunsch-uni-muenchen.de/icsi.html>]

Podmienkou však je, aby prebehla tvorba spermií v semenníkoch. Na ich získanie môžeme použiť niekoľko postupov, ktoré sa líšia v spôsobe odberu spermií:

- MESA (mikrochirurgická aspirácia spermií z nadsemenníkov)
- TESA (mikrochirurgická aspirácia spermií zo semenníkov)
- TESE (mikrochirurgický odber semenotvorného tkaniva zo semenníkov) (Žáková a kol. 2010).

Táto technika si našla uplatnenie najmä tam, kde klasické *in vitro* oplodnenie zlyháva, tj. ak: koncentrácia spermií je menšia ako $20 \times 10^6 / \text{ml}^{-1}$ (oligospermia), v ejakuláte sa musí nachádzať najmenej 40 mil. spermií – ak je toto číslo nižšie, považuje sa muž za sterilného, motilita spermií je nižšia ako 5% (asthenospermia), normalita spermií je menšia ako 4% (teratospermia, klasické *in vitro* oplodnenie zlyháva.

ICSI (intra-cytoplazmatická injekcia spermie) má aj svoje riziká. Jednou z nich je ovariálny hyperstimulačný syndróm (*ovarian hyperstimulation syndrome* – OHSS), spontánne potraty, možnosť náhodného zavedenia cudzej DNA resp. iného biochemického kontaminantu do oocytu, zvýšené riziko prenosu genetického defektu na potomstvo.

Ďalší vývin embryí po oplodnení *in vitro* sa uskutočňuje buď v medzihostiteľovi s následným retransferom do finálneho hostiteľa, alebo sú embryá kultivované *in vitro* až do štádia vhodného na prenos do finálneho hostiteľa. Časť embryí získaných v podmienkach *in vitro* je možné vyhodnotiť podľa kritérií kvality. Vtedy je možné sledovať: rýchlosť vývinu embryí, dĺžku jednotlivých embryonálnych cyklov, morfológický vzhľad embryí (napr. kompaktizáciu, fragmentáciu atď.), vstup do fázy majoritnej aktivácie genómu (prechod cez blok), počet buniek embryoblastu a trofoblastu blastocysty, prítomnosť špecifických proteínov, transkriptov atď. (Strejček a kol., 2007).

Indikáciami k ICSI je vysoký vek partnerov, neúspešné cykly klasickej IVF alebo nízky počet vajíčok získaných pri hyperovulácií. Môže sa vykonať pri oplodnení darcovskými pohlavnými bunkami alebo pri použití zmrazených spermií.

Úspešnosť ICSI je v priemere o niečo väčšia ako pri bežnom IVF cykle. Ide zhruba o 30 až 35 percentnú nádej na otehotnenie. Tento drobný pozitívny rozdiel bol daný aj faktom, že partnerky mužov s poruchou tvorby spermií boli zdravé ženy. Pokiaľ je neplodnosť páru komplexná a žena tiež trpí určitou poruchou, znižuje sa toto percento na 20 – 25 percent, čo je bežne pri každom cykle umelého oplodnenia.

Ceny výkonov pri ICSI metóde sa pohybujú v rozmedzí 350 – 600€ (Internet 5).

1.6.1.7 Priamy prenos gamét a zygót do vajčkovodov

Okrem fertilizácie *in vitro* s následným transferom embrya sa vyvinuli aj ďalšie techniky asistovanej reprodukcie. Patrí k nim intratubárny transfer gamét a intratubárny transfer zygót, ktorý sa vykonáva laparoskopicky, alebo transcervikálne (Martinus a kol.,1997).

GIFT (*Gamet Intrafallopian Transfer*) je priamy prenos gamét do vajčkovodov. Gaméta je zrelá pohlavná bunka muža a ženy. GIFT napodobňuje prirodzený priebeh oplodnenia pri ktorom sa vajčká najskôr odoberú z vaječníkov a spolu so spermiami sú zavedené priamo do vajčkovodu. Touto metódou dochádza k oplodneniu priamo *in vivo*.

