



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

Katedra biomedicínské techniky

**Vyhodnocení přínosů využití umělé inteligence v průběhu in vitro
fertilizace neplodného páru**

**Evaluation of the benefits of using artificial intelligence during in
vitro fertilization of an infertile couple**

Diplomová práce

Studijní program: Systémová integrace procesů ve zdravotnictví

Vedoucí práce: Ing. Gleb Donin, Ph.D.

Bc. Adéla Dinhová

Kladno 2022



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Dinhová** Jméno: **Adéla** Osobní číslo: **503727**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra biomedicínské techniky**
Studijní program: **Systémová integrace procesů ve zdravotnictví**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Vyhodnocení přínosů využití umělé inteligence v průběhu in vitro fertilizace neplodného páru

Název diplomové práce anglicky:

Evaluation of the benefits of using artificial intelligence during in vitro fertilization of an infertile couple

Pokyny pro vypracování:

Cílem diplomové práce je zhodnocení přínosů metody Time-lapse imaging využívané v průběhu in vitro fertilizace. Identifikujte a zhodnoťte přínosy a potenciační rizika při používání této technologie. Analyzujte předchozí studie zaměřené na vliv a vývoj budoucích embryí a výsledky následně porovnejte. Provedte sběr primárních dat a vyhodnoťte klinickou účinnost, dopad na úspěšnost implantace a nákladovou efektivitu Time-lapse imaging v porovnání s metodou Benchtop.

Seznam doporučené literatury:

- [1] GALLEGO, Raquel Del, José REMOHÍ, Marcos MESEGUER a David K GARDNER, Time-lapse imaging: the state of the art, Biology of Reproduction, ročník 101, číslo 6, 2019, doi:10.1093/biolre/ioz035
- [2] GARCEAU, L., economic implications of assisted reproductive techniques: a systematic review, Human Reproduction, ročník 17, číslo 12, 2002, 10.1093/humrep/17.12.3090
- [3] CHEN, Minghao, Shiyong WEI, Junyan HU, Jing YUAN, Fenghua LIU a Joël R. DREVET, Does time-lapse imaging have favorable results for embryo incubation and selection compared with conventional methods in clinical in vitro fertilization? A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials, PLOS ONE, ročník 12, číslo 6, 2017, 10.1371/journal.pone.0178720

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

Ing. Gleb Donin, Ph.D.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

Datum zadání diplomové práce: **14.02.2022**

Platnost zadání diplomové práce: **18.09.2023**

doc. Ing. Martin Rožánek, Ph.D.
vedoucí katedry

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
děkan

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem Vyhodnocení přínosů umělé inteligence v průběhu in vitro fertilizace neplodného páru vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně 11.5.2022

.....

Bc. Adéla Diniová

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala především mému vedoucímu Ing. Glebu Doninovi, Ph.D. za spolupráci, trpělivost a obětovaný čas, který mi ochotně věnoval. Dále bych chtěla velmi poděkovat Mgr. Aleši Tichopádovi Ph.D. za pomoc a cenné rady, které mi poskytnul. A v neposlední řadě děkuji své rodině a kolegům z asistované reprodukce Iscare.

ABSTRAKT

Vyhodnocení přínosů využití umělé inteligence v průběhu in vitro fertilizace neplodného páru

Inkubace a hodnocení embryí se staly zásadní doménou technologií využívaných v oboru asistované reprodukce. Tradičně bylo hodnocení vykonáváno denním odebíráním embryí z konvenčního inkubátoru za účelem posouzení kvality embryologem pod světelným mikroskopem. V posledních letech byly vyvinuty systémy Time-lapse, které umožňují pořizování digitálních snímků embryí v nastavených časových intervalech. To umožňuje embryologům posoudit kvalitu embryí, aniž by je fyzicky vyjímali z inkubátorů. Stále ale není jasné, zda tento typ inkubátoru skutečně přináší pozitivní výsledky neplodným párům ve srovnání s konvenčním inkubátorem.

Cílem této diplomové práce je porovnání klinické a nákladové efektivity sledovaných inkubátorů Time-lapse imaging a Benchtop používaných v průběhu in vitro fertilizace. Pro tyto účely byly retrospektivně získány výsledky IVF od 1 485 pacientek za období 2020-2021 z centra AR Iscare. Inkubátory byly porovnávány dle vybraných parametrů úspěšnosti: Fertility rate, Blastocyst rate a Pregnancy rate. Data byla analyzována prostřednictvím statistických testů (Shapiro-Wilkův test, Mann-Whitneyho test a Chí-kvadrát test) a analýzy kovariance. Na závěr byly vypočteny celkové náklady z perspektivy zdravotnického zařízení na celý životní cyklus inkubátorů.

Po ověření normality dat byl vybrán neparametrický test Mann-Whitneyho, jehož výsledky neprokázaly žádný statisticky významný rozdíl v testovaných parametrech FR ($p=0,23$) a BIR ($p=0,94$). Chí-kvadrát test také neprokázal statisticky významný rozdíl v oblasti PR ($p=0,79$). Následně byla zvolena metoda analýzy kovariance, která měla za cíl očistit data od vlivu věku a počtu IVF cyklů, a tím dosáhnout průkaznějších výsledků. Ale ani při aplikaci této metody nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v parametrech FR ($p=0,16$) a BIR ($p=0,14$). Zvolené kovariáty (věk, IVF cyklus) neměly efekt na sledovanou proměnnou.

Vzhledem k neprůkaznému efektu u inkubátorů byla zvolena metoda analýzy minimalizace nákladů za osmileté období, která prokázala, že celkové náklady jsou pro inkubátor Benchtop 3 114 446 Kč a pro inkubátor Time-lapse imaging 6 624 523 Kč. Je tedy zřejmé, že celkové náklady jsou téměř dvojnásobně vyšší pro inkubátor TLI.

Klíčová slova

Time-lapse imaging, Benchtop, ANCOVA, analýza minimalizace nákladů, analýza nákladové efektivity, IVF, umělé oplodnění, inkubátor, embryologie

ABSTRACT

Evaluation of the benefits of using artificial intelligence during in vitro fertilization of an infertile couple

Incubation and embryo evaluation are essential phenomena of technologies used in the field of assisted reproduction. Traditionally, embryo evaluation was done by taking daily samples of embryo from conventional incubator, with purpose of quality assessment under light microscope. Recently, time-lapse systems enabling taking digital shots of embryos in set time intervals have been developed. This paves way to embryologists to assess the quality of embryos without physically removing it from an incubator. Despite that, it is not yet certain whether this type of incubator really draws positive effect to infertile couples, in comparison with conventional incubator Benchtop.

The point of this thesis is to compare clinical and financial efficacy of analyzed incubators time-lapse imaging and Benchtop, used in duration of in vitro fertilizing. For this purpose, results of IVF were retrospectively obtained from 1485 patients in 2020-2021, in the AR Iscare center. Incubators were compared according to chosen parameters of success: Fertility rate, Blastocyst rate and pregnancy rate. Data were analysed by means of statistical tests (Shapiro-Wilke test, Mann-Whitney test, Chi-squared test) and analysis of co-variation. Finally, total expenses were counted from the perspective of medical center for the lifespan of incubators.

After verification of data normality, Mann-Whitney non-parametric test was chosen. Its results did not prove any statistically significant difference in tested parameters FR ($p=0,23$) BIR ($p=0,94$) and PR ($p=0,79$). Subsequently, a method of covariance analysis was chosen with aim of data clarification from influence of age and number of IVF cycles. Thus, conclusive evidence was to be achieved. However, even by applying this method, no statistically significant difference in FR ($p=0,16$) and BIR ($p=0,14$) was noted. Chosen co-variants (age, IVF cycles) had no effect on analyzed variable.

Due to inconclusive results, incubators analyses method applied was minimalizing of expenses within 8 year period, which proved that total expenses for Benchtop incubator are 3 114 446 CZK and Time-lapse imaging incubator 6 624 523 CZK. It is therefore obvious, that total expenses are almost half lower for Benchtop incubator.

Keywords

Time-lapse imaging, Benchtop, ANCOVA, analysis of expenses downsizing, analysis of expenditure efficacy, IVF, artificial fertilization, incubator, embryology

Obsah

Seznam symbolů a zkratk	9
1 Úvod	10
2 Přehled současného stavu	11
2.1 Asistovaná reprodukce	11
2.2 Metody využívané v laboratoři za účelem fertilizace	12
2.2.1 Fertilizace oocytů bez mikromanipulace.....	12
2.2.2 Fertilizace oocytů s mikromanipulací	12
2.3 Vývoj a kultivace embryí	13
2.4 Time-lapse imaging.....	14
2.5 Klinická efektivita Time-lapse imaging.....	14
2.6 Nákladová efektivita TLI	18
2.7 Postoje odborných společností.....	20
2.8 Současný systém úhrad	20
2.9 Souhrn	22
3 Cíle práce	23
4 Metody	24
4.1 Design studie	24
4.1.1 Stimulace a odběr oocytů	24
4.1.2 Kultivace embryí	25
4.1.3 Hodnocení a transfer embryí	25
4.1.4 Sběr dat.....	25
4.2 Parametry úspěšnosti asistované reprodukce	26
4.3 Metodologie statistického vyhodnocení dat.....	27
4.3.1 Testování statistických hypotéz.....	27
4.3.2 Normalita dat.....	28
4.3.3 Výběr statistických testů	28
4.4 Nákladová analýza	30
4.4.1 Náklady z perspektivy zdravotnického zařízení.....	30
4.4.2 Náklady z perspektivy pacienta.....	32
4.4.3 Analýza minimalizace nákladů	33

5	Výsledky	34
5.1	Popis získaného souboru dat	34
5.2	Parametry úspěšnosti asistované reprodukce	34
5.2.1	Fertility rate	34
5.2.2	Blastocyst rate	35
5.2.3	Pregnancy rate a kumulativní pregnancy rate	36
5.3	Věk pacientek podstupujících IVF cyklus	37
5.4	Počet podstoupených IVF cyklů	39
5.5	Srovnání efektu inkubátorů Time-lapse vs. Benchtop	41
5.5.1	Fertility rate	41
5.5.2	Blastocyst rate	42
5.5.3	Pregnancy rate	43
5.6	Analýza efektu jednotlivých inkubátorů po očištění dat.....	43
5.7	Analýza nákladové efektivity.....	45
5.7.1	Náklady z perspektivy zdravotnického zařízení.....	45
5.7.2	Analýza minimalizace nákladů	48
5.7.3	Náklady z perspektivy pacienta.....	49
6	Diskuse	51
7	Závěr	57
	Seznam použité literatury	58
8	Přílohy.....	63

Seznam symbolů a zkratek

Seznam zkratek

Zkratka	Význam
ART/AR	Asistovaná reprodukce
IVF	In vitro fertilizace
SD	Směrodatná odchylka
TLT	Time-lapse technologie
TLI	Time-lapse imaging
BT	Benchmark
SI	Stolní inkubátor
ES	Embryoscope
ICSI	Intracytoplasmatická injekce spermií
ET	Embryotransfer
PICSI	Metoda neselektované intracytoplazmatické injekce spermií
FR	Fertility rate
BIR	Blastocyst rate
PR	Pregnancy rate
ES	EmbryoScope

1 Úvod

Neploidnost a subfertilita se stává celosvětově narůstajícím problémem. Podle Světové zdravotnické organizace má každý šestý pár problémy související s touto problematikou. Etiologií neplodností je mnoho, ale významnou roli hrají anatomické nebo genetické problémy, fyziologické dysfunkce, pohlavně přenosné choroby, endokrinologické nebo imunologické poruchy a mnoho dalších. Navíc rostoucí trend oddalování těhotenství kvůli obavám o kariéru, finanční zajištění nebo nenalezení správného partnera, také zvýšilo potřeby využívání služeb asistované reprodukce (AR). Úspěšnost IVF v dnešní době závisí na postupech a technologiích, které tato oblast využívá [1].

V průběhu dvaceti let jsme se stali svědky neuvěřitelného rozvoje v oblasti reprodukční medicíny [2]. Sektor AR se rychle posouvá kupředu a zavádí mnoho nových technologií. Většina postupů v laboratořích asistované reprodukce se stále provádí manuálně, ale v současnosti se vyvíjejí nové a více automatizované technologie. Nedávno byl představen nový typ systému pro kultivaci lidských embryí: Time-lapse imaging (TLI), který je schopen poskytovat nepřetržité informace o stavu a vývoji embryí, eventuálně upozornit na abnormalitu u vyvíjejícího se embrya. Zavedením časosběrného zobrazování do klinické praxe in vitro fertilizace umožnilo embryologům nerušené sledování embryí po celou dobu kultivace. Navrženými výhodami ve srovnání s kultivací v konvenčním inkubátoru jsou nepřerušovaná kultivace, flexibilní pracovní postupy v laboratoři a zlepšená selekce embryí. Selekce embryí je založena na předpokladu, že častější pozorování poskytne podstatně více informací o vztahu mezi vývojem, načasováním a životaschopností embrya.

Od roku 1978, kdy se narodilo první dítě pomocí umělého oplodnění (Louise Brown), se po celém světě narodilo více jak 6 miliónů dětí, díky technologiím, které byly v asistované reprodukci zavedeny [3]. Od té doby se sice technologie pro kultivaci a selekci embryí výrazně zlepšily, ale přesto je velmi těžké identifikovat embryo s nejvyšším implantačním potenciálem. Klinické výsledky AR jsou stále poměrně nevýrazné, vzhledem k tomu, že úspěšnost implantace a počet živě narozených dětí se pohybuje mezi 10 – 30 % [4].

Tato diplomová práce je zaměřena na posouzení přínosů Time-lapse inkubátorů a na zjištění, zda kultivace lidských embryí v uzavřeném systému přináší neplodným párům vyšší procento úspěšnosti ve srovnání s konvenčním inkubátorem.

2 Přehled současného stavu

2.1 Asistovaná reprodukce

Asistovaná reprodukce je soubor lékařských metod a postupů, během kterých dochází k manipulaci se zárodečnými buňkami a embryi. Cílem je léčba sterility ženy nebo muže. Jedná se tedy o medicínský zásah, který napomáhá lidské reprodukci.

Základem asistované reprodukce je in vitro fertilizace (IVF), které je definováno jako oplodnění vajíčka spermii mimo lidský organismus. Primárním cílem umělého oplodnění v laboratoři je maximální napodobení prostředí in vivo, jehož součástí je zajištění přirozeného prostředí pro vyvíjející se embryo. Důležitou roli hraje složení kultivačního média, teplota, přísun živin, odvádění odpadních látek, parciální tlak kyslíku a oxidu uhličitého, vliv růstových faktorů, hormonů, cytokinů a stabilní osmolarita.

Umělá inteligence využívána v IVF laboratořích nám umožňuje splnění všech výše uvedených podmínek. V posledních letech byly technologie asistované reprodukce (ART) doprovázeny neustálými inovacemi. ART zahrnují širokou škálu různých technik a postupů používaných k léčbě neplodnosti. Nejběžnějšími postupy jsou intracytoplazmatická injekce spermií (ICSI), IVF a embryotransfer (ET).

Neplodnost zůstává stále aktuálním a řešeným tématem. Odhaduje se, že neplodnost postihuje 8 až 12 % párů v reprodukčním věku po celém světě [5]. V některých státech je však míra neplodnosti mnohem vyšší a u některých populací dosahuje až 30 %. To platí zejména pro státy s vysokou prevalencí neplodnosti, včetně jižní Asie, subsaharské Afriky, Středního východu a severní Afriky, střední a východní Evropy a střední Asie [6].

V České republice se s neplodností potýká 20 % párů. Je důležité podotknout, že umělé oplodnění mohou absolvovat ženy v jejich plodném věku, pokud jejich věk nepřekročil 49 let, dle zákona 373/2011 Sb. Zákon o specifických zdravotních službách. Ze zdravotního pojištění se zdravotní služby související s umělým oplodněním hradí ženám ve věku od 22 do 38 roku věku. Od 39 roku věku jsou považovány za samoplátkyně. Žena podstupující IVF cyklus musí splňovat určitá kritéria, mezi něž patří zdravotní způsobilost pro hormonální stimulaci, musí být přítomna prostupnost děložního hrdla, přiměřená výška endometria, zachovalá funkce minimálně jednoho vaječníku, nejedná-li se o cyklus s darovanými oocyty a je omezená věkem.

Jeden cyklus léčby může trvat i několik dnů. Zpočátku se u ženy a muže stanoví etiologie neplodnosti. Po stanovené diagnóze lékař zvolí vhodnou hormonální přípravu ženy. Následuje punkce oocytů, převážně v celkové anestézii, a jejich oplození. Po výběru vhodného embrya je provedena implantace do dělohy pacientky následovaná progesteronovou podporou [7].

2.2 Metody využívané v laboratoři za účelem fertilizace

Za přirozeného prostředí se embryo po oplození vyvíjí v tekutině, ve které se neustále pohybuje pomocí kmitů řasinek a peristaltických vln. V některých inkubátorech může být pohyb kultivovaných embryí zajištěn pomocí mikrovibrací. Úspěšnost umělého oplodnění in vitro je velmi závislé na dodržování striktních postupů v čistém prostředí s omezením negativních vlivů v průběhu celého procesu. Dle studií je dokázáno, že vývoj in vivo a in vitro probíhá velmi podobně [2].

Samotný postup začíná odběrem nastimulovaných folikulů pomocí hormonálních farmak, které lékař naindikoval. Krátkým chirurgickým výkonem dojde k punkci těchto folikulů obsahujících vajíčko a ta jsou následně odbavena do laboratoře. Po odběru se vajíčka v prvních dvou hodinách nechávají v kultivačním boxu. Po tomto období je již embryolog schopný zhodnotit zralost oocytů. Specifický znak zralého oocytu je vznik pólového tělíčka a přesně tyto oocyty jsou připravené pro oplodnění spermii. V následujících podkapitolách jsou možnosti oplození popsány [8].

2.2.1 Fertilizace oocytů bez mikromanipulace

Tato metoda je svým charakterem velice blízká přirozenému procesu splynutí ženských a mužských pohlavních jader, ale ovšem mnohem méně efektivní, než metoda intracytoplazmatické injekce (ICSI).

Princip této metody spočívá ve spontánním oplození oocytu ve fertilizačním médiu se suspendovanými kapacitovými spermii. Při tomto způsobu se přidává suspenze spermii obvykle ke skupině několika oocytů.

