

*Этот доклад содержит согласованные взгляды международной группы
экспертов и не обязательно представляет решения или официальную
политику Всемирной организации здравоохранения*

Серия технических докладов ВОЗ

820

ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ В ОБЛАСТИ МЕТОДОВ МЕДИЦИНСКИ ИНДУЦИРОВАННОГО ЗАЧАТИЯ

**Доклад
Научной группы ВОЗ**

**Выпущено издательством "Медицина" по поручению
Министерства здравоохранения и медицинской промышленности
Российской Федерации, которому ВОЗ вверила
выпуск данного издания на русском языке**



Всемирная организация здравоохранения

Женева 1995

Каталог публикаций ВОЗ

**Научная группа ВОЗ по последним достижениям в области методов медицински
индуцированного зачатия: доклад Научной группы ВОЗ**

(Серия технических докладов ВОЗ, № 820)

1. Методы репродукции. I. Заглавие II. Серии

ISBN 92 4 120820 1 (NLM Классификация: WQ 205)

ISSN 0512-3054

Всемирная организация здравоохранения охотно разрешает перепечатывать и переводить свои публикации частично или полностью. Заявление о разрешении на перепечатку или перевод следует направлять в отдел публикаций Всемирной организации здравоохранения, Женева, Швейцария, который будет рад представить новейшую информацию о любых изменениях, внесенных в текст, планах выпуска новых публикаций, а также об имеющихся в наличии переизданиях и переводах.

ISBN 5-225-01927-7

ISBN 92 4 120820 1

© World Health Organization 1992

© Всемирная организация здравоохранения, 1995

На публикации Всемирной организации здравоохранения распространяются положения протокола № 2 Всемирной конвенции об охране авторских прав.

Обозначения, используемые в настоящем издании, и приводимые в нем материалы ни в коем случае не выражают мнения Секретариата Всемирной организации здравоохранения о юридическом статусе какой-либо страны, территории, города или района, их правительствах или их государственных границах.

Упоминание некоторых компаний или продукции отдельных изготовителей не означает, что Всемирная организация здравоохранения отдает им предпочтение по сравнению с другими, не упомянутыми в тексте, или рекомендует их к использованию. Как правило, патентованные наименования выделяются начальными прописными буквами.

**П 4108160000 - 99 Без объявл.
039(01) - 95**

Содержание

1.	Введение	1
	Список литературы	2
2.	Общие сведения	2
2.1.	Масштабы проблемы бесплодия	2
2.2.	Источники демографических и эпидемиологических данных	2
2.3.	Клинические исследования	3
	Список литературы	8
3.	Исторический обзор	9
3.1.	Происхождение метода медицински индуцированного зачатия	9
3.2.	Искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа	9
3.3.	Оплодотворение <i>in vitro</i> и пересадка эмбриона	11
3.4.	Индукрование овуляции	12
3.5.	Методики пересадки гамет и зигот	12
3.6.	Медицински индуцированное зачатие с участием третьей стороны	13
3.6.1.	Искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от донора	13
3.6.2.	Использование донорских ооцитов	13
3.6.3.	Пересадка эмбрионов	14
3.7.	Сохранение семенной жидкости и ооцитов методом глубокого замораживания	14
	Список литературы	14
4.	Психосоциальные аспекты проблемы	17
	Список литературы	20
5.	Социальные, этические и правовые вопросы	21
5.1.	Достоинство человека	22
5.2.	Сохранность генетического материала человека	23
5.3.	Неприкосновенность личности	23
5.4.	Неотчуждаемость личности	24
5.5.	Качество медицинской помощи	25
	Список литературы	27
6.	Медицинские показания для лечения методом оплодотворения <i>in vitro</i>	28
6.1.	Женское бесплодие	28
6.1.1.	Трубное бесплодие	28
6.1.2.	Эндометриоз	29
6.1.3.	Цервикальные факторы	29
6.1.4.	Иммунологические причины	30
6.1.5.	Диэтилстильбэстрол	30
6.2.	Мужское бесплодие	30
6.3.	Бесплодие, обусловленное множеством факторов	31
6.4.	Бесплодие неясного генеза	31
6.5.	Прочие показания	31
6.6.	Показания к использованию донорских ооцитов	32

6.7.	Показания к применению других методов, помимо ОГЧ	32
6.8.	Критерии отбора больных	33
	Список литературы	33
7.	Индукрование развития множественных фолликулов	36
7.1.	Кломифенцинат в сочетании с ХГЧ	37
7.2.	Менопаузальный гонадотропин человека	38
7.2.1.	В сочетании с ХГЧ	38
7.2.2.	В сочетании с кломифенцинатом и ХГЧ	38
7.3.	Лечение препаратом фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) с дополнительным назначением ХГЧ или ХГЧ в сочетании с МГЧ	39
7.4.	Лечение аналогом ГнВГ в сочетании с ХГЧ и МГЧ	39
7.5.	Применение пероральных контрацептивов с целью угнетения выделения гонадотропина	41
7.6.	Мониторинг процессов стимуляции фолликулиновой фазы	41
7.7.	Определение сроков введения ХГЧ	42
7.8.	Осложнения при стимуляции овуляции	42
7.9.	Оплодотворение <i>in vitro</i> в нестимулированном цикле	43
7.10.	Забор ооцитов	44
	Список литературы	45
8.	Оплодотворение ооцитов и последующее культивирование эмбрионов	50
8.1.	Гарантия качества	51
8.1.1.	Оборудование	51
8.1.2.	Лабораторная посуда и оборудование из стекла и других материалов	52
8.1.3.	Вода	52
8.1.4.	Проверка токсичности сосудов и питательных сред	53
8.2.	Условия культивирования	54
8.2.1.	Питательные среды	54
8.2.2.	Сывороточные добавки	55
8.2.3.	Температура	56
8.2.4.	pH и осмолярные характеристики	57
8.2.5.	Сосуды для культивирования	57
8.3.	Методы оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов	57
8.3.1.	Оценка ооцитов	57
8.3.2.	Осеменение ооцитов	59
8.3.3.	Признаки состоявшегося оплодотворения	60
8.3.4.	Культивирование и классификация эмбрионов	60
8.4.	Сохранение эмбрионов методом глубокого замораживания	61
	Список литературы	64
9.	Методики пересадки в матку и маточные трубы	68
9.1.	Пересадка эмбрионов после оплодотворения	68
9.2.	Пересадка гамет в маточные трубы	69
9.3.	Пересадка в маточные трубы зигот и эмбрионов в пронуклеарной стадии	70
	Список литературы	70

10. Результаты оплодотворения <i>in vitro</i>, пересадки эмбрионов и сопутствующих процедур	72
10.1. Клинические результаты	74
10.2. Исход беременности	74
10.2.1. Самопроизвольные аборты	75
10.2.2. Внематочная беременность	79
10.2.3. Многоплодная беременность	80
10.3. Перинатальная смертность и преждевременное родоразрешение	81
10.4. Способ родоразрешения	81
10.5. Масса тела при рождении	82
10.6. Соотношение по признаку пола	82
10.7. Хромосомные нарушения и врожденные пороки развития	82
10.8. Факторы, влияющие на частоту успешных исходов	84
10.8.1. Показания к ОIV	84
10.8.2. Возраст женщины	85
10.8.3. Тип стимуляции овуляции	85
10.8.4. Качество эмбрионов	86
10.8.5. Количество пересаживаемых эмбрионов	86
10.8.6. Число попыток ОIV	87
10.8.7. Имплантация	88
10.8.8. Лечение в лютеиновой фазе	88
10.8.9. Мужские факторы	89
10.8.10. Сохранение эмбрионов методом глубокого замораживания (криопрезервация)	91
10.9. Использование донорских яйцеклеток и сопряженные процедуры	93
10.9.1. Использование донорских яйцеклеток	93
10.9.2. Использование донорских эмбрионов	93
10.9.3. Пересадка гамет в маточные трубы	94
10.9.4. Прочие методы	95
Список литературы	95
11. Получение, хранение и подготовка донорской семенной жидкости для искусственного осеменения	104
11.1. Отбор доноров	105
11.2. Скрининг доноров	106
11.2.1. Микробиологические исследования доноров и семенной жидкости	107
11.2.2. Передача наследственного заболевания	109
11.3. Сохранение семенной жидкости методом глубокого замораживания	109
11.4. Размораживание	110
11.5. Влияние глубокого замораживания на свойства сперматозоидов	111
Список литературы	112
12. Искусственное осеменение — показания и методики	114
12.1. Оценка состояния женщины	115
12.2. Искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа	115
12.2.1. Показания к интрацервикальному осеменению	116
12.2.2. Показания к внутриматочному осеменению	116
12.2.3. Использование свежей или замороженной семенной жидкости	116
12.3. Искусственное осеменение с привлечением донора	117

12.3.1. Показания	117
12.3.2. Подбор донора и реципиента	117
12.3.3. Риск кровного родства	118
12.3.4. Практические методики	118
Список литературы	119
13. Результаты искусственного осеменения	121
13.1. Оценка результатов	121
13.2. Осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа	121
13.3. Осеменение с привлечением донора	124
13.3.1. Продолжительность лечения	125
13.3.2. Исход беременности	125
13.3.3. Исследования с длительным последующим наблюдением	126
Список литературы	127
14. Оборудование и персонал	129
14.1. Оборудование	131
14.2. Кадры	133
Список литературы	134
15. Исследования, проводимые в настоящее время, и перспективы на будущее	134
15.1. Ооцит	135
15.1.1. Индуцирование овуляции	135
15.1.2. Периферические маркеры созревания ооцитов	135
15.1.3. Местные маркеры созревания ооцитов	136
15.1.4. Хромосомный анализ	136
15.1.5. Созревание <i>in vitro</i>	136
15.2. Сперма	136
15.2.1. Видоспецифичные поверхностные рецепторы сперматозоидов к zona pellucida	136
15.2.2. Хромосомный анализ аномальных сперматозоидов	136
15.2.3. Биохимические маркеры	137
15.2.4. Взаимодействие сперматозоид — ооцит	137
15.2.5. Микроманипулирование	137
15.3. Эндометрий	138
15.4. Методы исследования и сохранения эмбриона методом глубокого замораживания	138
15.4.1. Биопсия эмбриона	139
15.4.2. Совместное культивирование	139
15.4.3. Биохимические маркеры качества эмбриона	140
15.4.4. Облегченный выход эмбриона	140
15.4.5. Усовершенствование методики пересадки эмбриона в организм женщины	140
15.5. Усовершенствование технологий	141
15.6. Исследования в области охраны здоровья населения и социологических наук	141
Список литературы	141
16. Разработка национальных государственных документов, обеспечивающих гарантии качества медицинского индуцированного зачатия	143
16.1. Методология	145
16.2. Международный опыт	146

16.3. Отчетные данные	148
Список литературы	149
17. Рекомендации	149
17.1. Методы научных исследований и лечения бесплодия	150
17.2. Рекомендуемые направления исследования	151
17.2.1. Фундаментальные исследования	151
17.2.2. Искусственное осеменение	152
17.2.3. Методы сохранения, оплодотворения и культивирования	152
17.2.4. Схемы лечения	153
Список литературы	153
Приложение	
Определения технических терминов, используемых в настоящем докладе	155

Научная группа ВОЗ по последним достижениям в области методов медицински индуцированного зачатия

Женева, 2 — 6 апреля 1990 г.

Члены группы

Д-р A.A. Acosta, профессор, отдел акушерства и гинекологии, Институт репродуктивной медицины им. Howard и Georgeanna Jones, Медицинская школа Восточной Виргинии, Норфолк, Виргиния, США

Д-р T.C. Anand Kumar, директор Института научных исследований в области воспроизведения населения, Бомбей, Индия

Д-р N. Andino, директор лаборатории женской репродуктивной функции, Институт эндокринологии и метаболических болезней, больница "Comandante Fajardo", Гавана, Куба (заместитель председателя)

Д-р I.D. Cooke, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, Шеффилдский университет, женская больница Jessop, Шеффилд, Англия (председатель)

Д-р A.H. DeCherney, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, медицинская школа Йельского университета, Нью-Хейвен, Коннектикут, США

Д-р Ge Qin-sheng, профессор, отделение репродуктивной эндокринологии, кафедра акушерства и гинекологии, больница медицинского колледжа Peking Union, Пекин, Китай

Д-р D.E. Jarrett, старший консультант, отделение акушерства и гинекологии, родильная больница принцессы Кристиан, Фритаун, Сьерра-Леоне

Д-р B. Knoppers, адъюнкт-профессор, факультет права, Монреальский университет, Монреаль, Канада

Д-р J. Lansac, профессор; Французская федерация центров исследования и сохранения яйцеклеток и спермы (CECOS), Тур, Франция (содокладчик)

Д-р E. Lince, директор, Fundación Medica Sur (Южный медицинский фонд — исп.), Федеральный округ Мехико, Мексика

Д-р K.-C. Nygren, медицинский директор, отделение OIV, больница Sophiahemmet, Стокгольм, Швеция

Д-р Y.du Plessis, руководитель лаборатории ОIV, отделение репродуктивной биологии, Королевская женская больница, Мельбурн, Виктория, Австралия

Д-р Т. Пшеничникова, профессор, Всесоюзный научно-исследовательский центр охраны здоровья матери и ребенка, Москва, СССР

Д-р Н.М. Rushwan, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, Хартумский университет, Хартум, Судан

Д-р J.G. Schenker, профессор, отделение акушерства и гинекологии, больница университета Hadassah, Иерусалим, Израиль

Д-р M. Seppälä, профессор, отделение акушерства и гинекологии, Центральная больница Хельсинкского университета, Хельсинки, Финляндия

Д-р G.A. Serour, директор Международного исламского центра научных исследований по проблеме народонаселения университета Al-Azhar, Каир, Египет (содокладчик)

Секретариат

Д-р P.J. Rowe, медицинский сотрудник, Специальная программа научных исследований, разработок и подготовки кадров в области воспроизводства населения, ВОЗ, Женева, Швейцария (секретарь)



Введение

Совещание научной группы ВОЗ по последним достижениям в области медицински индуцированного зачатия проходило в Женеве 2 – 6 апреля 1990 г. От имени генерального директора совещание открыл д-р Т. Varagunam, ответственный за ресурсы для проведения исследований, Специальная программа научных исследований, разработок и подготовки научных кадров в области воспроизведения населения ВОЗ.

Ранее ВОЗ уже были созданы две научные группы с целью разработки для генерального директора рекомендаций по вопросам бесплодия; первая в 1973 г. занималась вопросами препаратов, стимулирующих функцию гонад [1], а вторая в 1975 г. проанализировала данные по эпидемиологии бесплодия [2]. В течение 17 лет, прошедших после первого совещания, были значительно усовершенствованы методы научных исследований и лечения бесплодия; в центре внимания общественности и ученых оказались методы индуцирования овуляции и экстракорпорального оплодотворения.

Более десяти лет прошло после рождения в Великобритании Louise Brown в результате первого успешного оплодотворения *in vitro*. С тех пор родились тысячи подобных детей в клиниках как развитых, так и развивающихся стран. В дальнейшем методы стимуляции функции яичников, забора и хранения ооцитов, оплодотворения *in vitro*, пересадки гамет и наблюдения последующих результатов подверглись заметному усовершенствованию, однако частота конечных успешных исходов, критерием которой является процентная доля случаев рождения живых детей, остается упорно низкой и в большинстве клиник не превышает 25 %. Учитывая, что традиционные методы лечения нарушения функции яичников обеспечивают наступление беременности в 60–80 % случаев, ясно, что нам еще многое неизвестно о факторах, влияющих на успешный исход так называемого медицински индуцированного зачатия. Этот термин применяется для целей настоящего отчета и объединяет такие понятия, как оплодотворение *in vitro*, пересадка гамет в маточные трубы (ПГМТ) и другие подобные методики, а также давно внедренные в практику методики искусственного оплодотворения спермой, взятой от мужа или донора.

Обостренный интерес ученых и общественности к данной области репродуктивной медицины явился причиной оживленных дискуссий по возникающим в этой связи этическим, моральным и правовым вопросам — дискуссий, которые во многих странах продолжаются по сей день. Понятие медицински индуцированного зачатия отнюдь не ограничивается лечением женщин по поводу непроходимости маточных труб или супружеских пар, где мужчина страдает олигоспермиеи, а включает такие сферы, как ранняя диагностика генетических заболеваний и генетическое манипулирование яйцеклетками или сперматозоидами.

Список литературы

1. WHO Technical Report Series, No.514, 1973 (*Agents stimulating gonadal function in the human: report of a WHO Scientific Group*).
2. WHO Technical Report Series, No.582, 1975 (*The epidemiology of infertility: report of a WHO Scientific Group*).

2. Общие сведения

2.1. Масштабы проблемы бесплодия

Бесплодие встречается как у мужчин, так и у женщин детородного возраста, причиняя тяжёлые личные страдания и нарушая нормальную семейную жизнь. Несмотря на то что данные о распространённости бесплодия не отличаются высокой точностью и варьируются в зависимости от региона, приблизительно у 8 — 10 % супружеских пар в течение репродуктивного периода жизни отмечается та или иная форма бесплодия. Если экстраполировать указанные данные на все население земного шара, то это означает, что бесплодием, возможно, страдают 50 — 80 млн человек [1]. Однако точно оценить распространённость данного состояния нелегко, хотя значимую информацию по этому вопросу предлагает целый ряд источников.

2.2. Источники демографических и эпидемиологических данных

Обобщенные обзоры на материале целого ряда различных источников включают данные World Fertility Survey [2] и эпидемиологических исследований ВОЗ [3 — 5]. В исследе-

дований ВОЗ бесплодие определяется как “подверженность риску беременности в течение двух лет без наступления зачатия” [4]. Следует заметить, что формулировка его отличается от общепринятого клинического определения, а именно неспособности забеременеть в течение одного года регулярной половой жизни без применения защитных средств [6].

В табл. 1 представлены показатели первичного и вторичного бесплодия в отдельных развивающихся странах и некоторые указания на региональные и межрегиональные различия в этих показателях.

2.3.

Клинические исследования

Знание этиологии бесплодия играет важнейшую роль при назначении любых лечебных или профилактических мероприятий, однако выявление причины бесплодия на уровне индивидуальной супружеской пары нередко затруднено и требует длительного времени. Хотя в ходе всестороннего комплексного обследования обоих супругов, как правило, удается выявить разнообразные факты, которые могут способствовать бесплодию данной пары, нередко бывает сложно объяснить бесплодие действием какого-либо единичного фактора и, таким образом, четко определить “причину бесплодия”.

С 1980 по 1986 г. Целевая группа по диагностике и лечению бесплодия Специальной программы научных исследований, разработок и подготовки научных кадров в области воспроизводства населения ВОЗ проводила исследование, в котором приняли участие 8500 супружеских пар в 33 центрах 25 различных стран мира, с применением стандартизованного протокола обследования и диагностики бесплодной пары [6, 8 – 10]. Характеристики исследуемых пар, проанализированные с учетом региональных особенностей, были опубликованы [9, 10]. Наиболее резко выраженные региональные различия отмечались в 4 центрах в странах Африки, расположенных к югу от Сахары, (Камеруне, Кении, Нигерии и Замбии) и в 16 центрах в развитых странах (включая 11 европейских центров), тогда как результаты, полученные в других центрах развивающихся стран (Азии, Латинской Америки и Восточного Средиземноморья) в целом занимали промежуточное положение по отношению к первым двум группам центров,

Таблица 1
Частота первичного и вторичного бесплодия в отдельных развивающихся странах^a

Страна	Первичное бесплодие (%)	Вторичное бесплодие (%)	Страна	Первичное бесплодие (%)	Вторичное бесплодие (%)
Африка					
Бенин*	3	10	Индия*	3	8
Камерун*	12	33	Индонезия	7	15
Кения	4	7	Корейская Республика	2	6
Лесото	7	17	Малайзия	4	9
Сенегал	6	13	Непал	6	12
Судан	7	10	Пакистан	5	10
Объединенная Республика Танзания*	5	25	Пакистан*	4	24
Северная и Южная Америка					
Бразилия*	2	30	Филиппины	2	5
Колумбия	4	4	Шри-Ланка	4	11
Коста-Рика	2	6	Таиланд	2	11
Гайана	9	9	Таиланд*	2	13
Мексика	3	6	Вьетнам	2	15
Панама	3	8	Карибский бассейн		
Парaguay	3	8	Доминиканская Республика	6	8
Перу	3	4	Гаити	7	5
Венесуэла	2	7	Ямайка	7	6
Азия и Океания					
Бангладеш	4	15	Тринидад и Тобаго	5	6
Фиджи	4	—	Восточное Средиземноморье		
			Иордания	3	2
			Сирийская Арабская Республика	3	3

^a Данные World Fertility Survey [2] или (строки, обозначенные звездочкой) эпидемиологических исследований частоты бесплодия ВОЗ [3 — 5].

Ниже приведены определения первичного и вторичного бесплодия:

World Fertility Survey

Первичное бесплодие: процентная доля женщин в возрасте 40 — 44 лет, которые состояли в браке не менее 5 лет и бездетны [2].

Вторичное бесплодие: средняя процентная доля женщин в возрасте 30 — 40 лет, которые подвергались риску беременности не менее 5 лет без наступления зачатия, за вычетом частоты первичного бесплодия.

ВОЗ

Первичное бесплодие: процентная доля женщин, которые ранее никогда не беременели и подвергались риску беременности не менее двух лет без наступления зачатия [7].

Вторичное бесплодие: процентная доля женщин в возрасте 30 — 39 лет, у которых ранее была хотя бы одна беременность и которые подвергались риску беременности не менее двух лет без наступления зачатия.

представляющим крайние показатели. Данные о наиболее часто наблюдаемых специфических причинах бесплодия у женщин в странах Африки, расположенных к югу от Сахары, и развитых странах, выведенные на основании результатов исследования, представлены соответственно на рис. 1 и 2, а на рис. 3 и 4 показано относительное распределение причин в зависимости от пола супруга, соответственно также для региона Африки к югу от Сахары и развитых стран. У женщин, частота диагнозов которых может быть отнесена к группе причин, обусловленных инфекционными заболеваниями, варьировалась в различных центрах от 28 до 65 %. Частота случаев непрходимости труб у женщин в Африке к югу от Сахары более чем в три раза превышала показатели в других регионах, за исключением Восточного Средиземноморья. Во всех развивающихся странах частота трубного бесплодия была выше, чем в развитых странах. Распределение причин мужского бесплодия менее четкое, однако отмечаются региональные вариации показателей частоты варикоцеле и инфекционных заболеваний предстательной железы.

Заметные различия между регионами проявляются в частоте диагнозов, обусловленных инфекциями: двусторонней непрходимости труб и спаечного процесса в области малого таза у женщин и инфекционным заболеванием предстательной железы у мужчин. В странах Африки, расположенных к югу от Сахары, процентные показатели женщин с наличием в анамнезе заболевания, передаваемого половым путем, или послеродовых или послеабортных инфекционных осложнений составляли соответственно 9 и 8 %, т.е. более чем в три раза выше, чем в развитых странах. Показатели в других развивающихся странах были ближе к показателям развитых стран, чем стран Африки к югу от Сахары.

Если роль заболеваний, передаваемых половым путем, главным образом гонококковой и хламидийной инфекции, в возникновении женского бесплодия с некоторых пор считается общепризнанным фактором, то состояние здоровья мужчины обычно не учитывалось. Если взять данные по всем супружеским парам (случаи, когда удавалось установить диагноз у женщины), включенным в исследование ВОЗ, а в качестве референтной группы использовать женщин с диагнозами, обусловленными инфекционными заболеваниями (когда инфекция отсутство-

Рис. 1

Распределение наиболее распространенных специфических причин бесплодия у женщин в Африке к югу от Сахары.

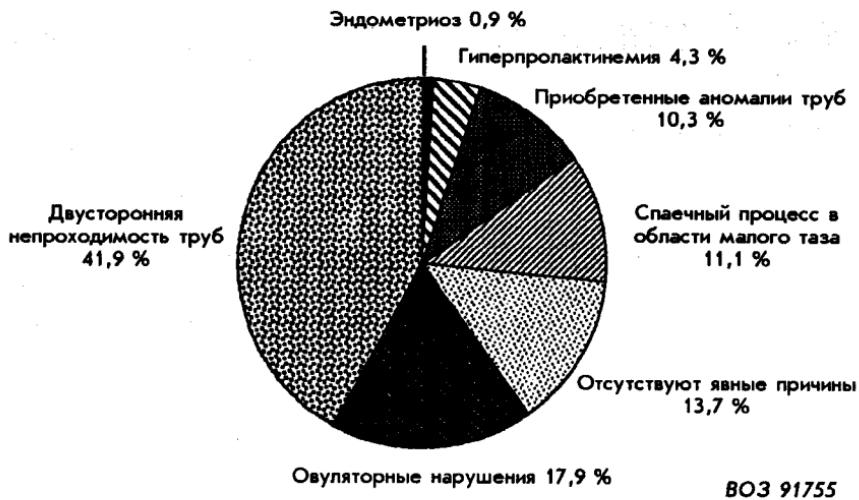


Рис. 2

Распределение наиболее распространенных специфических причин бесплодия у женщин в развитых странах.

