

Zunajtelesna oploditev – od zamisli do prvega otroka

Ob Nobelovi nagradi 2010 za medicino s področja zunajtelesne oploditve

In vitro fertilization – from concept to first child
Commemorating the 2010 Nobel Prize in Medicine

Kristina Janežič,¹ Zvonka Zupanič Slavec,¹ Eda Vrtačnik Bokal²

¹ Inštitut za zgodovino medicine MF UL

² Klinični oddelek za reprodukcijo, Ginekološka klinika Univerzitetni klinični center Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

Kristina Janežič, dr. med., Bolnišnica za ginekologijo in porodništvo Kranj, Kidričeva 38, 4000 Kranj
dr.janezic@gmail.com

Ključne besede:

zunajtelesna oploditev, zgodovina, prvi otrok iz epruvete, Robert Edwards, Nobelova nagrada za medicino 2010

Key words:

in vitro fertilization, history, the first child from the tube, Robert Edwards, Nobel Prize for Medicine 2010

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2011; 80: 710–718

Prispelo: 4. maj 2011,
Sprejeto: 10. avg. 2011

Izvleček

Od rojstva prvega »otroka iz epruvete« je minilo 33 let in odtlej se je po svetu s pomočjo zunajtelesne oploditve (ZTO) rodilo že približno 4 milijone otrok. V Sloveniji sta se prva otroka rodila leta 1984. V letu 2005 je bil delež otrok, spočetih z oploditvijo z biomedicinsko pomočjo, 3,9 %, kar nas uvršča na prvo mesto v Evropi. Rutinska uporaba postopkov ZTO z natančno izdelanimi protokoli izgleda danes skoraj samoumevna, zato večkrat pozabimo na njeno težavno in dolgoletno razvojno pot.

V članku predstavljamo razvoj ZTO od prvih zamisli o oplojevanju jajčnih celic zunaj telesa iz konca 19. stol. preko poskusov na različnih živalih in končno do prve nosečnosti pri ženski in rojstva prvega otroka v Združenem kraljestvu Velike Britanije. Raziskovalci in zdravniki iz drugih držav – predvsem Avstralije in Združenih držav Amerike – so v 70. in 80. letih 20. stol. pomembno prispevali k napredku področja, vendar bi pregled vsega takratnega dogajanja presegel okvire članka. V razvojnem obdobju se je metoda spreminjala in doživela številne inovativne izboljšave. Prav tako se je odnos znanstvenih in laičnih krogov od začetnega skepticizma, neodobravanja in celo odklanjanja večinoma spremenil in končal s skoraj popolnim sprejemanjem. Pionir postopka ZTO Anglež Robert Edwards je za svoje znanstveno področje v letu 2010 prejel Nobelovo nagrado za medicino.

ZTO je področje medicine, ki že po svoji naravi buri duhove in sproža številna pravna in etična vprašanja. Iz biološkega zornega kota pa imamo preprosto opraviti z eno od metod oploditve, ki je marsikateremu človeku z neuresničeno željo po otrocih izpolnila življenjsko željo.

Abstract

Since the birth of the world's first test-tube baby in 1978, more than 4 million babies have been born worldwide with the help of *in vitro* fertilization (IVF). In Slovenia, the first babies were born in 1984. In 2005, the percentage of babies born with biomedically assisted reproduction was 3.9 % and was the highest in Europe.

IVF is nowadays a widely available and accepted method for helping infertile couples. However, the path to success was long and difficult. In this article, we present the development of IVF from the first ideas about fertilizing eggs outside the body from the end of the 19th century, followed by experiments on different animal species, the first human pregnancy and finally the birth of the first child in the United Kingdom. Many pioneers from other countries, particularly Australia and the United States of America, were instrumental in developing IVF as we know it today. Unfortunately, covering the history of IVF would greatly exceed the purpose of this article.

During its history, the method was modified with innovative improvements. In its beginnings, there was a great deal of scepticism and opposition from certain public as well as scientific circles, an attitude that changed radically. The fact that the pioneer Robert Edwards received the Nobel Prize for Medicine in 2010 is proof of the growing acceptance of the method.

Surely, IVF is a complex medical field, which raised and still raises ethical and legal questions. But from a merely human perspective, it is simply a method which gave infertile couples the opportunity to fulfill their lifetime dream.

Problem neplodnosti

Ohranitev biološke vrste je ena od prvobitnih želja človeka. Poznavanje zgodovine neplodnosti kaže vso razsežnost problema. Zanositev in nosečnost sta kot težko razumljiva pojava skozi zgodovino človeštva zbuvala zanimanje. Nič drugače ni bilo z neplodnostjo, ki je veljala za prekletstvo. Že Aristotel je o tem napisal delo *O nezmožnosti spočetja*. Jalovost je bila s tem prepoznana in opredeljena, neplodna ženska nezaželena, o moški neplodnosti pa niso razmišljali.¹

Sodobna medicina se v zadnjega pol stoletja intenzivno ukvarja s problemom neplodnosti. Poleg vedno boljšega odkrivanja vzrokov neplodnosti je vpeljala tudi številne nove pristope zdravljenja. Pomemben napredek pomeni spoznanje, da vzrok neplodnosti ni samo pri ženski, ampak je v enakem deležu lahko prisoten tudi pri moškem. Tako ne gre več za obravnavanje neplodne ženske, ampak za obravnavanje neplodnega para.