Aby tato metoda mohla být propagována je důležité, aby ejakulát obsahoval progresivně pohyblivé spermie s normální morfologií. Tudíž musí být schopné vázat se na zonu pellucidu a oolemu a proniknout tak do ooplazmy oocytu [9].

2.2.2 Fertilizace oocytů s mikromanipulací

Metoda intracytoplazmatické injekce

Intracytoplazmatická injekce spermii je osvědčená metoda mimotělního oplození. Je důležité, aby výkon proběhl v co nejkratším časovém intervalu z toho důvodu, aby embryo byla vystavena co nejkratšímu pobytu v manipulačním médiu a mimo kultivační systém.

Doménou této metody je mechanické vpravení jedné spermie přímo do ooplazmy pomocí mikromanipulačních nástrojů. Spermie díky této metodě nenavážou na zonu,

nepřekonávají ji svým pohybem a nemusí se navázat svým postakrosomálním oddílem na oolemu, aby byla internalizovaná do vajíčka.

Primárním důvodem, proč použít tuto metodu je neschopnost spermie samostatné penetrace do vajíčka. Dalším důvodem je nedostatečné množství spermií nebo spermie získané chirurgickým výkonem [9].

Po ICSI se zhruba oplodní kolem 80 % oocytů a bez mikromanipulace jen 65 % [1].

Metoda neselektované intracytoplazmatické injekce (PICSI)

Metoda neselektované intracytoplazmatické injekce spermií, která před provedením ICSI selektuje spermie pomocí jejich vazby na hyaluronan.

Principem jsou přítomné soli kyseliny hyaluronové v cumulusoophorus a spermie má schopnost se na ně vázat. Tato metoda prokazuje nižší zastoupení diploidních a aneuploidních spermií [10].

2.3 Vývoj a kultivace embryí

Mezi tradiční inkubátory, využívané v embryologických laboratořích, patří takzvané stolní inkubátory, nebo-li Benchtop. Od metody Time-lapse se liší tím, že nejsou schopny vyhodnotit vývoj a morfologii embryí v průběhu kultivace. To znamená, že embrya v průběhu vyhodnocovacího procesu musí být na nějakou dobu z inkubátoru vyjmuta, aby byl embryolog schopný vyhodnotit jejich stav. Oproti tomu metoda Time-lapse poskytuje nerušené a klidné prostředí pro vývoj embryí, což může mít zásadní vliv jak na jejich kvalitu, tak i případnou implantaci.

Optimální inkubační prostředí a přesný výběr embryí jsou dva určující faktory pro úspěšný výsledek léčby IVF. Během kultivace *in vitro* jsou embrya typicky hodnocena pro morfologii, aby bylo možné předpovědět vývojovou kompetenci embrya a implantační potenciál. Přestože se technologie pro kultivaci a selekci embryí významně zlepšily, v mnoha případech je stále velkou výzvou identifikovat jedno embryo s nejvyšším implantačním potenciálem. Pouze 10–30 % přenesených embryí má za následek živé narození dítěte. Může to být způsobeno několika faktory. Metody a zařízení pro kultivaci embryí propagována v embryologické laboratoři pravděpodobně budou mít zásadní vliv na klinický výsledek. V embryologické laboratoři se v současné době používají dva hlavní přístupy ke kultivaci embryí: Time-lapse zajišťující nepřetržité monitorování embryí bez jakékoli manipulace s nimi a Benchtop, nebo-li také stolní inkubátor, kdy je nutné pro zhodnocení embryí s embryi manipulovat a zasahovat tak do jejich přirozeného prostředí [2].

2.4 Time-lapse imaging

Umělá inteligence se promítá i do oblasti ART. Typickým příkladem umělé inteligence je metoda Time-lapse.

Podstatou této metody je tvorba snímků kultivovaných embryí v přesných časových intervalech. Doba světelné expozice je 0,5 s. Díky tomu Time-lapse vytváří sekvence, které pozorují načasování a synchronicitu časného mitotického dělení a lze také pozorovat ta embrya, u nichž dochází k abnormálnímu buněčnému dělení. Pomocí přídatného softwaru, který automaticky analyzuje vývoj na základě vědecky a klinicky ověřených parametrů, lze také vyhodnocovat embrya. Využíváním této technologie jsou zachovány kultivační podmínky, během kterých nedochází ke kolísání teploty, vlhkosti, koncentrace vzduchu a ani pH. Toto všechno může být faktorem zhoršeného vývoje embrya [2, 11].

Existují různé systémy Time-lapse. Mezi nejvyužívanější patří dva typy technologií, kde je systém buď přímo součástí inkubátoru, například jako je Embryoscope (Vitrolife, Švédsko), Miri (ESCO, Dánsko), Geri (Austrálie), nebo to jsou specifické kamery vkládající se do užívaných inkubátorů. Přístroje, které řadíme do této druhé skupiny se nazývají Primo Vision (Vitrolife, Švédsko) a Eeva (Merck, Německo). Základní podstatou všech systémů je uzavřený inkubační systém, který k fotografování využívá digitální invertovaný mikroskop. Vytvořené snímky jsou dále přenášeny do počítače, ve kterém dochází k jejich vyhodnocování. Mezi nejvyužívanější v České republice řadíme Embryoscope a Primo Vision [2].

2.5 Klinická efektivita Time-lapse imaging

Pouze několik málo studií se zabývalo zkoumáním možných výhod kultivace v TLI systému ve srovnání s Benchtop inkubátorem.

Sciorio a spol. [3] ve své studii porovnávají dva typy dostupných inkubátorů, těmi jsou TLI nazývané se EmbryoScope (ES) a standardní stolní inkubátor (SI). Jejich hlavním cílem byl porovnat vývoj lidských embryí v jednotlivých inkubátorech. Byla provedena srovnávací studie v období od května 2015 do dubna 2016 v Edinburském reprodukčním centru. Ve studii byl proveden chí-kvadrát test, aby se prozkoumal vztah mezi jednotlivými vývojovými stádii embryí za použití dvou různých inkubátorů. Obě skupiny byly kultivovány za stejných podmínek (6 % CO₂, 5 % bilance kyslíku a dusíku, teplota inkubátoru 37 °C, sekvenční médium Vitrolife řady G). Embrya kultivovaná ve standardním inkubátoru byla hodnocena embryologem pomocí invertovaného mikroskopu, kdy embrya byla odebrána z inkubátoru a došlo k manipulaci s nimi přibližně 42–44 hodin po plození, což byl druhý den, dále 66–68 hodin (třetí den) a 114–115 hodin (pátý den). U skupiny EmbryoScope byly snímky

získávány každých 10 minut a hodnocení vývoje proběhlo pomocí softwaru Embryoviewer, což znamená, že hodnocení proběhlo bez manipulací s embryi. V této studii byl proveden chí-kvadrát test, aby se prozkoumal vztah mezi vývojem embrya ve fázi štěpení (2.-3. den) a ve fázi blastocysty (5.-6. den) za použití dvou různých typů inkubátorů (ES a SI). Ve studii bylo zahrnuto 581 embryí od 47 pacientů, která byla kultivována ve dvou různých inkubátorech ES a SI. Byl zjištěn rozdíl v podílu 4 buněčných embryí (42–44 hodin po oplození) mezi inkubátorem ES a SI (66,8 % vs. 50,5 %, $p=0,014$). Embrya klasifikována jako nejvyšší kvality (3. den) byla také významně vyšší ve skupině ES ve srovnání se skupinou SI (75,1 % vs. 56,0 %, $p=0,006$). Podíl kvalitních blastocyst vyvíjejících se do 5. dne byl v ES vyšší ve srovnání s SI (40,7 vs. 32,6 %). Počet blastocyst vhodných pro transfer byl lepší ve skupině ES ve srovnání s SI (49,4 vs. 42,0 %, $p=0,24$). Závěrem je, že kvalita embryí ve fázi štěpení je významně lepší, když jsou embrya kultivována v EmbryoScope ve srovnání se stolním inkubátorem. Kromě toho je rychlost tvorby blastocyst v ES vyšší. ES zlepšuje vývoj embryí.

Barberet a spol. [4] ve své studii analyzovali, zda rychlost implantace byla ovlivněna inkubační metodou EmbryoScope (TLI) versus stolním inkubátorem G185 a dopad těchto inkubátorů na stupeň morfologie embryí. Designem výzkumu byla dvojité zaslepená prospektivní randomizovaná kontrolovaná studie, kde bylo randomizováno celkem 386 pacientek za rok 2016. Výsledkem bylo, že nebyly pozorovány žádné významné rozdíly mezi těmito dvěma systémy v míře implantace. Dále na základě kritérií morfologie embryí podle pokynů Alpha-ESHRE byl ve skupině TLI skutečně nalezen významně větší podíl kvalitních embryí. Ve skupině G185 vykazovala embrya opožděná štěpení a bylo pravděpodobnější, že budou v počátečních stádiích fragmentována. Výsledky zdůrazňují, že změny prostředí související s manipulací embryí za použití stolního inkubátoru mají nepříznivý vliv na vývoj.

Park a spol. [12] realizoval randomizovanou kontrolovanou studii s cílem zjistit, zda kultivace v systému Time-lapse vede ke zvýšení počtu kvalitních embryí (GQE) ve druhém dni ve srovnání s kultivací ve stolním inkubátoru. Studie probíhala od května 2010 do února 2014 a randomizováno bylo 364 pacientek ve věku do 40 let podstupujících první IVF cyklus pomocí ICSI. V průběhu výzkumu byl počet pacientek rozdělen na dvě skupiny a to intervenční (238 pacientek) a kontrolní (119 pacientek). Pro srovnání mezi skupinami byl použit Fishersexact test a Mann-Whitney U-test. Statistické analýzy byly provedeny pomocí softwaru. Ve výsledcích pro kultivaci embryí nebyl zjištěn žádný významný rozdíl mezi oběma skupinami: $2,41 \pm 2,27$ pro uzavřenou skupinu a $2,19 \pm 1,82$ pro kontrolní skupinu ($p=0,34$; 95 % interval spolehlivosti 0,69 – 0,24). Dále fertility rate u EmbryoScope byla 30 % a u standardního inkubátoru 31,5 % a míra potratů u EmbryoScope byla 33,3 % a u standardního inkubátoru 10,2 %. V závěru nedošlo k žádným významným rozdílům v počtu

čtyřbuněčných embryí, implantacích a těhotenství, zatímco míra potratu byla vyšší ve skupině TLI.

Tatsuo Nakahara a spol. [13] ve své studii posuzovali kvalitu embryí vyvíjejících se ve stolním a uzavřeném inkubátoru a bezpečnost těchto přístrojů. Nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v míře oplodnění (57,5 % vs. 57,5 %) nebo v míře štěpení embryí (36,0 % vs. 36,0 %). Ze 146 oocytů použitých v této studii bylo 84 oocytů přiděleno do skupiny s uzavřeným inkubátorem a 84 oocytů přidělených do skupiny se stolním inkubátorem. V první skupině se podle Veeck's klasifikace vyvinulo 30 zcela kvalitních embryí (36,0 % oplodněných vajíček) a 54 embryí byla vyhodnocena jako nekvalitní embrya (64,0% oplodněných vajíček). Ve druhé skupině byly výsledky zcela stejné. Z morfologického hlediska či ze stádia štěpení nebyly upozorovány žádné významné rozdíly. Ale embrya kultivovaná v uzavřeném systému inkubátoru jsou pravidelně vystavována světlu k získání digitálních snímků. Na otázku bezpečnosti osvětlení embryí reagovali Mio a kol. [6]. Ve své studii neporovnávali pouze kvalitu a morfologii embryí, ale také osvětlení LED, kterému byla embrya vystavena přibližně 300krát, ale ani tak nebyly spatřeny žádné abnormální rozdíly v míře oplodnění ICSI, míře štěpení nebo v míře morfologie. Závěrem tedy je, že Time-lapse imaging lze bezpečně používat.

Adamson a spol. [14] ve své studii zjišťovali, zda systém TLI v kombinaci s tradiční morfologií pro výběr embrya a následným transferem embrya 3. den vede ke zlepšení klinických výsledků. Designem byla prospektivní kontrolovaná studie. Zpracování dat proběhlo pomocí statistické analýzy, kde byl použit Studentův t-test pro výpočet P hodnot mezi průměry a SD a Fishers exact test pro výpočet P hodnot mezi poměry. Hodnota P byla použita k označení rozdílů mezi skupinami. I v této studii došlo k rozdělení pacientek do dvou skupin (intervenční a kontrolní). Míra implantace a gravidity byla významně vyšší v testované skupině ve srovnání s kontrolní skupinou (míra implantace 30,2 % vs. 19,0 %, míra klinické gravidity 46,0 % vs. 32,1 %). Kromě toho byl počet vícečetných gravidit (26,7 % [12/45] vs. 18,3 % [13/71]) vyšší u testované skupiny než u kontrolní skupiny, i když rozdíly nebyly statisticky významné (P=0,35). Také byl porovnán klinický výsledek u intervenční a kontrolní skupiny pacientek v různých věkových kategoriích (< 35, 35-37, 38-40 let). Velikost vzorků pro toto porovnání byla malá, ale trend byl ve všech věkových kategoriích konzistentní čili pacientky v testované skupině měly vyšší míru klinického těhotenství a implantace než v kontrolní skupině. Výsledkem je zpráva prokazující lepší míru implantace u pacientů, u kterých je embryonální transfer proveden 3. den, na základě kombinovaného použití TL-testu spolu s tradiční morfologií.

Cílem prospektivní kohortové studie, na které se podílel Cruz a spol. [15] bylo snahou prokázat, že inkubační podmínky EmbryoScope jsou srovnatelné se standardními podmínkami, a to porovnáním kvality embrya, rychlosti implantace, vývoje a probíhajícího těhotenství mezi EmbryoScope (ES) a standardním inkubátorem

(SI). Do studie byla zařazena pouze darovaná vajíčka, ze kterých vzešlo 478 embryí. Získaná data byla porovnávána v závislosti na prostředí kultivace embryí pomocí chí-kvadrát testu a hladiny významnosti ($p < 0,05$; data jsou prezentována jako podíly a 95 % interval spolehlivosti (95 % CI). Míra blastocyst mezi inkubátory se významně nelišila. Když porovnali, kolik embryí bylo přeneseno 3. nebo 5. den z jednotlivých typů inkubátorů, nenašli významné rozdíly mezi ES a standardním inkubátorem. Z těchto embryí bylo 3.den transferováno 71 % z ES a 75 % z IS a 5.den u ES 89,4 % a u IS 88,2 %. Nebyla ani nalezena žádná významná odchylka mezi mírou těhotenství pro embrya inkubovaná v ES 42,8 % (95 % CI 16,9–68,7) a inkubovaná ve standardním inkubátoru 42,1 % (95 % CI 19,9–64,3). V rychlosti implantace nebyl zaznamenán žádný významný rozdíl. Tudíž v závěrečných výsledcích nebyly ve studii zjištěny žádné významné rozdíly mezi metodou Embryoscope a standardním inkubátorem ze všech hodnocených parametrů.

Srovnávací účinnost IVF

Metaanalýza a systematický přehled randomizovaných kontrolovaných studií provedl Chen a spol. [16], jejichž cílem bylo provést přezkum důkazů hodnotící, zda má Time-lapse příznivé výsledky na inkubaci a selekci embryí ve srovnání s konvenčními metodami IVF. Pro systematické vyhledávání studií byl využit PubMed, EMBASE, Cochrane library a ClinicalTrials.gov. Všichni autoři nezávisle extrahovali data z každé zahrnuté studie pomocí standardizovaného formuláře pro extrakci dat. V případě potřeby byli autoři kontaktováni, aby chybějící data získali. Informace byly hledány pro následující proměnné: inkubace a selekce embryí dvou skupin (skupina TLI a kontrolní skupina), typ systému TLI, počet zahrnutých žen a zisk oocytů, metoda oplodnění, počet přenesených embryí, den přenosu embryí, čerstvé či zmrazené cykly, kultivační parametry, rychlost implantace a ekonomická zátěž. Mezi primární výsledky patřila pokračující těhotenství a porod živě narozeného dítěte a mezi sekundární výsledky byly zařazeny potraty a klinická těhotenství. Statistická analýza zahrnovala relativní riziko s odpovídajícími 95 % intervaly spolehlivosti, což bylo použito k posouzení celkových účinků pro nespojitá data. Všechny analýzy byly provedeny pomocí nástroje Review Manager verze 5.3. Výsledky se týkaly několika odvětví, která byla zkoumána. Souhrnná míra blastocyst byla nepatrně vyšší ve skupině TLI než u kontrolní skupiny, ale nebyl přítomen žádný významný rozdíl mezi skupinami (RR 1,08, 95 % CI 0,94–1,25, I² = 0 %, dvě studie, včetně 1154 embryí). V míře živé porodnosti také nebyl zaznamenán významný rozdíl (RR 1,23, 95 % CI 1,06–1,44, I² N / A, jedna studie, včetně 843 žen). Inkubace a selekce TLI systému prokázala významně vyšší míru pokračujícího těhotenství (RR 0,73, 95 % CI 0,50–1,05, I² N / A, jedna studie včetně 329 žen). Jedna ze studií však prokázala vyšší míru potratů ve skupině TLI (RR 3,10, 95 % CI 1,10–8,74, I² N / A, jedna studie, včetně 364 žen). Výsledkem je, že

TLI může mít potenciál zlepšit výsledky IVF, ale v současné době nejsou k dispozici dostatečné důkazy na podporu pravidelného užívání TLI.

Cílem studie Armstrong a spol. [22] bylo stanovení účinnosti TLI ve srovnání s konvenční inkubací a hodnocením embryí u párů podstupujících ART. Zjištění pro toto srovnání bylo velmi nejisté kvůli nízké kvalitě důkazů. Není jasné, zda existuje nějaký rozdíl mezi intervencemi v míře živého porodu (OR 1,12, 95 % CI 0,92 až 1,36, 3 RCT, N = 1617, I² = 84 %). Existovaly velmi nepřesvědčivé důkazy o tom, že TLI může snížit míru potratů (OR 0,63, 95 % CI 0,45 až 0,89, 3 RCT, N = 1617, I² = 0 %). Není jasné, zda existuje nějaký rozdíl mezi intervencemi v míře klinického těhotenství (OR 0,95, 95 % CI 0,78 až 1,16, 3 RCT, N = 1617, I² = 89 %). Důkazy naznačují, že pokud je míra živého porodu spojená s konvenční inkubací a hodnocením - 48 %, tak míra s TLS využívající software pro výběr embryí by byla mezi - 46 % a 55 %, a pokud je míra potratu s konvenční inkubací a hodnocením - 11 %, tak míra spojená s TLS by byla mezi 5 % a 10 %.