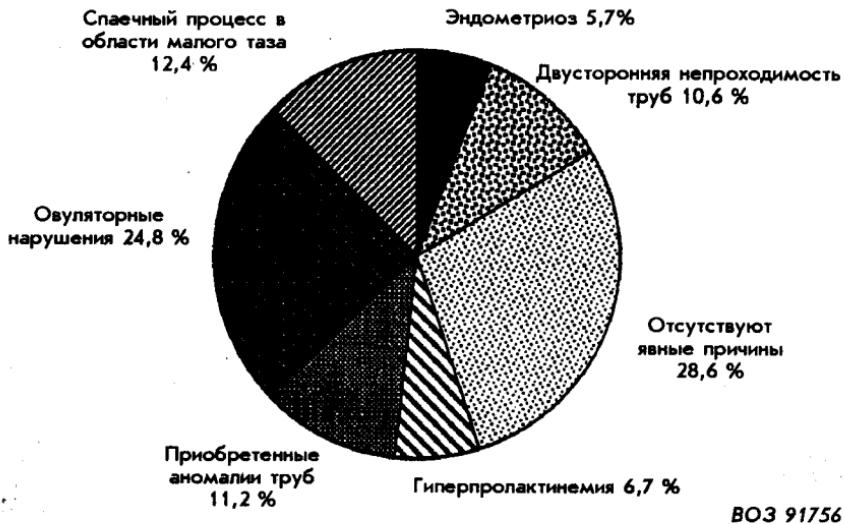


Рис. 3

Распределение причин бесплодия у супружов в Африке к югу от Сахары.

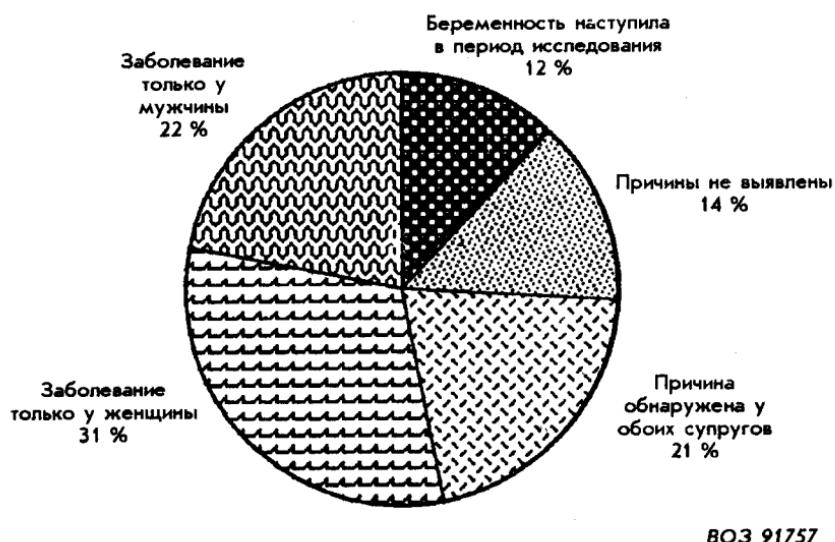
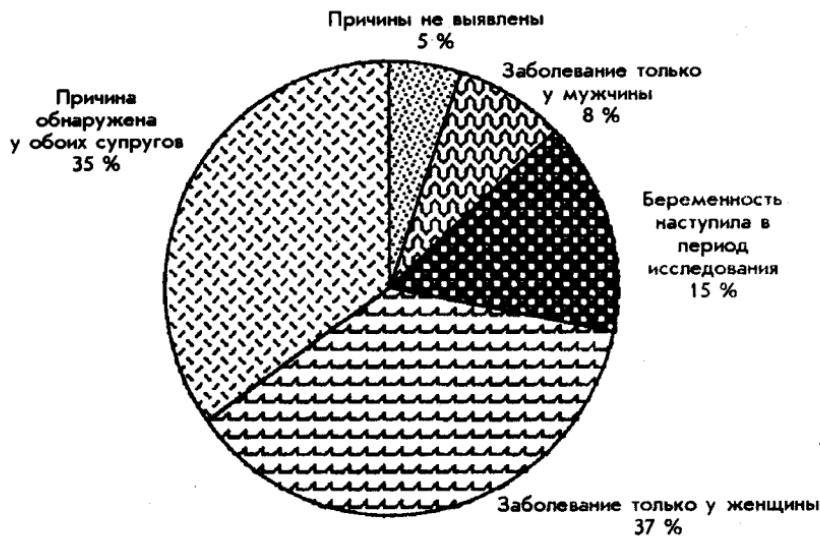


Рис. 4

Распределение причин бесплодия у супружов в развитых странах.



ВОЗ 91759

вала в анамнезе обоих супругов), то относительный риск выявления причины бесплодия, обусловленной инфекцией, в случаях, когда инфекция отмечалась в анамнезе только у супруга мужского пола, будет выше на 56 %, в случаях бесплодия при наличии инфекции в анамнезе только у женщины — на 82 %, и в случаях, когда у обоих супругов отмечался подобный анамнез — на 124 % [6].

Другие этиологические факторы непроходимости маточных труб или спаечного процесса в области таза включают послеродовые или послеабортные инфекции, туберкулез, острый аппендицит, филяриатоз, шистосомоз, ятрогенные причины, а также вмешательства на женских половых органах, обусловленные этнокультурными традициями, например циркумцизией у женщины; необходимы дальнейшие исследования с целью выяснения значимости указанных факторов, особенно в развивающихся странах.

Список литературы

1. **Rowe, P.J.** Epidemiology of infertility. In: Genazzani, A.R. et al., ed. *Advances in gynecological endocrinology*. Carnforth, The Parthenon Publishing Group, 1989, pp.527 — 534.
2. **Vaessen, M.** *Childlessness and infecundity*. Voorburg, Netherlands, International Statistical Institute, 1984 (WFS Comparative Studies, No.31).
3. **Koetsawang, S. et al.** Prevalence of infertility in urban and rural Thailand. *Asia-Oceania journal of obstetrics and gynaecology*, 11: 313 — 323 (1985).
4. **Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction.** *Ninth Annual Report*. Geneva, World Health Organization, 1980, p.107 (unpublished document, available on request from HRP, World Health Organization, Geneva, Switzerland).
5. **Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction.** *Thirteenth Annual Report*. Geneva, World Health Organization, 1984, p.72 (unpublished document, available on request from HRP, World Health Organization, Geneva, Switzerland).
6. **Rowe, P.J.** Workshop on the standardized investigation of the infertile couple. In: Harrison, R.F. et al., ed. *Proceedings of the Xth World Congress on Fertility and Sterility, Dublin, June 1983*. Lancaster, MTP Press, 1984, pp.427 — 442.
7. **World Health Organization Task Force on the Diagnosis and Treatment of Infertility.** WHO Workshop on the investigation of the subfertile couple. *Advances in fertility and sterility*, 4: 19 — 25 (1987).
8. **Rowe, P.J.** WHO's approach to the management of the infertile couple.

In: Negro-Vilar, A. et. al., ed. *Andrology and human reproduction*. New York, Raven Press, 1988 (Serono Symposia Series, No.47), pp.291 — 310.

9. Cates, W. et al. Worldwide patterns of infertility: is Africa different? *Lancet*, 2: 596 — 598 (1985).
10. Farley, T.M.M. The WHO standardized investigation of the infertile couple. In: Ratnam, S.S. et al., ed. *The Proceedings of the 12th World Congress on Fertility and Sterility, Singapore, October 1986. Vol.4. Infertility: male and female*. Carnforth, The Parthenon Publishing Group, 1987, pp.7 — 19.

3. Исторический обзор

3.1. Происхождение метода медицински индуцированного зачатия

Цель медицински индуцированного зачатия состоит в устранении барьеров, препятствующих контакту сперматозидов и яйцеклеток у бесплодных супружеских пар. Историю данного метода можно проследить до первых попыток оплодотворить яйцеклетку вне организма человека. Несмотря на то что экстракорпоральное оплодотворение яйцеклеток млекопитающих успешно осуществлялось еще в конце прошлого века [1], оплодотворение яйцеклеток человека *in vitro* было выполнено лишь в 1944 г. Rock и Menkin [2]. С тех пор были усовершенствованы процедуры работы с гаметами, которые и послужили основой для разработки разнообразных методик пересадки в организм женщины либо гамет, либо эмбрионов (табл.2).

3.2. Искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа

Данная форма искусственного осеменения практически применяется уже много лет. При этом были разработаны различные методики, включая интравагинальное, интрацервикальное и внутриматочное осеменение. Первое успешное вагинальное искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа (по поводу бесплодия, обусловленного гипоспадией), было выполнено Hunter в конце XVIII века. В 1886 г. Marion Sims описал шесть случаев, когда были произведены попытки искусственного осеменения семенной жидкостью мужа; в результате наступила одна беременность, окончившаяся самопроизвольным выкидышем [3].

Таблица 2
Основные события в истории метода медицински индуцированного зачатия

Год	Метод	Источник
1878	Оплодотворение <i>in vitro</i> ооцитов кролика и морской свинки	Schenk [1]
1890	Первая пересадка эмбриона млекопитающих от одной женской особи к другой	Heape [4]
1909	Беременность у человека в результате использования семенной жидкости, взятой от донора	Hard [5]
1944	Оплодотворение ооцита человека <i>in vitro</i>	Rock and Menkin [2]
1970	Забор яйцеклетки методом лапароскопии	Steptoe and Edwards [6]
1973	Кратковременное повышение уровня хорионического гонадотропина человека (ХГч) после пересадки восьмиклеточного эмбриона, возникшего в результате оплодотворения <i>in vitro</i>	de Kretser et al. [7]
1978	Успешное рождение живого ребенка в результате оплодотворения <i>in vitro</i> и пересадки эмбриона (OIV-ПЭ)	Steptoe and Edwards [8]
1980	OIV-ПЭ по поводу бесплодия необъясненного происхождения	Lopata et al. [9]
1981	Беременность в результате OIV-ПЭ, выполненного при стимулировании овуляции	Trounson et al. [10]
1981	Получение ооцитов человека методом лапароскопии для последующего OIV-ПЭ под ультразвуковым контролем	Lenz et al. [11]
1982	Рождение ребенка после введения ооцитов и сперматозоидов в матку	Craft et al. [12]
1983	Наступление беременности после пересадки donorских эмбрионов, возникших в результате оплодотворения <i>in vitro</i>	Trounson et al. [3]
1983	Успешное сохранение эмбриона человека методом глубокого замораживания	Trounson and Mohr [14]
1983	Трансвагинальная аспирация ооцитов методом пункции прямокишечно-маточного углубления	Gleicher et al. [15]
1983	OIV-ПЭ как метод лечения эндометриоза и бесплодия неизвестного происхождения	Mahadevan et al. [16]
1984	Внутриматочное осеменение отмытой семенной жидкостью (ВМО)	Kerin et al. [17]
1984	OIV-ПЭ как метод лечения иммунологического бесплодия	Ackerman et al. [18]
1984	Беременность, наступившая в результате использования donorских ооцитов и OIV-ПЭ у женщины с недостаточностью функции яичников	Lutjen et al. [19]
1984	OIV-ПЭ как метод лечения мужского бесплодия	Yovich et al. [20]
1984	Беременность, наступившая после пересадки гамет в маточные трубы (ПГМТ) методом лапаротомии	Asch et al. [21]
1984	ПГМТ, выполненная методом лапароскопии	Asch et al. [21]
1985	OIV-ПЭ по поводу цервикального фактора	Hewitt et al. [22]

Год	Метод	Источник
1985	Вагинальный забор ооцитов под ультразвуковым контролем	Wikland et al. [23]
1986	Беременность в результате использования ооцитов человека, сохраненных методом глубокого замораживания	Chen [24]
1986	Прямое интраперитонеальное осеменение (ПИПО)	Forller et al. [25]
1986	Беременность, наступившая после пересадки эигот в маточные трубы (ПЗМТ) методом лапароскопии	Devroey et al. [26]
1987	Беременность, наступившая после пересадки в маточные трубы ооцитов в пронуклеарной стадии (ПРОСТ)	Yovich et al. [27]
1987	Пересадка ооцитов и сперматозоидов в брюшную полость под ультразвуковым контролем	Mason et al. [28]
1987	ПГМТ с использованием донорских ооцитов как метод лечения недостаточности функции яичников	Asch et al. [29]
1987	Катетеризация маточных труб через влагалище	Jansen and Anderson [30]
1988	Беременность, наступившая после введения сперматозоидов в zona pellucida	Ng et al. [31]
1989	Введение яйцеклеток в маточные трубы с последующим поздним внутриматочным осеменением (FREDI)	Leung et al. [32]

За последние годы были разработаны различные варианты базового метода, включая стимулированное внутриматочное осеменение, когда осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа, производится после лечения гонадотропином [17], и вагинальное внутритрубное осеменение, когда сперматозоиды помещают в маточную трубу под ультразвуковым контролем [30]. Кроме того, было продемонстрировано, что беременность может наступить в результате прямого интраперитонеального осеменения [25]. С совершенствованием методов микрохирургии стала возможной инъекция спермы в периовулярное пространство, в результате чего происходило оплодотворение и рождение живого ребенка [31].

3.3. Оплодотворение *in vitro* и пересадка эмбриона

Методика ОГВ-ПЭ [(IVF-ET) (оплодотворение *in vitro*-пересадка эмбриона)] была усовершенствована Edwards и Steptoe, в результате чего в 1978 г. на свет появилась Louise Brown, первый ребенок в мире, рожденный после применения данной методики [8]. Первоначально методика

OIV-ПЭ была рекомендована для лечения по поводу женского бесплодия, вызванного непроходимостью труб, однако впоследствии успешно применялась также для лечения других форм бесплодия, а именно эндометриоза [16], идиопатического бесплодия [9], цервикального фактора [22], иммунологического бесплодия [18] и олигоспермии [20].

3.4. Индуцирование овуляции

Кломифенцитрат был впервые применен с целью индуцирования овуляции в 1961 г. Greenblatt и соавт., в результате чего наступила беременность [33]; в 1967 г. появилось сообщение о применении данного препарата с целью индуцирования овуляции в сочетании с менопаузальным гонадотропином человека (МГч) [34].

В 1957 г. Gemzell и соавт. сообщили об индуцировании овуляции гонадотропинами человека [35], а в 1962 г. Grooke и соавт. сообщили о наступлении беременности после лечения фолликулостимулирующим гормоном человека (ФСГ) и хорионическим гонадотропином [36]. Методики лечения гипофизарным ФСГ или МГч в настоящее время широко применяются для целей медицински индуцированного зачатия [37].

В 1971 г. Kastin и соавт. сообщили о применении рилизинг-гормона ЛГ (РГЛГ) с целью стимулирования секреции лютеинизирующего гормона (ЛГ) и овуляции [38], а в 1985 г. РГЛГ был успешно применен в сочетании с МГч [39]. Первые сообщения о применении агонистов РГЛГ с целью стимулирования функции яичников появились в 1984 — 1985 гг. [40, 41].

3.5. Методики пересадки гамет и зигот

После пересадки яйцеклеток, извлеченных методом лапароскопии, и сперматозоидов непосредственно в полость матки отмечалось рождение живых детей [12]; кроме того, в случаях бесплодия нетрубного происхождения производилась пересадка гамет в маточную трубу. Первое сообщение, на основании которого стало возможным предположение о стойких успешных результатах пересадки гамет в маточные трубы (ПГМТ), было опубликовано Asch и соавт. в 1984 г. [21]. В настоящее время метод ПГМТ широко применяется как двухэтапная процедура, которая предусматривает аспирацию фолликулов с целью получения

ооцитов с последующей пересадкой их и способных к оплодотворению сперматозоидов в ампулярный отдел маточной трубы при помощи лапароскопии [21], мини-лапаротомии [42] или под ультразвуковым контролем [30].

Кроме того, производилась пересадка в маточную трубу зигот. Первое сообщение о наступлении беременности в результате пересадки в трубы зигот (ПЗМТ) было опубликовано Devroe и соавт. в 1986 г. [26]. Позднее появились сообщения той же группы исследователей о новых случаях наступления беременности и рождения живых детей [43]. Ооциты в пронуклеарной стадии или эмбрионы в стадии деления также пересаживали в трубы; эти методики сокращенно обозначаются соответственно ПРОСТ (PROST) [27] и ТЕСТ [44]. Помещение яйцеклеток в маточную трубу в ходе лапароскопии с последующим внутриматочным осеменением через 24 ч впервые было рекомендовано Leung и соавт. в 1989 г. как альтернатива ПГМТ [32].

В противовес этим методам пересадки гамет в 1987 г. появилось сообщение о введении ооцитов и семенной жидкости в брюшную полость, что привело к рождению живого ребенка [28].

3.6. Медицински индуцированное зачатие с участием третьей стороны

3.6.1. Искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от донора

Для лечения супружеских пар, где мужчина страдает тем или иным типом бесплодия, методика искусственного осеменения семенной жидкостью, взятой от донора, рутинно применяется в клинической практике с 60-х годов XX века, хотя первое упоминание о ней появилось около 1900 г. [5].

3.6.2. Использование донорских ооцитов

Данная методика предусматривает использование ооцитов, предоставленных в качестве донорского материала, которые оплодотворяются сперматозоидами, взятыми либо от мужа, либо от донора. Сообщения об успешном наступлении беременности после пересадки донорских ооцитов, оплодотворенных *in vitro* [19] или методом ПГМТ [29], появляются начиная с 1984 г.

3.6.3. Пересадка эмбрионов

В результате пересадки донорских эмбрионов женщинам с функционально полноценной маткой на фоне отсутствия продукции ооцитов отмечалось рождение живых детей [14, 15]. При этом эмбрионы пересаживают либо после сохранения их методом глубокого замораживания, о чём впервые было сообщено в 1983 г. [14], либо используют свежие донорские эмбрионы [46].

3.7. Сохранение семенной жидкости и ооцитов методом глубокого замораживания

Глубокое замораживание сперматозоидов с целью последующего использования рутинно применяется с 50-х гг. XX века [47], в результате чего во многих странах были созданы банки спермы. Замороженные сперматозоиды, взятые от мужа или донора, могут быть использованы для искусственного осеменения.

Ооциты успешно подвергались процедурам глубокого замораживания и оплодотворения, а в результате последующей пересадки эмбрионов наступала беременность и рождались живые дети [14, 24, 48]. Замораживание ооцитов обеспечивает возможность повторных ОIV-ПЭ в последующих циклах без необходимости стимулирования функции яичников.

Список литературы

1. Schenk, S.L. Das Säugetier künstlich befruchtet ausserhalb des Muttertieres. [Artificial insemination of mammals outside the mother.] *Mitteilungen aus dem embryologischen Institut der K.K. Universität Wien*, 2: 107 (1878).
2. Rock, J. & Menkin, M.F. *In vitro fertilization and cleavage of human ovarian eggs*. *Science*, 100: 105 (1944).
3. Barwin, B.N. Intrauterine insemination by husband. In: Negro-Vilar, A. et al., ed. *Andrology and human reproduction*. New York, Raven Press, 1988 (Serono Symposia Series, No. 47), pp.73 — 83.
4. Heape, W. Preliminary note on the transimplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother. *Proceedings of the Royal Society*, 48: 457 — 458 (1980).
5. Hard, A.D. Artificial impregnation. *Medical world*, 27: 163 — 164 (1909).

6. Steptoe, P.C. & Edwards, R.G. Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming of ovaries with gonadotrophins. *Lancet*, 1: 683 — 689 (1970).
7. De Kretser, D.M. et al. Transfer of a human zygote. *Lancet*, 2: 728 — 729 (1973).
8. Steptoe, P.C. & Edwards, R.G. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 2: 366 (1978).
9. Lopata, A. et al. Use of *in vitro* fertilization in the infertile couple. In: Pepperell, R.J. et al., ed. *The infertile couple*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1980, pp.209 — 228.
10. Trounson, A.O. et al. Pregnancies in human by fertilization *in vitro* and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science*, 212: 681 — 682 (1981).
11. Lenz, S. et al. Collection of human oocytes for *in vitro* fertilization by ultrasonically guided follicular puncture. *Lancet*, 1: 1163 — 1164 (1981).
12. Craft, I. et al. Birth following oocyte and sperm transfer to the uterus. *Lancet*, 2: 773 (1982).
13. Trounson, A. et al. Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised *in vitro*. *British medical journal*, 286: 835 — 838 (1983).
14. Trounson, A.O. & Mohr, L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 305: 707 — 709 (1993).
15. Gleicher, N. et al. Egg retrieval for *in-vitro* fertilization by sonographically controlled vaginal culdocentesis. *Lancet*, 2: 508 — 509 (1983).
16. Mahadevan, M.M. et al. The relationship of tubal blockage, infertility of unknown cause, suspected male infertility and endometriosis to success of *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, 40: 755 — 762 (1983).
17. Kerin, J.F.P. et al. Improved conception rate after intrauterine insemination of washed spermatozoa from men with poor quality semen. *Lancet*, 1: 533 — 535 (1984).
18. Ackerman, S.B. et al. Immunologic infertility and *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 42: 474 — 477 (1984).
19. Lutjen, P. et al. The establishment and maintenance of pregnancy using *in vitro* fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature*, 307: 174 — 175 (1984).
20. Yovich, J.L. et al. Treatment of male infertility by *in vitro* fertilization. *Lancet*, 2: 169 — 170 (1984).
21. Asch, R.H. et al. Birth following gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 163 (1985).

22. Hewett, J. et al. Treatment of idiopathic infertility cervical mucus hostility and male infertility. Artificial insemination with husband's semen or *in vitro* fertilization? *Fertility and sterility*, 44: 350 — 355 (1985).
23. Wiklund, M. et al. Transvesical and transvaginal approach for the aspiration of follicles by use of ultrasound. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 182 — 194 (1985).
24. Chen, C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*, 1: 884 — 886 (1986).
25. Forrier, A. et al. Direct intraperitoneal insemination: first results confirmed. *Lancet*, 2: 1486 (1986).
26. Devroey, P. et al. Pregnancy after translaparoscopic zygote intrafallopian transfer in a patient with sperm antibodies. *Lancet*, 1: 1329 (1986).
27. Yovich, J.L. et al. Pregnancies following pronuclear stage tubal transfer. *Fertility and sterility*, 48: 851 — 857 (1987).
28. Mason, B. et al. Ultrasound guided peritoneal oocyte and sperm transfer (POST). *Lancet*, 1: 386 (1987).
29. Asch, R.H. et al. Oocyte donation and gamete intrafallopian transfer as treatment for a premature ovarian failure. *Lancet*, 1: 687 — 688 (1987).
30. Jansen, R.P.S. & Anderson, J.C. Catheterisation of the fallopian tubes from the vagina. *Lancet*, 2: 309 — 310 (1987).
31. Ng, S.C. et al. Pregnancy after transfer of multiple sperm under the zona. *Lancet*, 2: 790 (1988).
32. Leung, C.K.M. et al. Fallopian replacement of eggs with delayed intrauterine insemination (FREDI): an alternative to gamete intrafallopian transfer (GIFT). *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 6: 129 — 133 (1989).
33. Greenblatt, R.B. et al. Induction of ovulation with MRL 41, preliminary report. *Journal of the American Medical Association*, 178: 101 — 104 (1961).
34. Cox, R. R. et al. Effects of clomiphene citrate on ovarian responses in patients with amenorrhea. *Journal of endocrinology*, 38: x — xi (1967).
35. Gemzell, C.A. et al. Clinical effect of human pituitary follicle stimulating hormone (FSH). *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 18: 1333 — 1348 (1958).
36. Crooke, A. C. et al. Pregnancy following treatment with human pituitary follicle stimulating hormone and chorionic gonadotropin. *Acta endocrinologica (Copenhagen)*, 40 (suppl.67): 132 (162).
37. Blankstein, J. et al. *Ovulation induction and in vitro fertilization*. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1986.
38. Kastin, A. J. et al. Ovulation confirmed by pregnancy after infusion of

- porcine LHRH. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 33: 980 — 982 (1971).
39. Eckstein, N. et al. Induction of ovulation in amenorrhoeic patients with gonadotropin-releasing hormone and human menopausal gonadotropin. *Fertility and sterility*, 44: 744 — 750 (1985).
 40. Porter, R.N. et al. Induction of ovulation for *in-vitro* fertilisation using buserelin and gonadotrophins. *Lancet*, 2: 1284 — 1285 (1984).
 41. Fleming, R. et al. Successful treatment of infertile women with oligomenorrhoea using a combination of an LH-RH agonist and exogenous gonadotrophins. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 92: 369 — 373 (1985).
 42. Asch, R.N. et al. Gamete intrafallopian transfer (GIFT): use of minilaparotomy and an individualized regimen of induction of follicular development. *Acta europea fertilitatis*, 17: 187 — 193 (1986).
 43. Devroey, P. et al. Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility. *Fertility and sterility*, 52: 246 — 249 (1989).
 44. Yovich, J.L. et al. The relative chance of pregnancy following tubal or uterine transfer procedures. *Fertility and sterility*, 49: 858 — 864 (1988).
 45. Trounson, A. et al. Pregnancy establishment in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised *in vitro*. *British medical journal*, 286: 835 — 838 (1983).
 46. Bustillo, M. et al. Nonsurgical ovum transfer as a treatment in infertile women: preliminary experience. *Journal of the American Medical Association*, 251: 1171 — 1173 (1984).
 47. Bunge, R.G. & Sherman, J.K. Fertilizing capacity of frozen human spermatozoa. *Nature*, 172: 767 — 768 (1953).
 48. Van Uem, J.F.H.M. et al. Birth after cryopreservation of unfertilized oocytes. *Lancet*, 1: 752 — 753 (1987).