Zdravljenje neplodnosti je lahko medikamentno, kirurško in kot poslednji ukrep postopek zunajtelesne oploditve (ZTO).

ZTO je postopek, pri katerem jajčne celice oplodimo s semenom zunaj telesa. Gre za eno pomembnejših metod oploditve z biomedicinsko pomočjo (OBMP), ki jo uporabljamo takrat, ko izčrpamo druge medikamentne in kirurške možnosti.

Klasična ZTO se prične s spodbujanjem jajčnikov z gonadotropini, da pridobimo večje število zrelih foliklov, ki jih nato pod nadzorom ultrazvoka aspiriramo skozi nožnico. V foliklovi tekočini pod mikroskopom poiščemo jajčne celice in jih oplodimo s semenom, pripravljenim v posebnem mediju. Prenos zarodkov v maternico opravimo tretji ali peti dan po aspiriranju foliklov. Klasično ZTO opravimo pri ženski neplodnosti in pri normalni kakovosti partnerjevega semena. V primeru moške neplodnosti (slaba kakovost semena, oligospermija, semenčice, pridobljene iz mod in nadmodka) opravimo pod kontrolo mikroskopa neposredni vnos semenčice v citoplazmo jajčne celice (*angl.* intracytoplasmic sperm injection, ICSI). Tako zaobidemo *zono pellucida* in membrano jajčne celice – prepreki, ki ju semenčica

slabe kakovosti ne more predreti in hkrati spodbudimo razne fiziološke procese, ki so potrebni za oploditev jajčne celice (vezava na *zono pellucida*, kapacitacija, akrosomska reakcija).²

ZTO lahko v primeru genetskih bolezni kombiniramo tudi s predimplantacijsko genetsko diagnostiko, ki je danes sestavni del reproduktivne biotehnologije pri človeku in številnih živalskih vrstah. Poleg zdravljenja neplodnosti in pomoči istospolnim partnerjem se metoda uporablja tudi za tvorbo embrijev v raziskovalne namene, izboljšanje rodnosti živali za rejo in tudi za ohranjanje ogroženih živalskih vrst.

Prve zamisli

Dolgoletne želje po rešitvi problema neplodnosti so raziskovalce že ob koncu 19. stol. pripeljale do ustvarjalnih zamisli, kako bi jajčno celico eksperimentalno oplodili s semenom. Idejno delo je znanstvenike preko številnih zaprek postopno vodilo do uresničevanja zamisli.

V letih 1878–1959 so različni raziskovalci poskušali *in vitro* oploditi jajčne celice različnih vrst sesalcev. O tem obstaja obsežna dokumentacija in veliko poročil o uspešnih oploditvah, ki pa jih z vidika današnjega znanja stroka jemlje z zadržanostjo. Oploditev jajčne celice je namreč kompleksen proces in možne so različne napake pri tolmačenju rezultatov, ki so bile v preteklosti še toliko bolj verjetne. Takratno znanje fiziologije in biokemije oploditve ter embriologije je bilo skopo. Natančno poznavanje procesa oploditve pa je ključno za uspešno izvedbo oploditve *in vitro*. Znanstveniki in zdravniki so se na več kot stoletje dolgi poti morali dokopati do spoznanj o menstrualnem ciklusu, zorenju jajčnih celic, kapacitaciji semenčic, gojiščih itd... Takratno znanje o fiziologiji, kemiji in morfolgiji oploditve sesalcev je bilo zelo pomanjkljivo v primerjavi z znanjem o dvoživkah in morskih ježkih. To lahko pripišemo dejstvu, da se oploditev in razvoj zarodkov pri človeku dogajata znotraj telesa, zato je težje dostopno za raziskovanje. Dodatna ovira pri popolnem zgodovinskem pregledu je dejstvo, da je bilo veliko pomembnih raziskav opravljenih še v dobi

pred elektronskimi zbirkami, kot je *Medline*, in nekatera poročila so bila objavljena v virih, ki niso katalogizirani v teh zbirkah.³

Prvo oploditev jajčnih celic zunaj telesa pri zajcu je na Dunaju opravil S. L. Schenk že pred letom 1880.⁴ Prenos zarodka pri zajcih pa je 1890 prvi opravil Walter Heape. Zgodnje zarodke zajcev je pridobil z izpiranjem jajcevodov s fiziološko raztopino. Zgodnje zarodke je potem prenesel v drugo samico, ki je zajce nato skotila.⁵

Gregory Pincus (1903–1967) je 1930 poročal o svojih prvih poskusih ZTO na zajcih, ki jih je izvajal na ustanovi *School of Agriculture v Cambridgeu*. Jajčne celice je zmešal s semenom in prenesel v jajcevode, vendar so bili vsi poskusi neuspešni.⁶ Ko se je Pincus vrnil na Harvard, je delo nadaljeval z Ernestom V. Enzmannom. Tako sta 1934 poročala, da sta združila jajčne celice in semenčice zajcev ter jajčne celice po spiranju prenesla v jajcevode nadomestne matere, ki je skotila žive mladiče. Le-ti so kazali značilnosti genetske in ne nadomestne matere.⁷ Danes vemo, da je oploditev verjetno potekala *in vivo*. Odstranitev adherentnih spermijev iz sveže ovuliranih jajčnih celic je zahtevna.⁸ Tako je možno, da so bile jajčne celice oplojene po prenosu, *in vivo*, saj je bil časovni interval med koinkubacijo gamet *in vitro* in prenosom le 20 minut. Enak problem se je pojavil pri raziskavi, pri kateri je O. Venge 1953 ponovil eksperiment, vendar je počakal s prenosom tri ure in pol.⁹ Metoda, pri kateri se gamete združijo *in vitro* in jih prenesemo v jajcevod samice, se imenuje GIFT (*angl.* gamete intrafallopian tube transfer).

