**Экстракорпоральное оплодотворение и трансплантация эмбриона** — оплодотворение яицеклетки вне организма и пересадка дробящихся эмбрионов в полость матки. К настоящему времени уже более 1000 детей родилось после ЭО и ТЭ.

Несмотря на то, что уже достигнуты определенные успехи в применении этого метода, учитывая дорогостоющую аппаратуру и оборудование, лекарственные препараты в основном импортного производства, этот метод в нашей стране налажен только в крупных научно-исследовательских и клинических учреждениях.

## Показания:

1. бесплодие, вызванное непроходимостью маточных труб;
2. труднообъяснимое бесплодие (возможно, связанное стем, что эмбрион не может покинуть блестящую оболочку, имплантироваться и развиваться) после проведенного полного клинического исследования, включая гормональное, эндоскопическое, иммунологическое.
3. некоторые формы эндометриоза,
4. олигоспермия.
5. патология слизи цервикального канала.

# Схема лечения с помощью метода ЭКО

# Этапы

1. отбор пациенток (см. показания);
2. контроль созревания фолликулов (трансвагинальную эхографию, исследование 17 β-эстрадиола крови);
3. получение ооцитов;
4. предынкубацию, оплодотворение in vitro, культивирование, криоконсервацию;
5. эмбриотрансплантацию;
6. контроль развития беременности;

## Условия проведения

1. сохраненная в полном объеме функциональная способность матки к имплантации и вынашиванию беременности;
2. отсутствие противопоказаний к беременности и родам (соматические, психические, генетические заболевания);
3. сохраненная способность яичников к адекватному ответу на стимуляцию овуляции — экзогенную и эндогенную;
4. отсутствие новообразований, воспалительных и анатомических изменений в органах малого таза.

## Подбор больных

Необходимо обратить внимание на следующие факторы:

1. Возраст родителей. У женщин в возрасте 40 лет в 23 раза чаще рождаются дети с синдромом Дауна (Simpson, 1979).
2. Наличие доказанной способности к зачатию.
3. Наличие нарушений метаболизма, таких как сахарный диабет, аутоиммунный тиреоидизм и дефицит артитрипсина, предрасполагающих к появлению анэуплоидии у плода.
4. Наличие анэуплоидии. Если один из родителей является анэуплоидом, то увеличивается риск рождения детей с хромосомными нарушениями.

Все супружеские пары, отобранные для лечения по методу ЭКО, должны понимать его суть, знать о возможном риске и дать продуманное согласие на лечение.

## Подготовка больных

За 2 или 3 месяца до начала активного лечения по методу ЭКО следует произвести полное исследование спермы, включающее бактериологическое исследование и посев, одновременно с исследованием влагалищных и цервикальных мазков с целью исключения патологии, вызванной гонококками, микоплазмой, грибами, трихомонадами и другими возбудителями. Лечение инфекционных заболеваний половых органов предпринимается с целью предупреждения заражения культуры, в которой производится оплодотворение, и осложнений после переноса эмбриона. Помимо этого, рекомендуется сделать мазки по Папаниколау с целью исключения рака шейки матки и поражения половых органов вирусом герпеса.

Во время предовуляторой фазы исследовательского цикла берут кровь для приготовления эмбриокультуры и проведения серологических исследований на токсоплазмоз, краснуху, цитомегаловирусы и вирусы герпеса, гепатит В и сифилис. Также следует исследовать кровь на хромосомы для идентификации лиц с повышенным риском воспроизводства анэуплоидных гамет. Сыворотку крови следует исследовать не предмет выявления спермантител и антител блестящей оболочки.

На этапе предварительного обследования необходимо измерить длину цервикального канала и полости матки с помощью маточного зонда, учитывая последующий перенос эмбриона катетером.