4. Психосоциальные аспекты проблемы

Когда супружеская пара впервые узнает о невозможности иметь детей, это может послужить толчком к развитию сложного психосоциального кризиса у одного или обоих супружеских пар, причем для его коррекции нередко требуется несколько лет. Данный кризис определяется совокупностью взаимодействий таких факторов, как физическое состояние организма, предрасполагающее к бесплодию, медицинские вмешательства по поводу бесплодия, социальные установки в отношении отцовства и материнства, реакция окружающих и индивидуальные психологические характеристики супружеских пар. Процесс диагностики и лечения

бесплодия оказывает глубочайшее влияние на судьбы супружеских пар, сталкивающихся в этой проблемой. Люди, погружаясь в мысли о том, что им не удалось совершить, вскоре начинают пренебрегать и другими целями и потребностями [1].

Диагноз бесплодия, в сочетании с глубоко коренящимися в сознании супружеской пары и окружающего социума представлениями о миссии зачатия и воспитания детей, создает условия для возникновения сложной цепи реакций [2]. Бесплодие видится как утрата некоего потенциала, причем расплывчатость проблемы не позволяет ясно ощутить и выразить горестные чувства. Большинство специалистов в данной области согласны, что у лиц, страдающих бесплодием, возникают переживания вполне определенного типа. Menning [3] предложил следующую последовательность психических реакций; недоверие и удивление, отрицание, гнев, стремление к изоляции, чувство вины, чувство горя и разрешение кризиса. Данная схема представляет собой некое обобщение. Индивидуальные различия, которые проявляются в особенностях восприятия ситуации отдельными лицами, в том, как они на нее реагируют и как решают для себя проблему бесплодия, пока изучены недостаточно. Так, известно, что переживания мужчины и женщины нередко различаются по степени интенсивности, и причины переживания также различны [4].

Бесплодные супруги нередко страдают от сознания собственного бессилия и фрустрации, рассматривая стерильность как неспособность выполнить ожидаемую от них социальную функцию. Очень часто во всем винят женщину, независимо от того, какова реальная причина бесплодия. Во многих обществах способность иметь детей до сих пор считается главным оправданием [*raison d'être*. — франц.] существования женщины и подтверждает состоятельность мужчины как личности. Многим женщинам бесплодие омрачает самые ценные годы жизни, при этом они вынуждены решать возникающие проблемы практически без участия, понимания и поддержки окружающих.

К источникам стресса, напрямую связанным с физическим благополучием бесплодной пары, относятся медицинские процедуры, цель которых состоит в диагностике причины бесплодия и соответствующем лечении. У суп-

ругов появляется надежда на скорое выявление и успешное устранение причины бесплодия; но одновременно подобные мероприятия могут усугублять кризис, вызванный бесплодием, поскольку нередко являются источником дополнительного стресса.

Медицинское вмешательство редко обеспечивает немедленный результат; постепенность процесса усиливает тревожные переживания супружеских пар, связанные с бесплодием; при этом каждый прошедший месяц и очередное неудачное вмешательство воспринимаются как еще одна утраченная возможность зачать ребенка.

В современной литературе часто подчеркивается мысль о необходимости просвещения, руководства и консультирования супружеских пар с целью ослабить стресс, сопряженный с новыми лечебными мероприятиями по поводу бесплодия [5 — 9], а также взаимосвязь между стрессом и физиологическими ответными реакциями [10 — 12]. Консультанты должны помочь каждой паре полностью определить все доступные для нее варианты действия с целью создания полноценной семьи, а также объяснить различие между желанием иметь ребенка и желанием отцовства и материнства [13]. Традиционный вариант усыновления ребенка сохраняет привлекательность для многих супружеских пар; кроме того, иногда супруги осознают, что бездетный образ жизни открывает для них новые возможности, о которых они прежде не задумывались [14].

Наверное, наиболее важным результатом исследования психологических особенностей пациентов, прибегающих к методу ОГВ-ПЭ является отсутствие у них психических нарушений [15 — 17]. Действительно, подобные пары нередко демонстрируют стойкость и решимость, а некоторым удается выработать собственные способы борьбы со стрессом, не допуская резко выраженных проявлений тревожного состояния. Кроме того, некоторые симптомы в данной ситуации могут быть нормальными побочными проявлениями или реакциями на бесплодие [18]. Клинические наблюдения, имеющиеся на настоящий момент, подтверждают данные результаты и позволяют заключить, что для пациентов медицински индуцированное зачатие не сопряжено с негативными изменениями психики [19]. Последние исследования с использованием донорских гамет указывают на особую важность психологической

поддержки для обоих супругов до и в процессе обследования и лечения [20].

Научная группа рекомендует переориентировать исследования, и вместо изучения возникших до лечения по поводу бесплодия психических нарушений основное внимание уделить исследованию психологических явлений, непосредственно связанных с лечением по поводу бесплодия и его результатами.

Список литературы

1. Mahlstedt, P.P. The psychological component of infertility. *Fertility and sterility*, 43: 335—346 (1985).
2. Cook, E.P. Characteristics of the biopsychosocial crisis of infertility. *Journal of counseling and development*, 65: 465—470 (1987).
3. Menning, B.E. The emotional needs of infertile couples. *Fertility and sterility*, 34: 313—319 (1980).
4. McGrade, J.J. & Tolar, A. The reaction to infertility and the infertility investigation: a comparison of the responses of men and women. *Infertility*, 4: 7—28 (1981).
5. Mahlstedt, P.P. et al. Emotional factors and the *in vitro* fertilization and embryo transfer process. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 232—240 (1987).
6. Fagan, R.J. et al. Sexual functioning and psychologic evaluation of *in-vitro* fertilization couples. *Fertility and sterility*, 46: 668—672 (1986).
7. Dennerstein, L. & Morse, C. Psychological issues *in-vitro* fertilization. *Clinical obstetrics and gynecology*, 12: 835—839 (1985).
8. Selbel, M.M. & Levin, S. A new era in reproduction technologies: the emotional stages of *in vitro* fertilization. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 135—140 (1987).
9. Greenfield, D. et al. The role of the social worker in the *in vitro* fertilization programme. *Social work and health care*, 10: 71—79 (1984).
10. Harrison, K.L. et al. Stress and semen quality in an *in vitro* fertilization program. *Fertility and sterility*, 48: 633—636 (1987).
11. Boyers, S.P. et al. Serum prolactin response to embryo transfer during human *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 3: 269—272 (1987).
12. Lehtinen, A.M. et al. Modifying effects of epidural analgesia or general anesthesia on the stress hormone response to laparoscopy for *in-vitro* fertilization. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 23—29 (1987).

13. Pawson, M.E. Management of an infertility clinic: a personal reappraisal. *Journal of obstetrics and gynecology*, 3: 69—72 (1983).
14. Preucel, R. Adoption counseling. In: Garcia, C.R. et al., ed. *Current therapy of infertility*. Trenton, NJ, B.C. Decker, 1984, pp.236—239.
15. Garner, C.H. et al. Psychological profile of IVF patients. *Fertility and sterility*, 41: 57S (1984).
16. Mane, R. et al. Characterization of a psychological profile of pregnant women treated by IVF/ET. American Fertility Society Program Supplement, 1987, p.95 (abstract) (presented at the 4th World Congress on IVF/ET, Norfolk, VA; available from the American Fertility Society, Birmingham, AL, USA).
17. Mazure, C. & Greenfeld, D. Psychological studies of *in vitro* fertilization/embryo transfer participants. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 6: 242—256 (1989).
18. Berg, B.J. & Wilson, J.F. Psychiatric morbidity in the infertile population: a reconceptualization. *Fertility and sterility*, 53: 654—661 (1990).
19. Freeman, E.W. et al. Emotional and psychosocial factors in follow-up of women after IVF/ET treatment: a pilot investigation. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 66: 517—519 (1987).
20. Mahlstedt, P. P. & Greenfield, D. A. Assisted reproductive technology with donor gametes: the need for patient preparation. *Fertility and sterility*, 52: 908—914 (1989).

5. Социальные, этические и правовые вопросы

При обсуждении социальных, правовых и этических аспектов медицински индуцированного зачатия эти новые методики следует рассматривать в контексте общей ситуации в системах здравоохранения, занимающихся вопросами воспроизводства населения. Действительно, лечение бесплодия нельзя отделять от общих задач профилактического здравоохранения, включая профилактику инфекционных причин бесплодия, а также весь круг проблем, от контроля рождаемости до обследования и консультирования по поводу бесплодия. Не менее важны получение и распространение знаний о новых методах путем обучения специалистов и просвещения населения, а также изучение социальных последствий бесплодия.

С учетом социальных, правовых и этических аспектов медицински индуцированного зачатия были выдвинуты

следующие требования: а) уважение достоинства человека; б) сохранность генетического материала человека; в) неприкосновенность личности; г) неотчуждаемость личности; д) необходимый уровень качества медицинской помощи. Принятие и уважение этих принципов на международном уровне обеспечивает нормы, которые могут послужить основой для выработки законодательств отдельных стран.

5.1. **Достоинство человека**

Прирожденное достоинство человека провозглашено международными соглашениями и рассматривается как основание и источник всех прав человека. Тем не менее толкование этого понятия по отношению к статусу эмбриона человека стало предметом ожесточенных споров [1 – 4].

Данный вопрос в основе своей морально-этический. Даже терминология для обозначения различных стадий развития эмбриона служит демонстрацией того, что слова — это инструменты. Использование таких терминов, как “деструкция эмбриона”, “индивидуализация”, “нерожденный ребенок”, “побочный продукт” и “экспериментирование” свидетельствуют о лежащих в основе их вполне определенных моральных, психологических и этических установках. Кроме того, данные вопросы оказалось невозможным обсуждать отдельно от других вопросов, связанных с воспроизводством населения, например проблемы абортов.

Очевидно, тем не менее, что развитие эмбриона представляет собой непрерывный биологический процесс [5 – 7]. Личность получает правовой статус с момента рождения, однако обеспечиваемая законом путем ограничения легальных абортов защита плода *in utero*, охрана здоровья матери, а также приобретение некоторых условных юридических прав на различных стадиях внутриутробного развития отражает признание существования подобного биологического континуума. Позицией закона, таким образом, обеспечиваются различные градации уважения человека, однако это уважение теперь надо распространить на более раннюю стадию развития, т.е. обеспечить уважение потенциала человеческого эмбриона. *Принцип уважения достоинства человеческой личности требует определенной степени защиты эмбриона человека, котораяозвучна национальной, культурной, религиозной и социальной морали.*

5.2. Сохранность генетического материала человека

В связи с возможностью создания банков, селекции, извлечения, замораживания, расщепления и пересадки гамет и эмбрионов человека при жизни и после смерти родителя (родителей) встает вопрос о сохранности генетического материала человека вплоть до уровня ДНК клетки [8]. В настоящее время появилась возможность экстракорпорально манипулировать основными элементами человеческой жизни — жизнеспособными половыми клетками и эмбриональным материалом на этапах развития, раньше получения человеком правового статуса, обретаемого в момент рождения, в связи с чем возникает обеспокоенность общественности возможным применением этих материалов для целей евгеники, селекции эмбрионов по признаку пола и использования людей в качестве инструментов или предметов.

Международное соглашение 1966 г. по экономическим, социальным и культурным правам провозглашает в Статье 15.16 право каждого “пользоваться благами научного прогресса и его прикладными результатами”. Все государства — участники данного Соглашения обязались “уважать свободу, необходимую для научных исследований и творческой деятельности” (Статья 15.3). Тем не менее, хотя научные исследования причин бесплодия или возможностей для усовершенствования методов ОИВ считаются в общем допустимыми, общепризнанной является необходимость запрещения крайних форм экспериментирования, например клонирования, межвидового оплодотворения, создания химер и, в настоящее время, изменения генома половой клетки [9, 10].

Принцип обеспечения сохранности генетического материала человека требует регулирования условий проведения научных исследований гамет и эмбрионов человека и установления ограничений на подобные исследования.

5.3. Неприкосновенность личности

Общепринятый принцип неприкосновенности защищает личность даже от “прикосновения”, на которое не было получено согласие. Этические и правовые нормы, требующие обязательного получения согласия на выполнение любого медицинского вмешательства с соблюдением принципа добровольности и информированности, служат

гарантией данного права на автономию и самоопределение личности. Теперь, когда организм человека более не является неделимой единицей и может быть расщеплен на составляющие органы и клетки, включая репродуктивные клетки, каким образом можно обеспечить подобную автономию? Можно ли рассматривать эти составные части или продукты как имущество, или они являются частью личности? До настоящего времени не было получено четкого правового ответа на вопрос о природе прав, которые могут распространяться на указанные генетические материалы человека [11 — 13].

Помимо возникшей проблемы правового контроля, получение донорского генетического материала, его замораживание и последующая имплантация нарушают освященные веками представления о линейной генеалогии и хрупкости человеческого существования, а также традиционные социальные и культурные представления о семье.

В настоящее время не существует единого мнения о максимальном сроке консервации, потенциальных возможностях использования, показаниях к получению донорского материала или способах хранения и уничтожения генетического материала человека (особенно после неофициального прекращения брака, развода или смерти), а также о формах контроля за указанными видами деятельности — договорными, административными или законодательными. *Принцип уважения неприкословенности личности требует четкого различия условий, определяющих порядок уничтожения и использования генетического материала человека, и таких же условий в отношении других тканей организма человека. В первом случае это касается не только получения добровольного согласия с соблюдением условия полной информированности заинтересованного лица, но также четкого определения прав донора.*

5.4. Неотчуждаемость личности

Свобода от принуждения является абсолютным правом человека, а человеческий организм вообще рассматривается вне сферы коммерции. В настоящее время, когда эмбрионы и гаметы человека стали доступны до их имплантации, возникла возможность превращения человеческой жизни на ранних стадиях ее развития в рыночный товар, использования финансовых стимулов для привле-

чения доноров, а также разделения понятий гестационного и генетического материнства в результате использования суррогатного материнства в коммерческих целях. Боязнь эксплуатации человеческой жизни и ее воспроизведения ради наживы, а не на основе принципов альтруизма и человеческой солидарности делает неотчуждаемость человеческой личности вопросом общественной политики.

При этом необходимо различать возмещение законных и оправданных расходов и финансового вознаграждения коммерческим рекламным агентствам и посредникам в заведомо прибыльных сделках [14 – 16]. Независимо от избранной позиции, уважение принципа неотчуждаемости человеческой личности требует регулирования любой коммерческой деятельности как гарантии против возможной эксплуатации человека.

5.5. Качество медицинской помощи

Малое значение, которое придается методам медицински индуцированного зачатия в существующих системах здравоохранения, различная степень доступности данного вида лечения в зависимости от географического региона, различные медицинские, социальные и экономические критерии применения указанных методов, а также различия в стандартах практики и особенностях опыта медицинских центров и лиц, осуществляющих подобные вмешательства, выдвигают на первый план вопрос о качестве медицинской помощи. Действительно, проводилось специальное исследование с целью выяснения общего уровня учреждений здравоохранения с учетом таких аспектов, как подготовка кадров, организация соответствующих служб, их наличие и доступность, стандартизация критериев предоставления медицинского обслуживания, а также скрининг-обследования супружеских пар с целью выявления показаний к подобным видам вмешательств [17, 18].

Существует единое мнение о необходимости интегрирования или создания служб, обеспечивающих медицински индуцированное зачатие, в рамках обычной системы здравоохранения. Подобный вид деятельности предусматривает соответствующее обучение клинического и лабораторного персонала, медицинских сестер и консультантов с выдачей квалификационных сертификатов. Так, напри-

мер, требования к консультантам должны включать способность проинформировать о доступных в данном учреждении методах лечения, медицинских и социальных альтернативах, а также психологических, социальных, экономических и правовых последствиях подобного решения. Необходимо внедрить программы обеспечения качества на основе междисциплинарной этики, объединяющие клинику и лабораторию, т.е. качество научных исследований и клинического обслуживания. Крайне важно разработать процедуры аккредитации. Необходимо обеспечить ревизию существующей практики с обработкой результатов и предоставлением их заинтересованным участникам в доступной форме. Данный вид медицинской помощи должен быть доступен для нуждающихся в нем в соответствии с установленными общественными медико-социальными критериями, а также должен обеспечивать примерно одинаковый уровень качества в пределах отдельно взятого региона. В частности, необходимо создать четкие и доступные для всех критерии предоставления медицинских услуг, в том числе медико-социальные критерии, а также установленные принципы формирования банков генетического материала человека, число детей, которые могут быть рождены от одного донора, ведение документации и соблюдение анонимности, взаимосвязь и преемственность медицинских учетных записей или регистрационных систем, а также порядок последующего наблюдения. Необходимо проводить скрининг-обследование как доноров, так и реципиентов с целью определения их пригодности, причем процедуры скрининга необходимо стандартизовать. Независимо от того, будут ли подобные требования закреплены законодательно, в административном порядке, в соответствующих приказах или профессиональных кодексах, уважение принципа качества медицинской помощи предусматривает выполнение таких требований, как:

- создание и развитие принципов профессионального самоконтроля на раннем этапе разработки новых методик, чтобы способствовать созданию общенациональной стратегии;
- интегрирование методов медицински индуцированного зачатия в систему здравоохранения;
- ревизия подобных служб с целью обеспечения необходимого уровня качества и обязательного ведения соответствующих учетных записей;

- доступность методов медицински индуцированного зачатия для групп населения, которые нуждаются в подобной помощи;
- просвещение работников здравоохранения и населения в целом в отношении существующих методов медицински индуцированного зачатия и их роли в лечении бесплодия;
- содействие международному обмену научными данными.

Список литературы

1. Department of Health and Social Security. *Report of the Committee of Inquiry into Human Fertilisation and Embryology*. London, HMSO, 1984.
2. American Fertility Society. Ethical considerations of the new reproductive technologies. *Fertility and sterility*, 46(suppl. 1): 1S—94S (1986).
3. Ethics Committee of the American Fertility Society. Ethical considerations of the new reproductive technologies. *Fertility and sterility*, 49 (suppl. 1): 1S—7S (1988).
4. Congregation for the Doctrine of the Faith. *Instruction on the respect for human life in its origin and on the dignity of procreation*. Rome, Vatican, 1987
5. Biggers, J. D. Arbitrary partitions of human life. *Human reproduction*, 5: 1—6 (1990).
6. Jones, H.W. And just what is a pre-embryo? *Fertility and sterility*, 52: 189—191 (1989).
7. Johnson, M. H. The onset of human identity and its relationship to legislation concerning research on human embryos. *Ethical problems in reproductive medicine*, 1: 2—7 (1989).
8. McLaren, A. *Report on the use of human foetal, embryonic and pre-embryonic material for diagnostic, therapeutic, scientific, industrial and commercial purposes*. Strasbourg, Council of Europe, 1989.
9. Ad Hoc Committee of Experts on Bioethics. *Human artificial procreation*. Strasbourg, Council of Europe, 1989.
10. Resolution on artificial insemination *in vivo* and *in vitro* No. 96 (April 17). *Official journal of the European Communities*, C96: 171—173 (1989).
11. Harichaux, M. Le corps et les produits du corps. [The body and body products.] In: Draï, R. & Harichaux, M., ed. *Bioéthique et droit. [Bioethics and the law.]* Paris, Presses Universitaires de France, p.107.
12. Andrews, L. B. DNA testing, banking and individual rights. In: Knoppers, B. M. & Laberge, C.M., ed. *Genetic screening: from newborns to DNA typing*. Amsterdam, Elsevier, 1990, pp.217—243.

13. Knoppers, B.M. & Laberge, C. DNA sampling and informed consent. *Canadian Medical Association journal*, 140: 1023—1028 (1989).
14. Andrews, L. B. *Between strangers*. New York, Harper & Row, 1989, p. 288.
15. Robertson, J.A. Ethical and legal issues in human egg donation. *Fertility and sterility*, 52: 353—363 (1989).
16. Annas, G.J. & Elias, S. The treatment of infertility: legal and ethical concerns. *Clinical obstetrics and gynecology*, 32: 614—621 (1989).
17. Wagner, M. G. & St Clair, P. A. Are *in-vitro* fertilization and embryo transfer of benefit to all? *Lancet*, 1: 1027—1029 (1989).
18. Vandelac, L. La face cachée de la procréation artificielle. [The hidden side of artificial reproduction.] *La recherche*, 20: 1112—1124 (1989).

6. Медицинские показания для лечения методом оплодотворения *in vitro*

Прежде чем прибегнуть к лечению методом оплодотворения *in vitro*, бесплодные супруги должны пройти комплексное обследование, например стандартную процедуру обследования бесплодной пары, разработанную ВОЗ [1, 2], в соответствии с которой предусматривается установление одного или более диагнозов на базе отделения репродуктивной медицины и бесплодия университета или равноценного учреждения. Показания к ОIV в качестве первичного лечения возникают лишь в исключительных обстоятельствах, например при лапароскопически подтвержденной двусторонней непроходимости труб, при этом подобное вмешательство выполняется лишь после того, как данной супружеской паре будет полностью объяснена суть данного метода, включая его стоимость и отрицательные факторы, и только после обсуждения других вариантов решения проблемы, например усыновления.

6.1. Женское бесплодие

6.1.1. Трубное бесплодие

Выбор между методами микрохирургии и ОIV зависит от квалификации гинеколога и результатов, получаемых при выполнении микрохирургического вмешательства и ОIV; при этом необратимое повреждение маточных труб или их отсутствие является абсолютным показанием к ОIV. Ре-

зультаты исследований ограниченного количества больших показывают, что повторные хирургические вмешательства на трубах малоэффективны, поэтому подобное лечение, по-видимому, неоправданно [3]. Благодаря хорошей визуализации яичников при ультразвуковом исследовании через трансвагинальный доступ редко возникает необходимость в предварительном реконструктивном вмешательстве на органах малого таза до осуществления ОГВ. Насколько рано следует предпринимать ОГВ после неудачного вмешательства на маточных трубах, зависит от распространенности и типа первичного поражения, перенесенного воспалительного процесса или стерилизации, возраста женщины и прочих факторов, обуславливающих бесплодие. Другие методы содействия зачатию, предусматривающие введение гамет, зигот или эмбрионов прямым или косвенным путем в маточную трубу (трубы), не рекомендуются при наличии заболевания труб.

6.1.2. Эндометриоз

Если после медикаментозного и/или хирургического лечения по поводу эндометриоза беременность не наступает, можно прибегнуть к методу медицински индуцированного зачатия. Процентная доля случаев успешного получения ооцитов значительно ниже у пациентов с заболеванием в III или IV стадии, чем при заболевании в I и II или более поздней стадии, но при условии положительной ответной реакции на лечение [4]. После резекции яичников может измениться их функция, и ответная реакция яичников на стимуляцию препаратами может быть недостаточной. Предположение о снижении частоты случаев оплодотворения ооцитов в преовуляторной стадии у данной группы больных подтверждено не было [5, 6].