Pandian a spol. [17] ve své studii vyhodnocovali účinnost a bezpečnost IVF metod, kam se řadí i metoda Time-lapse, pro idiopatickou neplodnost. Pro jejich metaanalýzu zahrnuli deset RCT studií, která splňovala kritéria pro metodickou kvalitu. Jejich primárním cílem bylo porovnat účinnost IVF versus nestimulované IUI (intrauterinní inseminace). Bylo zjištěno, že IVF (s použitím TLI) je spojeno s vyšší živou porodností než IUI (OR 2,47, 95 % CI 1,19 až 5,12, dvě studie, 156 žen, I² = 60 %). A mezi sekundární cíle patřila klinická četnost těhotenství (OR 4.83, 95 % CI 0.94 to 24.95, jedna RCT, 44 žen, I² = 80 %) a míra vícečetného těhotenství (OR 1.03, 95 % CI 0.04 až 27.29, jedna RCT, 44 žen, I² není relevantní), kde nebyl spatřen žádný rozdíl.

2.6 Nákladová efektivita TLI

Time-lapse metoda je pro inkubaci, hodnocení a výběr embryí novou dostupnou technologií pro in vitro fertilizaci na několika klinikách. Existuje však nejistota ohledně jejich klinické a nákladové efektivity a nejsou k dispozici dostatečně kvalitní důkazy, které by zaručovaly jejich rutinní použití.

Subfertilita je běžným problémem, pro který se běžně doporučuje léčba in vitro fertilizace. Míra úspěšnosti po IVF není tak výrazná a v posledních několika letech zůstala konstantní. To znamená značné zatížení finančních zdrojů zdravotní péče. Pro zlepšení úspěšnosti léčby se předpokládá časosběrné zobrazování vyvíjejících se embryí při léčbě IVF.

Van Voorhis a spol. [18] provedl nesystematický přehled současné literatury o nákladové efektivnosti různých přístupů k léčbě neplodnosti. Tento přehled porovnával nákladovou efektivitu TLI v IVF s tubální chirurgií, IUI a IUI-COS

(ovariální stimulace řízená intrauterinní inseminací). Ukázalo se, že při absenci tubální blokády a závažné neplodnosti mužských faktorů je IUI nákladově efektivnější než IVF.

Velký systematický přehled od Garceaua a spol. [19] zahrnoval 57 zdravotně-ekonomických studií léčby neplodnosti. Mezi dokumenty bylo zařazeno 30 ekonomických hodnocení, 22 nákladových studií a pět studií zabývajících se ekonomickými přínosy. Jejich zjištěním bylo, že IVF nativního cyklu (bez hormonální stimulace vaječnicků) může být nákladově efektivnější než IVF stimulovaného cyklu s použitím metody Time-lapse. Také, že zahájení léčby pomocí IUI se jeví jako nákladově efektivnější volba než okamžité IVF pro všechny páry. Ukázalo se, že inseminace dárců je nákladově efektivnější než ICSI. Nákladová efektivita je velmi ovlivněná charakteristikou pacienta (věk matky, snížená koncentrace spermatu).

Studie Pashayan a spol. [20] srovnávali klinickou a nákladovou efektivitu cyklu TLI v IVF oproti šesti cyklům IUI následovaným IVF. Studie probíhala na území Velké Británie. Pro analýzu vytvořili matematický model k vyhodnocení nákladové efektivity v poskytování IUI následovaný IVF cyklem ve srovnání s primární nabídkou IVF. Data byla získávána z publikované odborné literatury. Při analýze efektivity nákladů se použila perspektiva zdravotnictví. Celkové náklady na poskytované zdravotní služby byly stanoveny jako součet nákladů na IUI a aktivitu IVF. Poměr přírůstkové efektivity nákladů (ICER) byl vypočítán jako poměr rozdílu v kombinovaných nákladech na strategii „IUI + IVF“ minus náklady na IVF, děleno rozdílem v počtu živých těhotenství. Do studie bylo zahrnuto 100 párů s neznámou či mírnou subfertilitou. U šesti cyklů U-IUI (stimulace pomocí gonadotropinu) by náklady na IUI následované IVF byly £495,900 s poměrem efektivity nákladů £13,100/ těhotenství končící živým porodem. Ve srovnání s primární nabídkou IVF by ICER pro nabídku jednoho až šesti cyklů U-IUI následovaných IVF (po selhání IUI) byla £18,000 až £14,200 na jedno těhotenství končící také živým narozením dítěte. Výsledky tohoto modelu ukázaly, že náklady byly vyšší pro IUI následované IVF než pro okamžité zvolení samotného IVF cyklu. Autoři tak dospěli k závěru, že nabídka celého cyklu IVF může být nákladově efektivnější než IUI následovaná IVF.

Nutno dodat, že například dle Armstronga a spol. [22] byla metoda TLI narychlo zavedena do laboratoří IVF po celém světě bez dostatečných důkazů o vyšší míře bezpečnosti a efektivnosti nákladů. Dále Pashayan a spol. [20] tvrdí, že publikovaná data porovnávající nákladovou efektivitu týkající se všeobecně IVF jsou vzácná. Stejná tvrzení nám poskytuje i Garceaua a spol. [19]. Voorhis a spol. [18] jsou také přesvědčeni o nedostatečném množství publikovaných studií týkající se nákladové analýzy. Všeobecně řečeno je TLI systém v současné době nedostatečně prozkoumanou metodou. Její vznik a průnik do světa byl velmi rychlý, proto zatím neexistují jasné důkazy o její kvalitě, bezpečnosti a nákladové analýze.

2.7 Postoje odborných společností

Postoj české gynekologicko-porodnické společnosti na metodu Time-lapse je prozatím vnímán neutrálně. Vzhledem k nedostatečnému množství informací si tato společnost ne vytvořila jednotný negativní či pozitivní názor. České společnosti vychází z informací, které vydává ESHRE (Evropská společnost pro lidskou reprodukci a embryologii). ESHRE se snaží poskytovat odpovědi na otázky týkající se reprodukční medicíny. V současné době poskytuje doporučení pro zavedení TLI systému do laboratoří. Ale vzhledem k omezeným dostupným důkazům jsou doporučení většinou založena na klinických a technických znalostech [21].

Mezi řešená témata reprodukční medicíny v České republice patří v hojné míře genetické vyšetření PGT a neinvazivní genetické testování embryí z kultivačního média, dále hormonální stimulace žen, monitoring a výběr embryí pro transfer či kryokonzervaci a v poslední řadě etika a zákony týkající se reprodukční medicíny [22].

Všeobecně je technologie Time-lapse vnímána jako technologie budoucnosti, která bude schopna řešit problémy neplodných párů po celém světě.

Údaje o míře úspěšnosti a komplikacích spojených s IVF / ICSI jsou v mnoha zemích běžně shromažďovány národními registry ART. Podle údajů mezinárodních registrů se celková míra těhotenství spojená s cyklem IVF blíží a někdy přesahuje 30 % v závislosti na léčebném centru a zemi.

2.8 Současný systém úhrad

Od 1.1.2022 došlo novelou zákona č. 48/1997 Sb., o veřejném zdravotním pojištění ke změně, kdy ze zdravotního pojištění jsou hrazeny zdravotní služby, na základě doporučení registrujícího gynekologa, v souvislosti s umělým oplodněním ženám ve věku od 18 let s oboustrannou neprůchodností vejcovodů a ženám od 22 let do dne dosažení 40. roku věku. Dle zákona č. 373/2011 Sb., o specifických zdravotních službách, lze umělé oplodnění provést v ženě plodném období, pokud její věk nepřekročil 49 let, a to na základě písemné žádosti muže a ženy hodlající tuto zdravotní službu podstoupit společně. Jak je uvedeno výše, úhrada z veřejného zdravotního pojištění je možná jen do dne dosažení 40 roku věku.

Úhradu lze provést třikrát nebo čtyřikrát za život, byl-li v prvních dvou případech proveden transfer (přenesení embrya do pohlavních orgánů ženy) nejvýše jednoho lidského embrya vzniklého oplodněním vajíčka spermií mimo organismus ženy [23].

Zdravotní péče poskytnutá v souvislosti s mimotělním oplodněním je sice hrazena z veřejného zdravotního pojištění, ale to neznamená, že je zcela zdarma. Například léky,

kterými je pacientka hormonálně stimulována, jsou podle příslušné vyhlášky MZČR a z ní odvozeného číselníku hrazeny pojišťovny jen částečně (resp. do určitého množství), takže na ně pacientka doplácí. Dále si pacientky hradí specifické laboratorní vyšetření a metody oplodnění vajíčka spermií v laboratorních podmínkách. Podle vyhlášky MZČR hradí totiž pojišťovny jen určité metody a metody specifičtější, tedy i dražší nehradí. Platí se také nadstandardní péče v soukromém zdravotnickém zařízení.

Pro představu byla vytvořena tabulka 2.1 s přibližnými cenami týkající se IVF.

Tabulka 2.1 Ceník metod využívaných v IVF

Ceník výkonů asistované reprodukce		
	<i>Pojištěnci</i>	<i>Samoplátci</i>
IVF – Nativní cyklus	20 000 Kč	20 000 Kč
IVF – Cyklus s vlastními oocyty	x	32 600 Kč
Kryoembryotransfer (KET)	8 500 Kč	8 500 Kč
Laboratorní metody		
ICSI na 1 oocyt	3 000 Kč	3 000 Kč
PICSI na 1 oocyt	5 000 Kč	5 000 Kč
Monitoring embryí v inkubátoru Geri	4 500 Kč	4 500 Kč
Asistovaný hatching (AH)	3 500 Kč	3 500 Kč
EmbryoGlue	5 000 Kč	5 000 Kč

Vykazování zdravotních služeb zdravotním pojišťovnám

Centra asistované reprodukce, která vykazují úhradu IVF zdravotním pojišťovnám jsou specializovanými pracovišti. Cykly IVF mohou být uskutečňovány a vykazovány odborností 613 – Gynekologie a porodnictví. Kódů pro úhradu IVF je mnoho a jedná se o agregované výkony, které zahrnují několik zdravotních služeb. Je důležité podotknout, že metody IVF nemusí vždy skončit úspěšným těhotenstvím ženy. Někdy dokonce ani nemusí po IVF dojít k transferu embryí do dutiny děložní, a přesto stále hovoříme o IVF. Agregované kódy počítají s různými variantami průběhu IVF. Každý výkon či zdravotní služba je ohodnocena body.

2.9 Souhrn

Time-lapse technologie (TLT) byla do IVF zavedena jako rutinní procedura až v posledním desetiletí, tedy mnohem později než v jiných oblastech biologických věd, a přesto vedla k zásadním změnám. Po prvním přijetí Time-lapse technologie do oběhu laboratoří byla očekávání velmi vysoká. Doufalo se, že dynamické pozorování vývoje nabídne přesnější a neinvazivní hodnocení životaschopnosti embryí se zjevnými výsledky pro účinnost léčby ART. Mnoho studií, i když hlavně retrospektivních, se pokusilo odpovědět na otázku, zda TLT skutečně přináší klinický přínos. Na tuto otázku je přesná odpověď stále nejasná. Doposud studie pro posouzení účinnosti TLT selekce embryí postrádala dostatečnou přesnost, aby jednoznačně prokázaly jakékoli podstatné zlepšení míry těhotenství / výsledků živého porodu. Každopádně TLT poskytuje několik výhod, které ospravedlňují jeho použití. Pro jeho zavedení do embryologických laboratoří IVF jsou stanoveny vysoké nároky vyžadující technickou, manažerskou odbornost a strategickou vizi této technologie.

Technologie TLT pravděpodobně nabízí nejbezpečnější a nejstabilnější prostředí pro kultivaci embryí. Její nepřetržité monitorování nám umožňuje identifikovat dříve neznámé nebo nezjistitelné aspekty vývoje embryí. Zařízení TLT jsou však relativně náročná zařízení. Vhodná technická volba proto vyžaduje prvky znalostí vztahujících se k podmínkám kultivace embryí, správu dat, rovnováhu nákladů a přínosů a její potenciál pro výzkum. Informovat pacienty o výhodách a omezeních TLT není jednoduché, ale je třeba vyvinout veškeré úsilí, abychom je informovali smysluplným a nezaujatým způsobem. Fakt je, že predikce budoucích úspěchů TLT je náročná, ale není pochyb o tom, že tato technologie tu zůstane.

Na závěr menší dodatek, který je vhodný zmínit. Nové technologie využívané v praxi s sebou přináší i finanční zátěž, proto je cílem zdravotního systému maximalizovat zdravotní výsledky neplodných párů s minimálním možným využitím zdrojů.

Studii zahrnující nákladovou efektivitu, konkrétně metody TLI, je nedostatek a bohužel se nám nepovedla najít žádná studie či publikace zabývající se nákladovou analýzou v České republice.

3 Cíle práce

Cílem této diplomové práce je porovnání klinické a nákladové efektivity sledovaných inkubátorů Time-lapse imaging a Benchtop používaných v průběhu in vitro fertilizace u neplodných párů. Prostřednictvím statistických testů jsou ověřovány stanovené hypotézy, které jsou zaměřeny na efektivitu jednotlivých inkubátorů a úspěšnost léčby. Dále jsou posuzovány celkové náklady z perspektivy zdravotnického zařízení a z perspektivy pacienta na celý životní cyklus inkubátorů.

Výzkumné otázky:

1. Dochází ke zvyšování počtu kvalitních embryí za použití kultivace v uzavřeném systému ve srovnání s kultivací v Benchtop inkubátoru?
2. Vyskytuje se u jedné z metod vyšší úspěšnost implantace?
3. Zvyšuje Time-lapse imaging šance na otěhotnění?
4. Který z inkubátorů je nákladově efektivnější?

4 Metody

Následující kapitola zahrnuje popis metod, které byly použity pro zpracování praktické části této diplomové práce. Použité metody povedou k vyhodnocení přínosů využití systému Time-lapse imaging v průběhu in vitro fertilizace.

Primární sběr dat týkající se Time-lapse imaging a Benchtop inkubátoru ve zdravotnickém zařízení proběhl za účelem ověření těchto parametrů:

- kvalita embryí,
- účinnost kultivace,
- úspěšnost implantace,
- následná gravidita.

Na základě těchto kritérií budou technologie porovnávány mezi sebou. V praktické části budou využity metody statistické a nákladové analýzy.

4.1 Design studie

Soubor dat získaný z centra asistované reprodukce Iscare v Praze obsahuje informace o 1 485 pacientkách podstupujících léčbu neplodnosti za dvouleté období. Do studie byly zahrnuty pacientky podstupující IVF cyklus s hormonální stimulací do 49. roku věku, a u kterých byl získán minimálně jednoho zralého oocyty. Tento soubor dat je základem pro stanovení hypotéz, které jsou ověřovány statistickým testováním výsledků. V praktické části této práce je posuzován přínos a efekt inkubátoru Time-lapse, který je následně porovnáván s konvenčním inkubátorem Benchtop. Hlavními parametry pro zjištění efektu porovnávaných inkubátorů jsou Fertility rate, Blastocyst rate a Pregnancy rate.

4.1.1 Stimulace a odběr oocytů

Všem pacientkám byl lékařem naindikován stimulační protokol s kontrolovanou ovariální stimulací agonistou GnRH (Diphereline, Decapeptyl, Synarel,..) nebo antagonistou GnRH (Cetrotide, Orgalutran,..), které si pacientky samy v domácím prostředí subkutánně aplikovaly. Přibližně 8. – 9. den cyklu byl vývoj folikulů monitorován transvaginálním ultrazvukem. Odběr oocytů byl proveden pod analgosedací, a to 36 hodin po aplikaci injekce Ovitrelle přibližně 11. – 14. den cyklu.

4.1.2 Kultivace embryí

Po okamžité fertilizaci oocytů spermii byla oplozená vajíčka rozdělena do inkubátorů dle požadavků pacienta. V průběhu kultivace embryí byly použity dva typy inkubátorů. Embrya kultivovaná v Benchtop inkubátoru byla manuálně hodnocena 1., 3., 4. a ve fázi blastocysty 5. den vývoje. U embryí kultivovaných v Time-lapse imaging byly snímky pořizovány každých 5 minut v sedmi ohniskových rovinách, čímž bylo umožněno kontinuální poskytování informací o vývoji embryí.

4.1.3 Hodnocení a transfer embryí

Kvalita embryí byla průběžně zapisována do deníku, který byl dle potřebných kritérií vytvořen embryology laboratoře Iscare. Deník obsahoval pole pro identifikaci pacienta, typ inkubátoru pro kultivaci embryí, hodnoty spermioqramu partnera, IVF metody, počet získaných oocytů a v poslední řadě políčka umožňující zapisování kvality embryí. Kvalita embryí byla označována třemi znaky v řadě. Mezi znaky patřila čísla 1, 2 nebo 3, kterými byl značen hatching embryí a velkými tiskacími písmeny A, B, C, kterými byla značena kvalita embryoblastu a trofektodermu.

V závislosti na věku ženy, na množství předchozích cyklů a počtu a kvalitě dostupných embryí byl proveden transfer jednoho nebo dvou embryí. Embrya považovaná za životaschopná byla transferována do dutiny děložní 2., 3. nebo 5./6. den. Za standard byl považován transfer v 5. dni embryonálního vývoje, čili ve fázi blastocysty. Pro podporu implantace embrya do děložní sliznice byla pacientkám naordinována hormonální podpora, která probíhala celý první trimestr. Dva týdny po transferu pacientky absolvovaly krevní odběr na zjištění hladiny hCG v krvi nebo byl proveden domácí těhotenský test pro prokázání těhotenství. Po pozitivním testu byl proveden o 2-3 týdny později kontrolní ultrazvuk na přítomnost akce srdeční a vyloučení abnormalit těhotenství.

4.1.4 Sběr dat

V letech 2020-2021 proběhl sběr dat o pacientkách, které podstupovaly léčbu neplodnosti ze zdravotní nebo i mnohdy neznámé etiologie. V průběhu terapie se pacientky často rozhodovaly mezi jednotlivými typy inkubátorů pro kultivaci svých embryí, které se staly doménou našeho výzkumu.