ZIFT (*Zygote Intrafallopian Transfer*) je priamy prenos zygót, t.j. buniek, ktoré vznikli splynutím vajčká a spermie, do vajčkovodov. Od metódy GIFT sa líši tým, že vajčká sú oplodnené spermiami mimo ženského tela a do vajčkovodov sú zavedené až následne. Lekári majú priamym prenosom tú výhodu, že zistia, či došlo k oplodneniu vajčká pred jeho zavedením do vajčkovodu (Internet 6).

1.6.2 Riziká asistovanej reprodukcie

Asistovaná reprodukcia so sebou nesie aj isté riziká. Pri stimulácií vaječníkov a použití folikulostimulačného hormónu (FSH) môže u asi 2% žien prísť k neprimeranej reakcii vaječníkov. U dvoch žien zo sto zareagujú vaječníky na stimuláciu neočakávane a na vaječníkoch dozreje neprimerané množstvo vajčok, čo vedie k ovariálnemu hyperstimulačnému syndrómu (Reismüllerová, 2011).

Hyperstimulačný syndróm je jednoducho povedané nadmerná reakcia vaječníkov na hormonálnu liečbu. Ide o zložitý patofyziologický dej so zväčšením vaječníkov, únikom intravazálnej tekutiny do tzv. tretieho priestoru, ktorý môže vyústiť do zlyhania základných životných funkcií (Juriková, 2009).

Dnes sa už vie riziko hyperstimulačného syndrómu minimalizovať a zabrániť jeho rozvoju do nebezpečného štádia, závisí však od zaužívaných postupov centra asistovanej reprodukcie, od včasného rozpoznanie jeho rozvoja a použitej terapie vo včasnom štádiu.

U niektorých pacientok sa môžu prejaviť vedľajšie účinky hormonálnej stimulácie, ako je napr. nauzea, zvracanie, bolesti hlavy či celková nevoľnosť. Zvýšená je pravdepodobnosť viacpočetnej gravidity, ktorá sa dá minimalizovať prenosom jedného embrya, tzv. *single embryo transfer*. Vyššie je aj riziko krvácania z vaječníka alebo

zápalové ochorenia v oblasti malej panvy spôsobené zanesením infekcie počas odberu vajčiek. Takáto komplikácia sa však v dnešnej dobe vyskytuje veľmi zriedkavo (Reismüllerová, 2011).

1.6.3 Etické otázky v asistovanej reprodukcii

Medzi hlavné okruhy etických otázok patria: morálny status embrya, zahrnutie tretej strany do procesu reprodukcie (darovanie genetického materiálu), kryokonzervácia, manipulácia s gamétami, výskum a pokusy s preembryami, mikromanipulácia, klonovanie, genetické otázky, viacpočetné tehotenstvo, prenatalná diagnostika, vek a asistovaná reprodukcia, štruktúra rodiny a blaho dieťaťa.

Jedna zo základných etických otázok je morálny status ľudského embrya. Časť diskusií o technikách asistovanej reprodukcie je ovplyvnený názorom, aký status ľudské embryo má. Je totiž zrejmé, že určitý pokrok v oblasti umelého oplodnenia by nebol dosiahnutý, ak by sa s embryom nezachádzalo ako s vecou – ako s disponibilným materiálom (Prudil, 1999).

Pokiaľ by sme mohli určiť povahu a charakter ľudského embrya v začiatkoch jeho existencie, bolo by determinovanie jeho statusu jednoduché. Priznať niekomu ontologický status osoby znamená plne ho začleniť do ľudskej morálnej komunity a prideliť mu všetky morálne práva vrátane nebyť zabý. V súčasnej dobe v bioetických diskusiách na danú tému zaznieva niekoľko základných koncepcií:

- a) Preembryo a embryo je plne ľudskou bytosťou – pozícia ontologického personalizmu. Ontologický personalizmus považuje za začiatok ľudského života okamih koncepcie. Predpokladá, že ide o geneticky jednoznačne samostatného jedinca, to znamená, že ľudské embryo vlastní všetky práva, ktoré možno priznať ľudskej osobe – má právo na život. Táto koncepcia má rad oponentov napr. J. Thomsonová hovorí: „Embryo nie je o nič viac človekom ako semeno stromu, až keď získa charakteristiky ktoré sú pre človeka vlastné, vtedy môžeme hovoriť o človeku“.
- b) Pozícia empirického funkcionalizmu hovorí, že ľudské bytie sa stáva osobou v priebehu gestácie alebo až v dobe pôrodu. M. Tooley tvrdí, že základnou otázkou, ktorá sa musí rozhodnúť je : „Aké vlastnosti musí mať embryo, aby mu bolo priznané právo na život?“

- c) Zavádza sa ďalší termín, gradualizmus, ktorý vyjadruje názor, že fetálny vývin je lineárne rovnomerný a graduálne rovnaký ako rovnomerný je morálny význam embrya. To znamená, že 32 bunkové embryo má väčšiu „morálnu hodnotu“ ako embryo 4 bunkové – málo, ale má. Z princípu morálneho gradualizmu nie je nakoniec jasné, kde sa ten špecifický bod nachádza. Niektorí autori deklarujú, že o osobe možno hovoriť až dva týždne po fertilizácii, kedy už nie je možné, aby prišlo k rozdeleniu bunky na jednovaječné dvojčatá. Do tejto doby by mal byť povolený výskum.
- d) Nemôžeme zabudnúť ani pozíciu tzv. filozofického utilitarizmu, kde napr. J. Schenker uvádza, že „embryo je potenciálna ľudská bytosť, na ktorú by sa malo pozeráť s vážnosťou, a jeho špecifické postavenie by malo byť rešpektované, pokiaľ ho neprerušia iné spoločenské alebo materské záujmy“. Musíme pripustiť, že v tomto kontexte je morálne postavenie embrya oslabené, pretože tu chýba viabilita, schopnosť cítiť, sociálne role a fyzikálna podobnosť s dospelou osobou. Pokiaľ by sme prijali túto tézu, tak fetus sa stáva človekom až po pôrode (Lajkep, 2000).

Existuje celý rad filozofických pohľadov na etickú problematiku spojenú s potratmi a statusom embrya. Hovorí sa v nich, že k tejto problematike nemôžeme pristupovať ani z hľadiska filozofie práva, ani z hľadiska predstáv o tom, čo je ľudská osoba. Právo samé o sebe nestačí. Ak má dieťa právo sa narodiť a žena právo dieťa potrať, potom to ešte neznamená, že to či ono právo je nelegitímne.

Medzi extrémami posvätnosti životných zásad a výlučným rozhodovaním jedinca o svojom tele existuje bežný kompromis, ktorý je pravdepodobne zlučiteľný s priamym poznaním väčšiny ľudí a je vyjadrený slovami: potencionalného človeka treba rešpektovať. Poznatky z genetiky umožňujú hlbšie a efektívnejšie zásahy do ľudskej reprodukcie v ďaleko väčšej miere, ako bolo kedykoľvek možné. Prehlbuje sa disociácia medzi sexom a reprodukciou. Sex a reprodukcia nie je svetom ideí, ale sférou neutrálnych javov. Medzi ľuďmi rastie predstava, že ich prania sú legitímne už tým, že sú vyslovené. Asistovaná reprodukcia sa stala najväčším objavom v liečbe neplodných párov a dotýka sa základných otázok života (Pilka a kol., 2006).

1.6.4 Kryokonzervácia

Hlavným zmyslom kryokonzervácie embryí je použitie nevyužitých embryí v ďalšom cykle, ak predchádzajúci cyklus dopadol negatívne. Prínosom kryokonzervácie je aj zníženie rizika viacpočetných tehotenstiev (päťorčatá či sedmorčatá) a to prenosom menšieho počtu embryí (Řežábek, 2008b).

