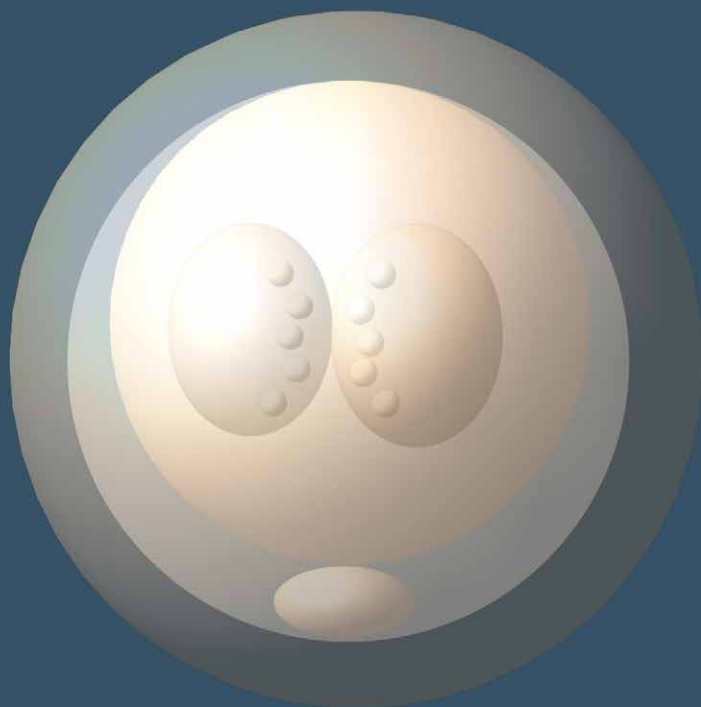


Pavel Trávník

Klinická embryologie

2., přepracované a doplněné vydání



fertimed

MAPO Group

**Umíme to,
po čem Vaše srdce
nejvíc touží.**

FERTIMED patří k prvním centrům asistované reprodukce založeným na území České republiky a pyšní se několika tisíci narozených dětí.

Společnost ročně **provádí až 500 cyklů IVF** s vysokým procentem úspěšnosti a mnoho dalších metod diagnostiky, zejména léčbou neplodnosti. Zároveň poskytuje i ambulantní gynekologickou péči, lékařskou genetiku, laboratorní služby lékařské genetiky, jednodenní chirurgii a prenatální diagnostiku.



FERTIMED, s.r.o.

www.fertimed.cz

T: +420 583 551 555

E: info@fertimed.cz



Pro úspěšné završení těhotenství je nutná kvalitní péče a příjemný přístup. Porodnické oddělení Nemocnice Šumperk zajišťuje **komplexní předporodní, porodní i poporodní péči.**

Usměvavý tým lékařů a sestřiček klade důraz na individuální, profesionální a lidský přístup. **Šumperská porodnice podporuje přirozený průběh porodu, bonding** a minimálně odděluje vás a vaše miminko. Budete se zde cítit jako doma.



Nemocnice Šumperk a.s.

www.porodnicesumperk.cz

📍 Porodnice Šumperk

T: +420 583 332 321

🌐 [pomahame_na_svet](https://www.pomahame_na_svet.cz)



Děkujeme společnostem, které v této publikaci inzerují nebo její vydání jiným způsobem podpořily (v abecedním pořadí):

CooperSurgical Fertility Solutions

MAPO Group a.s.

Merck spol. s r.o.

Microtech IVF s.r.o.

PentaGen s.r.o.

REPROMEDA SERVICES, s.r.o.

Pavel Trávník

Klinická embryologie

2., přepracované a doplněné vydání

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude trestně stíháno.

Automatizovaná analýza textů nebo dat ve smyslu čl. 4 směrnice 2019/790/EU a použití této knihy k trénování AI jsou bez souhlasu nositele práv zakázány.

Pavel Trávník

Klinická embryologie

2., přepracované a doplněné vydání

Editor a autor:

prof. MUDr. Pavel Trávník, DrSc.

REPROMEDA, s. r. o., Brno

Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha

Recenzenti 2. vydání:

RNDr. Renata Hüttelová, Ph.D., MBA

IVF CUBE SE, Praha

prof. MUDr. Radovan Pilka, Ph.D.

Porodnicko-gynekologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

Mikrofotografie v kapitole 12 pochází z archivu Mgr. Kamily Velínské, v kapitole 13 z archivu RNDr. Gabriely Tauwinklové. Ostatní obrázky v publikaci jsou dílem autora, není-li uvedeno jinak.

Cover Photo © prof. MUDr. Pavel Trávník, DrSc., 2024

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2024

© Grada Publishing, a.s., 2024

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 9284. publikaci

Šéfredaktorka lékařské literatury MUDr. Michaela Lizlerová

Odpovědná redaktorka Eva Frašková

Jazyková korektura Hana Reslová

Sazba a zlom Vladimír Vyskočil

Počet stran 552

2., přepracované a doplněné vydání (1. v Grada Publishing, a.s.), Praha 2024

Vytiskly Tiskárny Havlíčkův Brod a.s.

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění však pro autory ani pro nakladatelství nevyplývají žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-271-7333-4 (pdf)

ISBN 978-80-271-5016-8 (print)

