

**Univerzita Karlova v Praze  
Přírodovědecká fakulta**

**Katedra antropologie a genetiky člověka**

Studijní program: Biologie



**Anastasiya Semyakina**

**Problém neplodnosti a způsoby jeho řešení**

**The problem of infertility and the methods of resolving**

Bakalářská práce

školitel: doc. MUDr. Miroslav Peterka, DSc.

Praha, 2012

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 27.08.12

Anastasiya Semyakina .....

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce se na základě současných poznatků zabývá moderními metodami léčby neplodnosti. Zkoumá, v jaké míře a v jakých případech se tyto metody používají a jaká nesou rizika pro zdraví ženy i dítěte. Zvláštní důraz je kladen na metody asistované reprodukce jakožto nejvíce používané a efektivní, ale také nejvíce invazivní. Problém neplodnosti postihuje v současné době 10–15% párů. S použitím hormonálních, chirurgických metod léčby a technik asistované reprodukce lze ve většině případů tento problém řešit. Největší komplikací pro ženy, kterou přináší metody ART (assisted reproductive technology) je hyperstimulační ovariální syndrom, který vede k vyšší frekvenci časných těhotenských ztrát a může být i fatální pro ženu. Protože je v cyklech ART často přenášeno několik embryí, hrozí dětem počatým pomocí ART rizika plynoucí z vícečetného těhotenství: zvýšené riziko předčasného porodu, větší riziko výskytu vývojových vad a intrauterinní růstové retardace.

## **Klíčová slova:**

Asistovaná reprodukce, neplodnost, vrozené vývojové vady, vícečetné těhotenství

**Abstract**

This diploma thesis is concerned with modern methods of treatment for infertility. It examines to what extent and in what cases are these methods used and what risk does it pose for a woman's and a child's health. Particular emphasis is placed on the methods of assisted reproductive technology as the most used, effective and the most invasive. Nowadays 10-15% of couples face the problem of infertility. In most of the cases this problem can be solved with the help of hormonal therapy, surgery or assisted reproductive technology. The most common complication of ART (assisted reproductive technology) is ovarian hyperstimulation syndrome which leads to higher frequency of miscarriages and can be fatal for a woman. Since more than one embryo is usually transferred in ART children conceived with the help of this method can face different problems related to multiple pregnancy such as higher risk of preterm birth, higher risk of congenital disorder or intrauterine growth retardation.

**Key words:**

ART, assisted reproductive technology, infertility, congenital disorder, multiple pregnancy

## **Seznam použitých zkratek**

AH - assisted hatching

ART - assisted reproductive technology

DET - double embryo transfer

EP - ectopic pregnancy

eSET - elective single embryo transfer

ESHRE - European Society of Human Reproduction and Embryology

ET - Embryo transfer

FSH - follicle-stimulating hormone

GIFT - gamete intrafallopian transfer

GIFT - Gamete intrafallopian transfer

hCG - human chorionic gonadotropin

ICSI - intracytoplasmic sperm injection

IUGR - intrauterine growth restriction

IVF - in vitro fertilization

MESA - microsurgical epididymal sperm aspiration

OHSS - Ovarian hyperstimulation syndrome

PCOS - polycystic ovary syndrome

SET - single-embryo transfer

TESA - testicular sperm aspiration

UZ - ultrazvuk

VVV - vrozené vývojové vady

ZIFT - zygote intrafallopian transfer

## Obsah

Abstrakt.....	3
Seznam použitých zkratk.....	5
1. Úvod.....	7
2. Příčiny neplodnosti.....	7
3. Asistovaná reprodukce.....	8
3.1. Historie a současnost.....	8
3.2. Metody asistované reprodukce.....	9
3.2.1. IVF – in vitro fertilizace.....	9
3.2.2. ICSI – intracytoplazmatická injekce spermie.....	10
3.2.3. Kryokonzervace.....	10
3.2.4. Další techniky ART.....	11
4. Rizika spojená s technikami asistované reprodukce.....	12
4.1. Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS).....	12
4.2. Vícečetné těhotenství.....	13
4.3. Ektopické těhotenství.....	15
4.4. Syndrom mrtvého plodu.....	15
4.5. Syndrom mizejícího dvojčete.....	15
4.6. Vrozené vývojové vady.....	16
4.6.1. Vrozené vývojové vady plynoucí z vícečetného těhotenství.....	16
4.6.2. Vyšší věk matky a otce.....	17
4.6.3. Vrozené vývojové vady způsobené metodami ART.....	17
5. Jiné metody léčby neplodnosti.....	18
5.1. Indukce ovulace.....	18
5.2. IUI – intrauterinní inseminace.....	19
5.3. Chirurgické metody.....	19
7.3.1. Laparoskopické metody léčby ženské neplodnosti.....	19
7.3.2. Varikokélektomie.....	20
6. Závěr.....	20
7. Seznam literatury.....	21

## 1. Úvod

Neplodnost je takové onemocnění reprodukčního systému, při kterém nebylo dosaženo klinického těhotenství po dvanácti a více měsících pravidelného nechráněného pohlavního styku (Zegers-Hochschilda et al., 2009). V českém jazyce se častěji používá termín sterilita (Řežábek, 2008a).

Podle různých studií se s problémem neplodnosti v současnosti se setkává 10—15% párů (Evers, 2002, Meacham et al., 2007, Řežábek, 2008a,). Podíl párů potýkajících se s problémem neplodnosti se však v blízké budoucnosti může ještě zvýšit, protože stoupá počet žen, které odkládají narození dítěte až do věku, kdy se snižuje ženská plodnost (Evers, 2002).

Tento trend lze pozorovat i v České republice. Podle údajů Českého statistického úřadu byl v roce 2005 průměrný věk matek 28,6 let (ČSU, Pohyb obyvatelstva – rok 2005). Během pěti let se průměrný věk matek zvýšil o jeden rok, takže v roce 2010 dosáhl 29,6 let (ČSU, Pohyb obyvatelstva – rok 2010). Tento trend pokračuje dál. V roce 2011 se oproti roku 2010 průměrný věk matek při porodu ještě zvýšil o jednu desetinu, tedy na 29,7 let (ČSU, Pohyb obyvatelstva – 1. až 4. čtvrtletí 2011). Téměř třicet procent matek v České republice přivádí na svět prvního potomka až po svých třicátých narozeninách (ČSU, Pohyb obyvatelstva - rok 2005).

Cílem mojí práce je shromáždit údaje o problému neplodnosti a metodách jeho řešení a zjistit, jaká rizika a v jaké míře přináší početí pomocí metod asistované reprodukce a jak jim lze předcházet. Ve své práci se také zabývám situací neplodnosti v České republice a léčbou neplodných párů v místních centrech asistované reprodukce.