Leta 1932 je izšla knjiga *Brave new world* (Krasni novi svet) izpod peresa Aldousa Huxleyja. Gre za znanstvenofantastični roman, v katerem pa je avtor realistično opisal tehniko ZTO, ki se je razlikovala od današnje samo po tem, da so se zarodki v celoti razvili v steklenih posodah v procesu, ki ga je Huxley imenoval »ektogeneza«. Ravno Huxleyjev Krasni novi svet in poskusi Pincusa ter pogovori z njim so Johna Rocka, znanega ginekologa, zaposlenega na Harvardu, prepričali, da je poskušal oploditi jajčne celice *in vitro* z namenom, da bi reševal probleme neplodnosti, s katerimi se je srečeval v praksi vsak dan. Sodelovati je za-

čel z Miriam Menkin in pridobil več kot 800 jajčnih celic pri bolnicah, ki jih je operiral iz različnih razlogov; 138 od teh sta združila s spermiji *in vitro*. Za razliko od prej omenjenih raziskovalcev nista takoj združila gamet. Po določenem času sta opazila delitev v treh jajčnih celicah. Zelo verjetno je, da sta pri jajčnih celicah opazila znake fragmentacije, ki se pogosto pojavijo, in ne same delitve. Pri svojem delu nista znala natančno opredeliti zorenja jajčnih celic. Naletela sta na določeno heterogenost, kar se tiče stopnje zrelosti, saj so bile jajčne celice pridobljene v različnih fazah menstruacijskega ciklusa. V raziskavi nista opravila, niti nista predvidela prenosa oplojenih jajčnih celic. Rock je potem opustil projekt, ker ga je ocenil za neizvedljivega.^{10,11}

Številni zgodnji avtorji, ki so poskušali izvesti ZTO, so verjetno uporabili jajčne celice, ki niso bile dovolj zrele. Možno je sicer, da so postale nekatere jajčne celice dovolj zrele v času, ko so bile inkubirane skupaj s semenčicami, vendar to ne potrjuje, da se je dejanska oploditev zgodila *in vitro*.

Merila, ki so se takrat uporabljala za dokaz oploditve, so lahko sporna. Takrat se je za dokaz oploditve namreč uporabljal prodor semenčice v jajčno celico in delitev jajčne celice, kar je problematično v luči današnjega znanja. V tistih časih so bili namreč v uporabi manj natančni svetlobni mikroskopi, ki niso omogočali zanesljive presoje o vstopu semenčice v jajčno celico, poleg tega pa je lahko prišlo do superpozicije in tako navideznega prodora semenčice.^{12,13} Drugi problem je delitev jajčne celice kot dokaz oploditve. Izločanje drugega polarnega telesca in zgodnje delitev jajčnih celic lahko sproži tudi partenogenetska aktivacija ali pa gre za fragmentacijo. Jajčne celice zajcev, ki so jih takrat veliko uporabljali, so še posebej občutljive na aktivacijo z drugimi spodbujevalci, kot je penetracija semenčice.^{14,15,16,17} Pri nekaterih vrstah lahko partenogenetsko aktivacijo sprožijo tudi nižje temperature in do leta 1953 noben od raziskovalcev, razen A. U. Smitha,¹⁸ ni hranil jajčnih celic pri temperaturi 37 °C, da bi se tako izognili aktivaciji jajčnih celic. Možno je tudi, da je hramba jajčnih celic pri temperaturah, niž-

Slika 1: Louise Brown, prvi otrok »iz epruvete«, rojena leta 1978 v Veliki Britaniji (naslovnica časopisa *Evening News*).



jih od telesne, zmanjšala njihov potencial za normalno oploditev in razvoj.

Pred letom 1954 noben izmed raziskovalcev ni predložil trdnjših dokazov o zanesljivih znakih, po katerih danes ocenjujemo, ali je jajčna celica oplojena ali ne.¹⁹ To je prisotnost ženskega in moškega pronukleusa in dveh polarnih telesc v perivitelnem prostoru.²⁰ Nekateri avtorji svojim prispevkom niso predložili slik, ki bi potrjevale uspešno *in vitro* oploditev, ali pa predloženi fotografski material ni dovolj prepričljiv.²¹

Retrospektivno gledano je veliko okoliščin in dejstev, zaradi katerih je lahko v preteklosti prišlo do napačnega tolmačenja rezultatov in proglašanja uspešno izvedenih ZTO. Ne smemo pa izključiti tudi možnosti, da so bili nekateri izmed poskusov dejansko uspešni.

