

Asistovaná reprodukčná technológia (ART) krok za krokom



Každý cyklus asistovanej reprodukčnej technológie (ART) zahŕňa **niekoľko krokov**, pričom každý z nich je potrebné poriadne načasovať v rámci 4-6 týždňového časového rozhrania.

Samotnému ART cyklu predchádza:

- niekedy začatie užívania kontraceptív
- niekedy začatie užívania agonistov GnRH (hormón uvoľňujúci gonadotropín)
- niekedy tzv. simulovaný transfer (prenos) na identifikáciu potenciálnych problémov pri neskoršom transfere
- príležitostne sa cyklus IVF začne podľa menštruačného cyklu ženy bez predchádzajúcej premedikácie

Úspešnosť ART vo veľkom **závisí na raste** viacerých **vajíčok** súčasne a práve za týmto účelom sú použité:

- injekčne podávané hormóny FSH a/alebo LH z rady gonadotropínov
- prídavné liečivá na prevenciu ovulácie nezrelých vajíčok

Pozrime sa bližšie na niektoré kroky, ktoré majú zaručiť úspešnosť tohto celého procesu.

Krok 1 - Prestimulačná liečba

1. Používanie kontraceptív

Niektoré pacientky budú potrebovať **používanie kontraceptív** za účelom časového odsledovania a **nastavenia menštruačného cyklu**. Taktiež sú kontraceptíva v ART využívané **na predchádzanie vzniku ovariálnych cýst**, ktoré sa niekedy objavia pri stimulácii GnRH dráhy.



2. Potlačenie ovulácie

Tento krok sa vykonáva, aby sa predišlo ovulácii **pred tým, než sú vajíčka chirurgicky odobraté lekárom**.

Pacientke sú podávané buď agonisty, alebo antagonisty GnRH receptorov.

3. Ultrazvuk panvy

V čase očakávaného začatia menštruačného cyklu sa vykoná **základné vyšetrenie vaječníkov**. Ak by bola viditeľná cista, väčšinou sa počká s ďalšími krokmi ART, pokiaľ sa cysty nevstrebú (väčšinou v priebehu jedného týždňa). Ojedinele sa môže vykonať drenáž. Na potvrdenie úspešného potlačenia činnosti vaječníkov sa môžu vykonať **krvné testy** zisťujúce hladiny estrogénu.

Krok 2 - Stimulácia vaječníkov



Vo všeobecnosti sa začína so stimuláciou vaječníkov **po začatí menštruačného krvácania**. Využitie sú viaceré liečivá stimulujúce rast folikulov. Jedná sa o agonisty GnRH receptorov – liečivá zo skupiny gonadotropínov. Druhou skupinou liečiv sú antagonisty GnRH receptorov používané na potlačenie ovulácie nezrelých vajíčok. Na stimuláciu vaječníkov sa využíva **viacero rôznych postupov**, pričom všetky viacmenej zahŕňajú používanie rovnakého typu liečiv. Je však nereálne si myslieť, že prechod z jedného postupu na

druhý dramaticky zmení pacienta so slabou odozvou na pacienta s vysokou odozvou na stimuláciu.

Pri stimulácii vaječníkov je – dá sa povedať normálnym resp. očakávaným **prejavom ich zväčšenie**, ktoré časom ustúpi. Avšak **veľkým rizikom je vznik ovariálneho hyperstimulačného syndrómu (OHSS)**, kedy dochádza k nápadnému zväčšeniu vaječníkov, vysokej hladine pohlavných steroidných hormónov v sére a zvýšenej permeabilite ciev, čo môže viesť k akumulácii tekutiny v brušnej, hrudnej a zriedkavo aj v perikardiálnej dutine (dutine okolo srdca). Medzi **prejavy OHSS** patrí abdominálna (brušná) **bolesť** či diskomfort, pri ťažších prejavoch sa objavuje **nevoľnosť, vracanie** či **ascites**. V prípade **vážnych prejavov OHSS** je možné sledovať **prírastok na váhe, dyspnoe** alebo **oligúriu** (zníženie vylučovanie moču), nerovnováhu elektrolytov, hypovolémiu (znížený objem), pleurálny (pľúcny) výtok **až akútnu pulmonálnu úzkosť**. Mimoriadne **zriedkavo** sa môže OHSS komplikovať stočením vaječníkov alebo tromboembolickými príhodami, ako sú pulmonálna **embolizácia, ischemia, mŕtvica** alebo **infarkt myokardu**.