Obsah

| | | |
|---|--|-----|
| 1 | Historie klinické embryologie | 1 |
| | Literatura | 5 |
| 2 | Základní embryologické pojmy. | 9 |
| | Literatura | 11 |
| 3 | Odborná terminologie v klinické embryologii a reprodukční medicíně | 13 |
| | Literatura | 27 |
| 4 | Původ pohlavních buněk a vývoj základu pohlavního ústrojí | 29 |
| | 4.1 Primordiální zárodečné buňky | 29 |
| | 4.2 Průběh meiózy | 30 |
| | 4.3 Vývoj indiferentního stadia pohlavního ústrojí | 36 |
| | Literatura | 41 |
| 5 | Mužské pohlavní ústrojí a spermatogeneze | 43 |
| | 5.1 Stavba a funkce mužského pohlavního ústrojí | 43 |
| | 5.2 Vývoj mužského pohlavního ústrojí z indiferentního stadia | 51 |
| | 5.3 Vývoj spermie | 55 |
| | Literatura | 62 |
| 6 | Stavba a fyziologie spermie | 63 |
| | 6.1 Stavba spermie | 63 |
| | 6.2 Fyziologie spermie | 68 |
| | Literatura | 77 |
| 7 | Ženské pohlavní ústrojí a vývoj ovariálního folikulu | 79 |
| | 7.1 Stavba a funkce ženského pohlavního ústrojí | 79 |
| | 7.2 Vývoj ženského pohlavního ústrojí z indiferentního stadia | 86 |
| | 7.3 Vývoj folikulů | 91 |
| | Literatura | 96 |
| 8 | Stavba a fyziologie oocyty. | 97 |
| | 8.1 Stavba oocyty | 97 |
| | 8.2 Fyziologie oocyty | 102 |
| | Literatura | 110 |
| 9 | Ovariální cyklus, hormonální regulace funkce ovarii, menstruace | 115 |
| | 9.1 Hypotalamohypofyzární systém | 115 |
| | 9.2 Hormony účastníci se na regulaci ovariálního cyklu | 117 |
| | 9.3 Ovariální cyklus a menstruace | 119 |
| | 9.4 Vliv hormonů na reprodukční orgány | 123 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 9.5 | Menstruace | 124 |
| 9.6 | Zahájení ovariální činnosti | 125 |
| 9.7 | Ukončení ovariální činnosti | 126 |
| 9.8 | Ovariální stimulace | 126 |
| | Literatura | 131 |
| 10 | Základy reprodukční genetiky | 133 |
| 10.1 | Původ a výskyt genetických vad | 133 |
| 10.2 | Genetické jevy se vztahem k oplození a časné embryogenezi | 145 |
| 10.3 | Genetické příčiny poruch plodnosti | 148 |
| 10.4 | Genetické vyšetření dárců | 159 |
| 10.5 | Možnosti prevence vzniku těhotenských ztrát a vrozených vad | 160 |
| 10.6 | Možnosti zásahu do genetické informace embrya | 163 |
| | Literatura | 167 |
| 11 | Obecná teratologie | 169 |
| 11.1 | Vývojové vady | 169 |
| 11.2 | Základní principy teratogeneze | 170 |
| 11.3 | Příčiny vrozených vad | 171 |
| 11.4 | Mechanismy teratogeneze | 173 |
| 11.5 | Kritické periody | 173 |
| 11.6 | Frekvence vrozených vad | 175 |
| 11.7 | Faktory ovlivňující působení teratogenů | 176 |
| 11.8 | Léčiva v graviditě | 176 |
| 11.9 | Testování na teratogenitu | 178 |
| | Literatura | 179 |
| 12 | Oplození a aktivace oocyty | 181 |
| 12.1 | Oplození | 181 |
| 12.2 | Aktivace oocyty | 194 |
| 12.3 | Blok proti polyspermii | 196 |
| 12.4 | Děje před sjednocením parentálních genomů | 197 |
| 12.5 | Sjednocení parentálních genomů | 199 |
| 12.6 | Přínos gamet embryu | 200 |
| 12.7 | Efektivita oplození <i>in vivo</i> | 201 |
| 12.8 | Chyby v oplození | 201 |
| | Literatura | 203 |
| 13 | Preimplantační vývoj člověka | 207 |
| 13.1 | Vývoj před aktivací embryonálního genomu | 207 |
| 13.2 | Období kompakce a blastulace | 212 |
| 13.3 | Vitalita lidských embryí | 215 |
| 13.4 | Epigenetické reprogramování genomu | 216 |
| 13.5 | Metabolismus embrya a prostředí jeho vývoje | 217 |
| 13.6 | Sekretom preimplantačních embryí | 220 |
| 13.7 | Rozdíly ve vývoji <i>in vivo</i> a <i>in vitro</i> | 220 |
| | Literatura | 222 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 14 | Implantace a časný postimplantační vývoj embrya | 225 |
| 14.1 | Průběh implantace | 226 |
| 14.2 | Molekulární a cytologické mechanismy implantace | 228 |
| 14.3 | Klinické aspekty implantace | 229 |
| 14.4 | Diferenciace trofoblastu | 230 |
| 14.5 | Embryonální struktury, axiální útvary a notogeneze | 231 |
| 14.6 | Extraembryonální struktury | 237 |
| | Literatura | 239 |
| 15 | Přehled organogeneze člověka | 241 |
| 15.1 | Mechanismy embryonálního vývoje | 241 |
| 15.2 | Vývoj trávicího ústrojí a celomu | 242 |
| 15.3 | Vývoj dýchacího ústrojí | 254 |
| 15.4 | Vývoj kardiovaskulárního systému a krevetvorba | 256 |
| 15.5 | Vývoj lymfatického systému | 265 |
| 15.6 | Vývoj močového ústrojí | 265 |
| 15.7 | Vývoj nervového ústrojí | 269 |
| 15.8 | Vývoj smyslových orgánů | 273 |
| 15.9 | Vývoj žláz s vnitřní sekrecí | 275 |
| 15.10 | Vývoj kůže a přídatných kožních orgánů | 278 |
| 15.11 | Vývoj kostry a kosterního svalstva | 280 |
| | Literatura | 288 |
| 16 | Vývoj zevního tvaru zárodku, plodových obalů a placenty | 289 |
| 16.1 | Vývoj zevního tvaru | 289 |
| 16.2 | Vývoj plodových obalů a placenty | 293 |
| | Literatura | 300 |
| 17 | Přehled vývoje a růstu embrya a plodu v čase. | 301 |
| | Literatura | 308 |
| 18 | Těhotenství a porod | 309 |
| 18.1 | Diagnostika těhotenství | 309 |
| 18.2 | Průběh těhotenství a změny v těle ženy | 312 |
| 18.3 | Vyšetřování v těhotenství | 312 |
| 18.4 | Komplikace těhotenství | 312 |
| 18.5 | Poloha, postavení, držení a naléhání plodu | 321 |
| 18.6 | Porod | 324 |
| 18.7 | Známky zralosti plodu | 325 |
| 18.8 | Základní údaje o novorozenci | 326 |
| | Literatura | 327 |
| 19 | Příčiny neplodnosti páru | 329 |
| 19.1 | Mužská neplodnost | 329 |
| 19.2 | Ženská neplodnost | 332 |
| | Literatura | 337 |