Vzhledem k tomu, že většinu problémů neplodnosti lze řešit pomocí metod asistované reprodukce (ART – Assisted Reproductive Technology), kladu ve své bakalářské práci důraz právě na tuto oblast.

## 2. Příčiny neplodnosti

Údaje o podílu různých příčin neplodnosti se liší u jednotlivých autorů. Možná je to dáno odlišnými metodami výzkumu u různých autorů a teritoriálními trendy.

Uvádí se, že přibližně u třetiny neplodných párů je problém na straně muže, u další třetiny na straně ženy a v poslední třetině případů je neplodnost způsobená oběma partnery (Meacham et al., 2007). Jiní autoři uvádějí, že příčina neplodnosti je u 50% případů na straně

ženy, u 40% případů na straně muže a v ostatních 10% případů příčinu nelze určit (Řežábek, 2008a).

Problémy s ovulací (amenorea, oligomenorrhoea) jsou diagnostikovány u 21% (Hull et al., 1985), resp. 25% (Wilkesa et al., 2009) případů, poškození vejcovodů – u 14% (Hull et al., 1985), resp. 18% (Wilkesa et al., 2009), různé problémy spojené se spermatem – 25% (Wilkesa et al., 2009), resp. 26 % (Hull et al., 1985) a u 28% (Hull et al., 1985), resp. 38% (Wilkesa et al., 2009) případů příčina nebyla definována.

Kromě těchto příčin má velký vliv na možnost otěhotnění věk obou partnerů, zvláště pak u žen. Pravděpodobnost otěhotnět u 30leté ženy při pravidelném pohlavním styku je přibližně 20–25% za jeden menstruační cyklus. V 35 letech se pravděpodobnost otěhotnět snižuje na 15% a poté začíná prudce klesat. Ve 42 letech se pravděpodobnost početí blíží nule (Řežábek, 2008a).

U mužů se se zvyšujícím věkem snižuje kvalita spermií. V člancích zabývajících se studiem vlivu věku muže na kvalitu spermií se uvádí, že při srovnání 30letých a 50letých mužů byl u posledně jmenovaných zjištěn snížený objem spermatu o 22%, snížená motilita spermií o 37% a pokles počtu normálních spermií o 18% (Kidd et al., 2001). Ve většině případů lze problém neplodnosti řešit medikací, chirurgicky nebo pomocí technik asistované reprodukce. Až 90% žen po takovéto léčbě otěhotní (Řežábek, 2008a).

### **3. Asistovaná reprodukce**

#### **3.1. Historie a současnost**

Článek o narození prvního dítěte «ze zkumavky» vyšel v časopise Lancet 12. srpna 1978. První úspěšné in vitro oplození člověka provedl Robert Edwards, který v roce 2010 obdržel Nobelovu cenu za rozvoj techniky in vitro fertilizace u člověka (IVF).

V roce 1977 podstoupili manželé Brownovi po devíti letech neúspěšných pokusů o oplodnění léčbu IVF. 25. července 1978 se jim císařským řezem narodilo zdravé dítě, Louise Brownová.

V České republice se narodilo první dítě ze zkumavky 4. listopadu 1982 v Centru asistované reprodukce CAR 01 v Brně pod vedením profesora Ladislava Pilky. Oocyt byl oplozen spermiemi manžela a krátkodobě kultivován in vitro. Těhotenství skončilo spontánním porodem zdravého chlapce (Pilka et al., 1983). Od té doby se pomocí metody asistované reprodukce ve světě narodilo více než čtyři miliony lidí (Official web site of the Nobel Prize, The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2010. Robert G. Edwards).



V evropských zemích se procento dětí narozených metodou IVF a ICSI z celkového počtu narozených dětí pohybuje od 0,5% (v Turecku) po 4,9% (v Dánsku) (*de Mouzon et al., 2012*). Podle údajů ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) byl v roce 2007 zaznamenán největší počet cyklů ART v Evropě v severských zemích, zejména v Dánsku (14 067 cyklů ART na 1 milion žen ve věku 15 až 45 let, resp. 2558 cyklů na 1 milion obyvatel), dále v Belgii, Finsku, Islandu, Švédsku, Norsku a Slovinsku, kde bylo nahlášeno více než 8000 cyklů na 1 milion žen ve věku 15–45 let, resp. 1700 cyklů na milion obyvatel (*de Mouzon et al., 2012*).

V České republice bylo ve 24 centrech asistované reprodukce v roce 2007 provedeno 15 060 cyklů ART, což činí 6845 cyklů na 1 milion žen ve věku 15–45 let a 1476 cyklů na milion obyvatel (*de Mouzon et al., 2012*). V České republice se podle údajů Národního registru asistované reprodukce ČR v roce 2007 metodou IVF/ICSI narodilo 3805 dětí (*Kocourková, 2011*).

Podíl dětí narozených po léčbě neplodnosti metodami asistované reprodukce se postupně zvyšuje. V roce 1997 to byla 2% všech dětí narozených v České republice. V roce 2006 představoval počet dětí po ART 3% všech novorozenců v ČR (*Kocourková, 2011*). Další 3% dětí se rodí po intrauterinních inseminacích a stejně tolik po indukci ovulace. Lze předpokládat, že 7 až 9% dětí se v ČR rodí po léčbě neplodnosti (*Žáčková et al., 2005*).

## **3.2. Metody asistované reprodukce**

### **3.2.1. IVF – in vitro fertilizace**

IVF (in vitro fertilization) – in vitro fertilizace je první klasická metoda asistované reprodukce. Po stimulaci vaječnicků (antiestrogeny, folitropin, menotropin), kdy zraje větší množství folikul, se provádí odběr oocytů, které procházejí kultivací se spermiemi in vitro. Vzniklé embryo je přenášeno do dělohy. Klasickou indikací pro IVF je neprůchodnost vejcovodu (*Řežábek, 2008*). S rozvojem ART a vynálezem nových technologií se v dnešní době ART používá pro léčbu různých příčin nejen ženské, ale i mužské neplodnosti.

IVF se skládá z následujících základních kroků (*podle Elder, Dale, 2000; Řežábek, 2008b*).

- ovariální stimulace (pomocí léků, zvyšujících FSH v krvi)
- sledování účinku léku (většinou pomocí ultrazvuku)

- indukce ovulace podáním hormonu (hCG)
- odběr oocyty (transvaginální punkce pod UZ-kontrolou v narkóze)
- oplodnění oocyty připravenými spermii (partnera nebo dárce)
- embryotransfer (1–2 nejkvalitnější embrya, většinou 2.–6. den po odběru)

### 3.2.2. ICSI – intracytoplasmatická injekce spermie

ICSI (intracytoplasmic sperm injection) – intracytoplasmatická injekce spermie je metoda asistované reprodukce, při které je jedna spermie injektována do oocyty (*Řežábek, 2008a*). Nejčastěji se používá při léčbě mužské neplodnosti, kdy je v ejakulátu příliš málo spermií. Injekce spermie se provádí pod mikroskopem pomocí speciální skleněné kapiláry (*Řežábek, 2008a*). Spermie může být získána ejakulací, extrakcí z nadvarlat (MESA) či extrakcí z varlat (TESA). Pravděpodobnost oplodnění oocyty je vyšší než po standardní IVF, zvláště u mužů s hraničním či velmi špatným spermioqramem (*Hájek, 2004*).