Krok 3 - Monitorovanie rastu folikulov

Rast folikulov je odsledovaný na základe **vaginálneho ultrazvuku v kombinácii s krvnými testami** na zistenie hladín hormónov. Takéto testy sa počas celého procesu ART vykonávajú dosť často a na základe nich sa upravuje dávka liečiv za účelom zlepšenia rastu folikulov. Preto musí žena **chodiť na kliniku veľmi často**, niekedy až prispôbiť svoje **bývanie** a presťahovať sa **bližšie k miestu vykonávania ART**.

Krok 4 – Finálne dozretie vajíčok a podávania hCG hormónu

Hormón hCG (choriogonádotropný hormón) vo forme liečiv sa používa na finálne dozretie vajíčok. V rámci ART je veľmi **dôležité určenie dňa** začatia podávania hCG hormónu, pretože od toho sa odvíja čas, kedy sa vajíčka následne budú odoberať. V niektorých postupoch využívajúcich GnRH antagonisty sa na finálne dozrievanie vajíčok využívajú GnRH agonisty. Postupy sú teda veľmi komplikované.

Krok 5 – Odoberanie vajíčok

- vajíčka sú odoberané z vaječníkov pomocou špeciálnej ihly s využitím ultrazvuku
- pacientka je v krátkodobej anestézii

Odber vajíčok sa vykonáva spravidla **32-36 hodín po podaní hCG hormónu**. Anesteziológ intravenózne podá liečivá (sedatíva a lieky proti bolesti) na zníženie diskomfortu počas procedúry. Na zobrazenie vaječníkov a jednotlivých folikulov sa používa **transvaginálna ultrazvuková sonda**. Následne sa ku každému folikulu dovedie **dlhá ihla**, do ktorej sa nasaje okolitý obsah pozostávajúci z folikulárnej tekutiny, vajíčok (oocytov) a granulóznych (podporných) buniek. Tento **obsah je zozbieraný do skúmavky** a následne v ňom embryológ **pod mikroskopom nájde jednotlivé vajíčka**.

Po odbere je pacientka prebratá z anestézie a sledovaná lekárske personálom, kým anestézia neodznie. Často sa môže počas nasledujúcich dní po odbere objaviť určité vaginálne špinenie a diskomfort v podbrušku, ale nemalo by to trvať dlhšie ako 2 dni.

Počet odobratých vajíčok závisí od počtu vaječníkov, ich dostupnosti a počtu folikulov, ktoré úspešne odpovedali na stimuláciu. Ultrazvukové zobrazenie poskytuje len približný pohľad na počet odobratých vajíčok. **V priemere** je od pacientky odobratých **8 až 15 vajíčok**.

Tento krok spolu so stimuláciou vaječníkov **sa spája** u žien **s náročným obdobím spojeným s nárastom depresí a stavov úzkosti**. O to viac, ak predchádzajúce tehotenstvo nebolo úspešné.

Krok 6 – Spermie



Aby sa zabezpečilo získanie spermií v optimálnej kvalite, je dôležité, aby pacienti nasledovali inštrukcie jednotlivkej kliniky. Najčastejšou **metódou získania spermií je masturbácia** partnera v deň, v ktorý sa uskutočňuje odber vajíčok u partnerky. Príležitostne sa získajú spermie

počas súložie so špeciálnym kondómom alebo skrz elektroejakuláciu. Niektorí muži sú **neschopní ejakulácie** alebo v semene nemajú spermie – v týchto prípadoch môže urológ **získať spermie chirurgickým zákrokom** priamo zo semenníka alebo nadsemenníka za použitia lokálnej anestézie (z pohľadu muža ide o **ponižujúce procedúry**).