6.1.3. Цервикальные факторы

Стойкая неспособность спермы, содержащейся в нормальном эякуляте, проникать сквозь шеечную слизь, полученную в середине менструального цикла, может явиться показанием к ОГВ при условии, что искусственное осеменение спермой, взятой от мужа, оказалось безрезультатным; показанием может стать также отсутствие шеечной слизи вследствие локальных аномалий [7]. Неспособность спермы проникать сквозь шеечную слизь может быть результатом иммунологических нарушений.

6.1.4. Иммунологические причины

Присутствие цервикальных агглютинирующих или иммобилизирующих антиспермальных антител у женщин наблюдается редко, однако в этих случаях эффективен метод оплодотворения *in vitro* [8, 9].

6.1.5. Диэтилстильбэстрол

У женщин, получавших лечение диэтилстильбэстролом по поводу привычного невынашивания беременности, отмечается повышенная частота внематочной беременности, обусловленная патологией маточных труб, а также повышенная частота аномалий матки [10]. Результаты ОIV зависят от типа порока матки; так, прогноз исхода беременности у женщин с гипоплазией матки лучше в тех случаях, когда нижний сегмент полости матки более широкий [11].

6.2 Мужское бесплодие

Как было установлено с помощью стандартизованной системы анализа семенной жидкости [12], обнаружение наличия олигоспермии, астеноспермии, тератоспермии или антиспермальных антител может рассматриваться как показание к ОIV. Однако пациентов с подобными нарушениями следует направлять на ОIV лишь в редких случаях и только после того, как другие методы не дали результатов, а также если бесплодие усугубляется наличием у каждого из супругов других факторов бесплодия. Исследования функции сперматозоидов помогают принять правильное решение. В каждой лаборатории следует разработать критерии отбора кандидатов на ОIV на основании таких методов, как базовый анализ семенной жидкости и тест способности сперматозоидов проникать сквозь цервикальную слизь [12], способность проникать в свободные зоны вне яйцеклетки хомяка [13], оценка состояния акросомы [14] и метод полузоны [15]. Кроме того, “всплыивание” сперматозоидов в эякуляте (см. раздел 8.3.2) в оптимальных условиях должно обеспечивать концентрацию как минимум $1,5 \times 10^6$ сперматозоидов на 1 мл, обладающих поступательной подвижностью [16]. При наличии признаков инфицирования эякулята до ОIV необходимо обеспечить соответствующее лечение. Высокая частота аномалий головки сперматозоида, независимо от наличия других нарушений, как правило, затрудняет оп-

лодотворение [17]. ОИВ у человека является последним критерием функциональной полноценности спермы, поэтому при невозможности успешного оплодотворения указанным методом нередко возникает необходимость рассмотрения данной супружеской парой других вариантов решения проблемы бесплодия, например усыновления или использования донорских материалов.

6.3. Бесплодие, обусловленное множеством факторов

Для многих бесплодных супружеских пар, если у женщины обнаруживается более одной причины бесплодия, эффективность ОИВ бывает столь же высокой, как при наличии единичного фактора. Однако, если одновременно у мужчины тоже выявляется бесплодие, последнее обстоятельство становится определяющим фактором прогноза лечения бесплодия у данной пары.

6.4. Бесплодие неясного генеза

Несмотря на то что в более ранних сообщениях приводились данные о более низкой частоте успешных исходов ОИВ в случаях бесплодия неясного генеза [18], последние исследования показывают, что результаты применения данного метода по меньшей мере столь же эффективны, как и при бесплодии, обусловленном заболеванием труб [19]. При вторичном бесплодии неясного генеза прогноз обычно бывает лучше, чем при первичном бесплодии [20]. Однако следует иметь в виду, что у таких больных беременность самопроизвольно не наступает [21].

6.5. Прочие показания

Возможность осуществления ОИВ можно рассматривать у больных с нарушением овуляции, когда беременность не наступает, несмотря на удовлетворительное развитие фолликулов после индуцирования овуляции гонадотропинами в течение нескольких месяцев [22]. При наличии редко отмечаемого отсутствия разрыва лютеинизированного фолликула успешное лечение методом ОИВ также возможно [23]. При неудачном искусственном осеменении семенной жидкостью, взятой от донора или от мужа, в сочетании со стимуляцией функции яичников или без нее, метод ОИВ также эффективен [24 – 26].

6.6. Показания к использованию донорских ооцитов

Использование донорских ооцитов показано в случаях недостаточности яичников, включая дисгенезию гонад, “резистентный яичник”, неэффективную гормонотерапию по поводу аутоиммунной недостаточности яичников и преждевременно наступившую менопаузу (идиопатическую или возникшую в результате хирургического вмешательства, химиотерапии или радиотерапии). У женщин с нормальной функцией яичников использование донорских ооцитов может быть рекомендовано в случае анатомической недоступности яичников, неоднократных неудачных попыток ОИВ при наличии очевидно нормальных ооцитов и сперматозоидов, у больных с достоверными аутосомными доминантами или генетическими заболеваниями, связанными с полом, или аутосомными рецессивными признаками. В некоторых случаях противопоказан забор ооцитов хирургическим методом, либо у больных обнаруживаются кисты в яичниках или аномальные ооциты [27, 28], ввиду чего стимуляция овуляции становится невозможной.

6.7. Показания к применению других методов, помимо ОИВ

Для выполнения ПГМТ или других методов, предусматривающих пересадку в маточные трубы или брюшную полость, необходимо наличие хотя бы одной нормальной маточной трубы. На поздних стадиях развития эндометриоза возможна пересадка в трубы через трансабдоминальный доступ [29], однако в случае, если доступ к устью трубы затруднен, удобной альтернативой может оказаться трансцервикальный доступ [30, 31]. Если в будущем при трансцервикальной пересадке в трубы будет документально подтверждена более высокая частота случаев наступления беременности, появится необходимость переоценки преимуществ методов прямой пересадки эмбрионов или гамет в полость матки и трансабдоминальной пересадки в маточную трубу.

При наличии мужского фактора более целесообразно, прежде чем прибегать к ПГМТ и другим подобным методам, получить доказательства способности сперматозоидов к оплодотворению с помощью метода ОИВ в качестве первой попытки лечения [32, 33]. ПГМТ осуществляется

у супружеских пар в случае обнаружения у мужчины антиспермальных аутоантител [34]. Прямая пересадка в трубу ооцита в пронуклеарной стадии (ПРОСТ) была рекомендована в случаях тяжелой олигоспермии или астеноспермии, наличия циркулирующих антиспермальных антител у женщины, неоднократных неудачных попытках ПГМТ и бесплодия неясного генеза [32, 35]. В случаях мужского бесплодия успешно применяли также метод ПЗМТ [36, 37].

6.8. Критерии отбора больных

При отборе кандидатов для ОИВ применяются следующие критерии:

1. При выборе реципиента в возрасте старше 40 лет необходимо учитывать низкую вероятность эффективных результатов, главным образом из-за повышенной частоты выкидышей [38]. Однако недавно было обнаружено, что нормальный уровень фолликулостимулирующего гормона в крови является более точным прогностическим фактором положительного исхода ОИВ, чем возраст [39].
2. Отсутствие аномалий матки у реципиентки.
3. Овуляция должна происходить самопроизвольно или индуцироваться с высокой степенью эффективности.
4. Удовлетворительное состояние здоровья реципиентки, что необходимо для вынашивания беременности до установленного срока, при этом оба партнера должны быть психически здоровыми.
5. Окончательный выбор супружеских пар-кандидатов возможен только после получения ими необходимой информации как основы для принятия правильного решения. Кроме того, таким лицам необходимо обеспечить консультирование и психологическую поддержку по поводу испытываемого ими стресса и тревожных переживаний, обусловленных стойким бесплодием, сложностью медицинских процедур, которые являются компонентами лечения методом медицински индуцированного зачатия, а также тем обстоятельством, что они прибегают к последнему возможному средству лечения.

Список литературы

1. Farley, T. M. M. The WHO standardized investigation of the infertile couple. *Advances in fertility and sterility*, 4: 7—19 (1987).

2. **World Health Organization Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction.** Towards more objectivity in the diagnosis and management of male fertility. *International journal of andrology, suppl. 7*: 1—53 (1987).
3. **Thiel, J. L. et al.** Repeat tuboplasty compared with primary microsurgery for postinflammatory tubal disease. *Fertility and sterility*, **45**: 784—787 (1986).
4. **Chilick, C. F. et al.** The role of *in vitro* fertilization in infertile patients with endometriosis. *Fertility and sterility*, **44**: 56—61 (1985).
5. **Mahadevan, M. M. et al.** The relationship of tubal blockage, infertility of unknown cause, suspected male infertility and endometriosis to success in *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, **40**: 755—762 (1983).
6. **Oehninger, S. & Rosenwaks, Z.** *In vitro* fertilization and embryo transfer: an established and successful therapy for endometriosis. *Progress in clinical and biological research*, **323**: 319—335 (1990).
7. **Berger, G.S.** Intratubal insemination. *Fertility and sterility*, **48**: 328—330 (1987).
8. **Ackerman, S. B. et al.** Immunologic infertility and *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, **42**: 474—477 (1984).
9. **De Almeida, M. et al.** *In-vitro* processing of sperm with autoantibodies and *in-vitro* fertilisation results. *Human reproduction*, **4**: 49—53 (1989).
10. **Kaufman, R. H. et al.** Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed *in utero* to diethylstilbestrol. *American journal of obstetrics and gynecology*, **137**: 299—308 (1980).
11. **Karande, V C. et al.** Are implantation and pregnancy outcome impaired in diethylstilbestrol (DES)-exposed women after *in vitro* fertilization and embryo transfer? *Fertility and sterility*, **54**: 287—291 (1990).
12. **World Health Organization Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction.** *Lebatory manual for semen analysis and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge, Cambridge University Press, 1987.
13. **Yanagimachi, R.** Zona-free hamster eggs: their use in assessing fertilizing capacity and examining chromosomes of human spermatozoa. *Gamete research*, **10**: 187—191 (1984).
14. **Talbot, P. & Chacon, R. S.** A new technique for rapidly scoring acrosome reactions of human sperm. *Journal of cell biology*, **83**: 208A (1979).
15. **Burkman, L.J. et al.** The hemizona assay (HZA): development of a diagnostic test for the binding of human spermatozoa to the human zona pellucida to predict fertilization potential. *Fertility and sterility*, **49**: 688—697 (1988).

16. Van der Ven, H. H. et al. Male factor evaluation in *in vitro* fertilization: Norfolk experience. *Fertility and sterility*, 44: 375—383 (1985).
17. Acosta, A. A. et al. Assisted reproduction in the diagnosis and treatment of the male factor. *Obstetrical and gynecological survey*, 44: 1—18 (1989).
18. Trounson, A.O. et al. The investigation of idiopathic infertility by *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 34: 431—438 (1980).
19. Ashkenazi, J. et al. The value of GnRH analogue therapy in IVF in women with unexplained infertility. *Human reproduction*, 4: 667—669 (1989).
20. Lessing, J. B. et al. The performance of primary and secondary unexplained infertility in an *in vitro* fertilization—embryo transfer program. *Fertility and sterility*, 50: 903—905 (1988).
21. Lenton, E.A. et al. Long-term follow-up of the apparently normal couple with a complaint of infertility. *Fertility and sterility*, 28: 913—919 (1977).
22. Marconi, G. et al. Use of LH/RH analogues and gonadotropins in patients with previous failed cycles in an assisted fertilization program. In: *Proceedings of the Xllth World Congress on Fertility and Sterility, Marrakesh, Morocco, 1—6 October 1989*. Carnforth, Parthenon Press, 1990, vol.5, Abstract No.494.
23. Liukonen, S. et al. LUF syndrome and *in vitro* fertilization. In: *Proceedings of the Xllth World Congress on Fertility and Sterility, Marrakesh, Morocco, 1—6 October 1989*. Carnforth, 1990, Parthenon Press, vol.5, Abstract No.493.
24. Deschacht, J. et al. *In-vitro* fertilization with husband and donor sperm in patients with previous fertilization failures using husband sperm. *Human reproduction*, 3: 105—108 (1988).
25. Jansen, R. P. S. et al. Pregnancies after ultrasound-guided fallopian insemination with cryopreserved donor semen. *Fertility and sterility*, 49: 920—922 (1988).
26. Cefalu, E. et al. Successful gamete intrafallopian transfer following failed artificial insemination by donor: evidence for a defect in gamete transport? *Fertility and sterility*, 50: 279—282 (1988).
27. Rosenwaks, Z. Donor eggs: their application in modern reproductive technologies. *Fertility and sterility*, 47: 895—909 (1987).
28. Chan, C. L. K. et al. Oocyte donation and *in vitro* fertilization for hypogonadotropic hypogonadism: clinical state of the art. *Obstetrical and gynecological survey*, 42: 350—362 (1987).
29. Oehninger, S. et al. *In vitro* fertilization and embryo transfer (IVF/ET): an established and successful therapy for endometriosis. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 5: 249—256 (1988).
30. Dmowski, W. P. & Radwanska, E. Endometriosis and infertility. *Acta obstetrics et gynecologica scandinavica*, 123(suppl.): 73—79 (1984).

31. **Hulme, V. A. et al.** Gamete intrafallopian transfer as treatment for infertility associated with endometriosis. *Fertility and sterility*, 53: 1095—1096 (1990).
32. **Yovich, J. L. et al.** Pregnancies following pronuclear stage tubal transfer. *Fertility and sterility*, 48: 851—857 (1987).
33. **Leung, C. K. et al.** Fallopian replacement of eggs with delayed intrauterine insemination (FREDI): an alternative to gamete intra-fallopian transfer (GIFT). *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 6: 129—133 (1989).
34. **van der Merwe, J. P. et al.** Treatment of male sperm autoimmunity by using the gamete intrafallopian transfer procedure with washed spermatozoa. *Fertility and sterility*, 53: 682—687 (1990).
35. **Yovich, J. L. et al.** Simultaneous IVF and GIFT. *Fertility and sterility*, 48: 897—899 (1987).
36. **Devroey, P. et al.** Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility. *Fertility and sterility*, 52: 246—249 (1989).
37. **Palermo, G. et al.** Zygote intrafallopian transfer as an alternative treatment for male infertility. *Human reproduction*, 4: 412—415 (1989).
38. **Romeau, A. et al.** Results of *in vitro* fertilization attempts in women 40 years of age and older. The Norfolk experience. *Fertility and sterility*, 47: 130—136 (1987).
39. **Scott, R. T. et al.** FSH levels on cycle day 3 are predictive of *in-vitro* fertilization outcome. *Fertility and sterility*, 51: 65 (1989).

7. Индуцирование развития множественных фолликулов

Первые успешные результаты ОИВ были получены в группе женщин, у которых наблюдался естественный овуляторный цикл [1]. В 1980 г. Edwards и Steptoe [2, 3] представили результаты наблюдения первой серии больных, у которых были получены ооциты в преовуляторной стадии в момент резкого повышания уровня ЛГ в нормальном цикле. Последующее использование гормональной стимуляции яичников, как было показано, обеспечивает большее количество ооцитов для процедуры оплодотворения и максимальное количество эмбрионов для пересадки, вследствие чего повышается частота случаев наступления беременности [4 — 9]. Однако дальнейшие исследования самопроизвольного менструального цикла позволяют заключить, что и такой цикл может быть эффективно использован для лечения. Хотя для суперовуляции исполь-

зовались различные препараты (табл.3), в настоящее время нет единого мнения в отношении того, какая именно схема лечения обеспечивает наиболее эффективные результаты. Следует отметить, что были замечены некоторые различия между отдельными партиями одних и тех же препаратов гонадотропина, применяемых для индуцирования развития фолликулов, и этим, вероятно, можно объяснить вариации в проявлениях ответной реакции больных на курсы лечения в различных циклах.

Таблица 3

Препараты, применяемые с целью индуцирования развития множественных фолликулов

Кломифенцират и хорионический гонадотропин человека (ХГч)

Менопаузальный гонадотропин человека (МГч) изолированно или в сочетании с кломифенциратом, затем ХГч

Препарат фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) изолированно или в сочетании с МГч, затем ХГч

Аналоги агонистов гонадотропинвысвобождающего гормона (α-ГнВГ) в сочетании с МГч, затем ХГч.

7.1. Кломифенцират в сочетании с ХГч

Было обнаружено, что кломифенцират, несмотря на способность индуцировать развитие множественных фолликулов [8], обладает тремя серьезными недостатками:

- применение его сопряжено с повышенной частотой случаев резкого повышения уровня ЛГ, в результате чего цикл лечения отменяется;
- данный препарат может тормозить процессы, происходящие в эндометрии, из-за присущего ему антиэстрогенного действия, что препятствует эффективной имплантации;
- количество продуцируемых ооцитов низкое.

Побочные проявления действия кломифенцирата включают покраснение кожи и гипертермию примерно у 10 % больных, тонноту, рвоту и ощущение дискомфорта в молочных железах у 2 %, слабое расстройство зрения у 1,6 %, дерматит или крапивницу у 0,6 %, а также обратимое выпадение волос у 0,4 %. Развитие тяжелого синдрома гиперстимуляции яичников наблюдается редко и только при назначении кломифенцирата в сочетании с ХГч [10].

7.2. Менопаузальный гонадотропин человека

7.2.1. В сочетании с ХГч

Метод стимуляции с помощью МГч, предложенный Edwards [2] и затем усовершенствованный группой исследователей в Норфолке, шт. Виргиния, США [11—13], обеспечивает продукцию большего количества ооцитов, чем кломифенцитрат. Применялись различные схемы лечения высокими и низкими дозами препарата, которые предусматривали введение суточных доз МГч объемом 75—225 МЕ, начиная со 2—3-го дня менструального цикла вплоть до введения 5000—10 000 МЕ ХГч; как правило, это осуществляется на шестой день после начала непрерывного повышения уровня эстрadiола в плазме, и/или когда уровень эстрadiола в плазме достигает 200—300 пг/мл на один фолликул, при условии, что диаметр обнаруживаемых при ультразвуковом исследовании фолликулов превышает 17—18 мм.

7.2.2. В сочетании с кломифенциратом и ХГч

Применение кломифенцирата в сочетании с МГч в различных дозах является наиболее распространенной схемой лечения [7, 14—16]; эти препараты вводят одновременно или последовательно. Большинство клиницистов отдают предпочтение схеме, которая предусматривает ежедневное введение МГч в дозе 75—225 МЕ, в зависимости от ответной реакции яичников; эта реакция определяется путем отслеживания уровней эстрadiола в плазме и ультразвукового наблюдения за процессами роста фолликулов. Повышение суточной дозы МГч до уровня выше 150 МЕ не сопровождается увеличением количества получаемых яйцеклеток [20].

Кроме того, применяли “фиксированную” схему лечения МГч, которая предусматривает назначение комбинированных пероральных контрацептивов, начиная с 1—5-го дня цикла, предваряющего лечебный курс, в среднем в течение 25 дней, или прогестогена с 15—18-го дня предваряющего цикла в среднем в течение 19 дней [21]. После этого назначают кломифенцитрат (100 мг в сутки) со 2-го по 6-й день и МГч (150 МЕ) на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й и 10-й день цикла лечения, затем на 11-й день в 22.00 вводят 5000 МЕ ХГч, а спустя 35±1 ч осуществляют забор ооцитов. При этом контроль за процессами роста фолликулов не осуществляется.

7.3. Лечение препаратом фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) с дополнительным назначением ХГч или ХГч в сочетании с МГч

Лечение ФСГ с назначением только ХГч или ХГч в сочетании с МГч можно осуществлять с целью получения множественных фолликулов [22].

Некоторые клиницисты обнаруживали, что стимуляция функции яичников путем добавления препарата ФСГ к схеме, предусматривающей введение МГч, или применение только ФСГ не обеспечивает в результате продукции большего количества зрелых ооцитов высокого качества и не снижает частоту случаев повышения уровня ЛГ [23, 24]. Размер оптимальной дозы ФСГ пока не определен [25].

7.4. Лечение аналогом ГнВГ в сочетании с ХГч и МГч

Применение аналога ГнВГ (а-ГнВГ) в сочетании с другими схемами лечения, стимулирующими овуляцию, например МГч и ФСГ, позволяет снизить частоту случаев повышения уровня ЛГ [26, 27], а также повышает количество получаемых ооцитов, что обеспечивает большее количество эмбрионов для пересадки; кроме того, отмечается более высокая частота случаев наступления беременности по сравнению с циклами, когда стимуляция осуществляется путем назначения только МГч или МГч в сочетании с кломифенциратом [28].

Существует несколько аналогов ГнВГ, выпускаемых в различных формах и предусматривающих различные способы введения, в том числе аэрозоли и растворы для подкожных и внутримышечных инъекций. Побочные реакции при назначении а-ГнВГ отмечаются редко; они включают симптомы климактерического синдрома, головные боли и в редких случаях — неврологические симптомы, например онемение и парестезии, а также сенсорную атаксию [29].

Применяются два основных типа лечения: схема краткосрочного лечения (так называемая “вспышка”) и схема долгосрочного или “блокирующего” лечения.

При назначении схемы краткосрочного лечения [28, 30—32] экзогенную стимуляцию (МГч, МГч/кломифенцират, ФСГ и т.д.) начинают одновременно или вскоре после начала применения а-ГнВГ. Аналог ГнВГ назначают с

первого или второго дня менструального цикла, после чего на третий день можно назначить МГч или ФСГ. Далее продолжают комбинированно вводить а-ГнВГ в сочетании с МГч или ФСГ вплоть до того дня, когда осуществляют инъекцию ХГч. Результаты одного сравнительного исследования показывают рост числа фолликулов и более низкую частоту "отмененных" циклов в случаях, когда лечение а-ГнВГ начинали с третьего дня цикла лечения, а не с первого дня [32].

Цель схемы долгосрочного лечения состоит в снижении продукции гонадотропина до базального уровня. Это обычно достигается спустя 21 день после начала лечения а-ГнВГ и подтверждается исследованиями уровней эстрadiола в сыворотке крови. При достижении адекватной гипоталамо-гипофизарной десенсибилизации (уровень эстрadiола в сыворотке крови ниже 30 пг/мл), курс а-ГнВГ продолжают, при этом начинают стимуляцию яичников путем назначения одной из указанных выше комбинаций препаратов [33, 34].

В одном исследовании больным, получавшим лечение по краткосрочной схеме, требовалось меньшее количество ФСГ и МГч, а также отмечалась достоверно более высокая частота беременностей и более низкая частота выкидышей, чем у больных, которым назначалось лечение по долгосрочной схеме [35].

Считается, что включение а-ГнВГ в схему лечения, имеющего целью стимуляцию функции яичников, обеспечивает определенные преимущества, поскольку позволяет:

- в значительной степени снизить частоту случаев повышения уровня ЛГ и, следовательно, снизить частоту "отмененных" циклов;
- вызвать более выраженную фолликулярную реакцию у лиц со "слабой ответной реакцией", т.е. в группах, где при назначении других схем лечения отмечается рост малого количества фолликулов и низкие уровни эстрadiола;
- улучшить синхронизацию развития фолликулов, поскольку при назначении схемы долгосрочного лечения происходит торможение гипоталамо-гипофизарной оси, и препараты, стимулирующие овуляцию, воздействуют только на фолликулы [30, 31, 34 — 42].

Данная схема лечения нуждается в дальнейшем усовершенствовании, при этом, вероятно, результаты лечения будут улучшены после уточнения показаний к назначению различных схем лечения, а также применения более удобных препаратов, которые позволят отказаться от ежедневных инъекций.

7.5. Применение пероральных контрацептивов с целью угнетения выделения гонадотропина

С целью более эффективной координации работы персонала и улучшения результатов лечения применяли различные модификации стандартных схем индуцирования овуляции, используемых для целей медицински индуцированного зачатия. Одной из модифицированных схем (см. раздел 7.2.2) предусматривается до начала индуцирования овуляции назначение пероральных контрацептивов с целью угнетения выделения гонадотропина [43 – 45]. При этом появляется возможность:

- заранее определить количество лиц, у которых будет осуществляться индуцирование овуляции, выделяя их в группу;
- относительно точно прогнозировать продолжительность индуцирования овуляции и сроки забора ооцитов;
- обеспечить развитие большего количества фолликулов диаметром 5 мм или более, а также получение большего количества ооцитов [46].