Podle údajů z 11. evropského IVF-monitoringu byl v roce 2007 podíl ICSI 68,0% ze všech cyklů ART (v roce 2006 byl podíl ICSI 66,5%) (*de Mouzon et al., 2012*). V České republice byl v roce 2007 podíl ICSI kolem 50% z celkového počtu cyklů ART (*de Mouzon et al., 2012*).

### 3.2.3. Kryokonzervace

Kryokonzervace (cryopreservation) je zmrazení a uchování gamet, zygot nebo embryí. Při léčbě neplodnosti se většinou provádí zmrazení embrya. Buňky se zmrazí na teplotu – 196°C, čímž se zastaví všechny životní funkce. Takovým způsobem lze buňky uchovávat téměř neomezeně dlouhou dobu (*Řežábek, 2008a*). Při stimulaci během cyklu IVF získává 60% klientů nadbytečný počet embryí, která jsou vhodná ke kryokonzervaci (*Dale, Elder, 2000*).

Výhody zmrazení embryí spočívají v tom, že po jediné stimulaci je možné provést několik cyklů embryotransferů (ET). Také je možné použít kryokonzervaci v případech, kdy není možné z různých důvodů provést embryotransfer v tom cyklu, ve kterém byla embrya získána. Například při hrozícím ovariálním hyperstimulačním syndromu a také při výskytu faktorů, které mohou ohrozit implantaci (např. krvácení, nevhodná děložní sliznice, polypy nebo obtíže s prováděním embryotransferu) (*Dale, Elder, 2000*).

Uvádí se, že úspěšnost dosažení klinického těhotenství po kryokonzervaci embryí se pohybuje v rozmezí od 12,5 do 69% (*Prades et al., 2011*). Existuje několik důvodů těchto

rozdílů: různé metody zmrazování a rozmrazování embryí, fáze, ve kterých jsou embrya zmrazená, a také různá kritéria hodnocení přežití embrya a způsob vyjádření výsledků (Prades et al., 2011).

### 3.2.4. Další techniky ART

**AH** (Assisted Hatching) – asistovaný hatching – je in vitro postup, při kterém je v zoně pellucidě embrya (většinou v osmibuněčném stadiu nebo ve stadiu blastocysty) vytvořen otvor chemickou, mechanickou nebo laserovou metodou, s cílem usnadnit uvolnění embrya ze zony pellucidy (defenice WHO podle Řežábek, 2008a). Provádí se s cílem usnadnění implantace embrya. Podle moderních studií AH zvyšuje pravděpodobnost otěhotnění žen, u kterých předtím selhal cyklus ART. Rovněž zvyšuje pravděpodobnost otěhotnění při použití zmrazených embryí (Martins et al., 2012).

Jedna ze závažných komplikací AH je zvýšené riziko mnohočetného těhotenství (na rozdíl od cyklu ART bez AH), včetně monozygotních dvojčat. Proto je nutné při používání AH zvážit snížení počtu transferovaných embryí (Martins et al., 2012).

**GIFT** (Gamete Intrafallopian Transfer) – transfer gamet do vejcovodu – je postup ART, při němž jsou transferovány do vejcovodu obě gamety (oocyty a spermie) (defenice WHO podle Řežábek, 2008a). Metoda se zpočátku používala pro léčbu nevysvětlitelné neplodnosti, později ztratila popularitu kvůli tomu, že nebyl prokázán žádný statistický rozdíl mezi GIFT a IVF. GIFT je drahá a náročná metoda, která vyžaduje celkovou anestezii a laparoskopii (Hannoun, Abu-Musa, 1998).

**ZIFT** (Zygote Intrafallopian Transfer) – transfer zygoty do vejcovodu – je postup, kterým je zygota ve vývojovém stadiu prvojader přenesena do vejcovodu (defenice WHO podle Řežábek, 2008a). ZIFT vede ke zlepšení implantace embryí u pacientek s opakovaným selháním implantace. Na rozdíl od standardní IVF-ET dovolí ZIFT provést časný vývoj embrya v přirozeném prostředí vejcovodů a dopravit embryo do děložní dutiny v přirozených podmínkách (Farhi et al., 2000).

## **MESA a TESA**

**MESA** (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration) – mikroepididymální aspirace spermií – je postup, kterým jsou spermie získávány z nadvarlete, a to buď aspirací nebo chirurgickou excizí (*defenice WHO podle Řežábek, 2008a*).

**TESA** (Testicular Sperm Aspiration) – testikulární aspirace spermií – je postup, kterým jsou spermie získávány přímo z varlete buď aspirací nebo chirurgickou excizí testikulární tkáně (*defenice WHO podle Řežábek, 2008a*).

Obě tyto metody se nejčastěji používají ve spojení s ICSI při léčbě obstrukční azoospermie. TESA je méně invazivní a dobře snášená procedura, ale je spojena s nižší pravděpodobností oplodnění a větším procentem případů poruch v dělení embrya. V takových případech MESA pomáhá výrazně zlepšit výsledek v dalším cyklu ART (*Keltz et al., 2011*).

### **4. Rizika spojená s technikami asistované reprodukce**

Vzhledem k tomu, že asistovaná reprodukce se nyní rychle rozvíjí a stále více lidí se rozhoduje přistoupit k tomuto způsobu řešení problému neplodnosti, je otázka bezpečnosti při používání těchto postupů pro zdraví ženy a dítěte narozeného s pomocí ART stále aktuálnější.

Studie, které se zabývají bezpečností různých druhů ART, jsou zaměřené na zkoumání takových rizik, jako je ovariální hyperstimulační syndrom, mimoděložní těhotenství, vrozené vývojové vady, spontánní potrat a narození mrtvého dítěte. Zejména jsou zkoumány následky metody ICSI, neboť ta je z hlediska embrya nejvíce invazivní.

#### **4.1. Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS)**

Ovariální hyperstimulační syndrom je zvětšení ovarií mnohočetnými cystami, ascitem, někdy perikardiálním výpotkem a hydrothoraxem (*Řežábek, 2008a*). Podle závažnosti se OHSS se dělí na mírný, střední a těžký.