Celková data byla získána od 1 485 pacientek. Dárkyně, social freezing a pacientky se závažným onemocněním dělohy byly ze studie vyřazeny. Tato data byla průběžně zaznamenávána do předem vytvořené tabulky prostřednictvím Microsoft Excel a obsahovala kritéria, která byla pro praktickou část podstatná. Součástí vybraných

kritérií byl věk pacientky, celkový zisk oocytů, celkový počet zralých oocytů, doba trvání kultivace, celkový počet 5-denních kvalitních embryí, typ inkubátoru, transfer do dutiny děložní ženy, klinická gravidita, počet plodů a na závěr porody. Jednotlivá kritéria pro sběr dat jsou podrobněji popsána v příloze 1.

4.2 Parametry úspěšnosti asistované reprodukce

Před samotným statistickým testováním byly vypočteny hodnoty dle parametrů úspěšnosti asistované reprodukce. Jedná se o takzvané klíčové embryologické ukazatele výkonnosti (KPI), které jsou vydávány a formulovány prostřednictvím ESHRE (Evropská společnost pro lidskou reprodukci a embryologii). Tyto parametry budou i nadále pro analýzu klíčové k porovnání efektu a přínosu inkubátorů.

Vybrané parametry pro testování

Blastocyst rate (BIR) je parametr, díky kterému je hodnocena úspěšnost vzniku kvalitních 5-denních blastocyst vhodné k transferu do dutiny děložní ženy. BIR je definován jako poměr počtu blastocyst vhodných k embryotransferu (ET) k počtu oplozených oocytů (2PN).

$$1. \quad \mathbf{BR} = \frac{\text{počet blastocyst vhodné k transferu}}{\text{počet oplozených oocytů (2PN)}}$$

Fertility rate (FR) je parametr, pomocí kterého je hodnocena úspěšnost oplozených oocytů. Je definován jak poměr počtu oplozených oocytů (2PN) k počtu zralých fertilizovaných oocytů (MII).

$$2. \quad \mathbf{FR} = \frac{\text{počet oplozených 2PN}}{\text{počet oplozovaných MII}}$$

Pregnancy rate (PR) je parametr, díky kterému je hodnoceno dosažení klinického těhotenství neboli potvrzení gravidity ultrazvukovou kontrolou provedenou lékařem. PR je definován jako poměr počtu potvrzených těhotenství k počtu zahájených cyklů.

$$3. \quad \mathbf{PR} = \frac{\text{počet potvrzených těhotenství}}{\text{počet zahájených cyklů}}$$

Kumulativní PR je poměr počtu těhotenství a součtu všech ET pacientky v rámci jednoho IVF cyklu [24].

$$4. \text{ Kumulativní PR} = \frac{\text{počet potvrzených těhotenství}}{\text{počet všech ET}}$$

4.3 Metodologie statistického vyhodnocení dat

Za účelem vyhodnocení souboru dat byl využit program Microsoft Excel, program R a program SAS (angl. *Statistical Analysis System*).

Pro analýzu byly vybrány dvě skupiny pacientek. Jedna skupina pacientek, která si pro svou kultivaci embryí zvolila inkubátor Time-lapse imaging a druhá skupina, která si zvolila konvenční inkubátor Benchtop. Na základě vybraných inkubátorů byly využity statistické testy k porovnání efektu a ověření stanovených hypotéz. Hladina významnosti pro zamítnutí nulové hypotézy byla stanovena na 5 %. Pro ověření normality dat byl využit Shapiro-Wilkův test.

4.3.1 Testování statistických hypotéz

Statistickou hypotézou se rozumí předpoklad o hodnotě neznámého parametru sledované veličiny. Jedná se o domněnky, jejichž pravdivost je možné ověřovat prostřednictvím statistických testů. Hypotéza, jejíž platnost ověřujeme, je nazývána jako nulová hypotéza (H_0). Proti testované hypotéze je stanovena hypotéza alternativní (H_A), která nulovou hypotézu popírá.

Výsledkem testování je jedna ze dvou možností, a to zamítnutí nulové hypotézy ve prospěch alternativní hypotézy nebo nezamítnutí nulové hypotézy.

Hladina statistické významnosti určuje pravděpodobnost, že testovací charakteristika padne mimo obor přijetí. Představuje velikost rizika chyby, jež připustíme. V průběhu testování hypotéz se můžeme dopustit dvou chyb: Chyby prvního druhu – situace, kdy zamítneme hypotézu, která ale platí, anebo chyby druhého druhu – situace, kdy přijmeme hypotézu, která neplatí [25].

Statistické testování lze rozdělit na dvě skupiny, a to na parametrické a neparametrické. Testy parametrické se zabývají testováním tvrzení o neznámých parametrech rozdělení pravděpodobnosti, kterým se uvažovaná náhodná veličina řídí. Tyto testy jsou všeobecně náročnější oproti těm neparametrickým, protože vyžadují minimálně specifikaci daného rozdělení pravděpodobnosti. Neparametrické testy jsou nezávislé či téměř nezávislé na konkrétních rozděleních pravděpodobnosti a vyžadují slabší předpoklady, nevyžadují např. normalitu rozdělení pravděpodobnosti, ale pouze

jeho symetrii. Naopak tyto testy mají menší sílu, a proto vyžadují mnohem větší velikost vzorku [26]. Neodhadují populační parametry, které závisí na tvaru rozdělení, ale používají se k ověření nulových hypotéz, které se týkají například mediánu populace nebo tvaru pravděpodobnostního rozdělení [28]. Výhodou oproti parametrickým testům bývají tyto testy bezpečnější.

4.3.2 Normalita dat

Testy normality slouží k určení, zda lze rozdělení dat považovat za normální. Mezi testy normality například řadíme Chí-kvadrát test dobré shody, Kolmogorov-Smirnov test, Shapiro-Wilk test, a další. Mezi grafické metody lze uvést histogram, Q-Q graf a P-P graf [27].

Shapiro-Wilkův test

Pro ověření normality našeho souboru dat byl využit Shapiro-Wilkův test normality. V tomto případě testujeme hypotézu, která tvrdí, že náhodný výběr pochází z normálního rozložení. Pro zamítnutí nulové hypotézy jsme stanovili hladinu statistické významnosti 5 %. Pokud je $p > 0,05$, nulová hypotéza je přijata a data jsou nazývána jako normálně rozložená.

4.3.3 Výběr statistických testů

Mann-Whitneyův test

Mann-Whitney test nebo Wilcoxon rank-sum test je považován za jeden z nejsilnějších neparametrických testů a jedná se o neparametrickou alternativu t -testu pro nezávislé výběry. Tento test porovnává dva různé výběrové soubory, u kterých nelze předpokládat normalitu dat. Nulová hypotéza testu není zaměřena na střední hodnoty, ale místo toho je naším předpokladem stejné rozdělení pravděpodobnosti náhodné veličiny v obou souborech [29, 30].

K analýze našich dat byl použit Mann-Whitneyho test; za statisticky významné bylo považováno $p < 0,05$. Mann-Whitney byl použit k analýze rozdílů mezi Time-lapse a Benchtop inkubátorem. Data byla analyzována prostřednictvím programu R.

Chí-kvadrát test

Pro analýzu dat týkající se parametru Pregnancy rate byl zvolen statistický Chí-kvadrát test. Důvodem volby této metody byl zisk dichotomických dat ($n > 40$)

typu: ano/ne, týkající se klinické gravidity. Na základě těchto dat byla vytvořena čtyřpolní kontingenční tabulka s četnostmi pro inkubátor Time-lapse imaging a Benchtop. Po vytvoření kontingenční tabulky byla vypočtena p-hodnota pomocí funkce `chisq.test` v programu R, která byla následně porovnána se zvolenou hladinou významnosti 5 %.

Cílem je zjistit, zda počet úspěšných těhotenství závisí na typu inkubátoru.

Analýza kovariance

Analýza kovariance (ANCOVA, angl. *Analysis of covariance*) je chápána jako metoda spojení analýzy rozptylu a regresní analýzy. Spojení spočívá v přidání jedné či více spojitých vysvětlujících proměnných, které označujeme jako kovariáty, do modelu analýzy rozptylu. Obsahem výsledného modelu jsou tedy jak faktory, tak i vysvětlující proměnné, mající vliv na hodnoty vysvětlovaných proměnných [31].

Cílem této metody je očištění studované závislosti vysvětlovaných proměnných na zvolených faktorech od zavádějícího působení doprovodných proměnných. Není tedy snahou sledovat působení doprovodných proměnných a vysvětlované proměnné, ale eliminovat jejich vliv, a tím upřesnit vliv jednotlivých faktorů. Analýzu zefektivníme zařazením kovariátu do modelu, který snižuje reziduální variabilitu [32, 33].

V diplomové práci pro analýzu efektu obou inkubátorů, Time-lapse imaging a Benchtop, byla zvolena metoda analýzy kovariance, která měla za cíl vedle studovaného efektu rovněž adjustovat na vliv věku a vliv počtu IVF cyklů. Tyto dva kovariáty totiž mohou mít přidružený efekt na sledovaný výstup. Analýza byla provedena v systému SAS (angl. *Statistical Analysis System*) v. 9.4 pro Windows. Za pomoci procedury GLM. Hladina statistické významnosti pro zamítnutí nulové hypotézy alfa byla stanovena jako 5 %.

Jak již bylo zmíněno, věk byl stanoven z toho důvodu, že u starších žen je předpoklad nižšího počtu oocytů, a především nižší pravděpodobnost kvalitních oocytů v porovnání s mladými ženami. Je tedy zřejmé, že procento úspěšnosti IVF cyklu u starších žen bude nižší. Vzhledem k tomu, že inkubátor TLI zajišťuje lepší kultivační podmínky pro vyvíjející se embryo, je předpokladem pacientek, že vzhledem k jejich horší kvalitě oocytů bude po zvolení metody TLI zvýšena úspěšnost léčby.

Na věk již navazuje počet IVF cyklů. Ne každý IVF cyklus končí úspěšným těhotenstvím a je nutné IVF cyklus opakovat. Lze předpokládat, že pacientka podstupující několikátý IVF cyklus bez předchozího úspěchu bude mít závažnější zdravotní problém, který by finální výsledek mohl zkruslovat také.

4.4 Nákladová analýza

Náklady v ekonomické analýze zdravotnických technologií vyjadřují celkovou spotřebu zdrojů spojenou se sledovaným technologickým postupem. Po stanovení perspektivy ekonomické analýzy zdravotnických technologií lze náklady rozdělit na relevantní a irelevantní. Relevantní náklady jsou náklady důležité pro subjekt, z jehož pohledu se analýza provádí. Tedy buď je přímo hradí sám nebo jiným způsobem ovlivní jejich spotřebu. Irelevantní náklady jsou mimo zájem subjektu, z jehož pohledu je analýza prováděna (např. transport pacienta k lékaři není hrazen zdravotní pojišťovnou [25]).

V rámci diplomové práce byl proveden odhad výše nákladů vznikající embryologickým laboratořím, při léčbě neplodných párů, za použití inkubátorů Time-lapse imaging a Benchtop. Analýza nákladů byla provedena z perspektivy zdravotnického zařízení a z perspektivy pacienta. Dle aktuálních tržních cen, prostřednictvím kliniky Iscare, jiných klinik AR a s pomocí distributorů podobné techniky v ČR byly vypočteny celkové náklady pro každý typ inkubátoru. Ceny jednotlivých položek jsou orientační (vzhledem k tomu, že se pro každou kliniku liší) a jsou uváděny bez DPH.

U analýzy nákladové efektivity jsou rozeznávány tři základní kategorie nákladů. Jedná se o provozní a pořizovací náklady zdravotnického zařízení, dále náklady, které vznikají pacientům a jejich rodinám a jako poslední položkou je ztracený volný čas, ušlé pracovní příležitosti a psychická újma [34].

4.4.1 Náklady z perspektivy zdravotnického zařízení

V této práci jsou porovnávány náklady inkubátorů za osmileté období, jedná se o období průměrné životnosti inkubátorů. I přesto, že se jedná o jiné typy inkubátorů jsou v mnoha nákladech shodné, a proto nebyl důvod počítat se všemi nákladovými položkami. Započítané nákladové položky z perspektivy zdravotnického zařízení jsou uvedeny v tabulce 4.1.

Tabulka 4.1 Seznam nákladových položek z perspektivy zdravotnického zařízení

Kategorie nákladů	Položky jednotlivých nákladů
Náklady na pořízení	Kupní cena přístroje
	Náklady na dodávku, instalaci, zaškolení
	Náklady související se stavebními úpravami
Náklady na provoz	Náklady na spotřební materiál
	Náklady na lidské zdroje
	Náklady na elektrickou energii
	Náklady související s likvidací odpadu
Náklady na servis a opravy	Náklady na opravy a servis
	Náklady na BTK
	Náklady na náhradní díly
Náklady na likvidaci	Náklady na likvidaci přístroje

Náklady na pořízení

Pořizovací náklady obsahují kupní cenu přístroje, stavební úpravy pracoviště, jeho vybavení a náklady na IT.

Ceny inkubátorů byly zhotoveny na základě kupních smluv, které mi byly poskytnuty prostřednictvím kliniky Iscare. Pořizovací náklady jednotlivých embryologických laboratoří se liší a nejedná se pouze o cenu pořizovací, ale i o náklady související s provozem a servisem. V našem případě jsou v kupní ceně inkubátorů zahrnuté náklady na dodávku a zaškolení uživatelů. Stejně tak i náklady související s instalací přístroje a náklady na stavební úpravy jsou součástí kupní ceny. Náklady na IT služby závisí na typu softwaru a jsou zahrnuty taktéž v ceně.

Náklady na provoz

Ceny spotřebního materiálu byly zjištěny především prostřednictvím kliniky Iscare a jejich roční náklady byly zjištěny dle počtu pacientek zahrnuté v našem souboru dat. Ceny vynaložené za materiál jednotlivých inkubátorů jsou odlišné, a to především kvůli konstrukci, která je pro každý inkubátor specifická. Například ceny misek používaných pro inkubátor Time-lapse imaging jsou vyšší z toho důvodu, že jsou misky navrženy tak, aby bylo možné snímání embryí ze všech stran. Jejich tvar je tedy přizpůsoben zabudovanému snímajícímu mikroskopu.

Náklady na elektrickou energii jsou orientační a stanoveny po konzultaci s distributorem podobné techniky. Cena elektrické energie byla určena jako průměrná hodnota cen elektřiny za rok na klinice asistované reprodukce.

Náklady na lidské zdroje a náklady na likvidaci odpadu jsou pro obě metody stejné, a proto byly tyto položky v metodě opomenuty.

Náklady na servis

Náklady na servis a údržbu byly vypočteny dle informací získaných od embryologů a upraveny byly po konzultaci s distributorem podobné techniky. Perioda bezpečnostně technických kontrol a servisů je určena výrobcem a obvykle se jedná o tři návštěvy po třech hodinách ročně.

Náklady na likvidaci

Informace získané od distributora podobné techniky jsou náklady na likvidaci součástí kupní ceny přístroje. Nefunkční inkubátory jsou odváženy do sběrného dvora a jejich poplatek je hrazen firmou, která inkubátory dodává. Náklady na likvidaci jsou u inkubátorů Time-lapse a Benchtop totožné, proto nebyly do výpočtu zařazeny.

4.4.2 Náklady z perspektivy pacienta

Do metody byly zahrnuty i náklady z perspektivy pacienta z důvodu, že za metodu Time-lapse imaging pacientka musí uhradit příplatek i v případě, pokud je pacientka pojištěná a její věk nepřesáhl 40 let. Za metodu Benchtop pacientka nehradí žádný poplatek, jelikož je hrazen z veřejného zdravotního pojištění. V tabulce 4.2 jsou zobrazeny nákladové položky z perspektivy pacienta.

Tabulka 4.2 Seznam nákladových položek z perspektivy pacienta

Kategorie nákladů	Položky jednotlivých nákladů
Náklady vzniklé pacientovi - Přímé nezdravotnické a nepřímé náklady	Příplatek za metodu Time-lapse imaging
	Psychická újma
	Absence v zaměstnání
	Náklady na dopravu

Náklady vznikající pacientům

Náklady vznikající pacientům, jako jsou přímé zdravotnické náklady (doplatky za léky, metody, těhotenské testy a vitamíny), přímé nezdravotnické náklady (náklady na dopravu pacienta) a nepřímé zdravotnické náklady (ztracený volný čas, ušlé pracovní příležitosti a psychická újma) nebyly do metody zařazeny z důvodu, že jsou pro oba inkubátory identické. Výjimkou je položka, týkající se doplatku za metodu Time-lapse imaging, která není hrazena ze zdravotního pojištění. Příplatek je povinný a jeho cena se pro každou IVF laboratoř liší.

4.4.3 Analýza minimalizace nákladů

Analýza minimalizace nákladů (CMA, angl. *Cost minimization analysis*) je jednou z metod HTA. Jedná se o metodu, která je využívána v případě, je-li prokázán dopad zamýšlených variant ve zvolených parametrech rovnocenný. Důsledky pak tedy hodnoceny nejsou, ale pozornost je věnována porovnávání variant z hlediska vynaložených nákladů a následně je vybrána varianta s nejnižšími náklady. V případě této metody se preferuje výběr nejlevnější varianty [35].

$$C \rightarrow \min$$

Tato metoda byla použita pro inkubátory Time-lapse a Benchtop, které jsou využívány v embryologických laboratořích. Důvod volby této metody byl ten, že výsledky efektů porovnávaných inkubátorů byly stejné.

5 Výsledky

V této kapitole jsou shrnuty všechny dosažené výsledky diplomové práce.

5.1 Popis získaného souboru dat

Do studie bylo zahrnuto za rok 2020 a 2021 celkem 1 485 pacientek podstupujících IVF léčbu s hormonální stimulací. Celkem bylo získáno 10 434 zralých oocytů. Tento počet oocytů se postupně snižoval v průběhu jednotlivých fází IVF. Po zisku oocytů bylo oplozeno 7 573 oocytů a do fáze blastocysty bylo vyvinuto celkem 4 028 embryí. Počet blastocyst v TLI byl 2 300 a v Benchtop 1 728. Pomocí výše uvedených hodnot byly zjištěny parametry Fertility rate, Blastocyst rate a Pregnancy rate. Těmito parametry se standardně řídí většina embryologických laboratoří, díky nimž sledují vývoj a úspěšnost IVF na svých klinikách.