Согласно сообщениям в литературе, соотношение уровней эстрadiола/прогестерона в фолликулярной жидкости, а также уровень ФСГ были ниже в группе женщин, принимавших до начала индуцирования овуляции пероральные контрацептивы [47]. С другой стороны, более высокая концентрация ФСГ была связана с более высокой частотой случаев успешного оплодотворения [48]. Высокие уровни прогестерона в фолликулярной жидкости и соотношения прогестерон/эстрadiол наблюдались также в группе с высокой частотой случаев наступления беременности [49].

7.6. Мониторинг процессов стимуляции фолликулиновой фазы

Непрерывное контрольное наблюдение за развитием фолликулов играет крайне важную роль в определении качественных характеристик цикла, включая гормональную

реакцию и потенциальное количество ооцитов. Кроме того, подобное наблюдение необходимо для точного определения сроков введения ХГч (см. ниже). Для этой цели используют ультразвуковой контроль или отслеживают изменения уровней гормонов, либо применяют оба указанных метода одновременно [50 — 53].

7.7. Определение сроков введения ХГч

ХГч назначают в дозах 2000 — 10 000 МЕ. Забор ооцитов осуществляют спустя 33 — 36 ч после введения ХГч, с целью обеспечения их созревания. Схема лечения, применяемая во многих клиниках [50 — 53], предусматривает введение ХГч на шестой день после повышения уровня эстрадиола в сыворотке крови. В случае, если к 6 — 8-му дню после начала стимуляции яичников не отмечается адекватного развития фолликулов, ХГч не назначают, и данный цикл считается "отмененным". Подобная схема лечения удобна для практического применения: результаты лечения легко проконтролировать, а самопроизвольное повышение уровня ЛГ происходит лишь в 2,5 % случаев [51 — 53]. В случаях, когда в стимулированном цикле происходит повышение уровня ЛГ, в некоторых центрах лечение вообще отменяют, тогда как в других при наличии необходимого уровня эстрадиола и адекватного роста фолликулов вводят ХГч [54]. В подобных случаях необходимо сдвинуть сроки забора ооцитов.

В других центрах ХГч назначают в случаях, когда уровень эстрадиола достигает 200 — 300 пг/мл на один фолликул, диаметр которого превысил 17 — 18 мм. Больным, у которых отмечается задержка развития фолликулов или развивается только один фолликул, ХГч не назначают. Не рекомендуется вводить ХГч больным, у которых наблюдается быстрое повышение уровня эстрадиола в сыворотке крови (т.е. уровень удваивается через 24 ч), чтобы свести к минимуму риск развития синдрома гиперстимуляции.

7.8. Осложнения при стимуляции овуляции

Наиболее серьезным осложнением, которое может возникнуть при стимуляции овуляции, является формирование множественных кист в яичниках, как фолликулярных,

так и лютеиновых, что сопровождается избыточной продукцией стероидных гормонов и увеличением размеров яичников; кроме того, может наблюдаться вздутие живота, тошнота, понос и рвота (в более тяжелых случаях), а иногда также асцит, гидроторакс, нарушение электролитного баланса, сгущение крови, гиповолемия, олигурия и тромбоэмболии [55, 56]. Данный синдром был четко определен в самом начале клинического применения метода лечения МГЧ/ХГЧ [55]. Частота случаев развития тяжелого синдрома гиперстимуляции, согласно данным, опубликованным в серии статей с 1970 по 1982 г., составляет от 0,2 до 1,8 % [10].

Тяжелая форма данного синдрома не наблюдалась в случаях, когда больные не получали ХГЧ, однако легкие формы могут развиваться при введении МГЧ и эндогенной продукции ЛГ [10]. Тяжелая форма также отмечалась при назначении ХГЧ в лютеиновой фазе цикла после имплантации оплодотворенной яйцеклетки, при этом для стимуляции роста фолликулов назначали а-ГнВГ и МГЧ [57]. Высказывалось предположение, что применение а-ГнВГ для стимуляции овуляторного цикла может быть сопряжено с повышенной частотой случаев тяжелой гиперстимуляции функции яичников до 1,8 % в одной серии [58], тогда как в течение девяти лет до начала клинического применения а-ГнВГ среди более 4000 наблюдавшихся циклов были отмечены только три случая подобной гиперстимуляции. Риск развития данного осложнения можно снизить при внимательном наблюдении за процессами развития фолликулов на протяжении курса лечения а-ГнВГ и МГЧ и отказа от назначения ХГЧ при наличии множественных крупных фолликулов и очень высокого уровня эстрadiола.

Среди других видов осложнений, наблюдавшихся при стимуляции функции яичников, можно отметить перекрут придатков после развития синдрома гиперстимуляции [59]. До овариэктомии необходимо попытаться выпрямить перекрученный придаток [60].

7.9. **Оплодотворение *in vitro* в нестимулированном цикле**

Несмотря на то что первая успешная беременность в результате оплодотворения *in vitro* наступила во время

самопроизвольного цикла [1], вскоре в большинстве центров, где осуществляется медицински индуцированное зачатие, был внедрен метод контролируемой стимуляции яичников. Подобная практика обеспечивала развитие сразу нескольких фолликулов в преовуляторной стадии и позволила увеличить количество яйцеклеток, используемых для оплодотворения, а также количество эмбрионов для пересадки.

По мере постоянного совершенствования в течение последнего десятилетия методик культивирования и аспирации фолликулов, успешное медицински индуцированное зачатие в естественном цикле стало более легко осуществимым, при этом, согласно данным литературы, частота случаев наступления беременности на один цикл составляет 22,5 % [6].

Данный метод обеспечивает следующие преимущества:

- сокращение периода непрерывного наблюдения за развитием фолликулярной фазы и, следовательно, снижение стоимости лечения;
- снижение затрат на лекарственные средства, поскольку никакие препараты не применяются, за исключением ХГЧ для индуцирования овуляции;
- отсутствие риска гиперстимуляции яичников;
- простота методики и удобство ее для больных позволяют сделать несколько попыток забора яйцеклеток, что повышает эффективность ооцитов.

7.10. Забор ооцитов

После того как было достигнуто адекватное развитие множественных фолликулов и индуцирована овуляция путем внутримышечного введения ХГЧ, возникает необходимость забора ооцитов из фолликулов спустя 33 — 36 ч. Данный срок избирают для того, чтобы, с одной стороны, обеспечить достаточное время для созревания ооцитов *in vivo* и, с другой стороны, снизить вероятность преждевременной овуляции и утраты ооцитов [62 — 64]. До оплодотворения ооциты оставляют еще на 4 — 6 ч для окончательного созревания *in vitro* с целью снижения частоты полиспермии [65]. Первые попытки забора ооцитов с целью дальнейшего использования их для целей медицински индуцированного зачатия были выполнены с помощью лапаротомии [66 — 68], однако вскоре данный метод

был заменен методом лапароскопии. Основное преимущество последнего метода состоит в том, что он обеспечивает столь же или еще более эффективную визуализацию органов малого таза во время аспирации, предусматривает менее обширные манипуляции и более низкий риск развития осложнений, чем лапаротомия. Тем не менее данная процедура дискомфортна для больных и сопряжена с некоторой вероятностью осложнений. Кроме того, длительное воздействие препаратов, применяемых для анестезии, на ооциты [69] и возможное снижение pH внутри фолликулов в результате развития пневмоперитонеума с присутствием двуокиси углерода могут снижать способность ооцитов к оплодотворению [70, 71].

В большинстве центров лапароскопия в настоящее время применяется только для выполнения ПГМТ и других подобных вмешательств, а забор ооцитов чаще всего осуществляется трансвагинально. При подобном доступе используют зонд, вводимый под ультразвуковым контролем, и, благодаря анатомическим особенностям, обеспечивается четкая визуализация яичников и легкий доступ к фолликулам, при этом снижен до минимума риск повреждения других органов, расположенных в области малого таза. Осложнения наблюдаются редко, из них наиболее часто — кровотечение из области прокола и инфекционные осложнения в области малого таза [72, 73]. Риск развития инфекции можно снизить до минимума путем введения антибиотика. Другими преимуществами использования трансвагинального доступа под ультразвуковым контролем являются простота по сравнению с другими методиками, низкая стоимость и более низкая частота осложнений.

Список литературы

1. Steptoe, P.C. & Edwards, R.G. Birth after reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 2: 366 (1978).
2. Edwards, R.G. et al. Establishing full term human pregnancies using cleaving embryos grown *in vitro*. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 87: 737—756 (1980).
3. Steptoe, PC. et al. Clinical aspects of pregnancies established with cleaving embryos grown *in vitro*. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 87: 757—768 (1980).
4. Gronow, M.J. et al. Aspects of multiple embryo transfer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 381—386 (1985).

5. **Spiers, A. L. et al.** Analysis of the benefits and risk of multiple embryo transfer. *Fertility and sterility*, **39**: 468—471 (1983).
6. **Wood, C. et al.** Factors influencing pregnancy rates following *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, **43**: 245—250 (1985).
7. **Jones, H. W. Jr et al.** Three years of *in-vitro* fertilization at Norfolk. *Fertility and sterility*, **42**: 826—834 (1984).
8. **Lopata, A.** Concepts in human *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, **40**: 289—301 (1983).
9. **Trounson, A. O. & Wood, C.** Extracorporeal fertilization and embryo transfer. *Clinical obstetrics and gynaecology*, **8**: 681—713 (1981).
10. **Blankstein, J. et al.** Ovulation induction and *in-vitro* fertilization. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1986, p.147.
11. **Jones, H. W. Jr et al.** The program for *in-vitro* fertilization at Norfolk. *Fertility and sterility*, **38**: 14—21 (1982).
12. **Garcia, J.E. et al.** Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase I, 1981. *Fertility and sterility*, **39**: 167—173 (1983).
13. **Garcia, J.E. et al.** Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase II, 1981. *Fertility and sterility*, **39**: 174—179 (1983).
14. **Trounson, A. O. et al.** Pregnancies in humans by fertilization *in-vitro* and the embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science*, **212**: 681—682 (1981).
15. **Edwards, R.G. & Purdy J.M.** Group reports on methods and results. In: Edwards, R. G. & Purdy, J. M., ed. *Human conception in vitro*. London, Academic Press, 1982, p.391.
16. **Wolfram, J. et al.** Pulsatility of serum luteinizing hormone during hyperstimulation with clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin for *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, **52**: 817—820 (1989).
17. **Jones, G. S.** Update on *in-vitro* fertilization. *Endocrinology review*, **5**: 62—75 (1984).
18. **Edwards, R. G. & Steptoe, P. C.** Current status of *in-vitro* fertilization and implantation in human embryos. *Lancet*, **2**: 1265—1269 (1983).
19. **Taymor, M. L. et al.** *In vitro* fertilization and embryo transfer: an individualized approach to ovulation induction. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, **2**: 162—165 (1985).
20. **Pantos, C. et al.** Increasing the human menopausal gonadotropin dose — does the response really improve? *Fertility and sterility*, **53**: 436—439 (1990).
21. **Zorn, J. R. et al.** Never on Sunday — programming for IVF-ET and GIFT. *Lancet*, **1**: 385—386 (1987).

22. Scoccia, B. et al. Comparison of urinary human follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotrophins for ovarian stimulation in an *in-vitro* fertilization program. *Fertility and sterility*, 48: 446—449 (1987).
23. Lavy, G. et al. Ovarian stimulation for *in vitro* fertilization and embryo transfer, human menopausal gonadotrophin versus pure human follicle-stimulating hormone: a randomized prospective study. *Fertility and sterility*, 50: 74—78 (1988).
24. Benavida, C. et al. An increased initial follicle-stimulating hormone/luteinizing hormone ratio does not affect ovarian responses and the outcomes of *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 50: 777—781 (1988).
25. Sharma, V. et al. Studies on folliculogenesis and *in-vitro* fertilization outcome after the administration of follicle-stimulating hormone at different times during the menstrual cycle. *Fertility and sterility*, 51: 298—303 (1989).
26. Smitz, J. et al. Management of failed cycles in an IVF/GIFT program with a combination of a GnRH analog and hMG. *Human reproduction*, 2: 309—315 (1987).
27. Awadalla, S.G. et al. Follicular stimulation for *in-vitro* fertilization using pituitary suppression and human menopausal gonadotropins. *Fertility and sterility*, 48: 811—815 (1987).
28. Abdalla, H. I. et al. Comparative trial of luteinizing hormone-releasing hormone analog/human menopausal gonadotropin and clomiphene citrate/human menopausal gonadotropin in an assisted conception program. *Fertility and sterility*, 53: 473—478 (1990).
29. Ashkenazi, J. et al. Adverse neurological symptoms after gonadotropin-releasing hormone analog therapy for *in-vitro* fertilization cycles. *Fertility and sterility*, 53: 738—740 (1990).
30. Loumaye, E. et al. Short term utilization of a GnRH analog for ovulation in an *in-vitro* fertilization (IVF) program. In: Trounson, A., ed. *Proceedings, Fifth World Conference on in-vitro fertilization and embryo transfer*. Norfolk, VA, American Fertility Society, 1987, p.31.
31. Barriere, P. et al. Use of GnRH analogues in ovulation induction for *in vitro* fertilization: benefit of a short administration regime. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 64—65 (1987).
32. Benadiva, C. A. et al. Comparison of different regimens of a gonadotropin-releasing hormone analog during ovarian stimulation for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 53: 479—485 (1990).
33. Caspi, E. et al. Results of *in vitro* fertilization and embryo transfer by combined long-acting gonadotropin-releasing hormone analog D-Trp-G-luteinizing hormone-releasing hormone and gonadotrophins. *Fertility and sterility*, 51: 95—99 (1989).
34. Ron-El, R. et al. Flexible menotrophins initiation after long-acting gonadotrophin releasing hormone analog. *Fertility and sterility*, 52: 860—863 (1989).

35. Garcia, J. E. et al. Follicular phase gonadotropin-releasing hormone agonist and human gonadotropins: a better alternative for ovulation induction in *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 53: 302—305 (1990).
36. Fleming, R. & Coutts, J. R.T. Induction of multiple follicular growth in normally menstruating women with endogenous gonadotropin suppression. *Fertility and sterility*, 45: 226—230 (1986).
37. Neveu, S. et al. Ovarian stimulation by a combination of gonadotropin releasing hormone agonist and gonadotropin for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 47: 639—643 (1987).
38. Drosch, K. Value of suppression with gonadotropin-releasing hormone agonist prior to gonadotropin stimulation for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 51: 292—297 (1989).
39. Porter, R. N. et al. Induction of ovulation for *in-vitro* fertilization using buserelin and gonadotropins. *Lancet*, 2: 1284—1284 (1984).
40. Lounaye, E. et al. Hormonal changes induced by short-term administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist during ovarian hyperstimulation for *in-vitro* fertilization and their consequences for embryo development. *Fertility and sterility*, 51: 105—111 (1989).
41. Meldrum, D. R. et al. Timing of initiation and dose schedule of leuprorelin influences the time of ovarian suppression. *Fertility and sterility*, 50: 400—402 (1988).
42. Serafini, P. et al. An alternative approach to controlled ovarian hyperstimulation in "poor responders": pre-treatment with a gonadotropin-releasing hormone analog. *Fertility and sterility*, 49: 90—95 (1988).
43. Cohen, J. et al. Results of planned *in-vitro* fertilization programming through the preadministration of the estrogen-progesterone combined pill. *Human reproduction*, 2: 7—11 (1987).
44. Patton, P. H. et al. The use of oral contraceptives to regulate oocyte retrieval. *Fertility and sterility*, 49: 716—718 (1988).
45. Pauly, J. L. et al. Gamete intrafallopian transfer: benefits of programmed stimulation. *Fertility and sterility*, 52: 1012—1017 (1989).
46. Gonen, Y. et al. Gonadotropin suppression with oral contraceptives before *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 53: 282—287 (1990).
47. Welsman, Z. et al. Oral contraceptive pills and follicular fluid hormones in an *in-vitro* fertilization program. *Fertility and sterility*, 52: 451—453 (1989).
48. Laufer, N. et al. Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilised *in-vitro*. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 58: 430—434 (1984).
49. Basuray, R. et al. High progesterone/estradiol ratio in follicular fluid at oocyte aspiration for *in-vitro* fertilization as a predictor of possible pregnancy. *Fertility and sterility*, 49: 1007—1111 (1988).

50. McBain, J. C. et al. An analysis of endocrine indices which may identify conceptual cycles prospectively on an IVF programme. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 140—145 (1985).
51. Quigley, M. M. et al. Timing human chorionic gonadotrophin administration by days of estradiol rise. *Fertility and sterility*, 44: 791—795 (1985).
52. Levran, D. et al. Analysis of the outcome of *in vitro* fertilization in relation to the timing of human chorionic gonadotrophin administration by the duration of estradiol rise in stimulated cycles. *Fertility and sterility*, 44: 335—341 (1985).
53. Bayly, C. M. et al. Ovarian stimulation regimens in an *in vitro* fertilization program: a complete analysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 123—127 (1985).
54. Wang, T.A. et al. The influence of exogenous human chorionic gonadotrophin cycles with spontaneous luteinizing hormone surges on the outcome of *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 48: 613—616 (1987).
55. Nellwirth, R. S. et al. Acute Miegs syndrome secondary to ovarian stimulation with menopausal gonadotropins. *American journal of obstetrics and gynecology*, 91: 977—981 (1965).
56. Mozes, M. et al. Thromboembolic phenomena after ovarian stimulation with human gonadotropins. *Lancet*, 2: 1213—1215 (1965).
57. Herman, A. et al. Pregnancy rate and ovarian hyperstimulation after luteal human chorionic gonadotropin in *in-vitro* fertilization stimulated with gonadotropin-releasing hormone analog and menotropins. *Fertility and sterility*, 53: 92—96 (1990).
58. Forman, R. G. et al. Severe ovarian hyperstimulation syndrome using agonists of gonadotropin-releasing hormone for *in-vitro* fertilization: a European series and a proposal for prevention. *Fertility and sterility*, 53: 502—509 (1990).
59. Mashiach, S. et al. Adnexal torsion of hyperstimulated ovaries in pregnancies after gonadotropin therapy. *Fertility and sterility*, 53: 76—80 (1990).
60. Ben-Rafael, Z. et al. Laparoscopic unwinding of twisted ischemic hemorrhagic adnexum after *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 53: 569—571 (1990).
61. Foulot, H. et al. *In-vitro* fertilization without ovarian stimulation: a simplified protocol applied in 80 cycles. *Fertility and sterility*, 52: 617—621 (1989).
62. Gudmundsson, J. et al. Luteinization to oocyte retrieval delay in women in whom multiple follicular growth was induced as a part of an *in-vitro* fertilization/gamete intrafallopian transfer program. *Fertility and sterility*, 53: 735—737 (1990).
63. Thornton, S.J. et al. Human chorionic gonadotropin to oocyte retrieval interval in *in-vitro* fertilization — how critical is it? *Fertility and sterility*, 53: 177—179 (1990).

64. Abdalla, H. I. et al. Timed oocyte collection in an assisted conception programme using GnRH analogue. *Human reproduction*, 4: 927—930 (1989).
65. Trounson, A. O. et al. Effect of delayed insemination on *in-vitro* fertilisation, culture and transfer of human embryo. *Journal of reproduction and fertility*, 64: 285—294 (1982).
66. Mastroianni, L. Jr. et al. Intrauterine pregnancy following ovum recovery at laparotomy and subsequent *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 40: 536—538 (1983).
67. Lopata, A. et al. Collection of human oocytes at laparoscopy and laparotomy. *Fertility and sterility*, 25: 1030—1038 (1974).
68. Edwards, R. G. et al. Preliminary attempts to fertilize human oocytes matured *in vitro*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 96: 192—200 (1966).
69. Hayes, M. et al. Effect of general anesthesia on fertilization and cleavage of human oocytes *in-vitro*. *Fertility and sterility*, 48: 975—981 (1987).
70. Boyers, S. P. et al. A paired analysis of *in-vitro* fertilization and cleavage rates of first vs last-recovered preovulatory human oocytes exposed to varying intervals of 100% CO₂ pneumoperitoneum and general anesthesia. *Fertility and sterility*, 48: 969—974 (1987).
71. Boyers, S. O. & Decherney, A. H. Human *in-vitro* fertilization and embryo transfer: an overview. In: Mishell, D. R. et al., ed. *The year book of obstetrics and gynecology*. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1987, pp.413—459.
72. Howe, R.S. et al. Pelvic infection after transvaginal ultrasound-guided ovum retrieval. *Fertility and sterility*, 49: 726—728 (1988).
73. Gembruch, U. et al. Transvaginal sonographically guided oocyte retrieval for *in-vitro* fertilization. *Human reproduction*, 3(suppl.2): 59—63 (1988).

8. Оплодотворение ооцитов и последующее культивирование эмбрионов

Для успешного осуществления ОИВ и выращивания эмбрионов необходимо получение зрелых ооцитов, обладающих полноценным потенциалом развития и способных сохранять жизнеспособность во время оплодотворения и роста *in vitro*. При этом необходимо получить и подготовить сперматозоиды, а затем поместить обе гаметы в такую среду, которая обеспечивала бы сохранение и осуществление ими своей функции.

Методы, используемые для подготовки сперматозоидов, оплодотворения и культивирования ооцитов и эмбрионов,

относительно четко отработаны. Тем не менее в лаборатории, где осуществляется ОГВ, действует множество факторов, оказывающих решающее влияние на исход ОГВ и сопутствующих процедур. Эти факторы могут быть биологическими (качество ооцитов и сперматозоидов) или обусловленными особенностями условий конкретной лаборатории (качественные характеристики используемой воды и точность калибровки инструментов и оборудования).

8.1. Гарантия качества

Для показателей частоты случаев успешного оплодотворения и удовлетворительного роста эмбрионов необходимо выработать и регулярно соблюдать ряд простых процедур контроля качества. Эти процедуры должны действовать как единая система контроля, за их выполнением необходимо строго следить; система контроля, как правило, включает регулярную проверку правильного функционирования всех видов оборудования, инженерно-техническое обеспечение и санитарную обработку всех единиц лабораторного оборудования и инструментов с целью обеспечения оптимальных результатов.

8.1.1. Оборудование

Инкубаторы, используемые для инкубации ооцитов и сперматозоидов и культивирования эмбрионов, должны подвергаться регулярной санитарно-гигиенической обработке и стерилизации. Необходимо обеспечить мониторный контроль за каждым инкубатором, регулярно замечая любые колебания температуры с помощью термометра с соответствующей калибрационной шкалой, а также колебания уровня двуокиси углерода с помощью специальных приборов, рекомендованных изготовителями инкубатора. Кроме того, необходимо точно контролировать температуру внутри блоков нагревания устройств типа "водяной бани" и т.п. При температуре выше или ниже оптимальной возможно нарушение процессов оплодотворения и роста эмбрионов. Еще одним фактором, на который порой не обращают должного внимания, является температура в помещении лаборатории. Так, при слишком высокой температуре может быть нарушена работа некоторых электроприборов, к числу которых относят и инкубаторы. Поэтому настоятельно рекомендуется установить в

лаборатории строго контролируемые системы подачи кондиционированного воздуха. Дополнительно установленные воздушные фильтры будут препятствовать проникновению микроорганизмов и других загрязняющих веществ.

8.1.2. *Лабораторная посуда и оборудование из стекла и других материалов*

Все предметы из стекла и других материалов, например катетеры для пересадки эмбрионов и наборы для аспирации яйцеклеток, которые соприкасаются с питательными средами, сперматозоидами, ооцитами или эмбрионами, необходимо промывать дистиллированной водой и специальными нетоксичными моющими средствами для обработки предметов, используемых при культивировании тканей, а затем подвергать стерилизации. Все новые стеклянные предметы до того, как они будут использованы, следует погружать на ночь в разбавленный раствор кислоты, затем тщательно промывать и прополаскивать стерильной дистиллированной водой с целью удаления масел, пыли и других загрязняющих веществ, которые могли попасть на них в процессе производства. Стерилизация методом сухой термической обработки рекомендуется для стеклянных предметов, используемых для ОIV и аспирации ооцитов. Такие виды оборудования, как катетеры для пересадки эмбрионов и наборы для аспирации ооцитов, стерилизуемые в автоклавах, до контакта с ооцитами или эмбрионами необходимо прополаскивать питательным раствором, используемым для культивирования. Предметы, подвергаемые стерилизации газом этилен-оксидом, можно использовать только спустя 10 — 14 дней после стерилизации, когда исчезнут все следы газа.