Ovariální hyperstimulační syndrom (OHSS) je závažná a potenciálně fatální komplikace ovariální stimulace. Ze všech stimulovaných cyklů ART vzniká riziko OHSS u 0,7% případů (*de Mouzon et al., 2012*). OHSS vede k vyšší frekvenci časných těhotenských ztrát a to až v 38% (*Hájek, 2004*). Riziko vzniku OHSS závisí na počtu vyvíjejících se folikul. Pokud je jich méně než 10, pravděpodobnost OHSS je malá. Riziko mírného a středního

OHSS nastává, když se vyvine 10–20 folikul. Počet folikul nad 20 znamená téměř vždy rozvoj OHSS, při počtu nad 40 většinou těžkého stupně (*Řežábek, 2008a*).

Rizikovými faktory pro vznik OHSS podle Rizka jsou: OHSS v předchozím cyklu, syndrom polycystických ovarií (PCOS), vysoká hladina estradiolu, vícečetné těhotenství, nízký věk pacientky, malá hmotnost pacientky (nízký Body Mass Index) a další (*Rizk, 2002*). Léčba OHSS je pouze symptomatická. Na různých pracovištích se postupy mohou lišit. OHSS většinou po 2–3 týdnech spontánně ustupuje a stav pacientky se zlepšuje během několika dní (*Řežábek, 2008a*).

#### **4.2. Vícečetné těhotenství**

Při používání ART je běžné vnášet do dělohy několik (typicky 1–2, výjimečně 3) embryí. Embrya se implantují nezávisle na sobě s pravděpodobností 15–35% pro každé embryo. (*Řežábek, 2008a*). Vnášením několika embryí se zvyšuje šance na otěhotnění, ale zároveň tak vznikají rizika plynoucí z vícečetného těhotenství. Proto se v poslední době stále více uvažuje o přenosech jednotlivých embryí (SET – Single Embryo Transfer). Podle údajů registru ESHRE z roku 2007 představoval podíl přenášených jednotlivých embryí v evropských zemích v cyklech IVF a ICSI 21,4%, podíl dvou embryí (DET – Double Embryo Transfer) 53,4%, tři embrya byla přenesena v 22,7% případů a čtyři nebo více embryí bylo přeneseno v 2,5% případů (*de Mouzon et al., 2012*).

V letech 1995–2005 v České republice plynule vzrůstal podíl dvojčat na 100 porodů a v posledních letech se stabilizoval kolem hodnoty 2. Ve druhé polovině devadesátých let, kdy došlo k nárůstu využívání technik asistované reprodukce, se významně se zvýšil počet trojčat (*Kocourková, 2011*). Ve své studii „Demografické přínosy asistované reprodukce v ČR“ J. Kocourková uvádí: „V roce 1997 byly zaznamenány čtyři porody trojčat na 10 tisíc porodů, což odráželo skutečnost, že třem čtvrtinám žen podstupujícím mimotělní oplodnění byla do dělohy transferována tři nebo čtyři embrya. V té době patřila ČR mezi státy s nejvyšším podílem transferů tří a čtyř embryí do dělohy, zatímco v současné době převažují transfery dvou embryí“ (*Kocourková, 2011*).

Vícečetná těhotenství a porody jsou nejčastější a nejzávažnější komplikací asistované reprodukce. Jsou spojená s vyšším rizikem předčasného porodu, nízkou porodní hmotností novorozenců a vyšším rizikem vrozených vad, kojenecké smrti a invalidity u přeživších (*Kissin et al., 2005*). Častými komplikacemi vícečetných těhotenství jsou preeklampsie, anémie, poporodní krvácení a intrauterinní růstová retardace. Přinášejí vyšší novorozeneckou

nemocnost a vysokou novorozeneckou a kojeneckou úmrtnost. Děti z mnohočetných těhotenství mohou trpět dlouhodobě důsledky perinatální komplikace, včetně mozkové obrny a poruch učení (*Crosignani, 2000*). Perinatální úmrtnost je ve srovnání s jednočetným těhotenstvím 4krát vyšší u dvojčat a 6krát vyšší u trojčat (*Crosignani, 2000*).

S rizikem vícečetného těhotenství je přímo spojeno i riziko předčasného porodu. Riziko extrémně předčasných porodů (20.–27. gestační týden) se zvyšuje od 1,0% u jednočetného těhotenství na 3,2% pro dvojčata a 11,8% pro trojčata. Stejný trend byl zaznamenán u velmi předčasných porodů (28.–32. týden), a to od 2,7% (jednočlenné těhotenství) na 11,1% (dvojčata), resp. 35,7% (trojčata) a předčasných porodů (33.–36. týden) od 9,2% na 38,3%, resp. 44,5% (*de Mouzon et al., 2012*).

### **Prevence vícečetného těhotenství**

Mnohočetnému těhotenství je možné předcházet opatrnou stimulací v cyklech, kdy oplození probíhá v přirozeném prostředí (*Řežábek, 2008a*), a transferem jednoho embrya v cyklech ART. V retrospektivní studii jednoho z center ART v České republice, sanatoria Prenatal, se uvádí: „Přenos 1 vysoce kvalitního embrya u definované skupiny žen (věk, počet absolvovaných IVF cyklů) doplněný kvalitním kryptoogramem nesníží úspěšnost léčby a zcela eliminuje vícečetná těhotenství. Zásadním hlediskem je kvalita embrya.“ (*Paseková et al., 2011*) K závěru, že pravděpodobnost narození alespoň jednoho živého dítěte po eSET (elective Single Embryo Transfer) se neliší od pravděpodobnosti při provedení DET, došli i ve francouzském výzkumu (*Bechoua et al., 2009*). Toto tvrzení není v rozporu s tím, co je uvedeno na začátku kapitoly. Tam jde o všechna embrya a statistickou pravděpodobnost. Zde se jedná výběr nejkvalitnějších embryí, proto tato metoda může být použita pouze v případě, kdy je z čeho vybírat a jsou k dispozici velmi kvalitní embrya.

Ve studii „Multiple–birth risk associated with IVF and extended embryo culture: USA, 2001“ byla zkoumána závislost vzniku vícečetného těhotenství na vývojovém stadiu embrya během transferu. Přišlo se na to, že přenos jednoho embrya, je jediný způsob, jak zabránit vícečetnému těhotenství a s ním spojeným komplikacím (*Kissin et al., 2005*).

Pokud vícečetné těhotenství nastalo, je možné – u troj- a vícečetného těhotenství – řešit problém pomocí redukce počtu plodů v děloze intraamniální aplikací hypertonického KCl. Cílem redukce je, aby v děloze zůstaly dva živé plody. Tato procedura je velmi problematická z etické stránky a je spojená s asi 2–5% rizikem potratu všech plodů (*Řežábek, 2008a*).