Niektorí lekári odporúčajú **čast'** semena **zamraziť** ako „zábezpeku“ pre neskoršie použitie alebo ak by nastali problémy počas procedúry.

Ak pacientka využíva **darcovské spermie**, tak sa tie rozmrazia v deň odberu vajíčok.

Krok 7 – Embryologické laboratórne procedúry

Po odobratí sú vajíčka **prenesené do laboratória**, kde sú im poskytnuté podmienky vhodné na ich rast. Už **pár hodín po odbere sú k nim v miskách umiestnené spermie alebo**, v niektorých prípadoch, je **injekčne vložená jedna spermia** priamo do zrelého vajíčka takzvanou ICSI (intracytoplasmic sperm injection) technikou. ICSI je využívaná najmä v prípadoch porúch mužskej plodnosti. **Výber „vhodnej spermie“ závisí** čisto od **subjektívneho rozhodnutia** daného pracovníka, ktorý vyberie podľa neho najviac



životoschopnú spermium, čím sa výrazne ovplyvňuje prirodzenosť zrodu života.

Na druhý deň po oplodnení vajíčok sa sleduje úspešnosť každého jedného vajíčka. Pri normálnom vývoji je možné sledovať prítomnosť dvoch

jadier v jednej bunke nazývanej zygota. Po dvoch dňoch sú prítomné už štyri bunky a po troch dňoch už osem buniek. **Po piatich dňoch sa zygota vyvinie do štádia blastocysty a následne štádia embrya obsahujúceho 80 a viac buniek malého zárodka človeka.** Embryá sú umiestnené v malých miskách alebo skúmavkách s výživným médiom, ktoré im poskytuje podmienky podobné, ako sú vo vajcovodoch či v maternici. Nádoby obsahujúce embryá sú následne odložené v inkubátoroch, kde je udržiavaná konštantná teplota, vlhkosť a atmosférický tlak.

Je dôležité poznamenať, že keďže je **mnoho vajíčok a embryí abnormálnych**, je normálne očakávať, že nie všetky vajíčka budú úspešne oplodnené a nie všetky embryá sa budú deliť normálnym tempom. Šanca, že rozvíjajúce sa embryo skončí tehotenstvom je spojená s jeho rozvojom v laboratóriu, avšak prepojenie nie je stopercentné. To znamená, že **nie všetky embryá, ktoré sa delia normálnym tempom, sú geneticky normálne a všetky tie, ktoré sa delia horšie, sú geneticky abnormálne.** Napriek tomu je **kritériom vo výbere vhodného embrya pre transfer len ich vizuálny vzhľad, ktorý opäť posudzuje pracovník v laboratóriu.**

Teda opäť sa dá sledovať výrazný zásah do prirodzeného vzniku života.

Napriek primeraným preventívnym opatreniam **sa v laboratóriu môže vyskytnúť niečo, čo by mohlo zabrániť vzniku tehotenstva:**

- môže dôjsť k zlyhaniu oplodnenia vajíčka/vajíčok
- jedno alebo viac vajíčok sú oplodnené abnormálne, čo má za následok abnormálny počet chromozómov v embryách, ktoré následne nie sú vhodné pre transfer (teda sú vyhodnené ako biologický odpad!)
- oplodnené vajíčka sa môžu pred rozdelením na embryá degenerovať alebo sa nemusí vyskytnúť adekvátny vývoj embryí
- bakteriálna kontaminácia alebo laboratórna nehoda môžu viesť k strate alebo poškodeniu niektorých alebo všetkých vajíčok alebo embryí (vyhodia vytvorené embryá a je dosť pravdepodobné, že sa infekcia rozšírila v inkubátore, teda sú ohrozené aj ďalšie vyvíjajúce sa embryá)
- laboratórne vybavenie môže zlyhať a môže dôjsť k dlhším stratám energie, ktoré by mohli viesť k zničeniu vajíčok, spermií a embryí (opäť sú znehodnotenú tak, že už sa musia len vyhodiť)