Kryokonzervácia embryí je postup, pri ktorom sú embryá zamrazené a uskladnené v tekutom dusíku pri teplote 196 °C.

Významnú rolu hrá kryokonzervácia pri stredne závažných a závažných prípadoch ovariálneho hyperstimulačného syndrómu. V týchto prípadoch nie je vhodné z dôvodu bezpečnosti vôbec čerstvé embryá prenášať a všetky embryá sa zmrazujú a prenášajú sa až po doznení hyperstimulácie. Bez možnosti kryokonzervácie embryí by boli ženy s výskytom hyperstimulačného syndrómu vystavené zbytočnému riziku ohrozenia zdravia alebo zbavené možnosti prenosu embryí. Ojedinele sa môže objaviť v priebehu liečebného cyklu iná prekážka prenosu čerstvých embryí (polypy, krvácanie, viróza, ...). Ďalšia oblasť, v ktorej má kryokonzervácia embryí nezastupiteľnú úlohu, je darovanie vajíčok a embryí (Internet 7).

1.7 Právna úprava asistovanej reprodukcie v podmienkach Slovenskej republiky

Právna úprava otázok asistovanej reprodukcie sa v jednotlivých štátoch výrazne líši, pričom možno konštatovať, že jej úroveň v podmienkach Slovenskej republiky je nedostatočná. Dodnes nebol v parlamente prijatý zákon, ktorý by obsahoval komplexnú úpravu danej problematiky, a všetky návrhy, ktoré boli v tejto súvislosti vypracované, stroskotali na politickej nevôli. Túto skutočnosť podmieňuje predovšetkým odmietavý postoj cirkvi k akýmkoľvek praktikám smerujúcim k umelému oplodneniu.

V súčasnosti osobitné podmienky výkonu asistovanej reprodukcie na území Slovenskej republiky upravuje len vykonávací predpis k zákonu č.20/1966 Zb. o starostlivosti o zdravie ľudu. Tento zákon však nemožno v žiadnom prípade považovať za dostačujúcu právnu úpravu danej problematiky, a teda v oblasti asistovanej reprodukcie naďalej existuje právne vákuum (Lazar a kol., 2006).

Mimoriadny význam z hľadiska rodinnoprávnych vzťahov vznikajúcich pri výkone asistovanej reprodukcie má tiež zákon č.36/2005 Z.z. o rodine a o zmene a doplnení niektorých zákonov, ktorý v záujme právnej istoty rieši najmä otázky materstva a otcovstva k dieťaťu narodeného na základe zákroku asistovanej reprodukcie.

Okrem toho, dôležitú úlohu v tejto oblasti zohrávajú aj rôzne medzinárodné dokumenty, ktorými je SR viazaná, a tiež viaceré smernice EÚ regulujúce tieto činnosti. Vzhľadom na absolútnu legislatívnu nedostatočnosť pokiaľ ide o vnútroštátnu právnu úpravu vo vzťahu k jednotlivým, v praxi bežne vykonávaným formám asistovanej reprodukcie s výnimkou umelej inseminácie, pristúpili jednotlivé centrá asistovanej reprodukcie pôsobiace na území SR k vypracovaniu vlastných interných smerníc, z ktorých vychádzajú pri výkone svojej činnosti (Vlček a kol., 2007).