### 4.3. Ektopické těhotenství

Výskyt mimoděložního těhotenství (EP – Ectopic Pregnancy) v obecné populaci je 2% (*Schippert et al., 2012*), zatímco počet EP po aplikování metod asistované reprodukce se pohybuje podle různých studií mezi 2,1 a 11% (*Schippert et al., 2012*). V průběhu cyklu ART měly ženy s tubárním faktorem neplodnosti 2násobné zvýšení rizika mimoděložního těhotenství a ženy s neprokázaným tubárním faktorem neplodnosti nebo endometriózou měly o 30–40% vyšší riziko (*Clayton et al., 2006*). Podle jiných studií se výskyt ektopického těhotenství po ART se neliší od výskytu u běžné populace. V některých případech lze metodami ART riziko mimoděložního těhotenství zmenšit.

Výskyt mimoděložních těhotenství se výrazně zvyšuje při použití techniky ZIFT (Zygote intrafallopian transfer), a to až na 3,6%, a výrazně snižuje, když byly použity dárcovské oocyty (1,4%) nebo když bylo použito náhradní mateřství (0,9%) (*Clayton et al., 2006*).

### 4.4. Syndrom mrtvého plodu

Pod tento syndrom jsou zařazena všechna úmrtí během těhotenství a porodu, kdy má plod hmotnost větší než 500g a nejeví žádné známky života (*Hájek, 2004*).

Zvýšené riziko předčasného ukončení těhotenství a syndromu mrtvého plodu je jedna ze závažných komplikací léčby neplodnosti pomocí ART. Podle studií riziko mrtvorození u těhotných žen po IVF/ICSI bylo zvýšené více než čtyřikrát a po vnesení koeficientu zohledňujícího věk matky, hmotnost, vzdělání, kouření a konzumaci alkoholu a kávy se výsledky příliš nezměnily: 2,11% u přirozených těhotenství a 7,93% u žen, které podstoupily léčbu ART (*Wisborg et al., 2010*). Jako možné příčiny zvýšeného rizika syndromu mrtvého plodu uvádí Wisborg, et al. (2010) velké riziko předčasného narození, zejména u vícečetných těhotenství, a také syndrom mizejícího dvojčete, který může přispívat k nízké porodní váze přeživšího plodu (*Shebl et al., 2008*).

### 4.5. Syndrom mizejícího dvojčete

Při vícečetném těhotenství může dojít k spontánnímu zániku jednoho z plodů a k jeho resorpci nebo mumifikaci (*Hájek, 2004*). K zániku jednoho z plodů v časném těhotenství

dochází až v 20% případů všech těhotenství (*Hájek, 2004*). S tímto syndromem souvisí určitá rizika pro matku a přeživší plod. Vzhledem k tomu, že při metodách ART často dochází k vícečetným těhotenstvím, je tento problém velmi aktuální. Výsledky studií jsou velmi různé.

Jedna skupina autorů uvádí jako jevy zvyšující riziko spojené se syndromem mizejícího dvojčete: vaginální krvácení, Rh senzibilizaci, anemii, hypertenzi a preeklampsii (*Hájek, 2004*). Kromě toho se o 30–50% zvyšuje riziko předčasného porodu (*Hájek, 2004*) a z toho plynoucích komplikací. Dále hrozí vyšší riziko nižší porodní váhy přeživšího z dvojice vzhledem k gestačnímu věku (*Shebl et al., 2008*). Z těchto důvodů je třeba těhotenství, ve kterém jeden z plodů zemřel, pečlivě sledovat a informovat rodiče o rizicích spojených se zavedením více než jednoho embrya při použití ART (*Shebl et al., 2008*).

Jiné studie uvádějí, že mezi jednočetnými těhotenstvími pocházejícími z dvojčetného a těmi, kde na začátku byl jeden plod, není rozdíl. Podle těchto údajů měli novorozenci podobnou průměrnou délku a porodní hmotnost vzhledem k gestačnímu věku a matky i novorozenci měli obdobnou četnost komplikací (*La Sala et al., 2006*).

#### **4.6. Vrozené vývojové vady**

Protože v celém světě vzrůstá počet dětí narozených pomocí metod ART, je více pozornosti věnováno i jejich zdravotnímu stavu, a to nejen z hlediska fyzického, ale i genetického (*Hájek, 2004*).

Za výskyt vrozených vad u dětí narozených po ART může několik příčin:

- Vady plynoucí z vícečetného těhotenství. Pravděpodobnost VVV u vícečetných těhotenství je 2–3krát vyšší než u jedináčků (*Hájek, 2004*).
- Vady plynoucí z vyššího věku matky a otce. Páry, které podstoupí metody ART, jsou často v pokročilém věku (*Hájek, 2004*).
- Vady plynoucí z aplikace samotných ART – užívání léků, hormonální podpora, vliv různých mechanických, tepelných a chemických faktorů na gamety (*Hájek, 2004*).

##### **4.6.1. Vrozené vývojové vady plynoucí z vícečetného těhotenství**

Kromě toho, že se u vícečetného těhotenství uvádí vyšší riziko perinatální úmrtnosti, a to až 4krát (*Crosignani, 2000*), je s vícečetným těhotenstvím spojeno i vyšší riziko výskytu VVV, a to až 2–3krát (*Hájek, 2004*). Novorozenci z vícečetných těhotenství jsou často menší a velmi často se rodí předčasně. U žen čekajících dvojčata těhotenství trvá většinou kolem 36



týdnů, při trojčatech – velmi zřídka déle než 32 týdnů (*Řežábek, 2008b*). Významným problémem je také asymetrický intrauterinní vývoj plodu, kvůli čemuž jeden z plodů v 25–33% případů (*Hájek, 2004*) trpí IUGR (Intrauterine Growth Restriction).

Podle českého výzkumu vrozených vad u dětí z jednočetných a dvojčetných gravidit z roku 2009 se u dvojčat vyskytuje více vrozených vad než u jedináčků. Šípek a kolegoe (2009) v článku «Incidence vrozených vad u dětí z jednočetných a dvojčetných gravidit v České republice – aktuální data» uvádí: «Statisticky významně více byly u dvojčat nalezeny tyto vrozené vady ( $p < 0,001$ ): kongenitální hydrocefalus, vrozené vady srdeční přepážky (defekt síňového septa, defekt komorového septa, defekt atrioventrikulárního septa), Fallotova tetralogie, vady srdečních chlopní (atrémie/stenóza), koarktace aorty, rozštěp rtu, rozštěp patra a rozštěp rtu a patra, vrozené vady jícnu (atrémie, stenóza, píštěl), anorektální malformace, hypospadie, vrozená hydronefróza, polydaktylie, syndaktylie. Významnost na hladině  $p < 0,01$  byla u následujících vrozených vad: spina bifida, syndrom hypoplazie levého srdce, atrémie/stenóza duodena, brániční kýla a Downův syndrom» (*Šípek et al., 2009*)

#### **4.6.2. Vyšší věk matky a otce**

Je známo, že se zvyšujícím se věkem ženy se zvyšuje riziko chromozomálních abnormalit. Riziko trizomie stoupá z cca 2–3% u žen ve věku dvaceti let až do 30% procent u žen ve věku let čtyřiceti (*Hassold, Hunt, 2009*). Z nechromozomálních vad je vyšší věk matky (35–40 let) spojen se zvyšujícím se rizikem výskytu srdečních vad, vad mužského pohlavního ústrojí a kraniosynostózy (*Reefhuis, Honein, 2004*). Podle moderních výzkumů může i věk otce ovlivňovat výskyt určitých vývojových vad, například encefalokéla, katarakta, atrémie jícnu, anomální návrat plicních žil a koarktace aorty (*Green, et al., 2010*).