8.1.3. *Вода*

Необходимо обеспечить запас воды для промывания стеклянного и прочего оборудования, а также для приготовления питательных растворов. Для этой цели можно закупить готовую воду, поставляемую коммерческими фирмами, однако при наличии соответствующих площадей и средств рекомендуется установить в лаборатории собственную систему для получения дистиллированной воды. Подобные системы необходимо регулярно обследовать с целью выявления присутствия посторонних органических соединений, микроорганизмов и пирогенных бактерий,

которые являются факторами, влияющими на успех культивирования ооцитов, сперматозоидов и эмбрионов. Как правило, изготовители подобных систем обеспечивают необходимые средства контроля за правильным их функционированием.

8.1.4. Проверка токсичности сосудов и питательных сред

Для инкубации ооцитов и культивирования эмбрионов можно использовать сосуды нескольких типов. В первых исследованиях метода ОИВ использовали обычные пробирки, однако позднее появилось много различных альтернативных вариантов сосудов, и в настоящее время наиболее часто для этой цели используют чашки и специальные лунки-углубления для культивирования. Пластиковые материалы, из которых изготавливают подобные сосуды, имеют различный состав, поэтому каждый раз при появлении нового продукта, прежде чем использовать его для целей ОИВ в лаборатории, необходимо выполнить специальные тесты на токсичность. Это относится и к новым моделям всех остальных видов оборудования, которое соприкасается с ооцитами, сперматозоидами и эмбрионами: катетерам для пересадки эмбрионов, наборам для аспирации ооцитов, шприцам для забора биологических материалов и фильтрации питательных сред, а также фильтрам для стерилизации питательных растворов и заменителей сыворотки.

Для испытания новых материалов, используемых для целей ОИВ, и контроля качества питательных сред можно использовать эмбрионы мыши. Для этого применяли два теста. Первый предусматривает использование двуклеточных эмбрионов, которые развивались *in vivo* и были получены методом вымывания сильной струей жидкости из матки мыши после индуцированной суперовуляции. Затем эти эмбрионы выращивают *in vitro* в присутствии предмета, который подвергается проверке на токсичность, и наблюдают за процессом их роста до стадии бластоцисты [1]. Второй тест заключается в оплодотворении ооцитов мыши *in vitro* и наблюдении за их ростом до стадии бластоцисты [2]. Считается, что второй метод обеспечивает более чувствительную оценку процессов роста эмбрионов и, следовательно, токсичности материала [3].

Кроме того, применяли биотест, позволяющий определять степень выживаемости сперматозоидов человека в течение

нескольких дней после начала контакта с различными предметами, предназначенными для выполнения ОИВ [4]. При этом контролируют поступательную подвижность сперматозоидов, а затем испытуемые образцы спермы сравнивают с контрольными образцами с целью выявления присутствия в составе нового материала цитотоксичных веществ. Возможно, данный метод не обладает достаточной чувствительностью для целей рутинного контроля качества, когда необходимо выявлять наличие более слабо выраженных и тонких воздействий, снижающих жизнеспособность эмбриона. Для скрининг-теста с целью обнаружения токсических реакций, которые могут быть свойственны различным типам уретральных катетеров, применяемых при ОИВ, использовали посевы клеток амниотической жидкости [5].

Проблема контроля качества при ОИВ была предметом многих дискуссий, поскольку ни один простой метод не обеспечивает абсолютного контроля всех переменных факторов, действующих в условиях лаборатории, где осуществляется данная процедура [6].

8.2. Условия культивирования

Для успешного оплодотворения и роста эмбриона важнейшим условием является оптимальная окружающая среда. Методика ОИВ предусматривает для имитации условий *in vivo* использование инкубатора, содержащего двуокись углерода и питательную среду. При этом необходимо поддерживать температуру, pH, осмолярные характеристики питательного раствора и метаболические факторы на постоянном уровне и в пределах физиологической нормы.

8.2.1. Питательные среды

Для успешного ОИВ у человека использовали много различных типов питательных сред. Пока не получено данных, которые позволили бы отметить превосходство одного типа питательной среды над другими типами по таким показателям, как успешное оплодотворение ооцитов, деление эмбрионов и исход беременности. Питательные растворы для культивирования можно закупать в готовых формах или приготавливать непосредственно в лаборатории. Правильный выбор здесь зависит от конкретных условий в лаборатории; так, небольшие лаборатории нередко предпочитают закупать готовые формы питательных

растворов ввиду ограниченности собственных ресурсов, т.е. научных кадров и оборудования. Для приготовления питательных растворов необходимо иметь высокодистиллированную воду и химические реагенты аналитического сорта; наиболее распространенные растворы перечислены в табл.4; они содержат определенный состав основных солей и энергетических субстратов, например глюкозы и пирувата натрия с добавлением антибиотиков и, в некоторых готовых формах, аминокислот и витаминов. Питательные растворы, приготовленные непосредственно в лаборатории, имеют ограниченный срок годности, особенно если в составе их есть пируват, поэтому через каждые 10 — 14 дней необходимо готовить свежий раствор.

Таблица 4

Наиболее распространенные питательные среды для ОIV

Наименование	Источник
Раствор Ham F10	Lopata et al. [7]
Жидкость маточных труб человека (HTF)	Quinn et al. [8]
Раствор Whittingham T6	Quinn et al. [9]
Раствор Earle	Purdy [10]
Раствор Menezo BZ	Testart et al. [11]

Питательные растворы, содержащие буферный фосфат или органический буферный раствор Нерес¹ следует использовать для процедур, в процессе которых гаметы подвергаются длительному воздействию нормальных атмосферных условий, т.е. вымывание фолликулов сильной струей жидкости.

8.2.2. Сывороточные добавки

Широко практикуется добавление сыворотки в питательную среду. Белки, содержащиеся в сыворотке, препятствуют прилипанию ооцитов и эмбрионов к поверхности стеклянной пипетки, с помощью которой ими манипулируют. На ранней стадии деления эмбрионы метаболизируют крайне малое количество белка, поэтому маловероятно, чтобы белковый компонент сыворотки играл сколько-нибудь заметную роль в питании эмбриона [12]. Белковые добавки, которые можно применять для данной цели, перечислены в табл. 5.

¹ 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфонат.

Таблица 5
Белковые добавки

Сыворотка человека	Leung et al. [13]
Сыворотка пупочного канатика человека (HCS)	Leung et al. [13], Holst et al. [14]
Сывороточный альбумин человека (HSA)	выпускается в готовых формах
Плодная сыворотка теленка (FCS)	выпускается в готовых формах
Бычий сывороточный альбумин (BSA)	выпускается в готовых формах
Синтетическая сыворотка	выпускается в готовых формах, Saito et al. [15]

Любые белковые добавки, взятые у человека, должны быть свободны от вирусных инфекций, таких как вирус гепатита В, вирус иммунодефицита человека или цитомегаловирус. Настоятельно рекомендуется проверять партии готовых форм белковых добавок на токсичность (см. раздел 8.1.4).

В некоторых лабораториях в качестве питательной среды используют такие физиологические жидкости, как амниотическая [16] и фолликулярная жидкость человека [17], первая — при ОГВ, вторая — при ПГМТ. Прежде чем утверждать, что эти жидкости обладают более высокой эффективностью по сравнению с более широко применяемыми растворами, содержащими сывороточные добавки, необходимо будет получить данные, подтверждающие стойкое улучшение показателей частоты случаев наступления беременности.

Эксперименты с применением питательных сред, содержащих фосфолипидные добавки (фактор активации тромбоцитов), показали достоверные различия в показателях частоты случаев наступления беременности между эмбрионами, выращенными в подобных средах, и контрольными эмбрионами, поэтому можно предположить, что фосфолипидный фактор облегчает процессы развития эмбриона [18]. В настоящее время организуются исследования с участием многих центров с целью изучения воспроизводимости указанных результатов.

8.2.3. Температура

Ооцит человека чувствителен к температурным колебаниям [19], поэтому для оплодотворения ооцита и культивирования эмбриона необходимо иметь инкубатор с увлаж-

няющим устройством, где поддерживалась бы постоянная температура на уровне 37,0 — 37,5 °С.

8.2.4. pH и осмолярные характеристики

Состав всех питательных сред до их употребления необходимо уравновесить двуокисью углерода с целью получить адекватное значение pH [20], которое находится в интервале 7,4 — 7,6. Осмолярные показатели питательного раствора должны быть в пределах 275 — 290 мОsmол/кг [7].

8.2.5. Сосуды для культивирования

При выборе определенного типа сосуда для культивирования следует учитывать такие важные факторы, как необходимость поддерживать определенное значение pH и осмолярных характеристик, контролировать уровень влажности, а также обеспечивать необходимое пространство и легкость визуализации яйцеклеток или эмбрионов, помещенных в сосуд. Культивирование может осуществляться под слоем парафинового масла, которое обеспечивает хорошую защиту против колебаний влажности, pH и температуры; с другой стороны, данное масло может загрязнять лабораторию и другие растворы, а также попадать в организм больной во время пересадки эмбриона. Кроме того, парафиновое масло может оказывать высокотоксичное воздействие на материалы, используемые при ОIV, поэтому партии масла до использования его для целей культивирования следует подвергать специальному скрининг-тесту.

8.3. Методы оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов

8.3.1. Оценка ооцитов

Универсальных стандартов классификации ооцитов не существует, однако в каждой лаборатории необходимо разработать определенную систематизированную шкалу оценки. Характерными морфологическими признаками, наблюдаемыми в момент забора ооцитов, являются особенности клеточного комплекса кумулюс ооцита/корона (КОКК) [oocyte-cumulus/corona cell complex (OCCC)] и ооплазмы, когда последняя видна сквозь стенки данных клеток [21]. Клетки кумулюса образуют облаковидную

массу, окутывающую и питающую яйцеклетку в процессе ее роста внутри фолликула; корона (*corona radiata*) состоит из клеток, в плотную окружающих ооцит, которые обеспечивают межклеточную связь между ооцитом и фолликулом. Во время созревания фолликула кумулюс разрастается и рассеивается, а клетки короны прекращают контакт с ооцитом, из-за чего принимают лучеобразный вид.

Пример классификации ооцитов дан в табл.6. Данная система оценки использует определенные комбинации отличительных характеристик для классификации КОКК как незрелого, промежуточной стадии и зрелого [22 — 28]. Другой метод классификации основан на исследовании ооцитов с целью выявления взрыва полярного тела; с помощью инвертированного микроскопа высокой степени разрешения классифицируют каждый ооцит по следующим характеристикам: а) метафаза II — наличие первого полярного тела; б) метафаза I — взрыва первого полярного тела не произошло, зародышевый пузырек отсутствует; в) профаза I — имеется зародышевый пузырек. Ооциты в метафазе II обеспечивают более высокую частоту случаев оплодотворения по сравнению с менее зрелыми ооцитами [27]. Для исследования по данной методике ооцит необходимо плоско уложить на поверхность чашки для культивирования таким образом, чтобы его не загораживали клетки кумулюса и короны; при этом все манипуляции следует выполнять в высшей степени квалифицированно, чтобы не допустить повреждения ооцита. Каждая лаборатория выбирает наиболее удобную классификационную методику в зависимости от квалификации персонала, наличия рабочего времени и оборудования.

Таблица 6
Классификация КОКК (ОССС) по степени зрелости^a

Степень зрелости	Кумулюс	<i>Corona radiata</i>
Крайне незрелый	Отсутствует	Компактная, приросшая к <i>zona pellucida</i>
Незрелый	Плотный	Сжатая (плотно прилегающая)
Промежуточная стадия	Разросшаяся клеточная масса	Сжатая (плотно прилегающая)
Зрелый	Рассеянные клетки (передко видна <i>zona pellucida</i>)	Лучистый слой
Атрезия	Отсутствует, ооцит окружен клеточными агрегациями	Обычно отсутствует

^a Источник: ссылки 22 — 28.

8.3.2. Осеменение ооцитов

Ооциты следует подвергать инкубации в течение нескольких часов до осеменения их сперматозоидами; между ооцитами, осемененными в период от 3 до 20 ч после получения их от женщины, не наблюдается никаких различий по показателям частоты случаев успешного оплодотворения и наступления беременности [29, 30]. Существуют различные методы подготовки сперматозоидов к осеменению методом ОИВ. Обычная нормальная методика "всплыивания" предусматривает смешивание некоторой части эякулята с питательной средой, центрифugирование, удаление надосадочной жидкости, содержащей семенную плазму, и добавление свежего слоя питательной среды поверх осадка, содержащего сперматозоиды. В процессе последующей инкубации осадка в течение 30 – 60 мин подвижные сперматозоиды мигрируют в расположенный выше слой питательной среды. Затем путем аспирации собирают в пипетку указанный питательный раствор, содержащий сперматозоиды, и используют его для осеменения [31]. Целью данной процедуры является:

- удаление семенной плазмы, которая тормозит процесс оплодотворения [32];
- концентрация подвижных сперматозоидов;
- удаление контактирующих клеток и остатков органических веществ.

Обычно подвижные сперматозоиды добавляют в раствор, содержащий ооциты, в концентрации 100 000 сперматозоидов на 1 мл.

Учитывая, что концентрация сперматозоидов в семенной жидкости превышает 20×10^6 /мл, в случае, если у некоторого количества сперматозоидов (например, у 40 %) нарушена подвижность, или если до 90 % сперматозоидов обладают морфологическими аномалиями, семенную жидкость можно подвергнуть обработке в соответствии с различными методиками, используя градиент плотности для выделения сперматозоидов, обладающих нормальной поступательной подвижностью [33, 34]. При этом у супружеской пары, где муж страдает тяжелой олигоспермией или астеноспермией, нельзя обеспечить уверенный прогноз, однако в настоящее время разрабатываются различные методики оплодотворения, предусматривающие микроманипулирование на гаметах [35], включая частичное

разделение зоны ооцита с целью облегчить проникновение сперматозоида в zona pellucida. Согласно этой методике zona pellucida открывают путем приложения механической силы, а затем подвергают ооцит контакту со сперматозоидами [36]. Другая методика предусматривает создание отверстия в zona pellucida под воздействием кислотного раствора Tyrode, так называемое "сверление" zona pellucida [37]. Еще одна методика состоит в микроинъекции некоторого количества сперматозоидов в окологелточное пространство (пространство между оболочкой ооцита и zona pellucida) [38, 39].

8.3.3. Признаки состоявшегося оплодотворения

Ооциты следует наблюдать в течение 12 — 20 ч после осеменения, определяя, не наступило ли оплодотворение. Кумулюс ооцита рассеивается под воздействием ферментов сперматозоидов, в особенности гиалуронидазы, однако остаточные клетки, окружающие ооцит, необходимо удалить с помощью тонких игл или пипетки с малым просветом. Цитоплазму ооцита необходимо исследовать с целью выявления присутствия пронуклеусов, причем наличие двух пронуклеусов является положительным признаком состоявшегося оплодотворения. Иногда наблюдается только один пронуклеус, или же три или более пронуклеусов. Подобные случаи оплодотворения классифицируются как аномальные [40 — 42], и формирующиеся в результате эмбрионы пересаживать женщине не следует; эти эмбрионы можно держать в питательном растворе, наблюдая за процессом их роста, или уничтожить. Замедленное формирование пронуклеуса (спустя 20 ч) у 87 % эмбрионов связано с нарушенным порядком хромосом, если сравнить их с 29 %, у которых формирование пронуклеуса происходит ранее 20 ч после осеменения [42]. Ввиду этого очевидна важность контрольного наблюдения с целью определения сроков наступления оплодотворения после осеменения.

8.3.4. Культивирование и классификация эмбрионов

Требования к питательным средам и лабораторным сосудам, а также к условиям окружающей среды при культивировании эмбрионов такие же, как и при инкубации ооцитов и процедуре оплодотворения. Процесс деления клеток в эмбрионе до его имплантации характеризуется

последовательным уменьшением размеров клеток и называется дроблением. Первое деление у эмбриона человека в норме происходит спустя 20 — 30 ч после осеменения *in vitro* [43]. В дальнейшем деление происходит по упорядоченной схеме и обычно обеспечивает формирование четырехклеточного эмбриона спустя 48 ч после осеменения. В целом специалисты согласны, что если процессы деления в эмбрионе происходят равномерно, регулярно и быстро, беременность наступает наиболее часто; однако и в тех случаях, когда деление эмбрионов запаздывает и протекает неравномерно, возможно наступление беременности.

Подобно оценочной классификации ооцитов, в основе классификации эмбрионов лежит субъективная оценка внешней морфологической структуры эмбрионов. Пример шкалы оценок представлен в табл. 7 [44]. Другие методы классификации эмбрионов связаны с симметрией бластомеров и процентной долей массы эмбриона, которая подверглась фрагментации [45]:

- А — симметричный, фрагментация отсутствует;
- Б — фрагментация <10 %;
- В — фрагментация 10 — 25 %;
- Г — фрагментация >25 %.

Таблица 7
Шкала оценки состояния эмбриона, основанная на морфологических характеристиках

Хорошее:	эмбрион имеет бластомеры одинаковой величины; отсутствуют цитоплазматические фрагменты; цитоплазма прозрачная
Удовлетворительно:	у эмбриона иногда наблюдаются бластомеры несколько нерегулярной величины; отдельные цитоплазматические фрагменты; цитоплазма может быть гранулярной
Плохое:	blastomeres четко не выделены, нерегулярной величины, аномальной формы в результате сжатия или разрушения; множественные цитоплазматические фрагменты; цитоплазма гранулярная со стянутыми органеллами

8.4. Сохранение эмбрионов методом глубокого замораживания

В результате внедрения в клиническую практику схем лечения лекарственными препаратами, которые индуцируют развитие множественных фолликулов и позволяют получать достаточно большое количество ооцитов, воз-

никла определенная дилемма. Риск для матери и новорожденных при многоглодной беременности, наступившей в результате пересадки более четырех эмбрионов, достоверно подтвержден, однако при пересадке одного эмбриона вероятность наступления беременности крайне низкая. Альтернативным вариантом может быть использование "лишних" эмбрионов для целей научных исследований, что во многих странах запрещено законом и недопустимо с точки зрения морально-этических норм, уничтожение их или сохранение методом глубокого замораживания с целью последующей пересадки в организм женщины.

В период с 1971 по 1979 г. появились сообщения об успешном сохранении методом глубокого замораживания эмбрионов мыши [46], кролика [47], овцы [48], козы [49] и крупного рогатого скота [50], а в 1981 г. появилось первое сообщение о сохранении указанным методом четырех-восьмиклеточных эмбрионов человека [51]. Клинические результаты пересадки подобных эмбрионов после их размораживания были сообщены в 1983 г. [52].

Использование метода глубокого замораживания для сохранения эмбрионов в настоящее время стало рутинным дополнительным компонентом методики ОIV; для этих целей использовали различные способы замораживания. Методика, которая оказалась оптимальной по простоте, эффективности и воспроизводимости результатов, предусматривает замораживание эмбрионов в возрасте от одного до трех дней от одной до восьми клеток в биологической камере, которая позволяет охлаждать эмбрионы до температуры ниже нуля в присутствии криозащитного вещества криопротектанта — 1,2-пропанедиола [53]. Другими криозащитными агентами являются диметилсульфоксид [52, 54] и глицерин [55]. Для выполнения этих так называемых "медленноохлаждающих" технологий необходимо иметь специально обученный персонал и соответствующее оборудование. В литературе нередко сообщаются неудачные результаты при применении данной методики плохо обученным персоналом, при этом необходимо учитывать, что даже в клиниках, имеющих достаточный опыт ОIV, иногда возникали проблемы при замораживании эмбрионов человека.

Размораживание эмбрионов можно осуществлять в специально адаптированной для этой цели биологической мо-

розильной камере. Эмбрионы, замороженные в присутствии диметилсульфоксида до температуры ниже -60°C , необходимо размораживать медленно при контролируемых условиях со скоростью $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, чтобы не допустить повреждающего воздействия осмотических факторов на обезвоженные клетки. Однако если охлаждение было закончено при достижении температуры в интервале от -30°C до -40°C , эмбрионы следует размораживать быстро во избежание роста мелких кристаллов льда в результате неполного обезвоживания. Например, эмбрионы, замороженные в присутствии глицерина или 1,2-пропандиола, размораживают со скоростью $300^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, обычно путем погружения сосуда с замороженным материалом на одну минуту в водянную баню при температуре $30 - 37^{\circ}\text{C}$.

Размороженные эмбрионы обследуют на выживаемость [53, 57], определяя количество клеток, которые остались неповрежденными после глубокого замораживания. Как правило, вероятность наступления беременности в случаях, когда у эмбрионов сохранена по меньшей мере половина бластомеров, такая же, как и при использовании полноценных эмбрионов. Поскольку бластомеры у эмбрионов на ранних стадиях развития сохраняют способность продуцировать целостный фетоплацентарный комплекс, утрата некоторого количества бластомеров, по-видимому, не имеет значения. Последующая пересадка эмбрионов может быть осуществлена в естественном цикле или в цикле, развивающемся на фоне замещающей гормонотерапии или стимуляции овуляции [58].

Высокая стоимость оборудования и время, затрачиваемое на работу по методу медленного охлаждения, послужили стимулом для исследования возможностей методов быстрого охлаждения, которые можно было бы применить для целей глубокого замораживания и которые не требуют использования биологической морозильной камеры. Так, например, для сохранения эмбрионов мыши применяли методику витрификации. При этом эмбрионы помещают в концентрированный раствор криозащитных веществ, которые в процессе быстрого охлаждения отвердеваются и принимают форму не кристаллов, а стеклоподобного вещества. Возможно, такой процесс помогает не допустить повреждений, возникающих при формировании льда внутри клеток, и осмотических реакций, которые возникают при внеклеточном формировании льда [59]. Тем не

менее не было доказано, что витрификация является успешным методом глубокого замораживания с целью сохранения эмбрионов человека, поэтому необходимы дальнейшие исследования в данном направлении.

Ультраскоростной метод охлаждения с применением диметилсульфоксида в высоких концентрациях обеспечивал в высшей степени успешное мгновенное замораживание эмбрионов мыши [60]. При замораживании по данной методике эмбрионов человека отмечалась высокая выживаемость, однако степень формирования бластоцит при этом была низкой [61]. Прежде чем данный метод можно будет рекомендовать для использования вместо более традиционных методов глубокого замораживания с медленным охлаждением, необходимы более детальные исследования [62].

Список литературы

1. McDowell, J. S. et al. Mouse embryo quality for toxicity determination in the Norfolk *in-vitro* fertilization program. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 5: 144—148 (1988).
2. Quinn, P. et al. Culture factors in relation to the success of human *in vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, 41: 202—209 (1984).
3. Davidson, A. et al. Mouse embryo culture as quality control for human *in vitro* fertilization: the one cell model versus the two cell model. *Fertility and sterility*, 49: 516—521 (1988).
4. Critchlow, J. D. et al. Quality control in an *in-vitro* fertilization laboratory: use of human sperm survival studies. *Human reproduction*, 4: 545—549 (1989).
5. Ray, B. D. et al. *In vitro* fertilization: fertilization failure due to toxic catheters. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 58—61 (1987).
6. Wood, C. & Trounson, A.O. Fertilization and embryo culture. In: Wood, C. & Trounson, A.O., ed. *Clinical in vitro fertilization*, 2nd ed. Berlin, Springer, 1989, pp. 33—50.
7. Lopata, A. et al. Pregnancy following intrauterine implantation of an embryo obtained by *in vitro* fertilization of a preovulatory egg. *Fertility and sterility*, 33: 117—120 (1980).
8. Quinn, P. et al. Improved pregnancy rate in human IVF with the use of a medium based on the composition of human tubal fluid. *Fertility and sterility*, 44: 493—498 (1985).
9. Quinn, P. et al. Preservation of hamster oocytes to assay the fertilizing

- capacity of human spermatozoa. *Journal of reproductive fertility*, 66: 161—168 (1982).
10. Purdy, J. M. Methods for fertilization and embryo culture *in-vitro*. In: Edwards, R. G. & Purdy J. M., ed. *Human conception in-vitro*. London, Academic Press, 1982, pp.135—156.
 11. Testart, J. et al. *In-vitro* fertilization. Success of IVF in spontaneous or stimulated cycles and technical procedures used. In: Rolland, R. et al., ed. *Proceedings of the 4th Reinier de Graaf Symposium, Holland*. Amsterdam, Excerpta Medica, 1982, pp.352—358.
 12. Pemble, I. B. & Kaye, P L. Whole protein uptake and metabolism by mouse blastocysts. *Journal of reproduction and fertility*, 78: 149—157 (1986).
 13. Leung, P.C.S. et al. Serum supplement in human embryo development. *Fertility and sterility*, 41: 36—39 (1984).
 14. Holst, N. et al. Optimization and simplification of culture conditions in human *in vitro* fertilization (IVF) and preembryo replacement by serum-free media. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 7: 47—53 (1990).
 15. Saito, H. et al. The effect of serum fractions on embryo growth. *Fertility and sterility*, 41: 761—765 (1984).
 16. Gianaroli, L. et al. The successful use at amniotic fluid for mouse embryo culture and human *in vitro* fertilization, embryo culture and embryo transfer. *Fertility and sterility*, 46: 907—913 (1986).
 17. Fakih, H. & Vijayakumar, R. Improved pregnancy rates and outcome with gamete intrafallopian transfer when follicular fluid is used as a sperm capacitation and gamete transfer medium. *Fertility and sterility*, 53: 515—520 (1990).
 18. O'Neill, C. et al. Supplementation of IVF culture medium with platelet activating factor (PAF). *Lancet*, 2: 769—772 (1989).
 19. Trounson, A. O. Preservation of human eggs and embryos. *Fertility and sterility*, 46: 1—12 (1986).
 20. Gwatkin, R. B. L. Chemically defined media for mammalian eggs and early stage embryos. *In-vitro*, 8(2): 59—67 (1972).
 21. Veeck, L. Oocyte assessment and biological performance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 541: 259—274 (1988).
 22. Fisch, B. et al. The effect of preinsemination interval upon fertilization of human oocytes *in vitro*. *Human reproduction*, 4: 954—956 (1989).
 23. Laufer, N. et al. The use of high-dose human menopausal gonadotropin in an *in vitro* fertilization program. *Fertility and sterility*, 40: 734—741 (1983).
 24. Laufer, N. et al. *In vitro* fertilization: state of the art. *Seminars on reproductive endocrinology*, 2: 197—219 (1984).
 25. Veeck, L. L. Extracorporeal maturation: Norfolk, 1984. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 357—367 (1985).