| | | |
|----|--|-----|
| 20 | Laboratorní metody a přístrojová technika | 339 |
| | 20.1 Fyzikální principy centrifugace | 339 |
| | 20.2 Teplota a její měření | 342 |
| | 20.3 Koncentrace vodíkových iontů a její měření, pufry | 344 |
| | 20.4 Redukce a oxidace, volné radikály. | 348 |
| | 20.5 Osmotická koncentrace a osmotický tlak | 349 |
| | 20.6 Vlastnosti plynů používaných při kultivaci embryí | 350 |
| | 20.7 Tuhnutí a tání roztoků, vitifikace | 351 |
| | 20.8 Stavba a funkce světelného mikroskopu | 353 |
| | 20.9 Laser a jeho vliv na buňku | 361 |
| | 20.10 Umělá inteligence | 364 |
| | 20.11 Proudění vzduchu | 368 |
| | 20.12 Principy mikrofluidiky | 369 |
| | 20.13 Materiály používané v asistované reprodukci | 370 |
| | Literatura | 372 |
| 21 | Principy fungování embryologické laboratoře, řízení kvality | 375 |
| | 21.1 Nároky na kvalifikaci pracovníků | 375 |
| | 21.2 Nároky na prostory embryologické laboratoře | 376 |
| | 21.3 Technické zabezpečení | 376 |
| | 21.4 Logistika | 377 |
| | 21.5 Organizace a komunikace | 378 |
| | 21.6 Čistota prostředí | 378 |
| | 21.7 Systém řízení kvality | 384 |
| | 21.8 Hlavní rizika ochrany a bezpečnosti práce v embryologické laboratoři | 389 |
| | Literatura | 392 |
| 22 | Analýza spermatu | 393 |
| | 22.1 Složení ejakulátu | 394 |
| | 22.2 Přehled patologie ejakulátu | 395 |
| | 22.3 Příprava ejakulátu pro analýzu | 396 |
| | 22.4 Analýza spermatu | 396 |
| | 22.5 Interpretace měření. | 407 |
| | Literatura | 411 |
| 23 | Zpracování spermatu | 413 |
| | 23.1 Získání a zpracování ejakulátu | 413 |
| | 23.2 Zpracování chirurgicky získaného materiálu | 417 |
| | 23.3 Techniky založené na cílené separaci | 419 |
| | 23.4 Krátkodobé uchovávání spermií | 420 |
| | 23.5 Hromadění spermií u oligozoospermie | 420 |
| | 23.6 Zpracování kryokonzervovaných spermií | 420 |
| | 23.7 Zpracování ejakulátu nositelů infekcí | 420 |
| | 23.8 Požadavky jednotlivých metod na zpracování a kvalitu spermií | 421 |
| | Literatura | 422 |

| | | |
|----|--|-----|
| 24 | Růst a maturace oocytů <i>in vitro</i> | 425 |
| | 24.1 Aktivace a růst folikulů <i>in vitro</i> | 425 |
| | 24.2 Maturace <i>in vitro</i> | 426 |
| | Literatura | 431 |
| 25 | Metody oplození <i>in vitro</i> | 433 |
| | 25.1 Ochrana oocyty před poškozením | 433 |
| | 25.2 Metody rozeznání zdravého oocyty. | 433 |
| | 25.3 Postupy při oplození | 436 |
| | 25.4 Piezo-ICSI | 446 |
| | 25.5 Umělá aktivace oocyty | 447 |
| | 25.6 Metody pro zvýšení pohyblivosti spermií | 447 |
| | 25.7 Hodnocení výsledku fertilizace | 448 |
| | 25.8 Rizika oplození <i>in vitro</i> | 448 |
| | Literatura | 449 |
| 26 | Kultivace embryí | 451 |
| | 26.1 Strategie kultivace <i>in vitro</i> | 451 |
| | 26.2 Délka a provedení kultivace | 451 |
| | 26.3 Kultivační systémy | 456 |
| | 26.4 Kultivační média | 460 |
| | 26.5 Kultivační misky | 464 |
| | 26.6 Faktory ovlivňující výsledek kultivace | 464 |
| | Literatura | 467 |
| 27 | Hodnocení kvality oocytů a embryí | 469 |
| | 27.1 Statické hodnocení morfologie | 469 |
| | 27.2 Hodnocení pomocí semikontinuálního záznamu (time-lapse) | 476 |
| | 27.3 Vyšetření metabolomu a sekretomu | 478 |
| | Literatura | 481 |
| 28 | Biopsie embryí | 483 |
| | 28.1 Otevření zony | 483 |
| | 28.2 Biopsie pólocytů. | 484 |
| | 28.3 Biopsie blastomer | 485 |
| | 28.4 Biopsie trofektodermu | 487 |
| | 28.5 Odběr vzorku extraembryonálního materiálu | 488 |
| | 28.6 Rizika kontaminace biopsie | 488 |
| | Literatura | 489 |
| 29 | Kryokonzervace spermií, oocytů a embryí | 491 |
| | 29.1 Kryoprotektiva | 491 |
| | 29.2 Pomocné látky. | 492 |
| | 29.3 Chladicí prostředky. | 493 |
| | 29.4 Ochrana buněk při kryokonzervaci. | 493 |
| | 29.5 Metody kryokonzervace | 494 |
| | 29.6 Kryokonzervace jednotlivých typů gamet a embryí. | 495 |