#### **4.6.3. Vrozené vývojové vady způsobené metodami ART**

Studium vlivu samotných metod ART je komplikované tím, že výsledek těhotenství ovlivňují jiné faktory: věk matky, počet plodů v děloze a také samotné příčiny neplodnosti. Proto se údaje různých studií velmi liší v závislosti na tom, jestli se při zkoumání berou v úvahu zmíněné faktory.

Podle některých autorů metody ART zvýšená rizika vrozených vývojových vad nenesou (*Hájek, 2004*). Jiné výzkumy prokázaly, že u dětí počatých pomocí metod ART je zvýšený výskyt určitých kategorií vrozených vývojových vad. Uvádějí, že u dětí počatých pomocí ART byla více než dvakrát vyšší pravděpodobnost velkých vrozených vad

diagnostikovaných v průběhu prvního roku života ve srovnání s dětmi počatými přirozenou cestou (*Hansen et al., 2002*).

Na základě studia údajů z registru vrozených vad v Paříži byl u dětí počatých pomocí ART určen až o 40% zvýšený výskyt vrozených srdečních vad bez chromozomálních abnormalit (*Tararbit et al., 2011*).

Zvláštní pozornost při studiu vrozených vad po ART je věnovaná metodice ICSI, protože při jejím uplatnění dochází k přímé manipulaci s gametami a hrozí zvýšené riziko jejich poškození. Je to relativně nová metoda, a proto je nutné její další studium. Jako specifické riziko spojené s ICSI se uvádí vyšší výskyt malformací v mužském urogenitálním traktu a zvláště hypospadie (*Fortunato, Tosti, 2010*).

Podle jiných studií se děti po ICSI z hlediska výskytu vrozených vad neliší od ostatních. Incidence velkých malformací po ICSI, detekovaných při porodu či v perinatální periodě, jsou v rozmezí 0,95–3,6% a neliší se od incidence po konvenční IVF či u normální populace po spontánní koncepci. Jedinou specifickou malformací, která byla nalezena u dětí po ICSI (ve švédské populaci) byla hypospadie (*Hájek, 2004*).

## **5. Jiné metody léčby neplodnosti**

### **5.1. Indukce ovulace**

Indukce ovulace může být použita při léčbě neplodnosti způsobené poruchami ovulace (*Holzer et al., 2006*), hypogonadismem, syndromem polycystických ovarí (PCOS) nebo hyperprolaktinemií (*Messinis, 2005*).

Pro indukci růstu folikulu se používají léky, které zvyšují hladinu FSH (follicle-stimulating hormone) v krvi. Existuje několik skupin těchto léků. Pro případy, kdy není nutné velké množství oocytu (když se provádí IUI nebo když se předpokládá početí přirozenou cestou), se nejčasteji používají antiestrogeny (clomiphene citrate, tamoxifen) (*Řežábek, 2008*). Klomifen indukuje ovulaci s vysokou pravděpodobností (70–90%), ale počet dosažených klinických těhotenství je nižší, dosahuje 30 až 40% (*Messinis, 2005*). Jako alternativa pro clomiphene citrate se v poslední době se začaly používat inhibitory aromatázy (letrozole, anastrozole). Indukce ovulace po léčbě letrozolem vyvolá ovulaci s pravděpodobností 70–84% a těhotenství s úspěšností 20–27% na cyklus. Podle moderních studií je účinnost inhibitoru aromatázy stejná, ale na rozdíl od clomiphene citrate nemají antiestrogenní účinek na endometrium (*Holzer et al., 2006*).

## 5.2. IUI – intrauterinní inseminace

IUI (intrauterine insemination) – intrauterinní inseminace – je postup vnesení spermií do dělohy. Spermie mohou být od manžela nebo od donora. Před vstříknutím se spermie musí dobře vyčistit a zbavit bakterií a cizorodých látek (*Řežábek, 2008*).

Důvodem IUI léčby je zvýšení pravděpodobnosti početí páru. Cílem je, aby maximální počet zdravých spermií dosáhl místa oplodnění (*ESHRE, 2009*). IUI s nebo bez stimulace vaječníků se používá v některých případech mužské neplodnosti. Take může být indikovaná u všech případech, kdy nebyla určena příčina neplodnosti, a u žen s mírnými příznaky endometriózy (*ESHRE, 2009*). IUI je kontraindikovaná u žen s cervikální atrézií, endometritidou nebo bilaterální obstrukcí vejcovodů a ve většině případů amenoreí nebo těžkou oligospermií (*ESHRE, 2009*).

Úspěšnost IUI závisí na tom, jestli se používá spermie manžela nebo dárce. Otěhotnění nastoupí v 9,2% případů IUI spermatem partnera proti 13,8% při inseminaci spermatem dárce (*de Mouzon et al., 2012*). Podle jiných údajů je úspěšnost IUI v případě použití spermatu manžela 12,4%, resp. 17,7% v případě použití spermatu dárce (*ESHRE, 2009*). Úspěšnost IUI závisí také na věku ženy (10,2% pod 40 let oproti 6,3% nad 40 let) (*de Mouzon et al., 2012*).

## 5.3. Chirurgické metody

### 5.3.1. Laparoskopické metody léčby ženské neplodnosti

Pokud je příčina neplodnosti v mechanické přepážce, kvůli které se spermie nemohou dostat do oocytu, lze ji v mnoha případech odstranit.

Operace za účelem odstranění mechanických přepážek se většinou se provádí pomocí laparoskopie. Příčiny jako hydrosalpinx, myom nebo endometrióza mohou nejen ovlivňovat šance na oplození přirozenou cestou ale i značně snížit výsledky při oplození metodami ART (*Burney, Nezhat, 2008*).

Hydrosalpinx znamená nahromadění tekutiny ve vejcovodu, který je na straně břišní dutiny srostlý. Tato tekutina pak proniká do děložní dutiny, kde má nepříznivé účinky na implantaci a přežití embrya (*Burney, Nezhat, 2008*). Hydrosalpinx snižuje možnost otěhotnění o 50% a o 50% je snížena i úspěšnost implantace v cyklech ART. Počet potratů u pacientů s hydrosalpinx je více než dvojnásobně vyšší (*Zeyneloglu et al., 1998*).