Embryá sú často prenášané do maternice tri až šesť dní po oplodnení. Niekedy sa na transfer používajú trojdňové embryá, ktoré môžu pozostávať zo šiestich až ôsmich buniek. Po prenose takéhoto embrya sa musí ďalej vyvíjať do štádia blastocysty (dutá guľa s približne 100 bunkami), aby mohlo dôjsť k implantácii. Tento vývoj trvá niekoľko dní. Bezprostredne pred implantáciou sa musí blastocysta oslobodiť z obalu, ktorý pôvodne obaľoval vajíčko. Tesne pred prenosom embryí sa na uľahčenie uchytenia sa do priestoru tohto obalu (zona pellucida), ktorý obklopuje vyvíjajúce sa embryá, vytvorí diera a pomocou kyslého roztoku, jemnej ihly alebo laseru sa rozpustí časť tohto obalu. Vyškolení pracovníci, ktorí používajú špecializované nástroje na mikromanipuláciu, to musia vykonať pod mikroskopom. Aj pri tomto zákroku existuje **riziko poškodenia embryí.**

Preimplantačná genetická diagnostika (PGD) a preimplantačná genetická kontrola (PGS) sú dve ďalšie techniky, ktoré sa niekedy používajú počas IVF. Slúžia na **testovanie genetických porúch embryí** pred ich prenosom do maternice. PGD a PGS umožňujú párom alebo jednotlivcom s vážnymi dedičnými poruchami znížiť riziko, že dieťa bude postihnuté rovnakým problémom. Obidve tieto techniky zahŕňajú **použitie mikromanipulátora na odobratie bunky z embrya**. Táto bunka je potom odoslaná do diagnostického laboratória na stanovenie normálnosti embrya. **Embryá bez porúch sa potom môžu preniesť do tela pacientky.**

Krok 8 – Transfer embryí

Postup prenosu embryí sa zvyčajne vykonáva **tri až päť dní po odbere a oplodnení vajíčok**. Najväčší vplyv na výsledok tehotenstva majú vek ženy a vzhľad vyvíjajúceho sa embrya. Lekár opatrne zavedie katéter cez krčok do maternice a vloží embryá do dutiny maternice spolu s veľmi malým množstvom tekutiny. **Kvalita embryí** na prenos je primárne určená **na základe morfológie a rýchlosti vývoja v jednom určenom bode** – napr. na piaty deň od oplodnenia. **Napriek množstvu kritérií uvádzaných v literatúre je výber najkvalitnejšieho embrya čisto subjektívny.**

Lekári často uprednostňujú takzvaný **simulovaný transfer**, ktorý sa môže vykonať mesiac pred samotným začatím IVF, počas odberu vajíčok alebo tesne pred samotným skutočným transferom. Ide o procedúru, **kedy si lekár nacvičí transfer**, zistí aký katéter má použiť, všima si anatómiu ženy a hľadá najlepší spôsob, ako sa cez krčok dostať do maternice. Ide o simulovaný transfer **bez použitia embryí**. Simulovaný ani reálny transfer zvyčajne nevyžadujú anestéziu a pacientka zvyčajne opúšťa kliniku po krátkom zotavovacom období.

Počet prenesených embryí ovplyvňuje mieru tehotenstva, prípadne viacnásobnú graviditu. **Zostávajúce embryá** sa môžu zmraziť pre budúci cyklus prenosu zmrazených embryí.