Shrnutí dat je zobrazeno v následující tabulce.

Tabulka 5.1 Přehled získaných dat za rok 2020-2021

2020–2021		
Počet pacientek podstupující IVF	1 485	
Počet kultivací	1 344	
	Time-lapse imaging	Benchtop
Počet získaných oocytů	7 811	5 735
Zralé oocyty	5 986	4 448
Počet oplozených oocytů	4 309	3 261
Počet blastocyst	2 300	1 728

5.2 Parametry úspěšnosti asistované reprodukce

Mezi parametry úspěšnosti byly zahrnuty parametry týkající se Fertility rate, Blastocyst rate a Pregnancy rate. Výsledné hodnoty těchto parametrů pro inkubátor Time-lapse a Benchtop jsou uvedeny v následujícím textu.

5.2.1 Fertility rate

Prvním posuzovaným parametrem je Fertility rate. Výslednou hodnotu jsme získali podílem zralých oocytů a počtem oplozených oocytů. Výsledek je vyjádřen

v procentech a poukazuje na nepatrně vyšší hodnotu u inkubátoru Benchtop. I přesto, že je hodnota vyšší, nelze ji považovat za významnou. Výsledky je možné pozorovat v tabulce 5.2.

Tabulka 5.2 Výsledky Fertility rate pro Time-lapse a Benchtop inkubátor

Time-lapse imaging		Benchtop	
Celkový počet získaných oocytů	7811	Celkový počet získaných oocytů	5735
Počet zralých oocytů	5986	Počet zralých oocytů	4448
Počet oplozených oocytů	4309	Počet oplozených oocytů	3261
%FR	71,99 %	%FR	73,31 %

5.2.2 Blastocyst rate

Dalším posuzovaným parametrem úspěšnosti asistované reprodukce je blastocyst rate, jehož výsledné hodnoty lze pozorovat v tabulce 5.3. Jedná se o důležitý parametr, který poukazuje na vývoj embryí a jejich kvalitu, jedná se totiž o závěrečnou fázi vývoje a o fázi před transferem embrya do dutiny děložní. Hodnotu jsme získali podílem počtu blastocyst a počtem oplozených oocytů. Celkový počet blastocyst je nepatrně vyšší ve skupině Time-lapse oproti skupině Benchtop, ale mezi těmito dvěma skupinami nebyl zaznamenán žádný významný rozdíl.

Tabulka 5.3 Výsledky Blastocyst rate pro Time-lapse a Benchtop inkubátor

Time-lapse imaging		Benchtop	
Počet oplozených oocytů	4309	Počet oplozených oocytů	3261
Počet blastocyst	2300	Počet blastocyst	1728
Počet 5D embryí	2125	Počet 5D embryí	1535
Počet 4D embryí	105	Počet 4D embryí	126
Počet 3D embryí	70	Počet 3D embryí	67
%BIR	53,38 %	%BIR	52,99 %

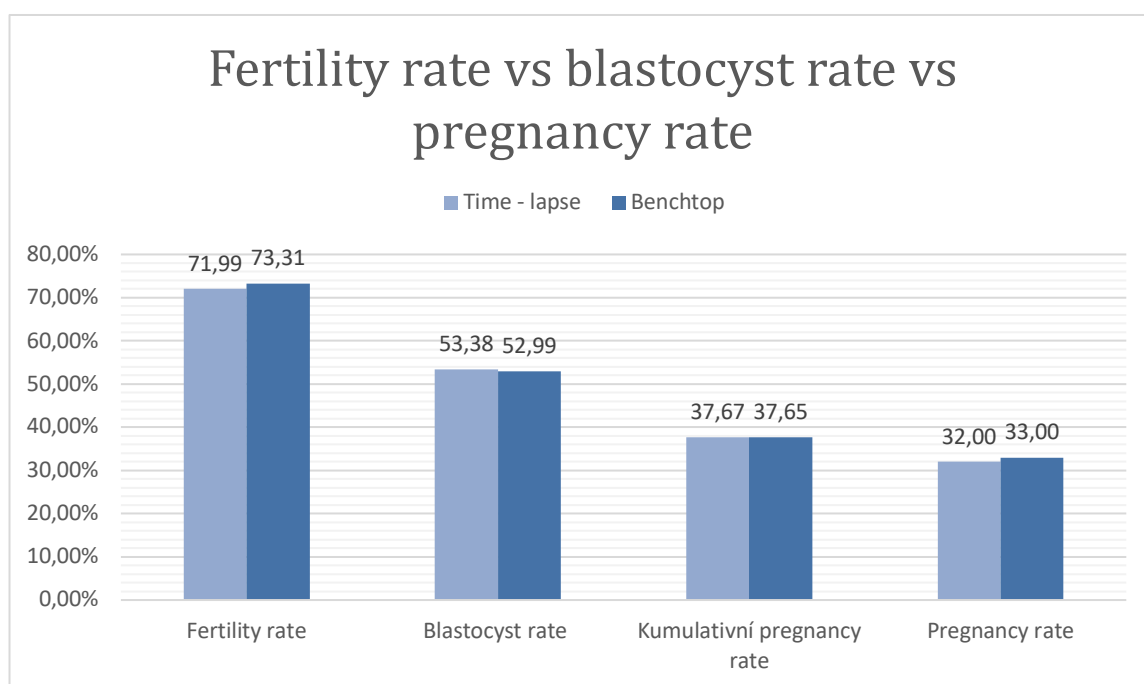
5.2.3 Pregnancy rate a kumulativní pregnancy rate

Hodnoty parametrů Pregnancy rate a kumulativního Pregnancy rate byly zjištěny podílem zahájených cyklů, počtem transferů a počtem potvrzených těhotenství. Mezi porovnávanými inkubátory nebyl evidován žádný významný rozdíl ve výsledných hodnotách těchto parametrů, jak můžeme pozorovat v tabulce 5.4.

Tabulka 5.4 Výsledky Pregnancy rate pro Time-lapse a Benchtop inkubátor

Time-lapse imaging		Benchtop	
Počet potvrzených těhotenství	171	Počet potvrzených těhotenství	157
Počet biochemických gravidit	38	Počet biochemických gravidit	29
Počet potvrzených abortů	47	Počet potvrzených abortů	36
Počet zahájených cyklů	541	Počet zahájených cyklů	470
Počet transferů	454	Počet transferů	417
%PR	32,00 %	%PR	33,00 %
%KPR	37,67 %	%KPR	37,65 %

Na obrázku 5.1 je znázorněn výsledek všech testovaných parametrů porovnávaných inkubátorů Time-lapse imaging a Benchtop.



Obrázek 5.1 Grafické znázornění parametrů úspěšnosti jednotlivých inkubátorů

Dle parametrů úspěšnosti asistované reprodukce, kterými se mimo jiné řídí většina embryologických laboratoří, nebyl zaznamenán žádný významný rozdíl ve výsledných hodnotách porovnávaných inkubátorů. Nelze tedy říci, že by Time-lapse imaging nebo Benchtop inkubátor zvyšoval procento úspěšnosti v těchto posuzovaných parametrech. Blastocyst rate je u metody Time-lapse nepatrně vyšší ve srovnání s Benchtop inkubátorem (53,38 % vs 52,99 %). Výsledná hodnota Fertility rate je nepatrně vyšší u standardního inkubátoru (73,31 % vs 71,98 %). A poslední zmíněný parametr Pregnancy rate je vyšší u standardního inkubátoru v porovnání s Time-lapse (33 % vs 32 %).

5.3 Věk pacientek podstupujících IVF cyklus

Věk a IVF cyklus hrál významnou roli v analýze našich dat. Byl zjišťován rozdíl těchto vlastností mezi jednotlivými porovnávanými inkubátory, jejichž výsledky jsou uvedeny v následujícím textu.

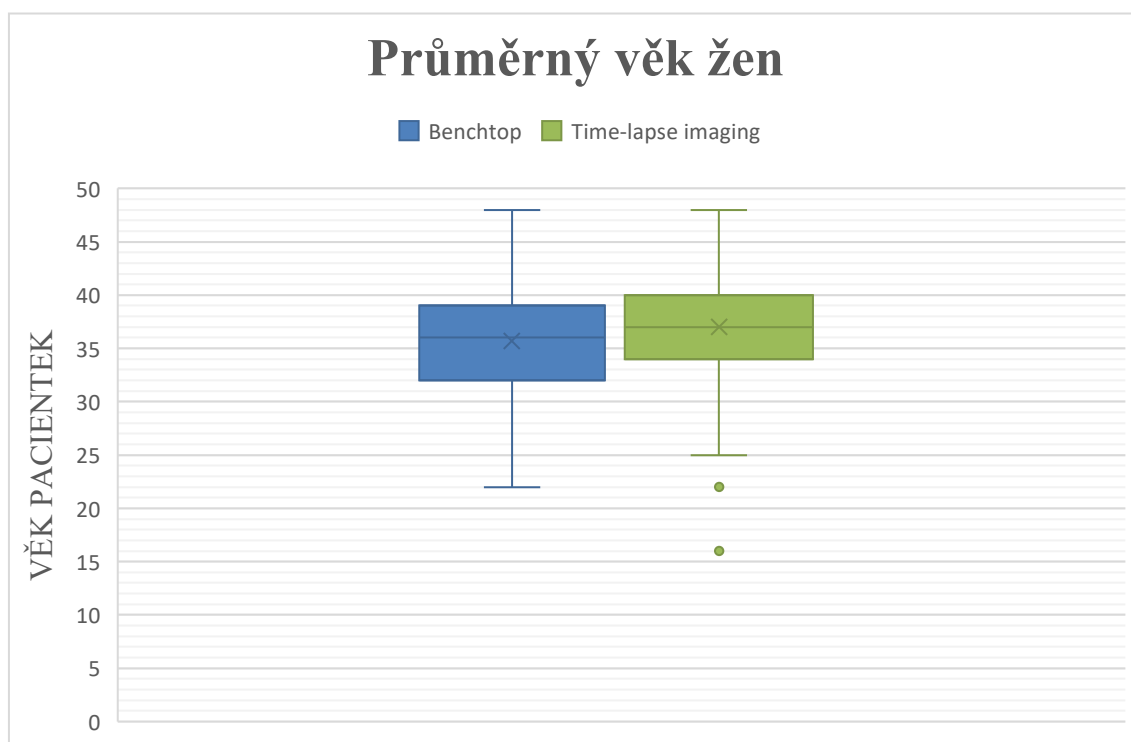
Popisná statistika zjišťovaná pro věk pacientek

Průměrný věk pacientek pro inkubátor Benchtop je 35,7 let a pro inkubátor Time-lapse imaging 37,2 let, jak je možné pozorovat v tabulce 5.5. Předpokladem tedy je, že pacientky vyšších věkových kategorií spadají do skupiny Time-lapse imaging.

Tabulka 5.5 Výsledky popisné statistiky pro věk pacientek

Metoda	Benchtop	Time-lapse imaging
Aritmetický průměr	35,7	37,2
Medián	36	38
Horní kvartil	39	40
Dolní kvartil	32	34
Maximální hodnota	48	48
Minimální hodnota	22	16
Modus	38	38
Průměrná odchylka	4,3	3,9
Rozptyl	29,1	25,1
Směrodatná odchylka	5,4	5,0

Na obrázku 1 jsou výsledky znázorněny prostřednictvím krabicového diagramu.



Obrázek 1 Grafické znázornění výsledků popisné statistiky

Srovnání průměrného věku pacientek mezi inkubátory Time-lapse a Benchtop

V tabulce 5.6 jsou uvedeny hodnoty testového kritéria a p-hodnoty Shapiro-Wilkova testu. Relevantní p-hodnota ($p=0,001$), zvýrazněna modrou barvou, je nižší, než naše stanovená hladina významnosti ($p < 0,05$), proto nulovou hypotézu zamítáme. Data tedy nepochází z normálního rozložení.

Tabulka 5.6 Výsledky Shapiro-Wilkova testu pro věk pacientek

Testové kritérium SW	p-hodnota
0,99012	< 0,001

V tabulce 5.7 jsou znázorněny hodnoty testového kritéria a relevantní p-hodnoty Mann-Whitneyho testu. Medián ve skupině Time-lapse byl 38 (IQR=6), zatímco medián ve skupině Benchtop byl 36 (IQR=7). Vzhledem k p-hodnotě ($p < 0,001$), která je nižší než 0,05, zamítáme nulovou hypotézu. Tento test nám ukázal, že mezi mediány indexů věkových kategorií pacientek porovnávaných inkubátorů Time-lapse imaging a Benchtop je statisticky významný rozdíl.

Graf 5.7 Výsledky Mann-Whitneyho testu pro určení rozdílu věku pacientek

Testové kritérium W	p-hodnota
180631	< 0,001

Závěrem tedy je, že pacientky vyšších věkových kategorií většinou spadaly do kategorie Time-lapse imaging.

5.4 Počet podstoupených IVF cyklů

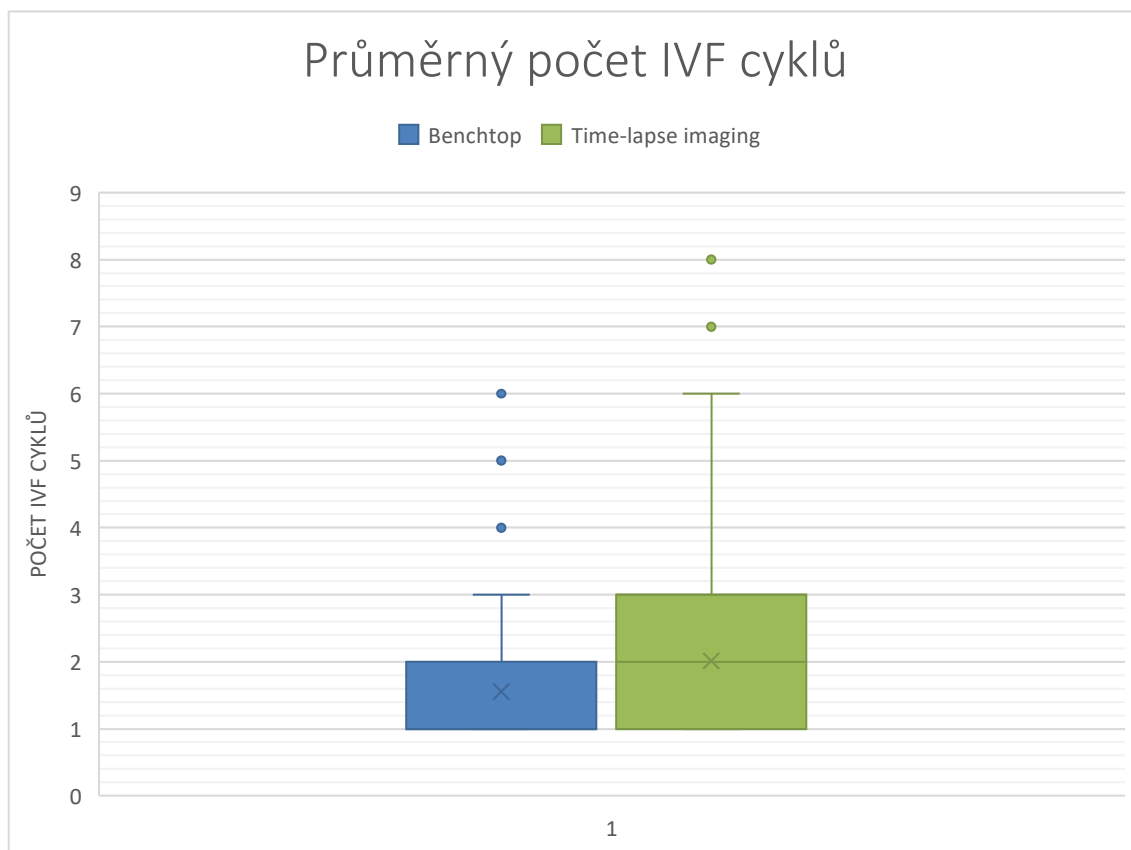
Popisná statistika zjišťovaná pro IVF cykly

Předpokladem je, že pacientky, které podstupovaly IVF cyklus vícekrát než jednou, spadaly spíše do skupiny Time-lapse imaging. Pro inkubátor Benchtop byl průměrný počet podstupujících IVF cyklů pacientek 1,6 a pro inkubátor Time-lapse byl průměrný počet IVF cyklů 2,1. Hodnoty lze pozorovat v tabulce 5.8.

Tabulka 5.8 Výsledky popisné statistiky pro IVF cyklus

Metoda	Benchtop	Time-lapse imaging
Aritmetický průměr	1,6	2,1
Medián	1	2
Horní kvartil	2	3
Dolní kvartil	1	1
Maximální hodnota	6	8
Minimální hodnota	1	1
Modus	1	1
Průměrná odchylka	0,7	0,8
Rozptyl	0,8	1,4
Směrodatná odchylka	0,9	1,2

Na obrázku 2 jsou výsledky znázorněny prostřednictvím krabicového diagramu.



Obrázek 2 Grafické znázornění výsledků popisné statistiky

Srovnání průměrného počtu IVF cyklů podstupené pacientkami

V tabulce 5.9 jsou uvedeny výsledné hodnoty testového kritéria a p-hodnoty Shapiro-Wilkova testu. Modrou barvou je zvýrazněná relevantní p-hodnota ($p=0,001$), která je nižší, než námi stanovená hladina významnosti ($p < 0,05$). Na základě tohoto zjištění nulovou hypotézu zamítáme. Nelze tedy předpokládat normální rozložení dat.

Graf 5.9 Výsledky Shapiro-Wilkova testu pro IVF cyklus

Testové kritérium SW	p-hodnota
0,74971	< 0,001

V tabulce 5.10 jsou znázorněny hodnoty testového kritéria a relevantní p-hodnoty Mann-Whitneyho testu. Medián pro IVF cyklus ve skupině Time-lapse byl 2 (IQR=2), zatímco medián ve skupině Benchtop byl 1 (IQR=1). Na základě p-hodnoty ($p < 0,001$), která je nižší než 0,05, nulovou hypotézu zamítáme. Lze potvrdit, že počty IVF cyklů,

kteře pacientky podstoupily, se mezi porovnávanými inkubátory Time-lapse a Benchtop liší. V tomto případě byl prokázán statisticky významný rozdíl.