Colin Russell Austin in Min Chueh Chang sta 1951 prišla do odkritja, ki je pojasnilo prejšnje neuspehe in odprlo pot novim, tokrat uspešnim raziskavam.^{22,23} Ugotovila sta, da je bilo pri vnosu semenčic v jajcevoode zajkeli kmalu po predvidenem času ovulacije zelo malo oplojenih jajčnih celic, čeprav se jajčne celice zajkeli lahko oplodijo še 8 ur po ovulaciji.^{24,25} Po drugi strani pa je bil večji delež jajčnih celic oplojen, če so osemenitev v jajcevoode izvedli nekaj ur pred ovulacijo. Chang in Adams sta torej pred-

videvala, da morajo semenčice nekaterih živalskih vrst preživeti nekaj časa v rodilih samice, preden pridobijo sposobnost vstopiti v jajčno celico. Austin je uvedel termin kapacitacija in z njo opisal spremembe na semenčicah v tem času. Kapacitacija pripravi semenčice na akrosomsko reakcijo in na ta način omogoči, da med celicami kumulirajo do jajčne celice. Vzpostavi se pod vplivom določenih spodbujevalcev (*zone pellucide* ali *komponente cumulus oophorusa*). Če ti spodbujevalci niso prisotni, ostanejo semenčice v stabilni obliki nekaj ur, celo dni. Kapacitacija torej koordinira akrosomsko reakcijo s prisotnostjo neoplojenih zrelih jajčnih celic.²⁶ Ker morajo tudi zajčje semenčice priti do fiziološke kapacitacije, je bil to verjetno eden pomembnejših razlogov, zakaj so bili prejšnji poskusi na zajcih pred 1954 neuspešni. Danes vemo, da kapacitacija semenčic številnih vrst lahko poteka *in vitro*, zajčje semenčice pa potrebujejo posebne pogoje.

Leta 1954 sta Francoza C. Thibault in L. Dauzier prva na svetu *in vitro* oplodila jajčno celico zajca s semenčicami, pridobljenimi iz maternice, kar sta dokazala s prisotnostjo dveh pronukleusov.^{27,28} Znanstveniki so bili skeptični, če bodo tako oplojene jajčne celice lahko privedle do nosečnosti. Odgovor na to je dalo delo M. C. Changa leta 1959, ko je dokazal, da se lahko *in vitro* oplojene jajčne celice normalno razvijejo. S kapacitiranimi semenčicami je oplodil jajčne celice kunca *in vitro* ter opravil prenos zarodkov v nadomestno samico. Skotili so se zdravi mladiči, ki so bili po barvi kože podobni svojim biološkim staršem. Dokazal je, da so jajčne celice imele morfološke znake oploditve pred samim prenosom,²⁹ česar prejšnje študije niso dokazale dovolj zanesljivo. Changa je bolj kot klinična uporaba oploditve *in vitro* zanimal njen znanstveni vidik. Po njegovem mnenju svet ne potrebuje ZTO in v razpravah je rad poudaril, da je na svetu že dovolj ljudi.³⁰

Razvoj pa je pospešeno potekal naprej in 50. in 60. leta prejšnjega stoletja so zato upravičeno poimenovali za zlato dobo ZTO. Po odkritju kapacitacije semenčic so raziskovalci prepričljivo poročili o ZTO za številne živalske vrste in človeka. Tehniko ZTO

pri različnih vrstah sesalcev je natančno opisal B. J. Rogers.³¹

Prva oploditev *in vitro* pri človeku je bila prepričljivo dokazana s penetracijo semenčice, izločanjem polarnega telesca in formiranjem pronukleusov leta 1969. Robert Edwards je zapisal: »Zorenje in oploditev človeških jajčnih celic je poteklo *in vitro*. Tako oplojene jajčne celice bi lahko uporabili v določene klinične in znanstvene namene.«^{32,33,34}

Steptoe in Edwards – sanjska sodelavca

Leta 1968 sta se srečala Angleža Robert Edwards (*1925) in Patrick Steptoe (1913–1988). Kdo sta bila človeka, ki sta spremenila svet?

Steptoe, ginekolog in porodničar ter bivši vojni ujetnik, se je še posebej zanimal za neplodnost. Razvijal in izpopolnil je laparoskopsko tehniko, vendar je njegovo pionirsko delo takrat poželo veliko kritik. Njegovi kolegi so laparoskopijo označili za »nevarno« in neperspektivno kirurško metodo. Leta 1967 je objavil učbenik *Laparoscopy in Gynaecology*, po katerem so se izobraževali vsi specializanti ginekologije v Združenem kraljestvu tistega časa.³⁵ S pomočjo laparoskopije je neposredno opazoval ženske medenične organe in objavil več člankov na to temo.^{36,37}

Edwards je bil fiziolog. Svoje raziskovalno delo je začel 1951 na ustanovi *The Institute of Animal Genetics* na Univerzi v Edinburgu, kjer je raziskoval mišje jajčne celice in zarodke in s to temo postal doktor znanosti. Leta 1958 se je zaposlil na ustanovi *National Institute for Medical Research* v Londonu. Pričel je raziskovati *in vitro* zorenje človeških jajčnih celic³⁸ in razmišljal o možnosti *in vitro* oploditve človeških gamet. S svojim znanjem iz reprodukcije živalskih vrst in na osnovi svojih dosežkov in dosežkov drugih raziskovalcev tistega časa (npr. Changa, ki je 1959 izvedel ZTO na zajcih) je verjel v možnost ZTO pri človeku. Prepričan je bil, da se iz tako pridobljenih zarodkov lahko rodi zdrav otrok brez razvojnih nepravilnosti, na kar so kazali tudi opravljeni poskusi pri različnih živalskih vrstah.³⁹ V naslednjih letih

je Edwards delal na Univerzi v Cambridgeu, kjer je sodeloval z dvema pomembnima raziskovalcema s področja živalske reproduktivne fiziologije, Alanom Parkesom in C. R. Austinom (Bunny). V tem obdobju je še vedno intenzivno preučeval zorenje jajčnih celic.⁴⁰