Další příčina neplodnosti, kterou lze řešit pomocí laparoskopie, je endometrióza. Endometrióza je přítomnost děložní sliznice v jiných místech než děloha, nejčastěji na

vaječnicích nebo okolní pobřišnici (*Řežábek, 2008b*). Přítomnost endometriózy má vliv na funkci vaječníků, kvalitu oocytů, embryí a jejich implantace. Přítomnost endometriózy až dvakrát snižuje pravděpodobnost otěhotnění po IVF (*Barnhart et al., 2002*).

Myom je tuhý oválný útvar děložní svaloviny. Pokud deformuje děložní dutinu, může být příčinou neplodnosti, protože se embryo nemůže normálně uchytit. V případě těhotenství může představovat riziko pro plod, protože pod vlivem hormonu se ve většině případů začíná zvětšovat (*Řežábek, 2008b*).

### 5.3.2. Varikokélektomie

Varikokéla (varicocele) je rozšíření žilní pleteně v semenném provazci pleteň okolo chámovodu vedoucí krev z varlat do břišních žil (*Velký lékařský slovník online*). Vyskytuje se u 15 až 20% zdravých mužů a ve 40 až 70% u mužů s primární a sekundární neplodností (*Schauer et al., 2012*). Předpokládá se, že varikokéla způsobuje mužskou neplodnost kvůli shromažďování krve kolem varlat, což vede ke zvýšení teploty šourku (*Ding et al., 2012*). Léčba varikokély se provádí chirurgicky. Po operaci varikokély se ve většině případů zvýší počet spermií v ejakulátu a zlepší se jejich motilita (*Schauer et al., 2012*).

Pravděpodobnost těhotenství po provedené varikokélektomii se pohybuje od 26,56% do 41,48% v závislosti na metodě operace (*Schauer et al., 2012*). Pravděpodobnost těhotenství u léčených párů ve srovnání s těmi, u kterých se varikokélektomie neprováděla, je 26,79% oproti 16,50% (*Schauer et al., 2012*).

## 6. Závěr

1. Podíl párů potýkajících se s problémem neplodnosti se v blízké budoucnosti může zvýšit, protože stoupá počet žen a mužů, které odkládají narození dítěte do pozdějšího věku. Se vzrůstajícím věkem ženy nejen že se snižuje pravděpodobnost početí, ale zvyšuje se i riziko komplikací během těhotenství a šance na narození zdravého dítěte. U mužů se s věkem zhoršuje kvalita spermií, což má za následek menší šance na oplodnění přirozenou cestou.
2. Pro léčbu neplodnosti nabízí moderní medicína široké spektrum možností – chirurgické metody, hormonální terapie a různé techniky asistované reprodukce a proto většina neplodných párů může mít vlastní dítě. Nehledě na to, že většině lidí přináší rodičovství štěstí a radost, nese s sebou i určitá rizika jak pro zdraví ženy, tak i pro dítě.

3. Největší riziko pro zdraví ženy, které vzniká v 0,7% případů cyklů asistované reprodukce je ovariální hyperstimulační syndrom, potenciálně fatální komplikace, která vede i k vyšší frekvenci časných těhotenských ztrát.
4. Jak pro ženu, tak pro plod je nežádoucí komplikací, vznikající při léčbě neplodnosti, vícečetné těhotenství. Nese větší rizika jak komplikací během těhotenství ze strany matky (preeklampsie, anémie, poporodní krvácení), tak i zvýšené riziko mortality plodu, předčasného porodu, intrauterinní růstové retardaci a jiných následků na zdraví dětí. Tomuto lze předcházet transferem 1 embrya během cyklu ART, ale tím se sníží pravděpodobnost otěhotnění. Při intrauterinní inseminaci či indukce ovulací s následujícím početím přirozenou cestou, jde tento problém zmenšit opatrnou stimulací ovarií. Pakliže vícečetné těhotenství nastalo, lze tento problém řešit pomocí redukce počtu embryí.
5. Další otázkou je, zda metody asistované reprodukce jsou bezpečné a nenesou s sebou větší riziko vzniku vývojových vad. Velký vliv na výsledky ART mají vysoký věk rodičů (léčbu pomocí ART nejčastěji podstupují lidé v pokročilém věku) a příčiny neplodnosti. Otázkou zůstává, zda samotné metody asistované reprodukce mají vliv na zdraví dětí, narozených po léčbě neplodnosti. Studium tohoto problému je dosti komplikované a výsledky různých autorů se hodně liší. Proto nelze v současné době jednoznačně tuto otázku zodpovědět.

## 7. Seznam literatury

1. Barnhart, K., Dunsmoor-Su, R., Coutifaris, C. 2002. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 77(6): 1148-1155.
2. Bechoua, S., Astruc, K., Thouvenot, S., Girod, S., Chiron, A., Jimenez, C., Sagot, P. 2009. How to demonstrate that eSET does not compromise the likelihood of having a baby? *Hum Reprod* 24(12): 3073-3081.
3. Burney, R. O., Nezhat C. R. 2008. Infertility treatment: the viability of the laparoscopic view. *Fertil Steril* 89(2): 461-464.
4. Clayton, H. B., Schieve, L. A., Peterson, H. B., Jamieson, D. J., Reynolds, M. A., Wright, V. C. 2006. Ectopic pregnancy risk with assisted reproductive technology procedures. *Obstet Gynecol* 107(3): 595-604.

5. Crosignani, P.G.,2000. Multiple gestation pregnancy. The ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod* 15(8): 1856-1864.
6. de Mouzon, J., Goossens, V., Bhattacharya, S., Castilla, J. A., Ferraretti, A. P., Korsak, V., Kupka, M., Nygren, K. G., Andersen, A. N. 2012. Assisted reproductive technology in Europe, 2007: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 27(4): 954-966.
7. Ding, H., Tian, J., Du, W., Zhang, L., Wang, H., Wang, Z., 2012. Open non-microsurgical, laparoscopic or open microsurgical varicocelectomy for male infertility: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU Int.* Chybi stranky
8. Elder, K., Dale, B. 2000. *In vitro fertilization*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2000, xii, 310 p.
9. ESHRE Capri Workshop Group. 2009. Intrauterine insemination. *Hum. Reprod. Update* 15(3): 265-277.
10. Evers, J. L. H. 2002. Female subfertility. *The Lancet* 360(9327): 151-159.
11. Farhi, J., Weissman, A., Nahum, H., Levran, D. 2000. Zygote intrafallopian transfer in patients with tubal factor infertility after repeated failure of implantation with in vitro fertilization–embryo transfer. *Fertil Steril* 74(2): 390-393.
12. Fortunato, A., Tosti, E. 2011. The impact of in vitro fertilization on health of the children: an update. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 154(2): 125-129.
13. Green, R. F., Devine, O., Crider, K. S., Olney, R. S., Archer, N., Olshan, A.F., Shapira, S. K. 2010. Association of Paternal Age and Risk for Major Congenital Anomalies From the National Birth Defects Prevention Study, 1997 to 2004. *Annals of Epidemiology* 20(3): 241-249.