Graf 5.10 Výsledky Mann-Whitneyho testu pro IVF cyklus

Testové kritérium W	p-hodnota
83900	< 0,001

Závěrem tedy je, že pacientky, které podstupovaly IVF cyklus vícekrát než jednou, převážně spadaly do skupiny Time-lapse imaging.

5.5 Srovnání efektu inkubátorů Time-lapse vs. Benchtop

5.5.1 Fertility rate

H_0 : Není rozdíl v efektu mezi porovnávanými inkubátory v oblasti Fertility rate.

H_A : Je rozdíl v efektu mezi porovnávanými inkubátory v oblasti Fertility rate.

V tabulce 5.11 jsou uvedeny hodnoty testového kritéria a p-hodnoty Shapiro-Wilkova testu. Relevantní p-hodnota ($p=0,001$), zvýrazněna modrou barvou, je nižší, než naše stanovená hladina významnosti ($p < 0,05$), proto nulovou hypotézu zamítáme. Data tedy nepochází z normálního rozložení.

Tabulka 5.11 Výsledky Shapiro-Wilkova testu pro posouzení normality dat

Testové kritérium SW	p-hodnota
0,899	< 0,001

Z výsledku Mann-Whitneyho testu vyplývá, že vypočtená p-hodnota ($p=0,297$) je významně vyšší než 0,05, což znamená, že nulovou hypotézu na základě vyšší p-hodnoty nezamítáme ($p > 0,05$). Bylo tedy prokázáno, že na 5 % hladině významnosti nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi středními hodnotami ve výši úspěšnosti mezi Time-lapse a Benchtop inkubátorem v oblasti Fertility rate. Výsledky lze pozorovat v tabulce 5.12.

Tabulka 5.12 Výsledky Mann-Whitneyho testu porovnávající Fertility rate jednotlivých inkubátorů

parametr	inkubátor	<i>n</i>	medián	průměr	rozptyl	testová statistika	p-hodnota
Fertility rate	TLI	742	0,8	0,768	0,375	207062	0,297
	Benchtop	540	0,8	0,787	0,333		

5.5.2 Blastocyst rate

H_0 : Není rozdíl v efektu mezi porovnávanými inkubátory v oblasti Blastocyst rate.

H_A : Je rozdíl v efektu mezi porovnávanými inkubátory v oblasti Blastocyst rate.

V tabulce 5.13 jsou uvedeny hodnoty testového kritéria a p-hodnoty Shapiro-Wilkova testu. Relevantní p-hodnota ($p=0,001$) je nižší, než naše stanovená hladina významnosti ($p < 0,05$), proto nulovou hypotézu zamítáme. Nelze tedy u dat předpokládat normální rozložení.

Tabulka 5.13 Výsledky Shapiro-Wilkova testu pro posouzení normality dat

Testové kritérium SW	p-hodnota
0,920	< 0,001

Z výsledku Mann-Whitneyho testu vyplývá, že vypočtená p-hodnota ($p=0,939$) je výrazně vyšší než 0,05, což znamená, že nulovou hypotézu na základě vyšší p-hodnoty nezamítáme ($p > 0,05$). Bylo tedy prokázáno, že na 5 % hladině významnosti nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl. Ani jeden z inkubátorů nezvyšuje procento úspěšnosti v oblasti blastocyst rate. Výsledky lze pozorovat v tabulce 5.14.

Tabulka 5.14 Výsledky Mann-Whitneyho testu porovnávající Blastocyst rate jednotlivých inkubátorů

parametr	metoda	<i>n</i>	medián	průměr	rozptyl	testová statistika	p-hodnota
Blastocyst rate	TLI	680	0,6	0,638	0,571	170241	0,939
	Benchtop	502	0,6	0,635	0,446		

5.5.3 Pregnancy rate

H_0 : Počet potvrzených klinických gravidit nezávisí na typu inkubátoru.

H_A : Počet potvrzených klinických gravidit závisí na typu inkubátoru.

V tabulce 5.15 jsou zobrazeny četnosti prokázaných klinických gravidit pro inkubátor Time-lapse imaging a Benchtop.

Tabulka 5.5 Pozorovaná čtyřpolní kontingenční tabulka četností

Typ inkubátoru	Klinická gravidita		celkem
	ano	ne	
Time-lapse imaging	133	283	416
Benchtop	128	259	387
celkem	261	542	803

V tabulce 5.16 je modrou barvou zvýrazněna relevantní p-hodnota Chí-kvadrát testu. Z tohoto testu vyplývá, že p-hodnota ($p=0,7962$) je výrazně vyšší, než naše stanovená hladina významnosti 0,05. Na základě $p > 0,05$ nemůžeme nulovou hypotézu zamítnout. V tomto případě nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl. Z výsledků můžeme říci, že typ inkubátoru nemá vliv na zvyšování klinických gravidit (Pregnancy rate).

Tabulka 5.16 Výsledná p-hodnota Chí-kvadrát testu

p-hodnota
0,7962

5.6 Analýza efektu jednotlivých inkubátorů po očištění dat

Pro analýzu efektu Time-lapse a Benchtop inkubátoru v testovaných parametrech Fertility rate a Blastocyst rate byla využita analýza kovariance. Výsledky jsou interpretovány v následujícím textu.

Fertility rate

V tabulce 5.17 jsou hodnoty získané již po očištění dat. Zelenou barvou je zvýrazněna relevantní p-hodnota pro efekt porovnávané metody, která je vyšší než

námi stanovená hladina významnosti 5 %. Efekt v tomto případě nebyl prokázán ($p=0,1647$), nebyl tedy zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými inkubátory v oblasti Fertility rate i po očištění dat od vlivu věku a IVF cyklu. Rovněž oba kovariáty věk ($p=0,9757$) a cyklus ($p=0,9745$) nemají efekt na sledovanou proměnnou.

Tabulka 5.17 Výstupy analýzy kovariance pro fertility rate

	DF	Součet čtverců	Průměrný kvadrát	F hodnota	Pr > F
Typ inkubátoru	1	0.10470385	0.10470385	1.93	0.1647
Věk	1	0.00005015	0.00005015	0.00	0.9757
IVF cyklus	1	0.00005539	0.00005539	0.00	0.9745

Blastocyst rate

Stejně jako u testovaného parametru Fertility rate máme i zde výstupy znázorněné v tabulce 5.18 již po očištění dat. Zde je zelenou barvou opět zvýrazněna relevantní p-hodnota pro efekt porovnávané metody, která je vyšší než naše stanovená hladina významnosti 5 %. Ani v tomto případě tedy nebyl prokázán efekt ($p=0,1432$), nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v oblasti Blastocyst rate. Kovariáty, jako věk ($p=0,3129$) a IVF cyklus ($p=0,0223$), nemají efekt na sledovanou proměnnou.

Tabulka 5.18 Výstupy analýzy kovariance pro blastocyst rate

	DF	Součet čtverců	Průměrný kvadrát	F hodnota	Pr > F
Typ inkubátoru	1	0.17514210	0.17514210	2.15	0.1432
Věk	1	0.08315701	0.08315701	1.02	0.3129
IVF cyklus	1	0.42768534	0.42768534	5.24	0.0223

Závěrem tedy je, že i po očištění dat od věkové kategorie a počtu IVF cyklů pomocí metody ANCOVA nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v porovnávaných parametrech Fertility rate a Blastocyst rate. Porovnáme-li výsledky s předchozí analýzou dat, kde také nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl

vyvodíme, že výsledky naší studie nebyly ovlivněny stářím pacientek a ani jejich počtem podstupujících IVF cyklů. Nedošlo k žádné změně výsledných hodnot a nelze prokázat, který z inkubátorů zvyšuje procento úspěšnosti v testovaných parametrech.

5.7 Analýza nákladové efektivity

V následujícím textu jsou uvedeny náklady pro jednotlivé typy inkubátorů (Time-lapse imaging vs. Benchtop) za osmileté období z perspektivy zdravotnického zařízení. Níže jsou i vyčísleny náklady z perspektivy pacienta.

5.7.1 Náklady z perspektivy zdravotnického zařízení

Náklady jsou počítány z perspektivy zdravotnického zařízení. Jedná se o náklady vynaložené na inkubátor Time-lapse imaging a Benchtop, které jsou v provozu kliniky asistované reprodukce Iscare. Náklady jednotlivých klinik AR se mohou lišit, záleží například na dohodě mezi prodávajícím a kupujícím, na počtu odebíraných položek nebo na počtu pacientek. Inkubátory jsou v nepřetržitém provozu a průměrný počet kultivací pro oba inkubátory za rok je 600.

Pořizovací náklady přístrojů

Z velké části jsou pořizovací náklady tvořeny kupní cenou jednotlivých inkubátorů. Kupní cena inkubátoru Time-lapse imaging byla 2 075 998 Kč a cena Benchtop byla 457 830 Kč. K Time-lapse inkubátoru je nutné pořídit navíc softwar, jehož cena se může pohybovat ve statisících až milionech korun. Záleží na typu softwaru a jeho verzi. Při kultivaci v Benchtop inkubátoru je pro kontrolu oplození a vývoje embryí nutné využít lupu případně mikromanipulační mikroskop, který je zabudován ve speciálním laminárním boxu s vyhřívací plochou.

Veškeré hodnoty jsou uvedeny v tabulce 5.19.

Tabulka 5.19 Náklady na pořízení inkubátorů Time-lapse a Benchtop

Náklady na pořízení	Time-lapse imaging	Benchtop
Pořizovací cena inkubátorů	2 075 998 Kč	457 830 Kč
AI Software lupa	750 000 Kč	-
Lupa	-	255 000 Kč
Náklady celkem	2 825 998 Kč	712 830 Kč

Náklady na provoz

Pro provozní náklady byl nutný provést odhad roční spotřeby materiálu, jak je možné sledovat v tabule 5.20. Ceny i množství odebíraných položek se u obou inkubátorů liší. Počet kultivací v těchto inkubátorech za rok je přibližně 600.

Filtr se u Time-lapsu mění každé dva měsíce, kdy se do každé komůrky vkládá jeden kus (počet komůrek – 6). Tento filtr stojí 123 Kč. U inkubátoru Benchtop se provádí výměna filtru každé tři měsíce (jeden filtr na celý inkubátor) a cena tohoto filtru je 12 100 Kč.

Spotřeba plynů je odhadovaná na jeden měsíc a průměrná cena plynů byla stanovena na základě embryologů a distributorů podobné techniky. Přičemž u Time-lapsu je využíván směsný plyn a jeho měsíční spotřeba je odhadnuta na 30 kg s celkovou částkou 5 534 Kč. U inkubátoru Benchtop je využíván tekutý dusík a oxid uhličitý a jeho měsíční spotřeba je zhruba 60 kg s celkovou cenou 6 951 Kč.

Tabulka 5.20 Ceny jednotlivého spotřebního materiálu a jejich roční spotřeba

Spotřební materiál	Time-lapse imaging		Benchtop	
	Cena za ks/ml/kg	Odhadovaná roční spotřeba	Cena za ks/ml/kg	Odhadovaná roční spotřeba
Filtr	123 Kč	36	12 100 Kč	4
Kultivační misky	320 Kč	600	40 Kč	600
Kultivační média/ 1 ml	48 Kč	192 ml	48 Kč	1 440 ml
Plyny/ 30 kg / 60 kg	5 534 Kč	360 kg	6 951 Kč	820 kg
Olej/ 500 ml	936 Kč	2 400 ml	936 Kč	840 ml

V tabulce 5.21 je vypočtena cena spotřebního materiálu za 8 let. Celkové náklady spotřebního materiálu u Benchtop inkubátoru jsou nižší. Částky některých položek se razantně liší, jako například cena kultivačního misek nebo cena kultivačního média.

Tabulka 5.21 Náklady na spotřební materiál za období 8 let

Spotřební materiál	Time-lapse imaging		Benchtop	
	Cena za rok	Cena za 8 let	Cena za rok	Cena za 8 let
Filtr/ rok	4 428 Kč	35 424 Kč	48 400 Kč	387 200 Kč
Cena kultivačních misek	192 000 Kč	1 536 000 Kč	24 000 Kč	192 000 Kč
Cena kultivačního média	9 216 Kč	73 728 Kč	69 120 Kč	552 960 Kč
Plyny	66 408 Kč	531 264 Kč	94 997 Kč	759 976 Kč
Cena oleje	4 493 Kč	35 969 Kč	1 573 Kč	12 584 Kč
Náklady celkem za 8 let	2 212 385 Kč		1 904 720 Kč	

Celkové náklady spotřebního materiálu z tabulky 5.21 byly použity k určení celkových provozních nákladů, jak je možné sledovat v tabulce 5.22.

Náklady na elektrickou energii byly odhadnuty prostřednictvím distributora podobné techniky v ČR a měsíční spotřeba energie Time-lapse inkubátoru je 800 Kč a Benchtop inkubátoru 700 Kč.

Celkové provozní náklady jsou nepatrně nižší pro inkubátor Benchtop.

Tabulka 5.22 Vypočtené náklady na provoz v osmiletém období u inkubátoru Time-lapse a Benchtop

Náklady na provoz	Time-lapse imaging	Benchtop
Náklady na elektrickou energii	6 400 Kč	5 600 Kč
Náklady na spotřebu materiálu	2 212 385 Kč	1 904 720 Kč
Náklady celkem za 8 let	2 218 785 Kč	1 910 320 Kč

Náklady na servis a údržbu

Náklady spojené se servisem a náhradními díly byly získány prostřednictvím kliniky Iscare a byly upraveny po konzultaci s distributorem podobné techniky. Náklady na náhradní díly byly zprůměrovány za období posledních tří let. Celkové náklady na servis jsou zobrazeny v tabulce 5.23 a jsou výrazně nižší u inkubátoru Benchtop.

Tabulka 5.23 Celkové servisní náklady za období 8 let

Náklady na servis	Time-lapse imaging		Benchtop	
	Cena za rok	Cena za 8 let	Cena za rok	Cena za 8 let
Náklady na preventivní servis (BTK)	177 480 Kč	1 419 840 Kč	46 412 Kč	371 296 Kč
Náklady na náhradní díly	20 000 Kč	160 000 Kč	15 000 Kč	120 000 Kč
Náklady celkem za 8 let		1 579 840 Kč		491 296 Kč

Hodnocení nákladových položek

Celkové náklady na pořízení Time-lapse inkubátoru a jeho osmiletý provoz představují 6 624 623 Kč a u inkubátoru Benchtop 3 114 446 Kč. Pořizovací náklady jsou u Time-lapsu 2 825 998 Kč a u Benchtopu 712 830 Kč. Provozní náklady představovaly nejvyšší nákladovou položku u obou inkubátorů. V osmiletém období jsou náklady na provoz u Time-lapse inkubátoru celkem 2 218 785 Kč a u Benchtop inkubátoru 1 910 320 Kč. Náklady na servis a údržbu představují u Time-lapsu 1 579 840 Kč a u Benchtopu 491 296 Kč. Náklady na likvidaci byly opomenuty vzhledem k totožným hodnotám.

Nákladové položky pro jednotlivé kategorie nákladů Time-lapse inkubátoru a Benchtop inkubátoru jsou uvedeny v tabulce 5.24.

Tabulka 5.24 Tabulka s celkovými náklady dle jednotlivých položek Time-lapse a Benchtop inkubátoru

Celkové náklady na vlastnictví	Time-lapse imaging	Benchtop
Pořizovací náklady	2 825 998 Kč	712 830 Kč
Náklady na provoz	2 218 785 Kč	1 910 320 Kč
Náklady na servis a údržbu	1 579 840 Kč	491 296 Kč
Celkem:	6 624 623 Kč	3 114 446 Kč

5.7.2 Analýza minimalizace nákladů

Analýza minimalizace nákladů byla použita pro inkubátory Time-lapse a Benchtop, které jsou využívány v embryologických laboratořích. Důvodem využití této metody je stejný výsledek efektu porovnávaných inkubátorů. Celkové náklady na inkubátor

Benchtop jsou o téměř polovinu nižší, než jak je tomu u inkubátoru Time-lapse. Výsledek je možné pozorovat v tabulce 5.25.

Tabulka 5.25 Výsledky celkových nákladů pro jednotlivé inkubátory

Analýza minimalizace nákladů	Náklady C
Celkové náklady Time-lapse inkubátoru (C1)	6 624 623 Kč
Celkové náklady Benchtop inkubátoru (C2)	3 114 446 Kč
Výsledek:	C1 > C2

5.7.3 Náklady z perspektivy pacienta

Náklady jsou vyčísleny i z perspektivy pacienta pro inkubátor Time-lapse imaging a Benchtop. Například náklady na dopravu, ušlý zisk, doplatky za léky, těhotenské testy a vitamíny jsou pro obě skupiny totožné. Rozdíl se týká pouze v příplatku za metodu Time-lapse imaging, který činí na klinice Iscare částku 4 500 Kč, jak je možné pozorovat v tabulce 5.26. Celkovou výši příplatku za metodu Time-lapse imaging si každé centrum asistované reprodukce stanoví dle vlastního uvážení, proto byla pro představu vytvořena tabulka 5.26. Příplatek je pacientkou hrazen vždy, kdežto Benchtop inkubátor je u žen do 40 let hrazen z veřejného zdravotního pojištění.

Celkové náklady vznikající pacientům jsou 4 500 Kč pro inkubátor Time-lapse imaging.

Tabulka 5.26 Náklady vznikající pacientům

Náklady vznikající pacientům	Time-lapse imaging	Benchtop
Příplatek za inkubátor Time-lapse imaging	4 500 Kč	-
Náklady celkem	4 500 Kč	-

Ceny příplatků za metodu Time-lapse imaging

Pro lepší představu byla vytvořena tabulka 5.26 s cenami za kompletní IVF cyklus a příplatek za inkubátor Time-lapse imaging ve vybraných zdravotnických zařízeních.