Leta 1964 je Edwards šest tednov gostoval na Univerzi Johna Hopkinsa v Baltimoru, ZDA, kjer je delal skupaj z zdravnikoma Howardom in Georgeanno Jones. Poskušal je *in vitro* oploditi humane jajčne celice. Jajčne celice je priskrbel Jones iz rezin jajčnikov, ki jih je pridobil predvsem pri klinastih resekcijah policističnih jajčnikov. Takrat z Jonesom nista objavila, da jima je uspelo oploditi človeško jajčece *in vitro*, ker v citoplazmi nista videla repka semenčice. Jones je kasneje zapisal, da sta ponovno pogledala slike in ugotovila, da je do oploditve dejansko prišlo že leta 1964. Na ponovno pregledani sliki sta bila vidna dva pronukleusa, kar tudi danes velja za zadosten dokaz oploditve.⁴¹

Ko se je Edwards ponovno vrnil v Cambridge, je imel težave pridobiti jajčne celice. V tistem času je izvedel, da je Patrick Steptoe razvil laparoskopsko tehniko aspiriranja foliklov. Raziskovalca sta se srečala 1968 na združenju *Royal Society of Medicine* v Londonu, kjer je Steptoe predaval o laparoskopiji in kolegom ravno pokazal prve laparoskopске slike jajčnikov. Steptoe je Edwardsov predlog o sodelovanju z navdušenjem sprejel. Začelo se je dve desetletji trajajoče uspešno sodelovanje.⁴²

V letih 1968–1978 sta Steptoe in Edwards delala v bolnišnici *Dr Kershaw's Cottage Hospital* v kraju Royton pri Oldhamu. Delo je bilo zahtevno, a korak za korakom sta premagovala težave in trdo delo je obrodilo pomembne sadove. Iz foliklov sta pod neposrednim nadzorom laparoskopopa prva aspirirala folikle, pred tem pa sta jajčnike spodbujala z gonadotropini.⁴³ Prva na svetu sta poročala o uspešni *in vitro* oploditvi.⁴⁴ Bila sta tudi prva, ki sta izvedla t. i. ORTI (*oocyte recovery with tubal insemination*), kar so kasneje izpolnili drugi znanstveniki in je postopek postal znan kot GIFT. Iz tega obdobja so znane njune številne objave o rasti foliklov, ovulaciji, oploditvi in ugnezditvi.^{45,46}



Slika 2: Angleža Robert Edwards (*1925) in Patrick Steptoe (1913–1988) utemeljitelja sodobne metode zunajtelesne oploditve.

Leto 1972 je postalo nov mejnik, saj sta raziskovalca vendarle začela prve prenose zarodkov v maternico. Sledilo je težko obdobje, saj nobena od njunih 40 bolnic ni zanosila. Prva nosečnost leta 1976, dosežena s prenosom ene same blastociste, se je končala kot zunajmaternična nosečnost.⁴⁷ In potem se je zgodilo: po 102 neuspešnih prenosih zarodkov je v naravnem menstruacijskem ciklusu, s prenosom enega samega 8 celičnega zarodka zanosila in donosila Lesley Brown. Leta 1976 je prišla k Steptoeju z večletno anamnezo neplodnosti (tubarni vzrok). Deklico Louise Brown, prvega otroka, spočetelega z metodo ZTO, je s carskim rezom 25. julija 1978 porodil sam Steptoe (Slika 1). Z njenim rojstvom se je začelo novo poglavje v reproduktivni medicini. Steptoe in Edwards sta novico oznanila svetu s skromnim dopisom v reviji *Lancet*.⁴⁸ Mediji so novico pograbili in Louise Brown je pristala na naslovnih straneh širom po svetu; poimenovali so jo »otrok stoletja« oziroma »britanski čudež«. Na veliko zadovoljstvo vseh vpletenih raziskovalcev je bila čisto običajen, zdrav novorojenček. Pot do prvega »otroka iz epruvete« sta Steptoe in Edwards popisala v knjigi *A matter of life*.⁴⁹

Steptoe in Edwards sta ob predstavitvi svojega dosežka na britanskem združenju ginekologov in porodničarjev *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists* prvič v zgodovini te institucije doživela ovacije stojičega avditorija. Stroka je načeloma stala na njuni strani, niso pa vsi sprejeli novice z navdušenjem. Kritike so prihajale predvsem iz različnih konservativnih krogov, predvsem

cerkvenih, ki so dogodek označile za moralno napako in nekaj, kar ima lahko zelo hude posledice za človeštvo. Celoten eden od odkriteljev dvojne vijačnice DNA James Watson je izjavil: »To je poigravanje z infanticidom.«

Januarja 1979 se je rodil drugi »otrok iz epruvete«. Kljub uspehom v naslednjih dveh letih nobena institucija v Veliki Britaniji ni želela financirati nadaljnjih raziskav in nadaljevati kliničnega dela. Ker raziskovalcema Steptoe-ju in Edwardsu nihče ni želel pomagati pri postavitvi klinike, sta to storila sama. V vasi Bourn blizu Cambridgea sta ustanovila kliniko *Bourn Hall Clinic*, ki je odprla svoja vrata v septembru 1980 in tako postala prvi center za ZTO na svetu.⁵⁰

V naslednjih letih se je uspešnost postopkov ZTO v Bourn Hallu vse bolj izboljševala. V času od oktobra 1980 do septembra 1982 sta opisovala 16,5-odstotno klinično stopnjo nosečnosti, 1983 pa že skoraj 30%.⁵¹ Do 1986 se je na svetu z metodo ZTO rodilo že okoli 2.000 otrok, polovica v Bourn Hallu. O prvih 500 rojstvih je ekipa iz Bourn napisala odmeven članek.⁵² Leta 1982 je bila klinika Bourn Hall prizorišče prve konference o ZTO, na kateri se je zbralo okoli 30 pionirjev ZTO iz vsega sveta in v sproščenem vzdušju delilo svoja dotedanja dognanja (Slika 2).