Хотя существует мнение, что при естественном цикле шансы на успех достаточно велики, большинство специалистов считают, что при "стимулированном" цикле частота наступления беременности выше. Хорошо известно, что с увеличением числа трансплантируемых эмбрионов возрастает вероятность имплантации. Но отмечено, что частота многоплодной беременности также увеличивается с увеличением числа внесенных эмбрионов. Рекомендовано поэтому введение не более трех эмбрионов. В целях получения наибольшего количества яйцеклеток широко и успешно применяют методы гормональной стимуляции овуляции.

## Схемы стимуляции суперовуляции:

1. Кломифена цитрат назначают с 5-го дня менструального цикла в течение 5 дней в дозе 50 мг/сут. Не рекомендуется применять при низкой эстрогенной насыщенности, избытке массы тела, гипертензии, гиперволемии, отечности.
2. Тамоксифен (зитазониум) наиболее показан при бесплодии с НЛФ. Препарат назначают в дозе 10 мг/сут в течение 5 дней. При отсутствии положительного результата дозу увеличивают до 20-40 мг/сут.
3. Хориогонин является препаратом выбора при исходно низком уровне эстрогенов и НЛФ. С этой целью хориогонин вводят внутримышечно на 5,7,9-й дни цикла по 750 ЕД, на 11,13,15-й дни цикла — по 1500 ЕД, на 17,19,21-й дни — по 750 ЕД.
4. Сигетин показан оперированным женщинам с болезнью поликистозных яичников с целью реабилитации менструальной и репродуктивной функции. Препарат используют в дозе 100 мг/сут с 5-го по 9-й день цикла.
5. Хумегон (прегнил) — вводят по 2 ампулы, начиная с 3-го дня цикла, с определением эстрадиола крови, цервикального цикла, УЗИ. При достижении фолликулом диаметра 18 мм и более вводят ХГ.
6. Люлиберин назначают однократно в/в в дозе 100 мг накануне предполагаемой овуляции.
7. Человеческий менопаузальный гонадотропин вводят в/м с 6-го по 10 день (6,8,10-й дни) — по 150 ЕД — для индукции и дополнительного роста нескольких фоликулов. С 3-го по 7-й день включительно возможна доза по 2 ампулы через день.
8. Парлодел — для индукции овуляции при нормопролактинемии используют по схеме: 1,25 мг (1/2 табл.) 2 раза в день в течение первой недели, со второй недели — по 2,5 мг (1 табл.) 2 раза в день, сохраняя дозировку в дальнейшем. На 21 день от начала лечения оценивают содержание эстрогенов, прогестерона в крови и по ТФД. При отсутствии овуляции дозу увеличивают до 2 раза в день, а в дальнейшем — ступенчато, используя эмпирический подход до тех пор, пока не наступит овуляция и беременность (но не более 40 мг/сут).
9. Сочетанные методы:
10. пергонал по 75-150 ЕД со 2-го дня цикла ежедневно до достижения доминантным фолликулом указанных размеров 16-18 мм. Через 24-48 часов после достижения фолликулом указанных размеров вводят внутримышечно 5000-10000 ЕД хорионического гонадотропина. Применение данной схемы стимуляции суперовуляции приводит к образованию до 20 фолликулов. В течение всего этого времени женщина находится под постоянным динамическим контролем; проводят ежедневное ультразвуковое исследование с измерением диаметра фолликулов, определение эстрадиола и лютенизирующего гормона в крови;
11. кломифена цитрат — по 50-100 мг/сут. с 3-го или 5-го дня цикла в течение 5 дн. в зависимости от длительности менструального цикла. При достижении размеров доминантного фолликула диаметром 17-18 мм в/м вводят 10000 ЕД хориогонина в 22.00. Через 35-36 ч производят аспирацию ооцитов (ультразвуковая пункция, лапароскопия);
12. кломифена цитрат — по 100 мг/сут. с 3-го по 7-й день и по 3 ампулы хумегона на 6, 8, 10 дни цикла. При возникновении доминантного фолликула диаметром 18 мм и более и уровне эстрадиола (Е2) 300‑400 пг/мл на один растущий фолликул вводят в/м 1000 ЕД ХГ. Сочетанные методы обладают большей эффективностью из-за потенцирования действия друг другом.