Tabulka 5.26 Cena příplatků za metodu TLI ve vybraných zdravotnických zařízeních

Klinika	Cena za kompletní IVF cyklus – samoplátci	Cena za kompletní IVF cyklus – pojištění	Příplatek za TLI – pojištění i samoplátci
ISCARE	32 600,00 Kč	- Kč	4 500,00 Kč
GENNET	33 500,00 Kč	- Kč	6 000,00 Kč
REPROFIT	34 500,00 Kč	- Kč	4 500,00 Kč
SANUS	34 500,00 Kč	- Kč	3 900,00 Kč
GYNEM	33 500,00 Kč	- Kč	5 000,00 Kč
PRONATAL	32 500,00 Kč	- Kč	5 500,00 Kč

6 Diskuse

Oblast asistované reprodukce se rok od roku vyvíjí a je spojena i s rozvojem moderních technologií, které tato oblast využívá. Mezi poměrně nově využívanou technologií patří Time-lapse imaging, který se stal podstatou této diplomové práce. Hlavním cílem bylo porovnání tohoto uzavřeného systému využívaného umělou inteligencí s konvenčním Benchtop inkubátorem a posouzení, zda tento poměrně nový typ inkubátoru přináší razantně lepší výsledky neplodným párům. Embryologové v Time-lapse systémech vidí velký potenciál a vnímají ze strany této metody mnoho benefitů, jako je například kontinuální monitorace embryí, poskytování informací o vývoji embryí v přesně stanovených časových intervalech, možnost včas zachytit abnormalitu vyvíjejícího se embrya, zajištění klidného a nerušeného prostředí, a tím eliminovat stres u embryí nebo optimální selekci embryí [36].

Výsledky této práce nepřinesly pozitivní závěry metodě Time-lapse. Hlavním zjištěním bylo, že mezi porovnávanými inkubátory Time-lapse a Benchtop nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v testovaných parametrech Fertility rate, Blastocyst rate a Pregnancy rate. Lépe řečeno, nebyly zaznamenány žádné významné rozdíly v počtu kvalitních embryí, implantaci, těhotenství a probíhajícím těhotenství.

Důvodů, proč tato práce nepřináší pozitivní výsledky systému TLI může být více. Důvody mohou zahrnovat věk pacientek, jejich zdravotní stav, možný chronický stres, který je typický pro ženy podstupující IVF, anebo možné období, ve kterém byla data sbírána. Pandemické období totiž omezovalo návštěvnost pacientek na klinikách a obvykle se na kliniku dostavovaly jen ty pacientky, které spadaly do vyšších věkových kategorií a bylo u nich nutné zahájit léčbu či podpořit těhotenství. V naší studii nebylo možné provést randomizovanou kontrolovanou studii, která by mohla výsledek pozitivně ovlivnit skrze náhodné rozdělování pacientek mezi jednotlivé metody. Metoda TLI byla totiž obvykle volena ženami, které měly potřebu zvýšit svou pravděpodobnost početí a obvykle se jednalo právě o starší pacientky, s méně kvalitními oocyty a zřejmě s horším zdravotním stavem. Kdežto metodu Benchtop volily ženy (mladší s kvalitnějšími oocyty) jako první volbu, protože tato metoda je oproti TLI hrazena ze zdravotního pojištění. I přesto, že je IVF léčba z části hrazena z veřejného zdravotního pojištění, je i tak pro neplodné páry obtížné pokrýt všechny náklady, natož si připlácet za metodu TLI (která je dokonce aktuálně dle našich výsledků téměř stejně efektivní, jako standardní inkubátor hrazen zdravotní pojišťovnou).

Výsledky klinické a nákladové efektivity

Analýza dat proběhla prostřednictvím několika málo statistických testů, a to na základě vybraných parametrů úspěšnosti asistované reprodukce. Výsledky lze proto rozdělit pro snazší orientaci do tří částí.

V první části výsledků jsou vypočteny parametry úspěšnosti asistované reprodukce vyjádřené v procentech, které jsou následně porovnávány mezi jednotlivými inkubátory. Tyto parametry jsou vydávány Evropskou společností pro lidskou reprodukci a embryologii a řídí se jimi většina embryologických laboratoří. Orientačně udávají míru úspěšnosti jednotlivých center asistované reprodukce. Našimi vybranými parametry jsou: Fertility rate, Blastocyst rate a Pregnancy rate. Výsledná hodnota PR u metody TLI je 71,98 % a u metody Benchtop 73,31 %. Hodnota u inkubátoru Benchtop je nepatrně vyšší a důvodem může být, jak již bylo zmíněno, větší počet mladých pacientek s kvalitnějšími oocyty. Dalším parametrem je Blastocyst rate, kde u metody TLI vyšla hodnota 53,38 % a u metody Benchtop 52,99 %. Uzavřený systém Time-lapse má embryím poskytovat klidné a nerušené prostředí pro vyvíjející se embrya, snižovat stres, a tím zajistit i vyšší procento kvalitních a vhodnějších embryí pro transfer. Předpokladem byl tedy úspěch u metody TLI, který ale nebyl dle výsledků prokázán. U posledního parametru Pregnancy rate byly výsledné hodnoty téměř zcela totožné, u metody TLI 32 % a u metody Benchtop 33 %. Dle výše porovnávaných parametrů úspěšnosti AR nebyl prokázán žádný významný rozdíl mezi inkubátorem Time-lapse a Benchtop.

V druhé části je soubor dat analyzován prostřednictvím Shapiro-Wilkova testu pro ověření normality dat ($p < 0,05$). Po zjištění nenormálního rozložení byl zvolen neparametrický test Mann-Whitneyho, který u testovaných parametrů Fertility rate ($p=0,297$) a Blastocyst rate ($p=0,939$) neprokázal žádný statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými inkubátory. Parametr Pregnancy rate ($p=0,796$) byl vzhledem ke svým dichotomickým datům analyzován prostřednictvím Chí-kvadrát testu, který ale také neprokázal statisticky významný rozdíl v této oblasti.

Ve třetí části jsou interpretovány výsledky, dle metody analýzy kovariance. Cílem této metody bylo očistění dat od vlivu věku pacientek a počtu IVF cyklů, a tím dosáhnout průkaznějších výsledků. Ale opět mezi porovnávanými parametry Fertility rate ($p=0,1647$) a Blastocyst rate ($p=0,1432$) nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl. Rovněž oba kovariáty (věk a IVF cyklus) neměly efekt na sledovanou proměnnou. Parametr PR nebylo třeba testovat vzhledem k předchozím zcela neprůkazným výsledkům. Přes všechna úsilí nelze říci, že by některý z inkubátorů zvyšoval úspěšnost AR.

Výsledky této práce, ve většině případech, nebyly v rozporu s jinými odbornými studiemi. Ani v těchto studiích nebyl zaznamenán razantní rozdíl ve výsledných hodnotách mezi těmito porovnávanými inkubátory či parametry. Oproti ostatním

předchozím studiím jsme v té naší měli mnohem větší počet respondentů (1 485) a na úkor této čestnosti jsme se snažili poskytnout přesnější odpověď na přínos metody Time-lapse, ale ani přes větší soubor dat nelze potvrdit, že by některý z inkubátorů byl přínosnější.

Například v publikované studii od Park a spol. [12] bylo randomizováno celkem 364 pacientek do věku 40 let. Cílem této studie bylo zjistit, zda kultivace v systému TLI vede ke zvýšení počtu kvalitních embryí ve srovnání s kultivací ve standardním inkubátoru, ale nebyl zde zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl. Fertility rate u TLI byla 30 % a u standardního inkubátoru 31,5 %. Obdobné výsledky přináší i studie od Tatsuo Nakahara a spol. [13], kteří posuzovali kvalitu embryí ze 146 získaných oocytů a nezaznamenali žádný statisticky významný rozdíl mezi porovnávanými inkubátory. A Cruz [15] ve své prospektivní kohortové studii, do které zahrnul pouze darované oocyty, ze kterých vzešlo 478 oocytů, také nezaznamenal statisticky významné rozdíly v porovnávaných parametrech. Došel k závěru, že míra blastocyst mezi inkubátory se významně nelišila, nebyla nalezena ani odchylka mezi mírou těhotenství a rychlostí implantace. Pozitivní výsledky přinesla studie Sciorio a spol. [3], která při srovnávání těchto dvou inkubátorů potvrdila rozdíl v podílu 4 buněčných embryí (TLI – 66,8 % vs SI – 50,5 %) a podíl kvalitních blastocyst byl vyšší ve skupině TLI (40,7 % vs 32,6 %).

Otázkou tedy je, zda má smysl, aby neplodné páry metodu TLI volily. Jedná se o metodu nákladnější, a dle naší analýzy i stejně efektivní, jako standardní inkubátor. Dokonce tato práce není v rozporu s výsledky většiny jiných studií.

Navzdory nedostatečnému zlepšení vývoje embryí a četnosti těhotenství zjištěné v této současné a jiných studiích mohou být systémy TLI výhodné z jiných hledisek. Převážně přináší užitek embryologickým laboratořím (celý vývojový proces je zdokumentován, některé důležité události mohou být zpětně analyzovány, umožňují také přesnější analýzu týkající se načasování a možnost deselektování embryí s atypickým štěpením). Chen a spol. [16] tvrdí, že TLI může mít potenciál zlepšit výsledky IVF, ale v současné době nejsou k dispozici dostatečné důkazy na podporu pravidelného užívání TLI.

Celkové náklady jednotlivých inkubátorů

V rámci nákladových položek byly porovnávány celkové náklady na osmiletý provoz (průměrná doba životnosti inkubátorů) vůči stanovenému efektu vybraných embryologických inkubátorů. Dle metody analýzy minimalizace nákladů, která byla zvolena z důvodu stejného efektu u obou inkubátorů, byly celkové náklady téměř o polovinu nižší u metody Benchtop (3 114 446 Kč) ve srovnání s Time-lapse inkubátorem (6 624 623 Kč). Vzhledem k neprokázanému efektu u obou inkubátorů si

pokládám otázku, zda se vyplatí investice do inkubátoru Time-lapse. Pokud je efekt obou inkubátorů stejný a Benchtop inkubátor je cenově přístupnější, mohu se přiklánět k variantě Benchtop. I přes tyto výsledky volba inkubátoru není jednoduchá.

Výhody Time-lapse inkubátoru jsou již zmíněny výše, ale prozatím největším benefitem tohoto typu inkubátoru zůstává výběr optimálního embrya pro transfer, a tím lze zkrátit například IVF cyklus, zvýšit pravděpodobnost početí na kratší časový interval atd. Tento benefit je velmi intenzivně vnímán embryologickými laboratořemi, a proto i přes vyšší náklady jeho míra pořizování stále roste. Embryologové vkládají do tohoto typu inkubátoru velké naděje.

Již víme, že technologie Time-lapse není levná. Přidání takového vybavení do embryologické laboratoře může stát i statisíce dolarů. Aby se tato investice vrátila, je většina klinik nucena přenést náklady na pacienty formou příplatku za tuto metodu. K ospravedlnění těchto nákladů bylo snahou prokázat výrazný efekt u metody Time-lapse imaging, aby se právě tato investice vyplatila. Ve skutečnosti se mnoho studií pokusilo prokázat zvýšenou míru těhotenství jako pozitivní výsledek uzavřeného kultivačního systému, ale zatím bez pozitivních ohlasů. Je nutné podotknout, že technologie je stále nová a vyvíjí se, většina výsledných studií je pozorovacích a není dobře kontrolovaných a výsledky zůstávají kontroverzní [37].

Tento výsledek by mohl být využit jako informace pro nákup nového inkubátoru do embryologické laboratoře nebo by mohl posloužit jako informativní příručka pro pacienty podstupující IVF.

Návrh pro výzkum

Dojde-li v budoucnu k realizaci výzkumu, týkajícího se tohoto tématu, bylo by pravděpodobně vhodné provést randomizovanou studii. Náhodné přidělení pacientek do testovaných metod by výsledky mohlo výrazně ovlivnit. V našem případě nebylo možné aplikovat randomizaci v praxi, a proto také nemůžeme vyloučit vliv confounding faktoru (za zavádějící faktor lze považovat například i povolání, stravování, životní prostředí, klimatické podmínky, atd.), proto při návrhu budoucí studie by bylo vhodné co nejvíce omezit vliv zavádějících faktorů. Dále by bylo jistě přínosné zajistit lepší rozložení respondentů, například do skupin a tyto skupiny na závěr mezi sebou porovnávat. Testované subjekty by mohly být rozděleny vzhledem k zdravotnímu stavu, životosprávě, věku, psychickému rozpoložení, metodě fertilizace oocytů (ICSI, PICSI), kultivačnímu médiu, kultivačním podmínkám a podobně. Další prospektivní a dobře navržená studie by mohla zjistit, zda tyto nové kultivační systémy dokáží identifikovat prediktivní proměnné pro těhotenství a živě narozené děti.

Věkové limity umělého oplodnění

Od 1.ledna 2022 došlo novelou zákona č.48/1997 Sb., o veřejném zdravotním pojištění k navýšení věkové hranice pro úhradu služeb poskytnutých v souvislosti s umělým oplodněním z 39 let na 40 let. Aktuálně jsou tak hrazeny z veřejného zdravotního pojištění služby související s asistovanou reprodukcí ženám ve věku od 18 let (jedná-li se o oboustrannou neprůchodnost vejcovodů) a od 22 let do dne dovršení 40 let (39 + 364 dní). A dle zákona 373/2011 Sb., o specifických zdravotních službách, lze podstoupit umělé oplodnění v plodném věku, pokud ženin věk nepřekročil 49 let, a to na základě písemné žádosti ženy a muže, ale v tomto případě již není možná úhrada z veřejného zdravotního pojištění [23].

S požadavky dnešního moderního západního světa ženy oddalují početí svého prvního dítěte, což má nepříznivý dopad na jejich plodnost [38]. Obávám se, že tato věková hranice se bude stále navyšovat, jelikož procento neplodných žen stoupá. Jsem si vědoma, že životní styl se mění, věková životní hranice také, díky vyspělé medicíně, ale dle mého názoru jsme nedošli tak daleko, aby ženy nad 40 let podstupovaly IVF. Jedná se o riziková těhotenství, která mohou mít následky jak pro matku, tak i dítě. Existují procesy v lidském organismu, které zkrátka nedokážeme zvrátit, a tím je především stárnutí. S narůstajícím věkem nám nevznikají pouze vrásky, ale lidské orgány pomalu selhávají a s nimi i orgány reprodukční, hormonální a jiné, které souvisí s těhotenstvím. Nedovolila bych si někoho popudit, ale sděluji jen svůj objektivní názor, který vznikl na základě znalostí a zkušeností.

Paradoxem je, že maximální biologický limit mateřství je dle odborníků (i odborníků z ČR) mezi 45-46 lety, ale přitom může žena v ČR podstoupit IVF léčbu do 49 let. V jiných zemích je dokonce tato hranice vyšší či neomezená.

Studie Mikwar Myy a spol. [39] prokázaly, že s narůstajícím věkem žen dochází ke zvyšování spontánních potratů. 5,3 % u žen ve věku ≤ 30 let na 7,6 % u žen ve věku 31–34 let, 12,8 % u žen ve věku 35–39 let a 22,2 % u žen ve věku ≥ 40 let. Také výskyt aneuploidii je nižší u žen ve věku do 40 let. Případy trizomie se vyskytují s nízkou frekvencí ~ 2 % u žen ve věku do 25 let, poté se frekvence zvyšuje na více než 40 % ve věku > 40 let [40].

Kvalifikace zaměstnanců

Pro manipulaci se zárodečnými buňkami a embryi je nutná znalost ze strany embryologů. Nelze hovořit pouze o znalosti teoretické, ale i o zkušenostech technických, manuálních, soustředěnosti a zodpovědnosti [41]. Budoucí rodiče vkládají do embryologických pracovníků velké naděje, přeci jen se podílejí na podpoře vzniku jejich potomka.

Dle mého názoru je obor embryologie velmi náročnou odvětví. Nejedná se o pouhé splnutí spermie a oocyty, ale toto splnutí vyžaduje náročný proces. Mnoho lidí tomuto procesu nevěnuje žádnou pozornost, anebo si nejsou vědomi jeho náročnosti. Je to samozřejmě pochopitelné, protože tento děj se za přirozených podmínek odehrává v organismu ženy a pro lidské oko se stává neviditelným. Kdežto embryologové vnímají tento proces velice intenzivně a dokonce jsou jeho nedílnou součástí, kdy musí být schopni tento proces podporovat, udržovat, kontrolovat a vyhodnocovat. Proto je důležité, aby embryologové splňovali všechny výše uvedené vlastnosti. Tyto vlastnosti mohou hrát zásadní roli v úspěšnosti IVF cyklu.

Z toho vyplývá, že kvalifikace zaměstnanců může ovlivňovat finální výsledky našich sledovaných parametrů souvisejících s FR, BIR a PR. Embryolog musí umět manipulovat a správně využívat laboratorní přístrojovou techniku, která je v laboratořích v hojné míře využívána. TLI sice kontinuálně poskytuje informace o stavu a vývoji embryí, eventuálně je schopný upozornit na nějakou abnormalitu u vyvíjejícího se embrya, ale je důležité, aby embryolog i přes všechny výhody tohoto inkubátoru, uměl posoudit svými znalostmi stav embrya. U inkubátoru Benchtop je to o něco náročnější vzhledem k většímu množství úkonů, které musí být vykonány. Embryolog v tomto případě může zapříčinit více chyb, protože s embryi musí manipulovat, sám je vyhodnocovat a vybírat nejvhodnější embryo pro transfer. U TLI je to jakási dvojitá kontrola díky zabudované kameře a softwaru.

Jak ale dosáhnout potřebné kvalifikace embryologů? Problémem je, že ve většině zemí musí být kliničtí embryologové registrováni pod jinou profesí a mají omezené možnosti organizovaného vzdělávání v klinické embryologii. Většinou je pro praktickou práci školí starší kolegové. Certifikace embryologa ESHRE je zatím jedinou mezinárodně uznávanou kvalifikací, to však nelze považovat za subspecializaci [42]. Evropská společnost pro lidskou reprodukci a embryologii (ESHRE) proto přijala řadu iniciativ, jejichž cílem je podpořit zajištění správné laboratorní praxe a definovat koncept kvalifikovaných embryologů. Jednou z iniciativ ESHRE byla revize pokynů pro správnou praxi v laboratořích IVF, a to nejen v reakci na potřebu podpory a vedení embryologů při plnění jejich povinností, ale také jako doplněk k požadavkům stanoveným směrnicí o tkáních a buňkách [43].

Co se týká ČR, tak na lékařské fakultě v Brně lze od roku 2020 studovat zcela nový a v Česku zatím unikátní magisterský obor s názvem Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví – embryolog.