Steptoe in Edwards sta bila počaščena tekem naslednjih desetletij s številnimi nagradami in častmi. Največje priznanje pa je 2010 dobil Edwards – Nobelovo nagrado za fiziologijo in medicino. V literaturi so zapisane izjave sodelavcev in znancev, ki označujejo Edwardsa za vizionarja. Že v 80. letih prejšnjega stoletja je poleg ZTO razmišljal o potencialu matičnih celic za regeneracijo tkiv in predimplantacijski genetski diagnostiki.^{53, 54}

Kronologija zunajtelesne oploditve v Sloveniji

S ponosom lahko povemo, da so se v Sloveniji takoj pozitivno odzvali na nova odkritja s področja ZTO. Že leta 1982 je akademikinja Lidija Andolšek Jeras (1929–2003) ustanovila skupino za ZTO. Poleg Ginekološke klinike Ljubljana sta se v projekt ZTO vključila še Inštitut za mikrobiologijo Medicinske fakultete Ljubljana pod vodstvom

Mihe Likarja in Inštitut za nuklearno medicino Kliničnega centra Ljubljana pod vodstvom Bojana Varla.

Aprila 1983 je delovna skupina obiskala kliniko za ZTO v Erlangu in 25. maja 1983 izvedla prvi postopek ZTO. Prva nosečnost po ZTO se je oktobra 1983 končala s spontanym splavom. Leto kasneje, 5. oktobra 1984 pa sta se rodili dvojčici, spočeti zunaj materega telesa. Pionirsko delo pri uvedbi klasičnega postopka ZTO so opravili v skupini: Tomaž Tomaževič, Helena Meden Vrtovec, Martina Ribič Pucelj, Marija Pompe Tanšek (vsi klinični del) ter Helena Hren Vencelj in Ines Bernjak (laboratorijski del).⁵⁵

V Sloveniji se je v treh centrih (Ljubljana, Maribor, Postojna) od rojstva prvih dvojčic leta 1984 do danes rodilo že okoli 5000 otrok po postopkih ZTO.⁵⁶ V poročilu Evropskega registra za IVF (*European IVF Monitoring – EIM*) je Slovenija sedma po dostopnosti ZTO (število postopkov ZTO, postopkov ICSI in prenosa odmrznjenih zarodkov na milijon prebivalcev); delež rojstev otrok iz postopkov ZTO je v letu 2005 v Sloveniji znašal 3,9 %, kar je najvišji delež v Evropi.⁵⁷ V 30 evropskih državah, ki so 2005 sodelovale v registru, je podatke posredovalo 923 klinik,⁵⁸ naslednje leto pa 998 klinik iz 32 držav.⁵⁹ Vse to kaže na hiter porast postopkov OBMP.

Etične dileme

Področje je zelo interdisciplinarno in se iz naravoslovne znanosti vsebinsko navezuje na humanistična in družboslovna področja ter odpira vprašanja v biologiji, medicini, etiki, pravu, sociologiji, socialni antropologiji, psihologiji in še kje.

Postopki ZTO v času svojih začetkov pred desetletji niso samo burili duhove ob misli na otroke iz epruвет in vzbujali občutja znanstvene fantastike, naleteli so tudi na velika nasprotovanja. Temu je botroval strah pred neznanim, prepričanje o moralni spornosti postopka in občutek, da zdravniki počnejo stvari, ki bi bile bolj primerne za znanstveno fantastiko. Edwards je napisal, da je bila reakcija na ZTO na začetku burna in sledila so leta polemičnih etičnih razprav. Skupaj s Steptoejem sta seznanjala presene-

čeni in prestrašeni svet o možnostih, ki jih nova metoda ponuja in natančneje spregovorila o naravi posegov. Potrebne so bile številne tiskovne konference, intervjuji, predavanja, članki, preko katerih so ves čas svojega delovanja seznanjali javnost in stroko v interdisciplinarnih pogovorih.⁶⁰ Edwards se je že od prvih raziskovanj s področja ZTO zavedal številnih etičnih problemov in vprašanj, ki jih je ta metoda prinesla. Ves čas se je zavzemal, da so se raziskovanja na področju humane reprodukcije izvajala v skladu s strogimi etičnimi načeli. Veliko je pisal o etiki na področju ZTO, predimplantacijski diagnostici in uporabi matičnih celic.^{61,62,63,64} Tako ni zgolj naključje, da je bil na kliniki Bourne Hall ustanovljen prvi etični komite za področje humane reproduktivne medicine.⁶⁵

Jasno je, da javnost nikoli ne bo enotno podpirala postopkov ZTO; največ nasprotovanj je zaradi različnih verskih ali filozofskih pogledov. Vatikan se je že v 80. letih opredelil do postopkov ZTO in mnenja do danes ni spremenil. Postopkom ZTO nasprotuje zato, ker pride do združitve spolnih celic zunaj telesa. Po njihovem to govori zoper človeško dostojanstvo in proti edino dovoljenemu načinu spočetja na osnovi zakonske ljubezni. Neplodnim parom svetuje posvojitev ali delo za skupnost. Edini postopek, ki ga Vatikan dovoljuje vernikom, je GIFT, vendar jajčna celica in seme ne smeta priti v stik zunaj telesa ženske; poleg tega uporabljeno seme ne sme biti pridobljeno z masturbacijo.⁶⁶ Različne vere imajo zelo različen odnos do postopkov ZTO.