26. **Veeck, L. L. et al.** Maturation and fertilization of morphologically immature oocytes in a program of *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, **39**: 594—602 (1983).
27. **Marrs, R. P. et al.** Effect of variation of *in vitro* culture techniques upon oocyte fertilization and embryo development in human *in vitro* fertilization procedures. *Fertility and sterility*, **41**: 519—523 (1984).
28. **Ben-Rafael, Z.** Follicular maturation parameters associated with the failure of oocyte retrieval, fertilization and cleavage *in vitro*. *Fertility and sterility*, **45**: 51—57 (1986).
29. **Harrison, K. L. et al.** Fertilization of human oocytes in relation to varying delay before insemination. *Fertility and sterility*, **50**: 294—297 (1988).
30. **Fisch, B. et al.** The effect of preinsemination interval upon fertilization of human oocytes *in vitro*. *Human reproduction*, **41(8)**: 954—956 (1989).
31. **McDowell, J. S. et al.** Analysis of human spermatozoa before and after processing for *in-vitro* fertilization. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, **2**: 23—26 (1985).
32. **Kanwar, K. C. et al.** Effects of human seminal plasma on fertilizing capacity of human spermatozoa. *Fertility and sterility*, **31**: 321—327 (1979).
33. **Gellert-Mortimer, S. et al.** Evaluation of Nycomedz and Percoll density gradients for the selection of motile human spermatozoa. *Fertility and sterility*, **49**: 335—341 (1988).
34. **Hyne, R. V. et al.** Pregnancy from *in-vitro* fertilization of human eggs after separation of motile spermatozoa by density gradient centrifugation. *Fertility and sterility*, **45**: 93—96 (1986).
35. **Malter, H. E. & Cohen, J.** Partial zona dissection of the human oocyte: a nontraumatic method using micromanipulation to assist zona pellucida penetration. *Fertility and sterility*, **51**: 139—148 (1989).
36. **Cohen, J. et al.** Implantation of embryos after partial opening of oocyte zona pellucida to facilitate sperm penetration. *Lancet*, **2**: 162 (1988).
37. **Gordon, J. et al.** Fertilization of human oocytes by sperm from infertile males after zona pellucida drilling. *Fertility and sterility*, **50**: 68—73 (1988).
38. **Ng, S. et al.** Transfer of human sperm into the perivitelline space of human oocytes after zona-drilling or zona-puncture. *Fertility and sterility*, **52**: 73—78 (1989).
39. **Laws-King, A. et al.** Fertilization of human oocytes by microinjection of a single spermatozoon under the zona pellucida. *Fertility and sterility*, **48**: 637—642 (1987).
40. **Plachot, M. et al.** Impairment of human embryo development after abnormal *in-vitro* fertilization. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **442**: 336—341 (1985).
41. **Kola, I. et al.** Triplo-nuclear human oocytes: altered cleavage patterns and

- subsequent karyotypic analysis of embryos. *Biology of reproduction*, 37: 395—401 (1987).
42. Plachot, M. et al. Chromosome analysis of human oocytes and embryos; does delayed fertilization increase chromosome imbalance? *Human reproduction*, 3: 125—127 (1988).
 43. Mohr, L. R. & Trounson, A. *In vitro* fertilization and embryo growth. In: Wood, C. & Trounson, A., ed. *Clinical in vitro fertilization*. Berlin, Springer-Verlag, 1984, pp. 99—115.
 44. Nayudu, P. L. et al. Follicular characteristics associated with viable pregnancy after *in-vitro* fertilization in humans. *Gamete research*, 18: 37—55 (1987).
 45. Hill, G. A. et al. The influence of oocyte maturity and embryo quality on pregnancy rate in a program for *in-vitro* fertilization-embryo transfer. *Fertility and sterility*, 52: 801—806 (1989).
 46. Whittingham, D. G. et al. Survival of mouse embryos frozen to -196 °C and -269 °C. *Science*, 178: 411—415 (1972).
 47. Whittingham, D. G. & Adams, C. E. Low temperature preservation of rabbit embryos. *Journal of reproduction and fertility*, 47: 269—274 (1976).
 48. Willadsen, S. M. et al. Deep freezing of sheep embryos. *Journal of reproduction and fertility*, 46: 151—154 (1976).
 49. Bilton, F.J. & Moore, N.W. *In vitro* culture, storage and transfer of goat embryos. *Australian journal of biological sciences*, 29: 125—129 (1976).
 50. Bilton, F.J. & Moors, N.W. Factors affecting the viability of frozen stored cattle embryos. *Australian journal of biological sciences*, 32: 101—107 (1979).
 51. Trounson, A.D. et al. The deep-freezing of human embryos. In: Serum, K. & Metfler, L., ed. *Proceedings of the Third World Congress of Human Reproduction*, Berlin (West), March 1981. Amsterdam, Excerpta Medica, 1981, p. 367.
 52. Trounson, A.D. & Mohr, L.R. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 305: 707—709 (1983).
 53. Lassalle, B. et al. Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2-propanediol. *Fertility and sterility*, 44: 645—651 (1985).
 54. Mohr, L. et al. Deep freezing and transfer of human embryos. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 2: 1—10 (1985).
 55. Cohen, J. et al. Pregnancies following the frozen storage of expanded human blastocysts. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 2: 59—64 (1985).
 56. Willadsen, S. M. Factors affecting the survival of sheep embryos during

- deep freezing and on thawing. In: Elliott, K. & Whelan, J., ed. *The freezing of mammalian embryos*. Elsevier, Amsterdam, 1977, pp. 175—189.
57. Testart, J. et al. High pregnancy rate after early human embryo freezing. *Fertility and sterility*, 46: 268—272 (1986).
 58. Fugger, E. F. Clinical status of human embryo cryopreservation in the United States of America. *Fertility and sterility*, 52: 986—990 (1989).
 59. Raill, W. F. Factors affecting the survival of mouse embryos cryopreserved by vitrification. *Cryobiology*, 24: 387—402 (1987).
 60. Trounson, A. et al. Ultrarapid freezing: a new low cost and effective method of embryo cryopreservation. *Fertility and sterility*, 48: 843—850 (1987).
 61. Trounson, A. & Sjöblom, P. Cleavage and development of human embryos *in vitro* after ultrarapid freezing and thawing. *Fertility and sterility*, 50: 373—376 (1988).
 62. Gordts, S. et al. Survival and pregnancy outcome after ultrarapid freezing of human embryos. *Fertility and sterility*, 53: 469—472 (1990).

9. Методики пересадки в матку и маточные трубы

9.1. Пересадка эмбрионов после оплодотворения

Методика, которая в настоящее время стала традиционной, предусматривает использование жесткого политетрафлуороэтиленового катетера с внутренним диаметром 0,8 — 1,0 мм, присоединенного к шприцу для инъекций туберкулина, наполненному питательной средой, содержащей эмбрионы, объемом до 75 мкл. Для выращивания и пересадки эмбрионов использовали несколько типов питательных сред, при этом наиболее часто собственную сыворотку женщины, инактивированную нагреванием и отфильтрованную через микрофильтрационную систему 0,2 мкм, в неразбавленном виде или разбавленную до концентрации 50 % или выше [1]. В случаях бесплодия неясного генеза вместо собственной сыворотки используют сыворотку, взятую от другой женщины. Кроме того, использовали сыворотку плодного канатика, полученную из свежей плаценты [2]. Было высказано мнение, что сыворотка не является необходимым компонентом раствора, используемого для культивирования и пересадки эмбрионов [3], и проводились испытания заменителей сыворотки [4].

Женщина принимает позу для литотомии или колленногрудную, затем катетер вводят через шейку матки таким образом, чтобы кончик его находился возле дна матки [5 — 8]. С целью снизить вероятность многоплодной беременности обычно пересаживают не более трех — четырех эмбрионов.

Проводились исследования с целью выяснить, какую роль играет временной интервал между осеменением и пересадкой эмбрионов [9, 10]. При условии пересадки одинакового количества эмбрионов никаких различий в показателях частоты случаев наступления беременности при пересадке эмбрионов на 3-й и 4-й день после осеменения не наблюдалось [9].

Успех ОИВ-ПЭ зависит от многих факторов. Так, сообщалось, что при пересадке эмбрионов в высокой стадии деления достигается более высокая частота случаев наступления беременности, однако рождение живых детей наблюдалось в результате пересадки как 1—8-клеточных [11], так и 8 — 16-клеточных эмбрионов [12].

Хорошо известно, что процедуру пересадки эмбрионов необходимо выполнять с максимальной осторожностью. Leeton с соавт. [6] подразделяют процедуры пересадки на “легкие”, “затрудненные” и “крайне затрудненные”, в зависимости от того, насколько легко вводится катетер, или же внутрь него попадают слизь и/или кровь; при этом наиболее высокая частота случаев наступления беременности отмечается в группе “легкой пересадки”. Выполнение процедуры пересадки эмбрионов под ультразвуковым контролем [13] не привело к повышению частоты успешных исходов [15].

9.2. Пересадка гамет в маточные трубы

Методика ПГМТ (см. также раздел 10.9.3) включает одномоментную процедуру забора яйцеклеток методом лапароскопии и пересадки гамет в маточную трубу [15, 16]. Как правило, в катетер, с помощью которого осуществляется пересадка, помещают до трех зрелых ооцитов и 25 — 50 мкл питательной среды, содержащей 100 000 — 200 000 отмытых сперматозоидов. Заполненный таким образом катетер вводят в воронку маточной трубы обычно на глубину 2 — 4 см, затем осторожно вливают его содержимое с помощью присоединенного к катетеру шприца для инъекций.

екции туберкулина; более высокая частота случаев наступления беременности отмечалась при введении гамет на глубину более 4 см [17]. Затем, если это возможно, подобную процедуру повторяют на противоположной трубе. В качестве добавки или заменителя питательной среды рекомендовано использовать фолликулярную жидкость, поскольку, как было показано, она стимулирует реакцию акросомы и улучшает результаты оплодотворения *in vitro* как ооцитов человека, так и ооцитов хомяка, лишенных зоны [18—20]. В одном исследовании не было обнаружено достоверных преимуществ использования фолликулярной жидкости вместо питательной среды [21], тогда как в других исследованиях отмечалось повышение частоты случаев наступления беременности в группах, где фолликулярную жидкость использовали в качестве среды, способствующей повышению функции сперматозоидов и транспортировки гамет [22, 23], по сравнению с группами, где были использованы традиционные растворы F-10 Ham или Earle [24].

9.3. Пересадка в маточные трубы зигот и эмбрионов в пронуклеарной стадии

В 1986 г. Devroe и соавт. описали случай наступления беременности в результате ПЗМТ, выполненной методом лапароскопии у одной пациентки с наличием антиспермальных антител [25, 26]. Разработка безопасной и эффективной процедуры трансвагинального забора ооцитов обеспечила возможность получения ооцитов амбулаторно, оплодотворения ооцитов *in vitro* и пересадки эмбрионов в стадии деления в маточные трубы с помощью той же методики, которая применяется при выполнении ПГМТ [27, 28].

Преимущество пересадки эмбрионов в пронуклеарной стадии (ПРОСТ) состоит в том, что они подвергаются минимальному воздействию лабораторных условий [29]. Кроме того, возможно осуществление трансцервикальной пересадки как гамет, так и зигот в маточную трубу, при условии отсутствия заболевания труб [30].

Список литературы

1. Kemerer, P. & Felchtinger, W. Pregnancy following *in-vitro* fertilization and embryo transfer using pure human serum as culture and transfer medium. *Fertility and sterility*, 41: 936—937 (1984).
2. Condon-Mahony, M. et al. Evaluation of human fetal cord sera, Ham's F-10 medium and *in-vitro* culture materials with a mouse *in vitro* fertilization system. *Fertility and sterility*, 44: 521—525 (1985).

3. Merezo, Y. et al. Serum is not necessary in human *in-vitro* fertilization, early embryo culture and transfer. *Fertility and sterility*, 42: 750—754 (1984).
4. Psatti, M. et al. Evaluation of synthetic serum substitute to replace fetal cord serum for human oocyte fertilization and embryo growth *in vitro*. *Fertility and sterility*, 52: 807—811 (1989).
5. Jones, H.W. Jr, et al. On the transfer of conceptuses from oocytes fertilized *in vitro*. *Fertility and sterility*, 39: 241—243 (1983).
6. Leeton, J. et al. The technique for human embryo transfer. *Fertility and sterility*, 38: 156—161 (1982).
7. Garcia, J. E. et al. Advanced endometrial maturation after ovulation induction with human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 41: 31—35 (1984).
8. Jones, H. W. Jr. Embryo transfer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 375—380 (1985).
9. Caspi, E. et al. Early, late, and sequential embryo transfer in *in-vitro* fertilization program: a preliminary report. *Fertility and sterility*, 52: 146—148 (1989).
10. Van Os, H. C. et al. The influence of the interval between *in-vitro* fertilization and embryo transfer and some other variables on treatment outcome. *Fertility and sterility*, 51: 360—362 (1989).
11. Trounson, A.O. Factors controlling normal embryo development and implantation of human oocytes fertilized *in vitro*. In: Beier, H. M. & Lindner, H. R., ed. *Fertilization of the human egg in vitro*. New York, Springer-Verlag, 1983, pp. 233—237.
12. Edwards, R. G. et al. Clinical aspects of pregnancies established with cleaving embryos grown *in vitro*. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 87: 757—768 (1980).
13. Strickler, R. C. Ultrasound guidance for human embryo transfer. *Fertility and sterility*, 43: 54—61 (1985).
14. Jansen, C. A. M. & Van Os, H. C. Value and limitations of vaginal ultrasonography — a review. *Human reproduction*, 4: 858—868 (1989).
15. Asch, R. H. et al. Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 1034—1035 (1984).
16. Asch, R. H. et al. Preliminary experiences with gamete intrafallopian transfer. *Fertility and sterility*, 45: 366—371 (1986).
17. Yee, B. et al. Gamete intrafallopian transfer: the effect of the number of eggs used and the depth of gamete placement on pregnancy initiation. *Fertility and sterility*, 52: 639—644 (1989).
18. Tesarik, J. Comparison of acrosome reaction-inducing activities of human cumulus oophorus, follicular fluid and ionophore A23187 in human sperm

- populations of proven fertilising ability *in-vitro*. *Journal of reproduction and fertility*, 74: 383—388 (1985).
19. **Suarez, S. S. et al.** Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. *Gamete research*, 14: 107—121 (1986).
 20. **Tuckets M.J. et al.** The use of human follicular fluid in gamete intrafallopian transfer. *Human reproduction*, 4: 931—936 (1989).
 21. **Menrio, J.S. & McGaughey, R.W.** An alternative to *in-vitro* fertilisation-embryo transfer: the successful transfer of human oocytes and spermatozoa to the distal oviduct. *Fertility and sterility*, 46: 644—652 (1986).
 22. **Vijayakumar, R.** GIFT: follicular fluid sperm capacitation and gamete transfer. In: *Proceedings of 44th Annual Meeting American Fertility Society*. 1988,. Abstract No. 20 (available from the American Fertility Society Birmingham, AL, USA).
 23. **Fakih, H. & Vijayakumar, R.** Improved pregnancy rates and outcome with gamete intrafallopian transfer when follicular fluid is used as a sperm capacitation and gamete transfer medium. *Fertility and sterility*, 53: 515—520 (1990).
 24. **Tucker, M. J. et al.** The use of human follicular fluid in gamete intra-fallopian transfer. *Human reproduction*, 4: 931—936 (1989).
 25. **Devroey, P. et al.** Pregnancy after translaparoscopic zygote intrafallopian transfer in a patient with sperm antibodies. *Lancet*, 1: 1329 (1986).
 26. **Devroey, P. et al.** Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility. *Fertility and sterility*, 52: 246—249 (1989).
 27. **Matson, P. L. et al.** The role of gamete intrafallopian transfer (GIFT) in the treatment of oligospermic infertility. *Fertility and sterility*, 48: 608—612 (1987).
 28. **Hanor, M. et al.** Zygote intrafallopian transfer (ZIFT) evaluation of 42 cases. *Fertility and sterility*, 50: 519—521 (1988).
 29. **Yovich, J. L. et al.** Pregnancies following pronuclear stage tubal transfer. *Fertility and sterility*, 48: 851—857 (1987).
 30. **Jansen, R. P. & Anderson, J. C.** Catheterisation of the fallopian tubes from the vagina. *Lancet*, 2: 309—310 (1987).

10. Результаты оплодотворения *in vitro*, пересадки эмбрионов и сопутствующих процедур

Точные результаты клинического применения всех существующих методов индуцированного зачатия недоступны, поскольку не во всех странах существуют общенациональ-

ные регистрационные системы; но даже в странах, имеющих подобные системы, информация предоставляется на основе принципа добровольности и поэтому, по-видимому, не может быть полной. Подобная неполнота отчетности, вероятно, искажает общую картину, поскольку непредставленные данные могут относиться к тем центрам, где получены плохие результаты. Более того, в различных странах приняты неодинаковые формы для сбора данных, что затрудняет сравнение результатов.

Результаты медицински индуцированного зачатия (за исключением искусственного осеменения) выражаются в следующих показателях:

- Частота беременностей на один цикл лечения, вычисляемая на основании количества наступивших “клинических” беременностей и количества циклов лечения.
- Частота беременностей на один цикл забора ооцитов, вычисляемая по количеству циклов, в течение которых предпринимались попытки забора ооцитов.
- Частота беременностей на один цикл пересадки, вычисляемая по количеству циклов, в течение которых производилась попытка пересадки эмбрионов.
- Число живорожденных на один цикл лечения.
- Число живорожденных на 100 циклов забора ооцитов [1 – 3].
- Число живорожденных на один цикл пересадки, т.е. отношение числа живорожденных к количеству циклов, в течение которых была произведена пересадка.

Необходимо безотлагательно внедрить стандартизованную терминологию для описания полученных результатов, с тем чтобы: 1) можно было сравнивать данные, получаемые из различных центров; 2) сделать доступной точную информацию, чтобы результаты не искажались из-за пользования неподходящими определениями.

Несмотря на то что в некоторых центрах существует практика объединения случаев “биохимических” и “клинических” беременностей при определении количества состоявшихся беременностей, следует оперировать только данными по “клиническим” беременностям, поскольку подобные данные имеют более высокую значимость для больных. Для выражения результатов не следует пользоваться показателями частоты беременностей на один цикл забора ооцитов, поскольку при этом исключаются “отме-

ненные" циклы. Это относится и к показателям частоты беременностей на один цикл пересадки, поскольку таким образом не учитываются те циклы лечения, в которых производились безуспешные попытки забора гамет или безуспешные попытки оплодотворения. Поэтому рекомендуется пользоваться следующими двумя определениями:

- *Частота беременностей на один цикл лечения*, которая должна включать все циклы лечения, независимо от забора гамет или оплодотворения.
- *Число живорожденных на один цикл лечения*, так называемая процентная доля "детей, унесенных домой".

10.1. Клинические результаты

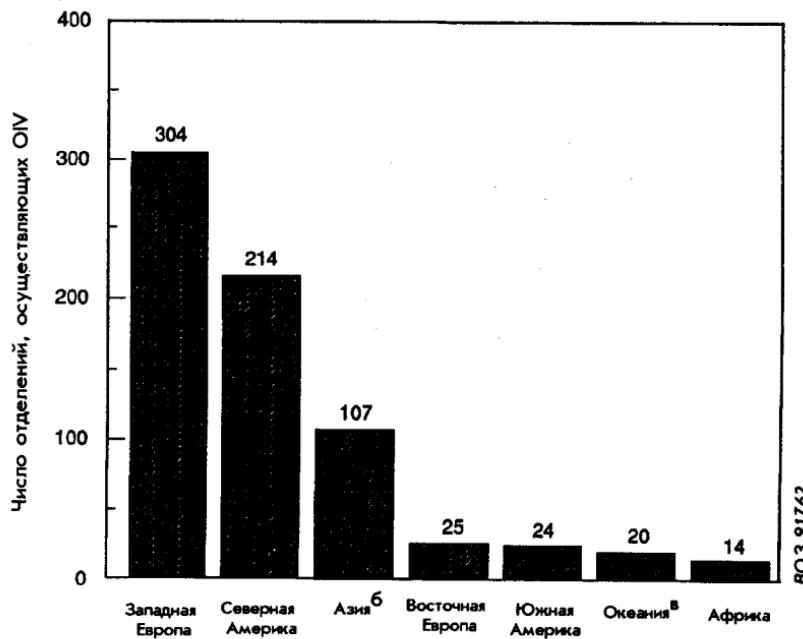
Согласно данным на 1989 г., в мире существовало 708 клинических отделений, занимающихся ОИВ, в 53 странах (рис. 5). При этом наиболее свежие опубликованные данные о клинических результатах относятся к 1987 г. [4]. Результаты анализа опубликованных данных по различным географическим регионам, охватывающего 286 центров, где осуществляется ОИВ (40 % от общего числа), включая центры в Африке, Америке, Австралии и Европе, где было выполнено 51 362 цикла лечения у более чем 30 000 женщин, приведены ниже на рис. 6 — 8. Частота беременностей на один цикл лечения составляла 11,6 %, а частота случаев рождения живых детей на один цикл лечения — 7,6 % (см. рис. 7). Частота беременностей на один цикл лечения варьировалась в зависимости от географического региона, от 8,1 % в Африке и Азии до 17,5 % в Великобритании [5 — 9].

10.2. Исход беременности

Рождение живых детей отмечалось только в 65 % от общего числа беременностей, наступивших в результате ОИВ. Такие факторы, как самопроизвольный аборт, внематочная беременность и многоглодная беременность способствовали прерыванию беременности на ранних и поздних сроках и повышению перинатальной смертности. Согласно оценкам, по меньшей мере в 73 % случаев естественного одноглодного зачатия беременность сохранялась не более 6 нед, а в остальных случаях только 90 % плодов выживают в течение полного срока беременности. Результаты зачатия методом ОИВ почти такие же хорошие, как и при естественно наступившей беременности, начиная с

Рис. 5

Число отделений, осуществляющих ОIV, с распределением по географическим регионам, 1989 г.^a



^a Источник: ссылки 4 — 9.

^b Китай (провинция Тайвань), Гонконг, Индонезия, Япония, Корейская Республика и Сингапур.

^b Австралия и Новая Зеландия.

того момента, когда беременность диагностирована клинически, однако частота случаев гибели эмбриона значительно выше в более раннем периоде, когда беременность клинически еще не диагностирована [10, 11].