| | | |
|------|---|-----|
| 29.7 | Uzavírání pejet | 501 |
| 29.8 | Uchovávání a transport kryokonzervovaného materiálu | 501 |
| | Literatura | 502 |
| 30 | Preimplantační genetické testování | 505 |
| 30.1 | Odběr materiálu. | 506 |
| 30.2 | Příprava vzorku | 506 |
| 30.3 | Celogenomová amplifikace DNA | 506 |
| 30.4 | Metody genetického vyšetření. | 506 |
| 30.5 | Zdroje chyb | 511 |
| 30.6 | Problém mozaicistních embryí | 511 |
| 30.7 | Klinické aspekty preimplantačního genetického testování | 511 |
| | Literatura | 513 |
| 31 | Transfer embrya | 515 |
| 31.1 | Příprava na transfer embrya | 515 |
| 31.2 | Technika transferu | 518 |
| 31.3 | Komplikace transferu a příčiny selhání transferu embrya | 520 |
| | Literatura | 522 |
| | Seznam zkratk. | 523 |
| | Rejstřík | 530 |
| | Souhrn | 537 |
| | Summary | 539 |

r e p r o m e d a

KLINIKA REPRODUKČNÍ MEDICÍNY

Od embrya po klubíčko štěstí v náručí.



Pomocí preimplantačního
genetického testování jsme vyšetřili

více než **55 000** embryí.

Poděkování

Ke druhému vydání této knihy mě vedla potřeba zachytit pokrok v klinické embryologii a reprodukční medicíně, který je za uplynulých pět let dobře patrný a jehož následování přispívá k vysoké úrovni reprodukční medicíny v České republice.

Chtěl bych poděkovat vedení společnosti REPRONEDA s.r.o., jmenovitě MUDr. Kateřině Veselé, Ph.D., a MUDr. Janu Veselému, CSc., za vytvoření skvělé pracovní atmosféry, založené na vysoké odbornosti a respektu k pacientům i pracovníkům. Děkuji jim rovněž za mimořádnou podporu odborného vzdělávání a vědecké a publikační činnosti.

Můj velký dík patří kolegům, kteří mi pomohli svými připomínkami k textu knihy, zejména MVDr. Ladislavě Jelínkové, CSc. (PRONATAL), a RNDr. Evě Oráčové, Ph.D., RNDr. Gabriele Tauwinklové a Mgr. Davidu Kubíčkovi, Ph.D. z našeho pracoviště. RNDr. Gabriele Tauwinklové a Mgr. Kamile Velínské děkuji za poskytnutí mikrofotografií.

Své ženě a celé rodině děkuji za trpělivou podporu.

Pavel Trávník

1 Historie klinické embryologie

Klinická embryologie je zdravotnický a vědecký obor, který je podstatnou součástí asistované reprodukce. Hlavní náplní práce klinického embryologa jsou diagnostické a terapeutické výkony na lidských spermích, oocytech a embryích, včetně mimotělního oplození, pěstování embryí mimo mateřský organismus, odběru vzorků z embryí pro genetické vyšetření a výběru embryí pro transfer do dělohy. Teoreticky se obor zabývá vývojem gamet, procesy při oplození a časném embryonálním vývoji, implantací embrya a jeho vývojem po implantaci.

Pravděpodobně prvním autorem, který již v 16. století popsal ovariální folikuly a corpus luteum, byl významný bruselský anatom A. Vesalius. Objevení ovariálního folikulu je ovšem přisuzováno R. de Graafovi a velké antrální folikuly jsou dodnes nazývány Graafovy folikuly. V roce 1677 uveřejnil A. van Leeuwenhoek svá pozorování o savčích spermích. V roce 1827 C. E. von Baer našel vajíčko v ovariálním folikulu feny. V této souvislosti je třeba vzpomenout základní objev našeho J. E. Purkyně z roku 1825, který v ptačím vajíčku popsal vesicula germinativa – zárodečný měchýřek, se vznikem buněčné teorie identifikovaný jako buněčné jádro. Dodnes je ve vědecké literatuře jádro oocyty před uvolněním meiózy označováno jako zárodečný měchýřek (germinal vesicle, GV).

Prvním zdrojem poznatků pro klinickou embryologii a asistovanou reprodukci u člověka byly experimentální práce na zvířatech, publikované řadou autorů v posledních 120 letech.

Snahy o oplození savčích vajíček *in vitro* se datují rokem 1878, kdy pokusy s králíci a morčecími oocyty popsal vídeňský S. L. Schenk. První přenos savčích (králíčích) embryí do dělohy uskutečnil v roce 1890 W. Heape a jeho výsledkem byl porod šesti mláďat. V roce 1930 byl úspěšný G. Pincus, oplozil *in vitro* králíčí oocyty spermii z nadvarlete. Pozoroval vznik pronukleárního stadia a rýhování vajíčka. O čtyři roky později spolu s E. V. Enzemannem transferovali králíčí oocyty po krátkodobé inkubaci s epididymálními spermii zpět příjemkyni a výsledkem bylo těhotenství a porod životaschopných mláďat. J. Rock a M. F. Menkin popsali v roce 1944 oplození lidského oocyty *in vitro* a jeho vývoj do dvou- a třibuněčného stadia. J. Hammond roku 1949 s úspěchem kultivoval osmibuněčná myší embrya až do stadia blastocysty. Tyto pokusy byly většinou málo podloženy znalostí potřebného kultivačního prostředí a jejich výsledky byly do značné míry dílem náhody.

Významným poznatkem, nezávisle na sobě získaným C. R. Austinem a M. C. Changem v roce 1951, bylo zjištění, že pro oplozovací schopnost spermie je nezbytný její předchozí pobyt v genitálním traktu samice; jednalo se o objev kapacity spermie.

Důležitou z hlediska endokrinologických přístupů k asistované reprodukci byla práce Changova z roku 1955, ve které popsal indukci zrání oocyty *in vivo* injekcí lidského choriového gonadotropinu. A. McLarenové a J. D. Biggersovi (1958) se podařilo transferovat kultivovanou myší blastocystu do dělohy jiné samice s následným dalším normálním vývojem embrya. M. C. Chang uskutečnil v roce 1959 fertilizaci *in vitro* a transfer embrya u králíka.