1.8 Reprodukčné straty

Na etiopatogenéze reprodukčných strát sa podieľa široké spektrum endogénnych a exogénnych faktorov, ktoré pôsobia samostatne, alebo v interakcií. Približne 70 % všetkých ľudských embryí a plodov sa potratí. Najčastejšou príčinou včasných potratov sú chromozómové aberácie a vývojové chyby. Hlavnou príčinou reprodukčných strát po 20. týždni je insuficiencia krčka maternice, infekcia, pupočníková a placentárna patológia a niektoré ochorenia zo strany matky. Zo všetkých rozpoznaných gravidít v SR končí 20 – 30 % ako reprodukčné straty. V rokoch 2007 – 2009 porodilo v SR 160 622 žien. Na reprodukčných stratách sa v tomto období podieľalo 20 987 spontánnych potratov, 23 561 interupcií gravidity, 1 527 ektopických gravidít, 488 molárnych gravidít a 1 034 perinatálne exitovaných novorodencov. Oproti roku 2007 mierne stúpa počet spontánnych potratov. Počet interupcií v roku 2008 klesol približne o 700, ale v roku 2009 prekvapivo stúpol viac ako o 900. Frekvencia zdravotných indikácií na interupcie sa významnejšie v ostatnom období nemení. Sú výrazné rozdiely medzi jednotlivými regiónmi Slovenska v absolútnom počte a tiež aj v relatívnom podiele potratov, interupcií, ektopickej a molárnej gravidity, ako aj perinatálnej mortality. Vývoj reprodukcie v ostatných troch rokoch v SR je charakterizovaný stúpajúcou pôrodnosťou, pomalým nárastom spontánnych potratov a prekvapivým vzostupom interupcií, pričom len 20 % z nich bolo vykonaných zo zdravotnej indikácie. Podstatná časť reprodukčných strát sú želané tehotnosti. Exaktné objasnenie ich príčin by mohlo prispieť k úspešnej následnej gravidite (Korbel' a kol., 2010)

Záver

Socializáciou bolo už od útleho detstva vštepované všetkým deťom, že stať sa otcom alebo mamou je tá najprirodzenejšia a najlepšia vec na svete a je to akoby ich „poslaním“. Keď sú neskôr deti dospelé a uzavrujú manželstvo alebo žijú v partnerskom vzťahu, ich túžba po dieťati je o to silnejšia, preto sa snažia čo najskôr počať dieťa. Mnohokrát si ani neuvedomujú aký je to zložitý proces, ktorý nie vždy splní ich očakávania. Väčšine párov sa to podarí do roka od začiatku ich rozhodnutia „mať dieťa“. Tí ostatní to majú ale ťažšie. Na rad prichádzajú otázky, či je vôbec možné mať dieťa a kto z páru je tou príčinou, že sa im to nedarí. Pomaly odumiera šanca, nádej na vlastné dieťa a nastupuje trauma z neplodnosti.

Vďaka veľkému rozvoju poznatkov v oblasti reprodukčnej medicíny sú šance pre neplodné páry mnohokrát vyššie ako kedykoľvek predtým. Postupom rokov sa vyvinuli rôzne nové metódy, ktoré sú stále účinnejšie a bezpečnejšie, a preto je vidina gravidity čoraz viac na dosah pre väčšinu neplodných párov. Niektoré páry však odrádzajú stále viac diskutované etické otázky asistovanej reprodukcie.

Na začiatku svojej bakalárskej práce som sa venovala otázke rodičovstva. Definovala som jednotlivé typy mužskej aj ženskej neplodnosti, jej príčiny a liečbu. V hlavnej kapitole som sa zaoberala jednotlivými metódami asistovanej reprodukcie ako napríklad hormonálna liečba a intrauterinná inseminácia. Ďalej som opísala jednotlivé druhy *in vitro* fertilizácie, oplodnenie vajíčka mimo tela ženy, medzi ktoré patrí *in vitro* maturácia oocytov, ICSI a priamy prenos zygót. Načrtla som postup práce každej metódy pri jej vykonávaní v praxi a problémy súvisiace s danou metódou. Najčastejšie sa vyskytujúce problémy sú hyperstimulačný ovariálny syndróm, pravdepodobnosť viacpočetnej gravidity a zápalové ochorenia. Pozornosť som venovala aj etickým otázkam, ktoré sú spojené s asistovanou reprodukciou ako je napríklad morálny status embrya a kryokonzervácia. V závere som sa zaoberala právnou úpravou asistovanej reprodukcie v Slovenskej republike, ktorá ešte stále nie je postačujúca a reprodukčným stratám v rokoch 2007 - 2009.