Для стимуляции роста фолликулов чаще всего используют кломифен, менопаузный гонадотропин человека, хориогонадотропин, Фолликулостимулирующий гормон, а также их различные сочетания.

## Забор яицеклеток

Существует несколько методов забора яицеклеток для оплодотворения . Ооциты могут быть получены при лапароскопии, минилапаротомии или путем аспирации фолликулов под контролем УЗИ.

## Методика лапароскопии

Премедикация и общая анестезия проводятся также, как и при обычной лапароскопии.

В брюшную полость вводится газовая смесь, содержащая 5% CO, 5%O, 90%N .

Аспирацию предовуляторного фолликула производят длинной иглой (24 см), изогнутой под углом 45 с наружным диаметром1,3 мм и просветом в 1,1 мм. Игла проводится через канюлю, введенную в брюшную полость в точке, расположенной на середине между лонным сочленением и пупком по средней линии живота.

Для аспирации фолликула применяется пониженное давление. Точка пункции фолликула должна располагаться в неваскуляризованной области или примыкать к стромальным элементам яичника для того, чтобы предотвратить утечку фолликулярной жидкости из переполненного фолликула. Собранная фолликулярная жидкость может быть сразу исследована на содержание в ней яйцеклетки

## Обработка яйцеклетки

Предовуляторная яйцеклетка человека может быть обнаружена невооруженным глазом по наличию в аспирате массивных и клейких хлопьев размером до 5 мм и более. Однако важно убедиться, что яйцеклетка действительно находится в этих хлопьях путем их просмотра в препарационном микроскопе.

Яйцеклетка 2 раза обмывается оплодотворяющей средой, которая удаляет большую часть фолликулярной жидкости. Затем она переносится в капле равновесной оплодотворяющей Среды под стерильное парафиновое масло. В качестве оплодотворяющей среды применяется раствор Тироде, содержащий пируват, альбумин, антибиотики.

## Приготовление сперматозоидов

Для получения свежей спермы, мужа больной просят собрать свой эякулят в стерильный контейнер в отдельной комнате. Сперму с учетом ее разжижения при комнатной температуре разводят в 2 смывах оплодотворяющей среды. Удаление семенной плазмы производят следующим образом. Небольшое количество спермы разводят в 4-кратном объеме оплодотворяющей среды, затем суспензию сперматозоидов центрифугируют, удаляют надсадочную жидкость, ресуспензируют комочек сперматозоидов и повторяют эту процедуру. Полученный таким образом комочек сперматозоидов вновь ресуспендируют, определяют их концентрацию и подвижность и доводят эти параметры до значений, которые считаются стандартными для процедуры оплодотворения яйцеклетки.

## Оплодотворение

Затем сперматозоиды переносят в специальный термостат, где уже находятся яйцеклетки. При осеменении на 1 яйцеклетку добавляют 200000-300000 сперматозоидов.

Процесс культивирования происходит в специальной среде с абсолютной влажностью, при температуре 37оС в растворе с рН, равным приблизительно 7,6, в атмосфере, содержащей 5% СО2, 5% О2 и 90% N2. Яйцеклетку оставляют в суспензии сперматозоидов на 6‑18 ч.

Следующие морфологические особенности яйцеклетки, большинство которых может быть выявлено с помощью микроскопа, могут определить признаки произошедшего оплодотворения:

1. Выталкивание второго полярного тельца в желточное пространство.
2. Цитоплазма яйцеклетки сжимается, отступая от оболочки.
3. В ранней стадии оплодотворения в цитоплазме яйцеклетки может наблюдаться головка, срединный сегмент и хвост сперматозоида. Эти признаки могут отмечаться только при сильном увеличении, используя фазово-контрастную методику.
4. В более поздние стадии (около 12­­‑18 ч после инсеминации) в цитоплазме могут быть мужские и женские проядра.