Se začátky lidské asistované reprodukce je spjat R. G. Edwards a jeho spolupracovníci, kteří založili svůj klinický výzkum na experimentálních poznatcích. V roce

1965 poprvé psal o lidských gametách (zrání lidských oocytů *in vitro*), v roce 1966 popsal společně s R. P. Donahuem, T. A. Baramkimem a H. W. Jonesem první pokusy o fertilizaci lidských oocytů. První stadia vývoje po oplození publikoval v roce 1969 s B. D. Bavisterem a P. C. Steptoem.

Za završení experimentální přípravy klinické aplikace a skutečný začátek asistované reprodukce můžeme považovat práci publikovanou v roce 1971 v *Nature* společně s P. C. Steptoem a J. M. Purdym, v níž prokázali možnost reprodukovatelně kultivovat časná lidská embrya *in vitro* do stadia blastocysty. Vedle embryologických výzkumů se v této době R. G. Edwards podílel i na zdokonalení metod stimulace vaječníků, odběru oocytů a dalších metod nutných pro praktickou aplikaci.

S blížící se klinickou aplikací bylo třeba řešit i řadu etických problémů. Už v roce 1974 publikoval R. G. Edwards rozsáhlou práci o morálních, etických a právních problémech oplození lidských vajíček *in vitro*.

Pro možnost odběru ovariálních vajíček u žen byla významná aplikace laparoskopie v gynekologii, jejímž průkopníkem byl P. C. Steptoe, který do roku 1968 provedl více jako 1 300 laparoskopických výkonů.

První výsledek klinické aplikace oplození *in vitro* publikovali P. C. Steptoe a R. G. Edwards v roce 1976 v časopise *Lancet*, těhotenství tehdy skončilo jako mimoděložní. První zcela úspěšný výsledek popsali v roce 1978 v tomtéž časopise, narozeným dítětem byla známá Louise Brownová.

Práce R. G. Edwardse byla v roce 2010 oceněna zcela po zásluze Nobelovou cenou, jeho dlouholetý spolupracovník P. C. Steptoe se této pocty nedožil.

A. Trounson a L. Mohr popsali v roce 1983 těhotenství u člověka po kryokonzervací a následném transferu osmibuněčného embrya.

Je nepopiratelnou skutečností, že Brno je možno považovat za kolébku metod asistované reprodukce v České republice a jedno z nejvýznamnějších center výzkumu a aplikace reprodukční biologie a klinické embryologie v Evropě. Metody asistované reprodukce jsou založeny na dokonalé znalosti časně embryologie člověka a fyziologie lidské reprodukce.

První teoretické základy embryologie člověka byly položeny v Brně již před II. světovou válkou tehdejšími přednostou Ústavu histologie a embryologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity prof. MUDr. J. Florianem, který však byl zavražděn v koncentračním táboře a nemohl své dílo dokončit. Mimořádného rozvoje dosáhla tato disciplína v poválečném období zásluhou prof. MUDr. K. Mazance, který zavedl do studia časných savčích embryí elektronovou mikroskopii a histochemické metody a publikoval v několika jazycích svou monografii *Blastogenesa člověka*.

Na tyto klasiky navázala experimentální práce kolektivu vedeného prof. MUDr. M. Dvořákem, jehož stěžejními členy byli prof. MUDr. et RNDr. Svatoopluk Čech, MUDr. Helena Konečná, MUDr. Jana Staňková, doc. MUDr. Jitka Šťastná, MUDr. Jan Tesařík a doc. MUDr. Pavel Trávník. Tato práce se věnovala podrobnému studiu ultrastruktury a histochemie časných savčích embryí a vyústila v uveřejnění řady prioritních publikací v zahraničí, včetně dvou monografií s mezinárodním ohlase.

Když se v roce 1978 narodila ve Velké Británii Luise Brownová, byla to velká inspirace pro připravené. První spolupráci na perspektivní klinické aplikaci dohodli prof. MUDr. M. Uher, tehdejší přednosta I. ženské kliniky, a prof. MUDr. M. Dvořák, tehdejší přednosta katedry histologie a embryologie. Na přípravných schůzkách se

v letech 1979–1980 formoval tým těch, kteří vymýšleli a vypracovávali postupy práce a za pomoci řady spolupracovníků je uskutečňovali – embryologové MUDr. J. Tesařík a doc. MUDr. P. Trávník a gynekolog MUDr. L. Pilka.

Tvrdá práce ve více než skromných podmínkách přinesla první výsledky. V roce 1982 se přičiněním výše uvedeného týmu narodilo první dítě „ze zkumavky“ nejen v tehdejší Československu, ale i ve střední a východní Evropě. Tento zdravý hoch je v současné době už dospělý.

S odchodem prof. MUDr. L. Pilky na II. ženskou kliniku se rozšířil počet pracovišť provádějících výkony asistované reprodukce, na I. ženské klinice se problematiky asistované reprodukce ujal MUDr. P. Ventruba, žák prof. Pilky. S prof. Pilkou odešel na II. ženskou kliniku jeho další žák, MUDr. Jan Veselý.

Mimo Brno se brzo začala asistovaná reprodukce rozvíjet na lékařské fakultě Univerzity Palackého v Olomouci pod vedením prof. MUDr. Františka Gazárka a na ÚPMD v Praze pod vedením doc. MUDr. Tonka Mardešiče.

Pracoviště dále rozvíjela i nové diagnostické a léčebné postupy pro neplodné páry. Některé z těchto metod ztratily postupem času na významu, některé se naopak staly trvalým přínosem a vyvinuly se z nich standardní postupy. Zkušenosti a poznatky týmu z prvních deseti let aplikace asistované reprodukce byly shrnuty v roce 1990 v monografii *Oplození in vitro* a přenos embrya při léčbě lidské neplodnosti autorů M. Dvořáka, Z. Čupra, L. Pilky, J. Tesaříka a P. Trávníka.

Devadesátá léta přinesla podstatné zlepšení materiálních podmínek pro léčbu neplodnosti metodami asistované reprodukce. Změny ve společnosti i ve zdravotnictví vyústily ve vznik prvních nestátních center asistované reprodukce v ČR.