7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo posouzení přínosů metody Time-lapse imaging využívaného v průběhu in vitro fertilizace a jeho vliv a efekt na sledované parametry úspěšnosti asistované reprodukce. Cílem bylo i posouzení nákladové efektivity Time-lapse imaging a jeho porovnání s konvenčně využívanou metodou Benchtop.

Na základě získaných informací z publikací a studiích zabývajících se touto poměrně novou technologií byly stanoveny hypotézy, které následně byly ověřovány statistickým testováním získaného souboru dat z embryologické laboratoře soukromé kliniky Iscare. Data se týkala 1 485 pacientek podstupujících léčbu neplodnosti.

Pro posouzení efektu mezi inkubátory byla data analyzována prostřednictvím Mann-Whitneyho testu, Chí-kvadrát testu a analýzy kovariance. Výsledky Mann-Whitneyho testu byly neprůkazné, nebyl zde zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl mezi inkubátory v porovnávaných parametrech Fertility rate a Blastocyst rate, a ani dle Chí-kvadrát testu nebyl prokázán významný rozdíl v oblasti Pregnancy rate. Následně byla zvolena metoda analýzy kovariance, která měla za cíl očistit soubor dat od nežádoucích vlivů týkajících se věku pacientek a počtu IVF cyklů, a tím dosáhnout průkaznějších výsledků. Ale i po aplikaci této metody bylo zjištěno, že kovariáty (věk a IVF cyklus) neměly vliv na efekt posuzovaných inkubátorů. Nelze tedy říci, že by některý z inkubátorů zvyšoval procento úspěšnosti v průběhu léčby neplodnosti.

V rámci nákladové analýzy byly porovnány celkové náklady na osmiletý provoz vůči zjištěnému efektu inkubátorů. Z výsledků vyplývá, že celkové náklady na vlastnictví jsou téměř dvojnásobně vyšší pro inkubátor Time-lapse imaging oproti inkubátoru Benchtop. Také náklady vynaložené z perspektivy pacienta jsou vyšší, neboť inkubátor Time-lapse imaging není hrazen z veřejného zdravotního pojištění.

Dle poznatků z této diplomové práce o současném stavu problematiky, která se týká nákladového a klinického hodnocení inkubátorů Time-lapse imaging a Benchtop lze říci, že tato oblast by měla být i nadále předmětem výzkumu dalších odborných studií, vzhledem k pokračujícímu vývoji této nové technologie.

Seznam použité literatury

[1] RAUDONIS, Vidas, Agne PAULAUSKAITE-TARASEVICIENE, Kristina SUTIENE a Domas JONAITIS. Towards the automation of early-stage human embryo development detection. *BioMedical Engineering OnLine* [online]. 2019, **18**(1), 120. ISSN 1475-925X. Dostupné z: doi:10.1186/s12938-019-0738-y

[2] ŘEZÁČOVÁ, Jitka. *Reprodukční medicína: současné možnosti v asistované reprodukci*. Praha: Mladá fronta, 2018. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-4657-2.

[3] SCIORIO, R., J. K. THONG a S. J. PICKERING. Comparison of the development of human embryos cultured in either an EmbryoScope or benchtop incubator. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2018, **35**(3), 515–522. ISSN 1573-7330. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-017-1100-6

[4] BARBERET, Julie, Jérémy CHAMMAS, Céline BRUNO, Elodie VALOT, Clarisse VUILLEMIN, Lysiane JONVAL, Cécile CHOUX, Paul SAGOT, Agnès SOUDRY a Patricia FAUQUE. Randomized controlled trial comparing embryo culture in two incubator systems: G185 K-System versus EmbryoScope. *Fertility and Sterility* [online]. 2018, **109**(2), 302-309.e1. ISSN 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2017.10.008

[5] BOIVIN, Jacky, Laura BUNTING, John A. COLLINS a Karl G. NYGREN. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. 2007, **22**(6), 1506–1512. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/dem046

[6] MIO, Yasuyuki a Kazuo MAEDA. Time-lapse cinematography of dynamic changes occurring during in vitro development of human embryos. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 2008, **199**(6), 660.e1–5. ISSN 1097-6868. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2008.07.023

[7] ŘEŽÁBEK, Karel. *Asistovaná reprodukce*. 2. aktualiz. a dopl. vyd. Praha: Maxdraf, 2014. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 978-80-7345-396-1.

[8] MARDEŠIĆ, Tonko. *Diagnostika a léčba poruch plodnosti*. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4458-2.

[9] MAJUMDAR, Gaurav a Abha MAJUMDAR. A prospective randomized study to evaluate the effect of hyaluronic acid sperm selection on the intracytoplasmic sperm injection outcome of patients with unexplained infertility having normal semen

parameters. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2013, **30**(11), 1471–1475. ISSN 1573-7330. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-013-0108-9

[10] GALLEGO, Raquel Del, José REMOHÍ a Marcos MESEGUER. Time-lapse imaging: the state of the art†. *Biology of Reproduction* [online]. 2019, **101**(6), 1146–1154. ISSN 1529-7268. Dostupné z: doi:10.1093/biolre/ioz035

[11] OMBELET, Willem, Ian COOKE, Silke DYER, Gamal SEROUR a Paul DEVROEY. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Human Reproduction Update* [online]. 2008, **14**(6), 605–621. ISSN 1460-2369. Dostupné z: doi:10.1093/humupd/dmn042

[12] PARK, H., C. BERGH, U. SELLESKOG, A. THURIN-KJELLBERG a K. LUNDIN. No benefit of culturing embryos in a closed system compared with a conventional incubator in terms of number of good quality embryos: results from an RCT. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. 2015, **30**(2), 268–275. ISSN 1460-2350. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/deu316

[13] NAKAHARA, Tatsuo, Akira IWASE, Maki GOTO, Toko HARATA, Miyabi SUZUKI, Miki IENAGA, Harumi KOBAYASHI, Sachiko TAKIKAWA, Shuichi MANABE, Fumitaka KIKKAWA a Hisao ANDO. Evaluation of the safety of time-lapse observations for human embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2010, **27**(2–3), 93–96. ISSN 1573-7330. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-010-9385-8

[14] ADAMSON, G. David, Mary E. ABUSIEF, Lourella PALAO, Jennifer WITMER, Lonyl M. PALAO a Marina GVAKHARIA. Improved implantation rates of day 3 embryo transfers with the use of an automated time-lapse-enabled test to aid in embryo selection. *Fertility and Sterility* [online]. 2016, **105**(2), 369-375.e6. ISSN 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2015.10.030

[15] CRUZ, María, Blanca GADEA, Nicolás GARRIDO, Kamilla Sõe PEDERSEN, Mar MARTÍNEZ, Inma PÉREZ-CANO, Manuel MUÑOZ a Marcos MESEGUER. Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by time-lapse imaging. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2011, **28**(7), 569–573. ISSN 1573-7330. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-011-9549-1

[16] CHEN, Minghao, Shiyong WEI, Junyan HU, Jing YUAN a Fenghua LIU. Does time-lapse imaging have favorable results for embryo incubation and selection compared with conventional methods in clinical in vitro fertilization? A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials. *PloS One* [online]. 2017, **12**(6), e0178720. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0178720

[17] PANDIAN, Z., S. BHATTACHARYA, L. VALE a A. TEMPLETON. In vitro fertilisation for unexplained subfertility. *The Cochrane Database of Systematic*

Reviews [online]. 2005, (2), CD003357. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD003357.pub2

[18] VAN VOORHIS, B. J., D. W. STOVALL, B. D. ALLEN a C. H. SYROP. Cost-effective treatment of the infertile couple. *Fertility and Sterility* [online]. 1998, **70**(6), 995–1005. ISSN 0015-0282. Dostupné z: doi:10.1016/s0015-0282(98)00341-0

[19] GARCEAU, L., J. HENDERSON, L. J. DAVIS, S. PETROU, L. R. HENDERSON, E. MCVEIGH, D. H. BARLOW a L. L. DAVIDSON. Economic implications of assisted reproductive techniques: a systematic review. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. 2002, **17**(12), 3090–3109. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/17.12.3090

[20] PASHAYAN, Nora, Georgios LYRATZOPOULOS a Raj MATHUR. Cost-effectiveness of primary offer of IVF vs. primary offer of IUI followed by IVF (for IUI failures) in couples with unexplained or mild male factor subfertility. *BMC health services research* [online]. 2006, **6**, 80. ISSN 1472-6963. Dostupné z: doi:10.1186/1472-6963-6-80

[21] ESHRE WORKING GROUP ON TIME-LAPSE TECHNOLOGY, Susanna APTER, Thomas EBNER, Thomas FREOUR, Yves GUNS, Borut KOVACIC, Nathalie LE CLEF, Monica MARQUES, Marcos MESEGUER, Debbie MONTJEAN, Ioannis SFONTOURIS, Roger STURMEY a Giovanni COTICCHIO. Good practice recommendations for the use of time-lapse technology†. *Human Reproduction Open* [online]. 2020, **2020**(2), hoaa008. ISSN 2399-3529. Dostupné z: doi:10.1093/hropen/hoaa008

[22] VENTRUBA, Pavel, Jana ŽÁKOVÁ, Karel ŘEŽÁBEK, Kateřina VESELÁ, Gabriela TAUWINKLOVÁ, Pavel TRÁVNÍK, Michal JEŠETA, Tonko MARDEŠIĆ, Igor CRHA, Ladislava JELÍNKOVÁ a David RUMPÍK. Solved problems of reproductive medicine in the Czech Republic 2020. *Ceska Gynekologie* [online]. 2021, **86**(2), 140–147. ISSN 1210-7832. Dostupné z: doi:10.48095/cccg2021140

[23] *Podmínky pro umělé oplodnění od roku 2022 - VZP ČR* [online]. [vid. 2022-04-09]. Dostupné z: <https://www.vzp.cz/o-nas/tiskove-centrum/otazky-tydne/podminky-pro-umele-oplodneni-od-roku-2022>

[24] KUDRNOVÁ, Bc Anna. Epidemiologie faktorů neplodnosti u pacientů podstupujících asistovanou reprodukci. nedatováno, 92.

[25] KOUTKOVÁ, Helena. PRAVDĚPODOBNOST A MATEMATICKÁ STATISTIKA. 2004, 51.

[26] PAVLÍK, Tomáš a Masaryk UNIVERSITY. *Biostatistika* [online]. 11. červen 2012 [vid. 2022-04-10]. Dostupné z: <https://portal.med.muni.cz/clanek-590-biostatistika.html>

- [27] MISHRA, Prabhaker, Chandra M PANDEY, Uttam SINGH, Anshul GUPTA, Chinmoy SAHU a Amit KESHRI. Descriptive Statistics and Normality Tests for Statistical Data. *Annals of Cardiac Anaesthesia* [online]. 2019, **22**(1), 67–72. ISSN 0971-9784. Dostupné z: doi:10.4103/aca.ACA_157_18
- [28] NAHM, Francis Sahngun. Nonparametric statistical tests for the continuous data: the basic concept and the practical use. *Korean Journal of Anesthesiology* [online]. 2016, **69**(1), 8–14. ISSN 2005-6419, 2005-7563. Dostupné z: doi:10.4097/kjae.2016.69.1.8
- [29] HART, Anna. Mann-Whitney test is not just a test of medians: differences in spread can be important. *BMJ* [online]. 2001, **323**(7309), 391–393. ISSN 0959-8138, 1468-5833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.323.7309.391
- [30] DEHAENE, Heidelinde, Jan DE NEVE a Yves ROSSEEL. A Wilcoxon–Mann–Whitney Test for Latent Variables. *Frontiers in Psychology* [online]. 2021, **12** [vid. 2022-05-02]. ISSN 1664-1078. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyg.2021.754898>
- [31] HEBÁK, Petr. *Statistické myšlení a nástroje analýzy dat*. 2. vydání. Praha: Informatorium, 2015. ISBN 978-80-7333-118-4.
- [32] *Biostatistika* [online]. [vid. 2022-04-10]. Dostupné z: <https://botanika.prf.jcu.cz/suspa/vyuka/statistika.php>
- [33] Rozdíl mezi ANCOVOU a regresí (Matematika a statistika). *Rozdíl mezi podobnými objekty a pojmy*. [online]. [vid. 2022-04-10]. Dostupné z: <https://cs.sawakinome.com/articles/mathematics--statistics/difference-between-ancova-and-regression-3.html>
- [34] *Výstup_3a.pdf* [online]. [vid. 2022-04-25]. Dostupné z: http://www.podporaprocessu.cz/wp-content/uploads/2016/03/V%C3%BDstup_3a.pdf
- [35] SOUKOPOVÁ, Jana. Nákladově-výstupové metody hodnocení (CMA, CEA, CUA). 2013, 8.
- [36] BHIDE, Priya, Arasaratnam SRIKANTHARAJAH, Doris LANZ, Julie DODDS, Bonnie COLLINS, Javier ZAMORA, David CHAN, Shakila THANGARATINAM a Khalid S. KHAN. TILT: Time-Lapse Imaging Trial—a pragmatic, multi-centre, three-arm randomised controlled trial to assess the clinical effectiveness and safety of time-lapse imaging in in vitro fertilisation treatment. *Trials* [online]. 2020, **21**(1), 600. ISSN 1745-6215. Dostupné z: doi:10.1186/s13063-020-04537-2
- [37] PAULSON, Richard J. Time-lapse imaging. *Fertility and Sterility* [online]. 2018, **109**(4), 583. ISSN 0015-0282, 1556-5653. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2018.02.013

- [38] WEEG, N., E. SHALOM-PAZ a A. WISER. Age and infertility: the clinical point of view. *Minerva Ginecologica*. 2012, **64**(6), 477–483. ISSN 0026-4784.
- [39] MIKWAR, Myy, Amanda J. MACFARLANE a Francesco MARCHETTI. Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* [online]. 2020, **785**, 108320. ISSN 1383-5742. Dostupné z: doi:10.1016/j.mrrev.2020.108320
- [40] REVENKOVA, Ekaterina, Kathleen HERRMANN, Caroline ADELFAK a Rolf JESSBERGER. Oocyte Cohesin Expression Restricted to Predictyate Stages Provides Full Fertility and Prevents Aneuploidy. *Current Biology* [online]. 2010, **20**(17), 1529–1533. ISSN 0960-9822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2010.08.024
- [41] GO, Kathryn J. ‘By the work, one knows the workman’: the practice and profession of the embryologist and its translation to quality in the embryology laboratory. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 2015, **31**(4), 449–458. ISSN 1472-6483, 1472-6491. Dostupné z: doi:10.1016/j.rbmo.2015.07.006
- [42] KOVAČIČ, B., C. PLAS, B. J. WOODWARD, G. VERHEYEN, F. J. PRADOS, J. HREINSSON, M. J. DE LOS SANTOS, M. C. MAGLI, K. LUNDIN a C. E. PLANCHA. The educational and professional status of clinical embryology and clinical embryologists in Europe. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. 2015, **30**(8), 1755–1762. ISSN 1460-2350. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/dev118
- [43] MAGLI, M. Cristina, Etienne VAN DEN ABBEEL, Kersti LUNDIN, Dominique ROYERE, Josiane VAN DER ELST, Luca GIANAROLI, a COMMITTEE OF THE SPECIAL INTEREST GROUP ON EMBRYOLOGY. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. 2008, **23**(6), 1253–1262. ISSN 1460-2350. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/den068

8 Přílohy

Příloha č. 1 – Tabulka s kritérii pro sběr dat - CODEBOOK

Kritérium	Význam	Hodnota
Číslo OPU	Identifikace pacienta	Značeno čísly
Věk pacientky	-	22-48 let
Cyklus	Kolikátý IVF cyklus pacientka podstupuje	1 až 4 cyklus
Datum OPU	V jaký den proběhl odběr oocytů	-
Celkem oocytů	Počet získaných oocytů	Individuální
Oocyty k IVF + oocyty k ICSI/PICSI	Kolik oocytů bylo získáno	-
Počet zralých oocytů ICSI/PICSI	Kolik je zralých oocytů vhodných k fertilizaci (k oplodnění) -> ve fázi MII -> vhodné k fertilizaci (k oplodnění)	Individuální
Fertilizace po IVF/ICSI/PICSI	Kolik oocytů bylo úspěšně oplozeno spermii (IVF/ICSI/PICSI -> jsou laboratorní metody fertilizace) -> 2PN (2 prvojádra = správná fertilizace)	Individuální
Datum transferu	V jaký den proběhl přenos embrya/í do dutiny děložní ženy	Obvykle 4., 5./6. den cyklu
Transfer IVF/ICSI/PICSI	Počet, kolik bylo embryí transferováno (IVF/ICSI/PICSI -> po jakých laboratorních metodách)	1 - 2 embrya
Vitřifikovaná embrya	Kolik embryí bylo zamraženo -> pro nás statisticky nevýznamné	-
Počet kvalitních 5D (5denních) embryí	kolik kvalitních embryí se vyvinulo do finální fáze embryonálního vývoje (zda byla vhodná k transferu)	Individuální
Doba kultivace	Kolik dnů byla embrya kultivována v inkubátorech	3-6 dnů
Počet vyřazených embryí	Kolik embryí nebylo například kvalitních a nebyla vhodná pro transfer	Individuální
Klinická gravidita	Zda ženy po transferu otěhotněly -> v tabulce značeno písmeny N (není těhotná), K (klinická gravidita -> úspěšný transfer), B (biochemická gravidita -> monitoring hCG), - (výsledek neznámý)	Graviditu lze zjistit pomocí hodnot hCG, které lze získat z krevního odběru (B), těhotenského testu nebo potvrzení těhotenství USG kontrolou (K)
Počet plodů	Zda se jedná o jednočetnou či vícečetnou graviditu - v tabulce značeno 1 (jeden plod), 2 (dva plody), AB (abort -> potrat)	Individuální

Poznámka k ET	Značení kvality embryí	Značeno tiskacími písmeny k identifikaci kvality embyroblastu a trofektodermu: A (nejlepší), B (střední), C (nejhorší) a čísla k identifikaci hatchingu (rozpínání buněk) 1, 2, 3
Typ inkubátoru	V jakém inkubátoru byla embrya kultivována	Benchtop vs TLI - GERI
PGT	Preimplntační genetické vyšetření -> pro nás statisticky nevýznamné	-
Porod	Zda žena porodila dítě -> ukazatel, zda těhotenství proběhlo v pořádku	Chlapec/děvče