14. Hájek Z., 2004. Rizikové a patologické těhotenství. Vyd. 1. české. Praha: Grada, 2004, 444 s. ISBN 80-247-0418-8
15. Hannoun, A., Abu-Musa A. 1998. Gamete intrafallopian transfer (GIFT) in the treatment of severe male factor infertility. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 61(3): 293-295.
16. Hansen, M., Kurinczuk, J. J., Bower, C., Webb, S. 2002. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 346(10): 725-730.
17. Hassold, T., Hunt P. 2009. Maternal age and chromosomally abnormal pregnancies: what we know and what we wish we knew. *Curr Opin Pediatr* 21(6): 703-708.
18. Holzer, H., Casper, R., Tulandi, T. 2006. A new era in ovulation induction. *Fertil Steril* 85(2): 277-284.
19. Hull, M. G., Glazener, C. M., Kelly, N. J., Conway, D. I., Foster, P. A., Hinton, R. A., Coulson, C., Lambert, P. A., Watt, E. M., Desai, K. M. 1985. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)* 291(6510): 1693-1697.
20. Keltz, M. D., Rovner, E. M., Gonzalez, E., Weiner, D. 2011. Fresh MESA improved embryo fertilization, cleavage, blastula formation and implantation rates after failed TESA in couples with obstructive azoospermia. *J Assist Reprod Genet* 28(4): 375-377.
21. Kidd, S. A., Eskenazi, B., Wyrobek, A. J. 2001. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril* 75(2): 237-248.
22. Kissin, D. M., Schieve, L. A., Reynolds, M. A. 2005. Multiple-birth risk associated with IVF and extended embryo culture: USA, 2001. *Hum Reprod* 20(8): 2215-2223.
23. Kocourková, J. 2011. Demografické přínosy asistované reprodukce v ČR. *Praktická gynekologie* 2011; 15(1): 22-27

24. La Sala, G. B., Villani, M. T., Nicoli, A., Gallinelli, A., Nucera, G., Blickstein, I. 2006. Effect of the mode of assisted reproductive technology conception on obstetric outcomes for survivors of the vanishing twin syndrome. *Fertil Steril* 86(1): 247-249.
25. Martins, W. P., Rocha, I. A., Ferriani, R. A., Nastri, C. O. 2012. Assisted hatching of human embryos: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Reprod Update* 18(5): 600.
26. Meacham, R. B., Joyce, G. F., Wise, M. Kparker, A., Niederberger, C. 2007. Male Infertility. *The Journal of Urology* 177(6): 2058-2066.
27. Messinis, I. E. 2005. Ovulation induction: a mini review. *Hum Reprod* 20(10): 2688-2697.
28. Paseková, V., Mardešić, T., Vobořil, J., Vilímová, Š., Jelínková, V. 2011. Přenos jednoho embrya (single embryo transfer): možnosti a limity. *Čes. Gynek.* 2011, 76, č. 5 s. 397-400.
29. Pilka, L., Tesarik, J., Dvorak, M., Travník, P., Wallik, V. 1983. Narození dítěte po přenosu krátkodobě kultivovaného oocytu do vejcevodu. *Cesk Gynekol* 48(5): 324-326.
30. Prades, M., Golmard, J., Schubert, B., Poirot, C. 2011. Embryo cryopreservation: proposal for a new indicator of efficiency. *Fertil Steril* 95(2): 577-582.e572.
31. Reefhuis, J., Honein M. A. 2004. Maternal age and non-chromosomal birth defects, Atlanta--1968-2000: teenager or thirty-something, who is at risk? *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 70(9): 572-579.
32. Rizk, B., 2006. Ovarian hyperstimulation syndrome: epidemiology, pathophysiology, prevention and management. Cambridge: Cambridge University Press, 2006, xiv, 233 p., [4] p. of plates.
33. Řežábek, K., 2008a. Asistovaná reprodukce. Maxdorf, 112 s. ISBN 978-80-7345-154-7
34. Řežábek, K., 2008b. Léčba neplodnosti 4. aktualizované vydání. Praha: Grada, 176 s. ISBN 978-80-247-2103-3



35. Schauer, I., Madersbacher, S., Jost, R., Hübner, W. A., Imhof, M. 2012. The Impact of Varicocele on Sperm Parameters: A Meta-Analysis. *The Journal of Urology* 187(5): 1540-1547.
36. Schippert, C., Soergel, P., Staboulidou, I., Bassler, C., Gagalick, S., Hillemanns, P., Buehler, K., Garcia-Rocha, G. J. 2012. The risk of ectopic pregnancy following tubal reconstructive microsurgery and assisted reproductive technology procedures. *Arch Gynecol Obstet* 285(3): 863-871.
37. Shebl, O., Ebner, T., Sommergruber, M., Sir, A., Tews, G. 2008. Birth weight is lower for survivors of the vanishing twin syndrome: a case-control study. *Fertil Steril* 90(2): 310-314.
38. Šípek, A., Gregor, V., Horáček, J., Štembera, Z., Šípek, A., Klaschka, J., Skibová J., Langhammer P., Petržílková L., Wiesnerová J. 2009. Incidence vrozených vad u dětí z jednočetných a dvojčetných gravidit v České republice – aktuální data. *Čes. Gynek.* 2009, 74, č. 5 s. 369-382.
39. Tararbit, K., Houyel, L., Bonnet, D., De Vigan, C., Lelong, N., Goffinet, F., Khoshnood, B. 2011. Risk of congenital heart defects associated with assisted reproductive technologies: a population-based evaluation. *Eur Heart J* 32(4): 500-508.
40. Wilkes, S., Chinn, D. J., Murdoch, A., Rubin, G. 2009. Epidemiology and management of infertility: a population-based study in UK primary care. *Fam Pract* 26(4): 269-274.
41. Wisborg, K., Ingerslev, H.J., Henriksen, T.B. 2010. IVF and stillbirth: a prospective follow-up study. *Human Reproduction* 25(5): 1312-1316.
42. Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E., Vanderpoel, S. 2009. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril* 92(5): 1520-1524.

43. Zeyneloglu, H. B., Arici, A., Olive, D. L. 1998. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization–embryo transfer. *Fertil Steril* 70(3): 492-499.

44. Žáčková, T. Mardešić, T., Kučera, T. 2005. Úspěšnost mimotělního oplodnění a demografické aspekty neplodnosti v ČR. *SANQUIS* č.39/2005, str. 34.

**Internetové zdroje:**

Centrum asistované reprodukce CAR 01 <http://www.ivfbrno.cz>

Český statistický úřad <http://www.czso.cz>

Official web site of the Nobel Prize <http://www.nobelprize.org>

Velký lékařský slovník *online* - <http://lekarske.slovniky.cz>