Sklep

Naraščanje neplodnosti, predvsem na račun odlašanja starševstva na kasnejša leta, in vedno prisotne želje po otroku, bo tudi v prihodnosti vzrok za pospešeno uporabo in nadaljnji razvoj postopkov ZTO. V luči razmaha postopka in možnih zlorab, tudi na račun njegove komercializacije, se je potrebno ves čas truditi, da bodo pravni in etični vidiki tega področja čimbolj izdelani in enotni. Postopek ZTO je marsikateremu paru po svetu pomembno spremenil življenje z uresničitvijo sanj po otroku. Poti nazaj

ni, ampak je močno začrtana naprej. Lahko pa se upravičeno sprašujemo, s čim in kdaj nas bo razvoj medicine spet tako presenetil in vznemiril, kot je to bilo to ob pričetku kliničnega izvajanja postopkov ZTO.

Viri in literatura

1. Pecker A. Gynäkologie und Geburtshilfe vom Altertum bis zum Anfang des 18. Jahrhunderts. In: Sournia, Poulet, Matriny: Illustrierte Geschichte der Medizin. Vol. 3. Salzburg: Andreas & Andrea; 1980. p. 1023-1073.
2. Virant-Klun I, Meden-Vrtovec H, Tomažević T. Od nastanka gamet do rojstva: oploditev z biomedicinsko pomočjo: teoretični in slikovni prikaz nastanka gamet, zgradbe gamet in tehnik oploditve z biomedicinsko pomočjo: (izkušnje na Ginekološki kliniki v Ljubljani). Radovljica: Didakta; 2002. p. 97.
3. Bavister BD. Early history of in vitro fertilization. *Reproduction* 2002; 124: 181-182.
4. Schenk SL. Das Säugetierei Künstlich befruchtet ausserhalb des Muttertieres. Mittheilungen aus dem Embryologischen Institute der Kaiserlich-Königlichen Universität in Wien 1878; 1: 107.
5. Heape W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother. *Proc R Soc Lond* 1890; 48: 457-8.
6. Pincus G. Observations on the living oocytes of the rabbit. *Proc R Soc Lond* 1930; 107: 132-69.
7. Pincus G, Enzmann EV. Can Mammalian Eggs Undergo Normal Development in Vitro? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1934; 20: 121-2.
8. Chang CM. In vitro fertilization of mammalian eggs. *J Anim Sci* 1968; 27 Suppl 1: 15-26.
9. Venge O. Experiments on fertilisation of rabbit ova in vitro with subsequent transfer to alien does. In *Mammalian Germ Cells-Ciba Foundation Symposium*; 1953. p. 243-52.
10. Cohen J, Trounson A, Dawson K, Jones H, Hazekamp J, Nygren KG, et al. The early days of IVF outside the UK. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 445.
11. Menkin MF, Rock J. In vitro fertilization and cleavage of human ovarian eggs. *Am J Obstet Gynecol* 1948; 55: 440-52.
12. Moricard R, Bossu J. Premieres etudes du passage spermatozoide au travers de la membrane pellucide d'ovocytes de lapine feconde 'in vitro'. *Comptes Rendus de l'academie de Medecine* 1949; 33: 659-665.
13. Moricard R. Penetration of the spermatozoon in vitro into the mammalian ovumoxydo potential level. *Nature* 1950; 165: 763.
14. Pincus G. *The Eggs of Mammals*. New York: Macmillan; 1936.
15. Pincus G. The comparative behaviour of mammalian eggs in vivo and in vitro: development of fertilised and artificially activated rabbit eggs. *J Exp Zool* 1939; 82: 65-129.
16. Thibault C. L'œuf des mammifères son développement parthenogenetique. *Annales de la Science Naturelle et de Zoologie et Biologie Animale* 1949; 11: 136-219.
17. Chang MC. Development of parthenogenetic rabbit blastocysts induced by low temperature storage of unfertilised ova. *J Exp Zool* 1954; 125: 127-150.
18. Smith AU. Fertilization in vitro of the mammalian egg. *Biochemical Society Symposia* 1951; 7: 3-10.
19. Glej op. 3, p. 182.
20. Glej op. 2, p. 156.
21. Shettles LB. Observations on human follicular and tubal ova. *Am J Obstet Gynecol* 1953; 66: 235-47.
22. Austin CR. Observations on the penetration of the sperm in the mammalian egg. *Aust J Sci Res B* 1951; 4: 581-96.
23. Chang MC. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature* 1951; 168: 697-8.
24. Chang MC. Fertilisability of rabbit ova and the effects of temperature in vitro on their subsequent fertilisation and activation in vivo. *J Exp Zool* 1952; 121: 351-81.
25. Adams CE, Chang MC. The effect of delayed mating on fertilization in the rabbit. *J Exp Zool* 1962; 151: 155-8.
26. Glej op. 2, p. 151-152
27. Dazier L, Thibault C, Wintenberger S. Fecundation in vitro of rabbit egg. *C R Hebd Seances Acad Sci* 1954; 238: 844-5.
28. Thibault C, Dazier L, Wintenberger S. Cytological study of fecundation in vitro of rabbit ovum. *C R Seances Soc Biol Fil* 1954; 148: 789-90.
29. Chang MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature* 1959; 179: 466-7.
30. Glej op. 10, p. 446.
31. Rogers BJ. Mammalian sperm capacitation and fertilization in vitro: a critique of methodology. *Gamete Research* 1978; 1: 165-223.
32. Bavister BD, Edwards RG, Steptoe PC. Identification of the midpiece and tail of the spermatozoon during fertilization of human eggs in vitro. *J Reprod Fertil* 1969; 20: 159-60.
33. Steptoe PC, Edwards RG, Purdy JM. Human blastocysts grown in culture. *Nature* 1971; 229: 132-3.
34. Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization in vitro of human oocytes matured in vitro. *Nature* 1969; 221: 632-5.
35. Brinsden PR, Brinsden PR. Thirty years of IVF: the legacy of Patrick Steptoe and Robert Edwards. *Hum Fertil (Camb)* 2009; 12: 137-43.
36. Steptoe PC. Laparoscopic studies of the ovaries. *Ned Tijdschr Verloskd Gynaecol* 1970; 70: 296-300.
37. Steptoe PC. Laparoscopy and ovulation. *Lancet* 1968; 2(7574): 913.
38. Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet* 1965; 2: 926-9.
39. Edwards RG. Maturation in vitro of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. *Nature* 1965; 208: 349-51.
40. Glej op. 35.
41. Jones HW, Jr. IVF: past and future. *Reprod Biomed Online* 2003; 6: 375-81.
42. Glej op. 35.
43. Steptoe PC, Edwards RG. Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming of ovaries with gonadotrophins. *Lancet* 1970; 1(7649): 683-9.
44. Glej op. 32-34.