Od 80. let minulého století se velmi zdokonalily výsledky kryokonzervace spermií, vajíček i časných embryí. Lze je beze ztráty životaschopnosti uchovat při nízké teplotě pro další použití a aplikovat jak v případech, kdy byl předchozí transfer embrya neúspěšný, tak i tam, kde žena dítě úspěšně porodí a chce mít další. V řadě případů je vhodné kryokonzervovat všechna embrya a k transferu přistoupit až po zotavení ženy z hormonálních změn spojených s přípravou na odběr oocytů.

Další významné zdokonalení úspěšnosti kryokonzervace přineslo široké zavedení metody vitifikace oocytů a embryí. Základy metody byly vypracovány v 80. letech 20. století, širokého využití se metoda dočkala se zavedením výroby kvalitních souprav a kryoprotektivních médií začátkem 21. století. V současné době je transfer vitifikovaných embryí stejně úspěšný jako transfer embryí čerstvých.

Krokem k dobrému poznání vývoje časných lidských embryí a obohacením metody asistované reprodukce bylo rutinní zavedení semikontinuálního záznamu vývoje embryí (time-lapse) přímo v inkubátorech. Tato metoda má potenciál pro zlepšení výběru nejkvalitnějších embryí k transferu a představuje v současné době jedinou prakticky používanou neinvazivní diagnostickou metodu k vyšetření a výběru embryí. Zároveň značnou měrou přispěla k rozvoji poznání časného embryonálního vývoje.

Velkého rozvoje dosáhlo preimplantační genetické testování, které umožňuje přenášet do dělohy embrya bez chromozomové vady (například translokace) či škodlivé mutace (cystická fibróza, hemofilie, neurofibromatóza, spinální svalová atrofie a mnoho dalších). Impulzem k rozvoji preimplantačního genetického testování bylo užití komparativní genové hybridizace na arrayích (mikročipech), což

dávalo možnost vyšetřit více odchylek a na všech chromozomech současně. Metoda využívající komparativní genové hybridizace byla nahrazena sekvenováním nové generace, které dále rozšiřuje možnosti diagnostiky. Pro diagnostiku monogenních chorob se s výhodou používá metody karyomappingu, metody umožňující současné vyšetření aneuploidií, kterou zavedl A. Handyside v roce 2010. Preimplantační genetické testování se postupně stává standardní součástí léčby pomocí asistované reprodukce. Na jeho zavedení v České republice a rozvoji v mezinárodním měřítku se podstatnou měrou zasloužil brněnský kolektiv vedený MUDr. Kateřinou Veselou.

Zvýšila se bezpečnost hormonální stimulace vaječnicků a snížil se podíl vícečetných těhotenství. Podíl těhotných po užití metod asistované reprodukce dosahuje více než 50 % na jeden pokus a kumulativní úspěšnost (se započtením transferů kryokonzervovaných embryí z téhož odběru vajíček) přesahuje 80 %. Podíl dětí narozených po užití metod asistované reprodukce se v evropských státech pohybuje od 4 do 15 %. Naprostá většina párů, které byly nedobrovolně bezdětné, má v současnosti reálnou šanci na narození dítěte. Podobně je tomu u vrozených vad, kdy už nejsme odkázáni na prenatální diagnostiku s následným ukončením těhotenství s těžkým postižením plodu.

Postupně jsou zdokonalovány metody detekce správného časového úseku pro transfer embrya a vyšetření děložního prostředí z hlediska jeho vlivu na implantaci transferovaných embryí, včetně moderních metod detekce mikrobiálního prostředí dělohy.

Standardem se postupně stává genetické vyšetření párů před provedením asistované reprodukce jednak s cílem zpřesnit diagnostiku příčin jejich snížené plodnosti, jednak k zábraně vzniku závažných dědičných onemocnění a v neposlední řadě pro racionalizaci léčby a správné dávkování léků.

Velmi pečlivě je sledován zdravotní stav dětí narozených po metodách asistované reprodukce. Dosavadní výsledky ukazují, že se prakticky neliší od populace přirozeně počatých dětí. Je ovšem třeba počítat s tím, že příčiny neplodnosti jsou velmi často genetické a mohou být spojeny i s postižením orgánů mimo reprodukční ústrojí. Tímto fenoménem je třeba se podrobně zabývat a využít ve větší míře preimplantační genetické testování.

S rozvojem vědy a zdravotnických aplikací se ukázala potřeba oficiálního vzdělávání odborníků v laboratořích asistované reprodukce. Po dlouhém úsilí odborné společnosti, Asociace reprodukční embryologie, se podařilo prosadit vznik samostatného specializačního oboru. V roce 2010 byl nařízením vlády zřízen specializační obor Klinická embryologie, v roce 2016 bylo ustaveno při Institutu pro postgraduální vzdělávání ve zdravotnictví v Praze výukové pracoviště klinické embryologie. V roce 2017 byl v rámci novely zákona zaveden specifický akreditovaný kurz Laboratorní metody v asistované reprodukci. Tím byla završena soustava postgraduálního zdravotnického vzdělávání pro pracovníky v klinické embryologii.

V posledních letech bylo otevřeno několik pregraduálních magisterských oborů přípravy odborníků v klinické embryologii, což dále přinese zkvalitnění práce v metodách asistované reprodukce.

Souhrn

První poznatky o reprodukčním ústrojí byly shromažďovány od 16. do 20. století, nejvíce informací bylo ale získáno v posledních 120 letech. Nejvýznamnější znalosti fyziologie reprodukce byly získány v 60.–80. letech 20. století skupinou vedenou R. G. Edwardsem a P. C. Steptoeem. Tato skupina je využila k prvnímu úspěšnému provedení oplození *in vitro* v roce 1978, jež vedlo k narození prvního takto počatého dítěte na světě. V tehdejší Československu se problematice asistované reprodukce věnoval brněnský kolektiv na I. porodnicko-gynekologické klinice, první dítě počaté metodami asistované reprodukce se zde narodilo v roce 1982. V 90. letech došlo ke vzniku řady privátních center asistované reprodukce a k neobyčejnému rozvoji metod reprodukční medicíny. Jedním ze zásadních kroků bylo zavedení preimplantačního genetického testování, které bylo v České republice zavedeno v roce 2001 v Brně kolektivem vedeným K. Veselou. V současné době jsou reprodukční medicína a klinická embryologie uznávanými zdravotnickými obory se specializačním vzděláváním.