Na záver by som chcela povedať, že písanie tejto práce bolo pre mňa veľmi obohacujúce a ostávam dúfať, že rozvoj reprodukčnej medicíny bude stále napredovať, aby odborníci, venujúci sa tejto problematike, mohli pomôcť čo najväčšiemu percentu neplodných párov a tak udržať rast populácie.

Zoznam použitej literatúry

1. DOHERTY, C. M. – CLARK, M. M. 2006. *Léčba neplodnosti*. Brno: Computer Press., 2006. 121 s. ISBN 80-251-0771-X.
2. DVOŘÁK, M. a kol. 1990. *Oplození in vitro a přenos embrya při léčbě lidské neplodnosti*. Brno: Masarykova univerzita, 1990. 157 s. ISBN 80-210-0166-6
3. IRELAND, M.S. 1993. *Reconceiving women: separating motherhood from female Identity*. New York: Guilford Press, 1993. 195 s. ISBN 0-89862-016-3.
4. JURIKOVÁ, S. 2009. Túžba po dieťati. In *Magazín Gyneko*. ISSN 1338-0958, 2009, roč. 1, č. 1, s 46 – 47.
5. KONEČNÁ, H. 2003. *Na cestě za dítětem – dvě malá křídla*. Praha: Academia, 2003. 318 s. ISBN 80-200-1055-6.
6. KORBEL, M. a kol. 2010, Reprodukčné straty v Slovenskej republike v rokoch 2007 – 2009, In *Prakt Gyn*. ISSN: 1211–6645, 2010. roč. 14, č. 1, s 160
7. KUBÍČEK, V. 1996. *Mužská infertilita a erektilní dysfunkce*. Praha: Galén, 1996. 150 s. ISBN 80-85824-39-6
8. KUČERA, T. 2009. Demografické súvislosti asistovanej reprodukcie. In *Prakt Gyn*. ISSN: 1211–6645, 2009. roč. 13, č. 1, s 58 - 62
9. LAJKEP, T. 2000. Přehled základních přístupů k určení morálního statutu lidského embrya. In *Prakt Gyn*. ISSN: 1211–6645, 2009. roč. 13, č. 2, s 94 – 102
10. LAZAR, J. a kol. 2006. *Občianske právo hmotné*. 1 vol. Bratislava : IURA EDITION, 2006, s. 413. ISBN: 80-89047-89-0
11. MADEŠIČ, T. 1996. *Neplodnost*. Praha: Makropolus, 1996. 78 s. ISBN 80-86003-01-9
12. MARTINUS,G. - BRECKWOLDT,M. - PFEIFERER,A. 1997. *Gynekologie a porodnictví*. Praha: Osveta,1997. 648 s. ISBN 80-88824-56-7
13. OTOVÁ, B. – MIHALOVÁ, R. – VYMLÁTIL, J. 2009. *Vývoj a růst člověka*. Praha: Karolinum, 2009. 181 s. ISBN 978-80-246-1709-1
14. PILKA, L. a kol. 2006. Některé bioetické otázky asistované reprodukce. In *Prakt Gyn*. ISSN: 1211–6645, 2009. roč. 13, č. 2, s 78 - 83