Krok 9 – Zmrazovanie embryí

Zmrazovanie embryí je **dôležitou súčasťou** procesu IVF. Pacientky, ktoré majú ďalšie kvalitné embryá, ich môžu zmraziť na budúce použitie. Tieto embryá poskytujú druhú alebo tretiu príležitosť na tehotenstvo bez toho, aby podstúpili ďalšiu stimuláciu vaječníkov a opätovný odber.



Embryá, ktoré spĺňajú vývojové kritériá vzhľadu a rýchlosti rastu, môžu byť zmrazené v ktorejkoľvek z fáz vývoja. Existujú **2 spôsoby**, ako zmraziť embryá. Jeden sa nazýva **pomalé chladenie**. Týmto spôsobom sa embryá umiestňujú do špeciálnych zmrazovacích roztokov a

pomocou počítača sa teplota embryí pomaly znižuje. **Zmrazené embryá sa potom skladujú v tekutom dusíku (-196 ° C).**

Druhá technika zmrazenia embryí sa nazýva **vitrifikácia**. Pri tejto ultrarýchlej zmrazovacej metóde sa embryá umiestnia do špeciálnych roztokov a potom sa okamžite premiestnia do tekutého dusíka. Embryá sa následne skladujú tiež v tekutom dusíku. Metóda použitá na zmrazenie embryí rozhoduje o spôsobe ich prípadného rozmrazenia. **Nie všetky embryá však proces zmrazenia/rozmrazenia prežijú a niekedy ich po zmrazení dokonca embryo nemožno nájsť.** Embryá však môžu byť skladované donekonečna bez zjavného poškodenia ich kvality. V súčasnosti majú reprodukčné kliniky veľký problém so skladovaním takýchto zamrazených embryí. Podľa viacerých dát len v Spojených štátoch je uskladnených viac ako milión zamrazených embryí. Rodičia, ktorí ich tam nechali, nie sú častokrát rozhodnutí, či chcú mať viac detí, a preto kliniky nevedia, ako s embryami naložiť.

Krok 10 – Hormonálna podpora sliznice maternice

Úspešné uchytenie sa embrya v sliznici maternice závisí od primeranej hormonálnej podpory. Na tento účel sa používa najmä orálne, intramuskulárne alebo vaginálne podávaný **progesterón**.

Suplementácia sa zvyčajne začína v deň alebo deň po odbere vajíčok.

Denné používanie bude pokračovať **až do tehotenského testu**. Ak je test pozitívny, môže sa odporučiť pokračovať v užívaní progesterónu ešte niekoľko týždňov.

Krok 11 - Tehotenský test

Tehotenský test je potrebné vykonať **9 až 12 dní po prenose embrya** bez ohľadu na vaginálne špinenie alebo krvácanie. Ak je výsledok testu pozitívny, zvyčajne sa opakuje ešte o 2 dni neskôr. Ak je ale výsledok testu negatívny, zastaví sa užívanie progesterónu.

Krok 12 – Sledovanie počiatkov tehotenstva

Je potrebné dôkladne **sledovať** tehotenstvo, **aby sa odhalil prípadný potrat alebo mimomaternicové tehotenstvo** a aby sa **mohli riešiť viacnásobné tehotenstvá**. Pacientky sú zvyčajne prepustené z kliniky do rúk svojho ambulantného gynekológa v 8. až 10. týždni tehotenstva.

Zdroje:

<https://www.sart.org/patients/a-patients-guide-to-assisted-reproductive-technology/general-information/art-step-by-step-guide/>

<https://unsplash.com/photos/ISYvRWrNR5U>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5633563/>

<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/testicular-sperm-aspiration>

<https://www.nbcnews.com/health/features/nation-s-fertility-clinics-struggle-growing-number-abandoned-embryos-n1040806>

<https://lozierinstitute.org/frozen-embryos-and-the-disposition-decision/>

<https://www.verywellfamily.com/mock-embryo-transfer-procedure-1960216>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25864291/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4345740/>

<https://lzz.sk/blog/veda/90-art-asistovana-reprodukna-technologie-krok-za-krokom>