LITERATURA

- Čech S, Dvořák M, Konečná H. Ultrastructure of the human oocyte. *Folia Morphol* (Praha). 1973;21(3):278–280.
- Dvořák M, Trávník P, Staňková J, et al. Lamellar structures in rat ova and their chemical composition. *Z Mikrosk Anat Forsch*. 1975;89(5):915–921.
- Dvořák M, Šťastná J, Čech S, et al. The differentiation of rat ova during cleavage. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 1978;55(2):3–131.
- Dvořák M, Tesařík J, Pilka L, Trávník P. Fine structure of human two-cell ova fertilized and cleaved in vitro. *Fertil Steril*. 1982;37(5):661–667. doi: 10.1016/s0015-0282(16)46279-5.
- Dvořák M, Trávník P, Staňková J. A quantitative analysis of the incidence of certain cytoplasmic structures in the ovum of the rat during cleavage. *Cell Tissue Res*. 1977;179(3):429–437. doi: 10.1007/BF00221112.
- Dvořák M, Čupr Z, Pilka L, et al. Oplození *in vitro* a přenos embrya při léčbě lidské neplodnosti. Brno: Masarykova univerzita, 1990. ISBN 80-210-0166-6.
- Edwards RG, Donahue RP, Baramki TA, Jones HW Jr. Preliminary attempts to fertilize human oocytes matured in vitro. *Am J Obstet Gynecol*. 1966;15;96(2):192–200. doi: 10.1016/0002-9378(66)90315-2.
- Edwards RG, Fowler RE. Human embryos in the laboratory. *Sci Am*. 1970;223(6):44–54. doi: 10.1038/scientificamerican1270-44.
- Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Fertilization and cleavage in vitro of preovulator human oocytes. *Nature*. 1970;227(5265):1307–1309. doi: 10.1038/2271307a0.
- Edwards RG, Steptoe PC. Induction of follicular growth, ovulation and luteinization in the human ovary. *J Reprod Fertil Suppl*. 1975;(22):121–163.
- Edwards RG. Fertilization of human eggs in vitro: morals, ethics and the law. *Q Rev Biol*. 1974;49(1):3–26. doi: 10.1086/407901.
- Edwards RG. Physiological aspects of human ovulation, fertilization and cleavage. *J Reprod Fertil Suppl*. 1973;18:87–101.
- Edwards RG. Studies on human conception. *Am J Obstet Gynecol*. 1973;117(5):587–601. doi: 10.1016/0002-9378(73)90202-0.
- Edwards RG. The culture of pre-implantation mammalian embryos. *Proc R Soc Med*. 1969;62(2):143–144.

- Hammond J Jr. Recovery and culture of tubal mouse ova. *Nature*. 1949;163(4131):28. doi: 10.1038/163028b0.
- Handyside AH, Harton GL, Mariani B, et al. Karyomapping: a universal method for genome wide analysis of genetic disease based on mapping crossovers between parental haplotypes. *J Med Genet*. 2010;47(10):651–658. doi: 10.1136/jmg.2009.069971.
- Handyside AH, Montag M, Magli MC, et al. Multiple meiotic errors caused by predivision of chromatids in women of advanced maternal age undergoing in vitro fertilisation. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(7):742–7. doi: 10.1038/ejhg.2011.272.
- Harper JC, Sengupta S, Vesela K, et al. Accreditation of the PGD laboratory. *Hum Reprod*. 2010;25(4):1051–1065. doi: 10.1093/humrep/dep450.
- Hromadová L, Tokareva I, Veselá K, et al. Endometrial Receptivity Analysis – a tool to increase an implantation rate in assisted reproduction. *Ceska Gynekol*. 2019;84(3):177–183.
- Chang MC. Development of fertilizing capacity of rabbit spermatozoa in the uterus. *Nature*. 1955;175(4467):1036–1037. doi: 10.1038/1751036a0.
- Chang MC. Fertilization and normal development of follicular oocytes in the rabbit. *Science*. 1955;121(3155):867–869. doi: 10.1126/science.121.3155.867.
- Mazanec K. Blastogenese des Menschen. VEB Gustav Fischer Verlag, 1959, 179 s.
- McLaren A, Biggers JD. Successful development and birth of mice cultivated in vitro as early as early embryos. *Nature*. 1958;182(4639):877–878. doi: 10.1038/182877a0.
- Pilka L, Tesarík J, Dvorák M, Trávník PU. Těhotenství po přenosu oocytu oplozeného in vitro do vejcovodu [Pregnancy after transfer of the oocyte fertilized in vitro into the fallopian tube]. *Cesk Gynekol*. 1982;47(8):564–570.
- Pilka L, Trávník P, Tesarík J. Diagnose der grundlegenden Sterilitätsursache des Ehepaares mittels einer laparoskopischen Untersuchung [Diagnosis of the principle cause for sterility in a couple, based on laparoscopic examination]. *Zentralbl Gynakol*. 1983;105(8):487–492.
- Step toe PC, Edwards RG, Purdy JM. Clinical aspects of pregnancies established with cleaving embryos grown in vitro. *Br J Obstet Gynaecol*. 1980;87(9):757–768. doi: 10.1111/j.1471-0528.1980.tb04611.x.
- Step toe PC, Edwards RG, Purdy JM. Human blastocysts grown in culture. *Nature*. 1971;229(5280):132–133. doi: 10.1038/229132a0.
- Step toe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978;2(8085):366. doi: 10.1016/s0140-6736(78)92957-4.
- Step toe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet*. 1976;1(7965):880–882. doi: 10.1016/s0140-6736(76)92096-1.
- Tesarík J, Dvorák M. Ultrastructure of the human ovum fertilized in vitro. *Folia Morphol (Praha)*. 1981;29(3):297–304.
- Tesarík J, Pilka L, Dvorák M, Trávník P. Oocyte recovery, in vitro insemination, and transfer into the oviduct after its microsurgical repair at a single laparotomy. *Fertil Steril*. 1983;39(4):472–475. doi: 10.1016/s0015-0282(16)46934-7.
- Tesarík J, Pilka L, Dvorák M, Trávník P. Vývoj lidského embrya in vitro do stadia moruly. *Cesk Gynekol*. 1982;47(5):324–327.
- Trávník P, Zimová M. Quantitative representation of ribosomes during cleavage of the mouse ovum. *Folia Morphol (Praha)*. 1984;32(1):9–15.
- Trávník P. Cytochemical demonstration of non-specific esterase in the cleaving rat ovum. *Folia Morphol (Praha)*. 1978;26(4):362–367.
- Trávník P. Incidence and localization of lipids in the mouse oocyte and cleaving ovum. *Folia Morphol (Praha)*. 1981;29(3):292–296.