15. PRUDIL, L. 1999. Status lidského embrya v českém právu. In *Prakt Gyn.* ISSN: 1211–6645, 2009. roč. 13, č. 2, s 86 - 88
16. RABE, T. – DIETRICH, K. – STROWITZKI, T. 2000. *Manual on asisted reproduction.* Berlin : Springer, 2000. 665 s. ISBN 3-540-67299-0
17. REISMÜLLEROVÁ, L. 2011. Umelé oplodnenie a strach z hormónov. In *Magazín Gyneko.* ISSN 1338-0958, 2011, roč. 2, č. 1, s. 20 – 22
18. ŘEŽÁBEK, K. 2004. *Léčba neplodnosti.* 3. aktualizované vydání. Praha: Grada, 2004. 120 s. ISBN 80-247-1010-2
19. ŘEŽÁBEK, K. 2008a. *Léčba neplodnosti.* 4. aktualizované vydání. Praha: Grada, 2008. 176 s. ISBN 978-80-247-2103-3.
20. ŘEŽÁBEK, K. 2008b. *Asistovaná reprodukce.* Praha: Maxdorf, 2008. 112 s. ISBN 978-80-7345-154-7.
21. STREJČEK, F. a kol. 2007. Produkcia embryí in vitro. In *Produkcia embryí in vitro* [CD-ROM]. Nitra: Fakulta přírodních vied UKF v Nitre, 2007. s. 30 – 31. ISBN 978–80–8094–164-2
22. ŠUŠKOVÁ, T. 2011. Diagnostika neplodnosti. In *Magazín Gyneko.* ISSN 1338-0958, 2011, roč. 2, č. 1, s. 23
23. ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z. 2006. *Neplodnost - útok imunity: metody vyšetření, příčiny neplodnosti, důvody potráčovosti, metody léčby, nejčastější otázky.* Praha: Grada, 2006. 141 s. ISBN 80-247-1493-0
24. ULČOVÁ-GALLOVÁ, Z. 1999. *Diagnóza – neplodnost. Útok protilátek.* Praha: Petrklíč, 1999. 118 s. ISBN 80-7229-020-7
25. VÁLKY, J. 2007. Súčasný smerovanie liečby neplodnosti metódami asistovanej reprodukcie. In *Urológia pre prax.* ISSN 1213-1768, 2007. roč. 8, č. 3, s 112 - 115
26. VLČEK, R. – HRUBEŠOVÁ, Z. 2007. *Zdravotnícke právo.* Bratislava: epos, 2007. 319 s. ISBN 978-80-8057-705-6
27. VOKURKA, M. – HUGO, J. a kol. 2007. *Velký lékařský slovník.* 7. vydání. Praha : Maxdorf, 2007. 1069 s. ISBN 807-34-5130-1

28. ŽÁKOVÁ, J. a kol. 2010. PISCI – selekce zralých spermií pro oplození lidských oocytů metodou ISCI. In *Prakt Gyn.* ISSN: 1211–6645, 2010. roč. 14, č. 4, s 180 - 182

Internetové zdroje:

Internet 1: Neplodnost?. [online]. [s.a.]. [cit. 2012–01-10]. Dostupné na:

<<http://www.ivf.sk/index.php?go=1> >

Internet 2: Intrauterinní inseminace – iui. [online]. [s.a.]. [cit. 2012–02-28]. Dostupné na:

<http://www.lekari-online.cz/lecba-neplodnosti/zakroky/intrauterinni-inseminace-iui>>

Internet 3: Asistovaný hatching [online]. [s.a.]. [cit. 2012-02-15]. Dostupné na:

<<http://www.pragueivf.com/cs/metody-lecby/asistovany-hatching/>>

Internet 4: Asistovaný hatching [online]. [s.a.]. [cit. 2012-02-15]. Dostupné na:

<<http://www.fertilizace.cz/laboratorni-metody.html>>

Internet 5: Injekce spermií – ICSI [online]. [s.a.]. [cit. 2012-02-15]. Dostupné na:

<<http://www.lekari-online.cz/lecba-neplodnosti/zakroky/injekce-spermii-icsi>>

Internet 6: GIFT [online]. [s.a.]. [cit. 2012–02-28]. Dostupné na: <<http://www.moje-rodina.cz/tehotenstvi-a-porod/asistovana-reprodukce-nadeje-pro-bezdetne-pary>>

Internet 7: Kryokonzervácia. [online]. [cit. 2012-03-15]. Dostupné na:

<http://www.natalart.cz/podmenu_lec_metody/kryokonzervace.htm>

Prílohy

Elektronický nosič CD

Priložené CD obsahuje textovú časť bakalárskej práce vo formáte pdf a abstrakt v anglickom a slovenskom jazyku s názvami:

- 2012_Metódy asistovanej reprodukcie_Lévayová_BP
- 2012_Metódy asistovanej reprodukcie_Lévayová_abstract