## Деление зиготы

После завершения периода инсеменации яйцеклетку переносят в равновесную каплю среды по парафиновое масло. Среда состоит из свежеприготовленного раствора Ham F10 с добавлением 15% сыворотки крови больной. Растущий эмбрион человека культивируется при температуре 37оС в атмосфере, содержащей 5% СО2, 5% О2 и 90% в среде с рН, равным 7,3.

О нормальном развитии эмбриона в культуре свидетельствует появление делящихся клеток приблизительно одинакового размера и формы, которые равномерно заполняют большую часть пространства в пределах блестящей оболочки. Деление клеток должно быть нарастающим и наблюдаться во время четко определенного времени. Так, эмбрион должен содержать 2 клетки через 35-46 часов, 4 клетки через 51-63 часа, 8 клеток через 68-86 часов после инсеминации, а стадия 16 клеток должна быть достигнута в пределах 84-112 часов после.

Если клетки развивающегося эмбриона имеют неправильную форму или отходят от блестящей оболочки, или же скорость деления клеток существенно отличается от описанной выше, то развитие эмбриона считается патологическим и он непригоден для переноса в полость матки.

## Перенос эмбриона

Так как в большинстве случаев эмбрион переносится в полость матки на стадии 8 или 16 клеток, то это означает, что эмбрион человека перед имплантацией должен содержаться в культуре в течение 3‑4 суток.

Эмбрион в 0,05 мл культуральной среды осторожно засасывается в стерильный катетер диаметром 1,4 мм. Затем катетер проводится через цервикальный канал в полость матки, где в области дна эмбрион высвобождается из катетера. С целью облегчения проведения этой процедуры катетер следует разместить по длине для контроля положения его конца в полости матки. Помимо этого, следует очень аккуратно манипулировать шейкой матки во избежание сокращения мышц матки.

## Контроль подтверждения беременности

Для контроля ранних сроков развивающейся беременности проводят динамическое определение -субъединицы хорионического гонадотропина, которое помогает определить беременность с 7-9-го дня после ТЭ. При наступлении беременности за женщинами ведется постоянное наблюдение методами, принятыми для ведения беременности и родов женщин с отягощенным акушерским анамнезом.

Должно производиться серийное ультразвуковое обследование плода. На 1‑7‑й неделе беременности определяется положение амниона и сердечная деятельность плода. После этого контроль должен производиться на 20‑й,28-й неделе и далее с целью определения степени развития плода. На основании полученной информации можно наблюдать характеристики роста плода на протяжении беременности и выявить определенную патологию развития скелета. Пункцию амниона можно производить приблизительно на 16‑й неделе беременности. Таким образом, может быть определен кариотип и уровень α-фетопротеинов, определяющий наличие дефектов развития нервной трубки плода.

## Список литературы:

1. Никитин А.И. "Акушерство и гинекология", 1989, №8, с. 10–13
2. Ныркова В.И. "Акушерство и гинекология", 1991, №6
3. Малевич К.И., Русакевич П.С., "Лечение и реабилитация при гинекологических заболеваниях", Минск ,1994
4. Пшеничникова Т.Я., "Бесплодие в браке", Москва, 1991
5. Акунц К.Б., "Актуальные вопросы бесплодия в браке", Ереван, 1979
6. Пшеничникова Т.Я., "Бесплодный брак (проблемы и перспективы)", М. 1989
7. Машковский М.Д., "Лекарственные средства", М. 1993
8. Орлова В.Г., "Стимуляция овуляции гонадотропинами", Акуш. и гин. №9, 1988
9. Манушлова И.А., "Современные принципы лечения эндокринного бесплодия", Сов. мед. №6, 1986
10. Пепперелл Р. Дж., "Бесплодный брак", М. 1986
11. Савельева Г.М., "Справочник по акушерству и гинекологии", М. 1992