- Trávník P. Treatment of mammalian ova for the demonstration of nucleoprotein structures. *Folia Morphol (Praha)*. 1979;27(1):6–8.
- Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983;305(5936):707–709. doi: 10.1038/305707a0.
- Veselá K, Tauwinklová G, Trávník P, et al. Preimplantační genetická diagnostika (PGD) chromosomálních aberací metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) – úvod do problematiky, přehled metod při odběru materiálu a technika vyšetření. *Cesk Gynecol*. 2003;68(2):89–94.
- Veselá K, Trávník P. Problematika onkofertility – principy bezpečné reprodukce onkologických pacientů a možnosti uchování jejich fertility pomocí technik reprodukční medicíny. *Hereditární nádorová onemocnění v klinické praxi*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2022, 109–117. ISBN: 978-80-271-1293-7.
- Veselá K, Trávník P. Význam preimplantačního genetického testování (PGT-M) u dědičné dispozice k nádorům. *Hereditární nádorová onemocnění v klinické praxi*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2022, 99–107. ISBN: 978-80-271-1293-7.

2 Základní embryologické pojmy

Pro porozumění jednotlivým kapitolám této knihy je nezbytné dobře znát používané termíny, počítání času a používané jednotky.

Časové údaje o vývoji zárodka uvádíme ve dnech, týdnech nebo měsících, přičemž v embryologii a porodnictví máme na mysli tzv. lunární měsíce v délce 28 dní. Celé těhotenství u člověka trvá potom 280 dní či 40 týdnů neboli 10 měsíců od data poslední menstruace, případně 265 dnů od početí.

Určitá diskrepance mezi embryologickým a porodnickým datováním je dána tím, že v embryologii je zvykem počítat stáří zárodka od oplození, kdežto v porodnictví od poslední menstruace, takže rozdíl mezi oběma údaji je + 14 dní u porodnického datování vzhledem k embryologickým údajům. Porodnické datování se označuje jako gestační stáří (gestační věk). Vždy je třeba si uvědomit, o jaké datování jde.

Pod pojmem zárodek je zahrnuto celé vyvíjející se lidské individuum, včetně placenty a plodových obalů. Embryem nazýváme lidský zárodek obvykle od implantace do konce 8. týdne od oplození (10. týdne gestačního stáří), předtím hovoříme o časném nebo preimplantačním embryu. Od začátku 9. týdne od oplození (11. týdne gestačního stáří), kdy jsou vytvořeny všechny základní orgánové systémy, nazýváme zárodek plodem (fetus).

Vývoj od oplození po diferenciaci všech orgánů probíhá cestou kmenových buněk. První fází diferenciace je odlišení embryoblastu a trofoblastu, poté se embryoblast diferenciuje na epiblast a hypoblast. Epiblast dá vznik gonocytům, ektodermu a primitivnímu proužku. Gonocyty se v pozdějším vývoji diferencují na kmenové buňky mužských nebo ženských pohlavních buněk, z ektodermu se vyvine neuroektoderm a pokožka, z primitivního proužku vzniká entoderm a mezoderm (obr. 2.1).

Mechanismy embryonálního vývoje jsou velmi složité, jsou řízeny řadou genů. Přitom hraje velkou úlohu skupina homeoboxových genů, které tvoří supertřídu kódující transkripční regulační faktory. Jejich prostřednictvím se realizuje vývojový vzorec jedince. Významné pro embryogenezi jsou proteinkinázy, růstové faktory a hormony. Pod jejich vlivem dochází k proliferaci (množení) buněk, jejich diferenciaci v důsledku zapojování některých částí genetické informace a represe jiných, zárodečné tkáně působí látkami zvanými induktory na okolní tkáně, a ovlivňují tak diferenciaci jejich buněk. Velkou úlohu hraje rovněž vzájemné ovlivnění buněk prostřednictvím přímých mezibuněčných kontaktů např. prostřednictvím gap junctions.

Velmi charakteristickým jevem je migrace buněk na často velmi vzdálená místa. Na řízení této migrace se podílejí glykoproteiny na povrchu buněk. Mnoho buněk v průběhu embryonálního vývoje zaniká, zejména cíleně apoptózou (programovaná buněčná smrt), a vytvářejí se tak štěrbiny, lumina orgánů a podobně. Je třeba si uvědomit, že zárodek neustále velmi intenzivně roste, a právě disproportionální růst jednotlivých orgánů a tkání vysvětluje změny tvaru a výrazné změny polohy jednotlivých orgánů vůči sobě navzájem.

V posledních 30 letech došlo ke zvýraznění úlohy embryologie přímo v klinické praxi. Souvisí to jednak s nesmírným rozvojem přístrojové techniky v medicíně a s tím, že byly opuštěny strnulé popisné metody dříve používané v embryologii, jednak s uplatněním metod kultivace buněk, tkání a embryí *in vitro* a zdokonalením

Vážený čtenáři, právě jste dočetli ukázkou z knihy ***Klinická embryologie***.
Pokud se Vám ukáзка líbila, na našem webu si můžete zakoupit celou knihu.