45. Edwards RG, Steptoe PC. Control of human ovulation, fertilization and implantation. *Proc R Soc Med* 1974; 67: 932–6.
46. Edwards RG, Steptoe PC. Induction of follicular growth, ovulation and luteinization in the human ovary. *J Reprod Fertil Suppl* 1975; (22): 121–63.
47. Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet* 1976; 1: 880–2.
48. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2: 366.
49. Edwards RG, Steptoe PC. *A matter of life*. London: Hutchinson; 1980
50. Glej op.35.
51. Edwards RG, Steptoe PC. Current status of in-vitro fertilisation and implantation of human embryos. *Lancet* 1983; 2: 1265–9.
52. Steptoe PC, Edwards RG, Walters DE. Observations on 767 clinical pregnancies and 500 births after human in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1986; 1: 89–94.
53. Kirby T. Robert Edwards: Nobel Prize for father of in-vitro fertilisation. *Lancet* 2010; 376: 1293.
54. Edwards RG. IVF and the history of stem cells. *Nature* 2001; 413: 349–51.
55. Meden-Vrtovec H, ur. Jubilejni zbornik ob 20-letnici rojstva prvih otrok, spočetih po postopku zunajtelesne oploditve na Ginekološki kliniki v Ljubljani. Ljubljana: Klinični center; 2004.
56. Perinatalni informacijski sistem Slovenije. Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja; 2009.
57. Kovacic B, Meden-Vrtovec H, Res P, Res Z, Tomazevic T, Virant-Klun I, et al. Program oploditve z biomedicinsko pomočjo v Sloveniji – naše mesto v Evropi (Slovenija v poročilu EIM za leto 2005). *Zdrav Vest* 2009; 78: 53–55.
58. Nyboe Andersen A, Goossens V, Bhattacharya S, Ferraretti AP, Kupka MS, de Mouzon J, et al. Assisted reproductive technology and intrauterine inseminations in Europe, 2005: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2009; 24: 1267–87.
59. de Mouzon J, Goossens V, Bhattacharya S, Castilla JA, Ferraretti AP, Korsak V, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2010; 25: 1851–62.
60. Edwards RG. Ethics and moral philosophy in the initiation of IVF, preimplantation diagnosis and stem cells. *Reprod Biomed Online* 2005; Suppl 1: 1–8.
61. Edwards RG, Sharpe DJ. Social values and research in human embryology. *Nature* 1971; 231: 87–91.
62. Ahuja KK, Simons EG, Edwards RG. Money, morals and medical risks: conflicting notions underlying the recruitment of egg donors. *Hum Reprod* 1999; 14: 279–84.
63. Edwards RG. Medical ethics in the melting pot: still strict for IVF but possibly soon also for other clinical disciplines. *Reprod Biomed Online* 2000; 1: 7–8.
64. Schulman JD, Edwards RG. Preimplantation diagnosis in disease control, not eugenics. *Hum Reprod* 1996; 11: 463–4.
65. Glej op. 35, str. 141.
66. Congregation for the Doctrine of the Faith 1987. *Instruction on respect for human life in its origin and on the dignity of procreation*; 1987 feb 22; Rim, Italija. *The Feast of the chair of St. Peter, the Apostle*.