10.2.1. Самопроизвольные аборты

Частота самопроизвольных абортов после естественного оплодотворения обычно определяется на уровне 10 % от общего числа беременностей [12]. Более высокая частота выкидышей отмечалась при наступлении беременности у женщин старше 40 лет, после того как у супружеской пары было проведено лечение по поводу бесплодия [13, 14]. Частота самопроизвольных абортов во время беременности, наступившей после индуцированной овуляции, составила 20 % в группе больных, получавших лечение кломи-

Рис. 6

Результаты ОИВ-ПЭ в отдельных странах (40 % отделений), 1987 г.^a

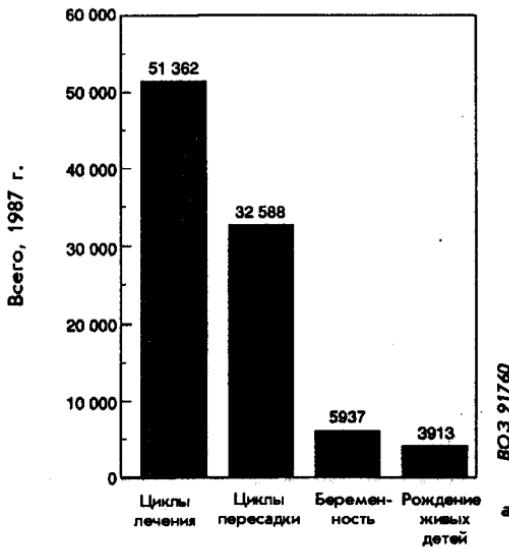
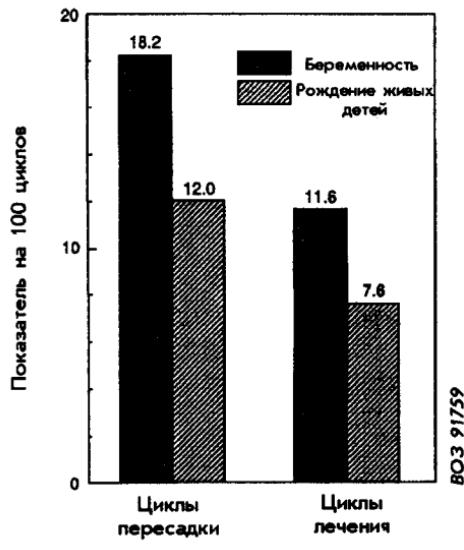


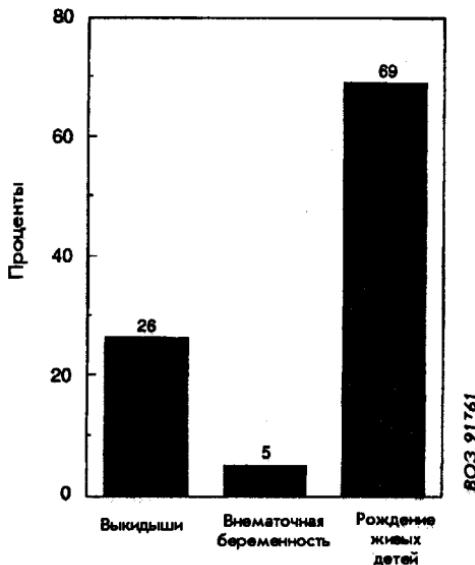
Рис. 7

Результаты ОИВ-ПЭ на один цикл пересадки/лечения в отдельных странах (40 % отделений), 1987 г.^a



^a Источник:
ссылки 4 — 9.

Рис. 8

Исход беременности после ОИВ-ПЭ, 1987 г.^a

^a Источник:
ссылки 4 — 9.

фенцитратом [15]; после индуцирования овуляции препаратами гонадотропина данный показатель составил 17—31 % [16]. В этих выборочных группах бесплодных больных, получавших лечение различными методами, на частоту выкидышей влияет то обстоятельство, что беременность диагностируется в течение нескольких первых дней после зачатия, тогда как частоту выкидышей в здоровых популяциях обычно определяют на основании данных, получаемых в сроки от 8 нед. Данные США за 1987 г. показывают, что из 1307 клинических беременностей, наступивших в результате ОИВ, 344 (26 %) закончились самопроизвольным абортом [7]. Судя по данным, полученным из 20 центров Австралии и Новой Зеландии за период 1979—1987 гг., частота выкидышей составила 24 % при беременности, наступившей в результате ОИВ-ПЭ (641 из 2624 беременностей) [8], а данные по всем странам мира за 1987 г. показывают частоту выкидышей после ОИВ-ПЭ на уровне 26 % (см. рис. 8). Более высокая частота самопроизвольных abortов при беременности, наступившей в результате ОИВ-ПЭ, может быть обусловлена следующими факторами:

- женщины данной группы, по-видимому, старше тех женщин, у которых наступает естественная беременность;

- у больных возможно наличие отягощенного гинекологического анамнеза;
- беременность наступает после индуцированной овуляции;
- налицо повышенный риск многоплодной беременности;
- беременность обычно диагностируется на очень ранних сроках.

В одном исследовании было проведено сравнение между исходами беременности в группе больных, у которых в анамнезе были отмечены выкидыши на очень ранних сроках (“биохимическая” беременность, которая не развивается до беременности “клинической”) после ОИУ, и двумя группами специально подобранных контрольных лиц (женщины, у которых в анамнезе была беременность с нормальным сроком развития, и женщины, подобранные независимо от исхода предыдущей беременности) [17]. Частота выкидышей на одну пересадку эмбриона (выкидыш, общая частота выкидышей и прерванных беременностей) в исследуемой группе была достоверно выше, а частота непрерванных беременностей значительно ниже, чем в двух контрольных группах. Между частотой случаев выкидыща и такими показателями, как возраст матери, тип стимуляции овуляции или количество пересаженных эмбрионов, не отмечалось никакой корреляции. Общая частота выкидышей в данной серии была 11,6 %, однако в другой серии этот показатель составил 3,8 % [18]. Различное качество используемой питательной среды было предложено в качестве фактора, который способствовал повышению частоты выкидышей на ранних сроках [19].

Частоту самопроизвольных абортов в группе 430 женщин, у которых производилось медицински индуцированное зачатие (за исключением искусственного осеменения), сравнивали с данными, полученными в других исследованиях [20]. В качестве индикаторов наступившей беременности использовали концентрацию ХГч в сыворотке крови на уровне ≥ 25 МЕ/л спустя 16 дней после разрыва фолликула, обнаружение плодного яйца при ультразвуковом исследовании спустя 28 дней, и сердцебиения плода, выявляемые спустя 35 дней после разрыва фолликула. В 6 % общего числа случаев наступления беременности на 28-й день обнаруживалась внemаточная беременность. Среди остальных 404 беременностей 23 % закончились

самопроизвольным абортом. К 28-му дню у 270 женщин при ультразвуковом исследовании визуализировалось плодное яйцо, причем 13 % этих беременностей закончились самопроизвольным абортом. Среди 330 женщин, у которых определяли сердцебиения плода, в 3,6 % случаев беременность закончилась самопроизвольным абортом, что соответствует показателю 3,7 % при естественном зачатии. В результате изучения данных литературы, которые объединяли 4604 случая естественного зачатия, 1700 случаев зачатия методом ОИВ и 406 случаев зачатия методом ПГМТ, было выявлено отсутствие различий в частоте самопроизвольных абортов после ОИВ и естественного зачатия, а также после ПГМТ и естественного зачатия, однако данный показатель в случаях ПГМТ был выше, чем в случаях ОИВ. Доверительный предел 95 % в отношении показателей частоты самопроизвольных абортов через 5 нед после разрыва фолликула или через 7 нед, считая с первого дня последней менструации, был следующим: естественное зачатие: 7,4 — 26,1 %; ОИВ: 6,2 — 20,0 %; ПГМТ: 10,2 — 43,3 %. Однако мы пока не имеем опубликованных результатов исследований, где проводилось бы сравнение со специально подобранными госпитализированными контрольными группами.

10.2.2. Внематочная беременность

Внематочная беременность — одно из основных осложнений, наблюдаемых после ОИВ-ПЭ. Первый описанный в литературе случай беременности, наступившей в результате ОИВ-ПЭ в 1976 г., представлял собой внематочную беременность [21]. Частота случаев внематочной беременности, согласно материалам III Всемирного Конгресса по проблемам ОИВ и ПЭ, который состоялся в 1984 г. в Хельсинки, составила 1,8 % от общего числа 1084 беременностей [22]. В объединенном исследовании на материале 2342 беременностей за период 1979 — 1984 гг. данный показатель составил 5,2 % [23]. Сведения по всему миру за 1987 г. показывают, что частота случаев внематочной беременности составила около 5 %, т.е. намного выше, чем 1 % после естественного зачатия [5 — 9].

Одновременное развитие внематочной и внутриматочной беременности было признано как потенциально грозное осложнение ОИВ-ПЭ и других подобных процедур. В литературе есть описания подобных случаев, наблюдавшихся

после стимуляции овуляции кломифеном и после курса лечения гонадотропином [24], а также после ОИВ-ПЭ [25—27] и ПГМТ [28]. В одном исследовании частота случаев составила 2,9 % от общего числа клинических беременностей [29]. В других сообщениях данный показатель был в интервале от 1/4112 (0,02 %) до 1/2600 (0,04 %) [29]. Частота данного осложнения зависит от типа больных, у которых осуществляется медицински индуцированное зачатие; этот показатель значительно выше в центрах, которые специализируются на лечении больных с заболеваниями маточных труб [29].

Возможный риск развития внематочной беременности необходимо обсудить с больной во время консультации до того, как будет предпринята попытка медицински индуцированного зачатия. После индуцированного зачатия больным следует настоятельно рекомендовать тщательное наблюдение на ранних стадиях беременности в хорошо оснащенном медицинском учреждении, где имеется квалифицированный персонал, ввиду высокой частоты осложнений и летальности, связанных с внематочной беременностью.

10.2.3. Многоплодная беременность

Многоплодную беременность следует рассматривать как осложнение ОИВ-ПЭ и других подобных процедур, поскольку данный тип беременности нередко связан с развитием осложнений у матери и повышенной частотой случаев прерывания беременности. К последним относятся ранние и поздние выкидыши, мертворождение и повышенная перинатальная смертность и частота осложнений, главным образом в результате преждевременных родов. Во многих отделениях, где осуществляется ОИВ, единовременно пересаживают до четырех эмбрионов, тогда как в других максимальное количество составляет три эмбриона [5—9]. Исследование данных по всему миру, завершенное в 1987 г., показало, что частота многоплодной беременности после ОИВ-ПЭ или ПГМТ составляет 24,2 % [5—9]. Согласно данным общенациональных систем учета Австралии и Франции, в этих странах отмечается повышенная перинатальная смертность в случаях многоплодной беременности. В Австралии показатель перинатальной смертности составил 30,4 на 1000 родов при одноплодной беременности против 65 на 1000 многоплод-

ных родов после ОИВ-ПЭ или ПГМТ [8]. В 1987 г. во Франции перинатальная смертность составила 16,9 на 1000 родов при одноплодной беременности после ОИВ-ПЭ или ПГМТ, 20 на 1000 случаев рождения двойни и 70,7 на 1000 случаев рождения тройни [6]. Многоплодная беременность чаще развивается после ПГМТ, чем после ОИВ (38 % против 22 %) [30]. В США частота двуплодных беременностей после ОИВ-ПЭ или ПГМТ составляла 19,9 и 21,5 % соответственно за 1987 и 1988 гг., а общая частота многоплодной беременности составляла соответственно 23,7 и 25,4 % [2, 7, 31].

В некоторых центрах принята практика селективного уменьшения количества плодов при высокой степени многоплодия [32 – 34], хотя подобная практика может побудить женщин обращаться с просьбами удалить один плод при двуплодной беременности или выбрать для этой цели плод определенного пола, со всеми возникающими в данной связи моральными, правовыми и этическими проблемами [35].

10.3. Перинатальная смертность и преждевременное родоразрешение

Показатели перинатальной смертности неодинаковы в различных системах учета результатов ОИВ, возможно, из-за пользования различными определениями. Данные по ОИВ в Австралии показывают, что в этой стране перинатальная смертность составляет 42 случая на 1000, тогда как во Франции — 23 на 1000 [6, 8]. Даже после корректировки показателей по частоте многоплодной беременности и другим факторам частота преждевременных родов после ОИВ-ПЭ и других подобных процедур примерно вдвое превышает средний показатель по данной стране [30].

10.4. Способ родоразрешения

Частота случаев кесарева сечения после ОИВ-ПЭ и ПГМТ выше, чем в популяции, причем это обусловлено главным образом частотой случаев многоплодной беременности. Частота случаев кесарева сечения в Великобритании в период с 1978 по 1987 г. составляла 42 % [30], а отчеты по Австралии демонстрируют, что данный показатель достоверно не изменился на протяжении последнего десятилетия [8].

10.5. Масса тела при рождении

Было выражено некоторое беспокойство по поводу того, что масса тела новорожденных, появившихся на свет после ОИВ, ниже, чем в популяции. Согласно данным системы учета Австралии, 30 % подобных детей весили 2500 г или меньше [36]. В Великобритании 32 % детей, рожденных после ОИВ, весили менее 2500 г, тогда как данный показатель для всех детей, рожденных в Англии и Уэльсе, составил 7 % [30]. После раздельного изучения показателей массы тела детей, рожденных в результате одноплодной беременности, и близнецов оказалось, что масса тела в первом случае была достоверно ниже, чем масса тела всех детей, рожденных в результате одноплодной беременности на территории Англии и Уэльса в течение того же десятилетия. Различий между группами ОИВ и ПГМТ по показателям массы тела при рождении не отмечалось. Данные, полученные из небольших центров, показывают значительно меньшую частоту случаев рождения детей с низкой массой тела [37].

10.6. Соотношение по признаку пола

Соотношение показателей числа детей мужского и женского пола в серии 1581 ребенка, рожденного после ОИВ или ПГМТ, в период с 1978 по 1987 г. в Великобритании, было 1,07:1, т.е. не отличалось от общестатистического показателя для данной страны [30].

10.7. Хромосомные нарушения и врожденные пороки развития

Хромосомные нарушения представляют собой основную причину гибели эмбрионов в период до имплантации и в процессе имплантации. Из общего количества эмбрионов в период до их имплантации, появившихся в результате ОИВ, у 25 – 30 % обнаруживались хромосомные нарушения [38]. Согласно сообщениям в литературе, подобные нарушения имеются у 62 % эмбрионов/плодов, погибших в результате самопроизвольного аборта после ОИВ [39], что соответствует показателю частоты выкидышей после естественного зачатия (60 %) [40]. Более высокая частота хромосомных нарушений отмечалась в случаях

выкидыша у женщин после индуцированной овуляции [41], однако не было выявлено никаких различий между группами, получавшими лечение кломифеном и МГч или ГнВГ и МГч. По-видимому, повышенная частота самопроизвольных абортов после ОIV является в большей степени результатом действия материнских факторов, чем нарушений мейоза или митоза [39]. Частота врожденных пороков развития у детей, рожденных после ОIV-ПЭ, не превышает данный показатель после естественного зачатия [5 — 9].

Данные систем учета Австралии и Новой Зеландии за 1979 — 1987 гг. показывают, что частота тяжелых врожденных пороков развития в случаях родов, наступивших после одноплодной или многоплодной беременности в результате ОIV сроком не менее 20 нед, составляла 2,2 % (56 от общего числа 2543 родов). Данный показатель был выше при одноплодной беременности по сравнению с многоплодной (соответственно 2,6 и 1,6 %). При этом число детей с двумя видами пороков — *spina bifida* и транспозицией магистральных сосудов — было выше ожидаемого [8]. Данные реестра США за 1985 — 1987 гг. показывают частоту врожденных пороков развития на уровне 2,3 % [9], тогда как в Азии и Африке данный показатель составил 1,5 % [9]. Согласно данным системы учета Франции за 1986 г., частота подобных пороков развития составила 3,4 % в группе 580 детей; соответствующий показатель за 1987 г. составил 2,4 % в группе 1079 детей. В группе 329 детей, рожденных после применения методики глубокого замораживания, у троих отмечались врожденные пороки развития [42]. В некоторых сообщениях приведены данные о повышенной частоте дефектов нервной трубки в случаях рождения живых детей после индуцирования овуляции кломифеном, ОIV и ПГМТ, однако неясно, является ли подобная взаимосвязь истинной или ложной [43 — 45]. В Великобритании в течение первой недели жизни у 2,2 % в группе из 1581 ребенка, рожденного после ОIV, отмечалось наличие одного или более тяжелых пороков развития (2,0 % одноплодных беременностей и 2,5 % многоплодных беременностей). Общее количество наблюдавшихся пороков развития не выходило за пределы показателей, отмечаемых при родах в результате естественного зачатия [30].

10.8. Факторы, влияющие на частоту успешных исходов

10.8.1. Показания к ОИВ

Наилучшие результаты ОИВ-ПЭ отмечаются в случаях, когда единственной причиной бесплодия являются заболевания маточных труб или спаечный процесс в малом тазу. В случаях серьезных аномалий труб, наличия водянки труб или отсутствия бахромок частота случаев наступления беременности после микрохирургического вмешательства составляет всего 15 — 20 %. Поэтому в подобных случаях первичным методом лечения является ОИВ-ПЭ [46]. ОИВ менее успешно, если бесплодие обусловлено олигоспермией и/или астенооспермией и/или тератоспермией [47]. В случаях эндометриоза I—II степени следует рассмотреть возможность ОИВ или ПГМТ, если зачатие невозможно после курса консервативной терапии. В случаях бесплодия, обусловленного иммунологическими факторами, частота случаев успешного оплодотворения и наступления беременности ниже, чем при бесплодии, обусловленном факторами неиммунологического характера [48].

В рандомизированном контролльном исследовании, где проводилось сравнение эффективности ПГМТ и ОИВ-ПЭ в лечении бесплодия неясного генеза и олигоспермии (менее 20×10^6 сперматозоидов на 1 мл) не было обнаружено никаких достоверных различий по частоте случаев беременности ни между двумя указанными диагностическими группами, ни между двумя методиками лечения [49]. В случаях бесплодия неясного генеза, когда осуществляется лечение методом ОИВ, частота случаев успешного оплодотворения ниже, чем в группе больных с заболеваниями маточных труб, однако частота случаев успешной имплантации и развития беременности такая же [50, 51]. В серии 76 женщин, где общим диагнозом супружеской пары было бесплодие неясного генеза, проводилось лечение по одной из трех схем: а) чистый ФСГ в сочетании с МГч и ХГч; б) а-ГнВГ с последующим лечением по схеме (а); в) лечение по схеме (а), а затем один цикл лечения (б). Применение а-ГнВГ позволило повысить частоту случаев наступления беременности до 26,7 %, что обеспечивает положительное сравнение с показателями частоты случаев наступления беременности в результате ОИВ-ПЭ, выполненного по другим показаниям [52].

10.8.2. Возраст женщины

Частота беременностей, в особенности частота случаев рождения живых детей, ниже у женщин в возрасте старше 40 лет [7]. Более низкая частота случаев рождения живых детей у женщин, которые в момент оплодотворения были в возрасте 30 лет или старше, объяснялась более высокой частотой самопроизвольных абортов в старшей возрастной группе [53, 54]. Одна группа исследователей рекомендует пересаживать женщинам в возрасте 40 лет и старше одиннадцать или более ооцитов методом ПГМТ, чтобы обеспечить частоту беременностей на уровне 19,2 %, тогда как при пересадке от одного до четырех ооцитов данный показатель составлял 12,5 % [55]. В серии 613 супружеских пар, которые наблюдались в одном исследовании метода ОИУ, было обнаружено, что наиболее важными прогностическими факторами являются возраст женщины, частота случаев наступления беременности, которая начинает линейно снижаться после 25-летнего возраста, и предпринятые ранее попытки оплодотворения, которые оказались неудачными из-за аномалий спермиев [56].

10.8.3. Тип стимуляции овуляции

Наиболее распространенными схемами лечения с целью стимуляции яичников вплоть до 1985 — 1986 гг. были МГч-ХГч и кломифен-МГч-ХГч, тогда как в последнее время все большую популярность приобретают комбинированные схемы ФСГ-МГч-ХГч, а-ГнВГ-МГч-ХГч и а-ГнВГ-ФСГ-ХГч. Поэтому трудно сравнивать показатели частоты случаев беременности, наступившей в результате применения различных типов стимуляции овуляции, подобное сравнение, по-видимому, неправомерно, не только потому, что в различных центрах предпочтение может быть отдано различным схемам лечения, но и потому, что в различные периоды времени могут применяться различные схемы. Кроме того, больные показывают неодинаковые ответные реакции на стимуляцию, что видно по уровням эстрadiола в сыворотке крови и количеству получаемых ооцитов, поэтому ни один метод стимуляции нельзя считать оптимальным. Результаты, полученные во Франции в 1988 г. [56], показали, что долгосрочные схемы лечения а-ГнВГ обеспечивают более высокую частоту случаев наступления беременности, чем краткосрочные схемы лечения этим же препаратом. Добавочное назначе-

ние гормона роста, помимо гонадотропинов, может обеспечить новый подход к осуществлению стимуляции овуляции, особенно у женщин, которые слабо реагируют на традиционные схемы лечения [57, 58].

У больных со слабой ответственной реакцией на стимуляцию овуляции отмечается более высокая частота "отмененных" циклов в процессе последующего лечения, при этом у них получают методом аспирации меньшее количество фолликулов, а также забирают меньшее количество ооцитов [54, 59]. В данной группе больных были получены улучшенные показатели наступления беременности при проведении стимуляции овуляции с помощью схем лечения, включающих а-ГнВГ [60, 61].

10.8.4. Качество эмбрионов

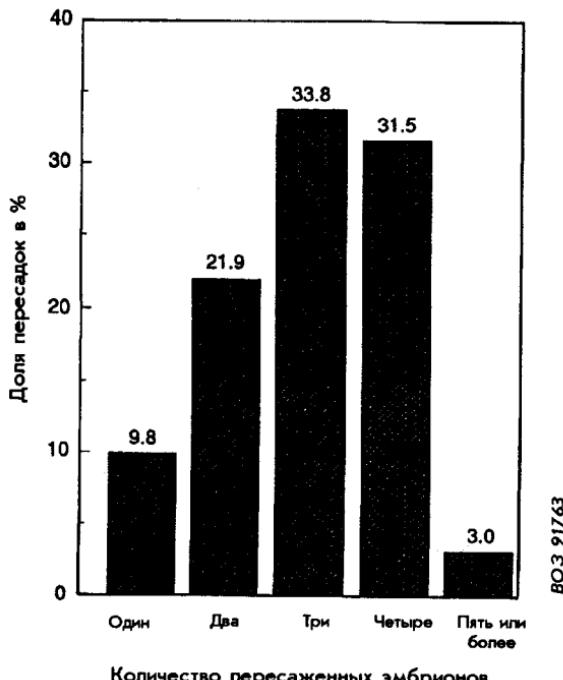
Особенности развития эмбриона влияют на частоту случаев беременности, наступающей в результате ОИВ-ПЭ. Качество эмбриона может зависеть от действия целого ряда факторов: качества гамет, определяемого по их морфологическому внешнему виду [62 – 64], сроков осеменения [65], условий культивирования [66, 67] и сроков оплодотворения [68]. Беременность наступала при пересадке эмбрионов на второй, третьей, четвертой или еще более высокой стадии деления клеток. Оптимальная стадия развития эмбриона человека для пересадки в матку — стадия 2 — 4 клеток, как принято в некоторых центрах [69], или стадия 4 — 8 клеток, рекомендуемая другими центрами [70]. Следует отметить, что при пересадке эмбрионов, которые были подвергнуты замораживанию, наблюдается более низкая частота случаев наступления беременности.

10.8.5. Количество пересаживаемых эмбрионов

Взаимосвязь между количеством пересаживаемых эмбрионов (рис.9) и частотой случаев наступления беременности, а также частотой многоплодной беременности была в течение нескольких последних лет предметом споров. В некоторых центрах был отмечен достоверный общий линейный рост частоты беременностей при возрастании количества эмбрионов. Ввиду возрастающей вероятности развития многоплодия при повышении количества пересаживаемых эмбрионов, а также повышения частоты осложнений и летальности у матери и новорожденного, во

Рис. 9

Количество пересаженных эмбрионов, все случаи беременности (1979 — 1987 гг.).



многих центрах количество пересаживаемых эмбрионов ограничивается тремя эмбрионами. Согласно данным системы учета Австралии по "клиническим" беременностям за 1979 — 1987 гг., частота случаев рождения живых детей составляла 64,5 % после пересадки одного эмбриона, 69,5 % после пересадки двух, 68,7 % после пересадки трех, 71,2 % после пересадки четырех и 56,5 % после пересадки пяти эмбрионов [8]. В серии, включавшей 613 супружеских пар, у которых было проведено 716 циклов лечения методом ОИВ-ПЭ, частота случаев наступления беременности на одну пересадку эмбрионов составила 9 % при пересадке одного эмбриона, 14 % при пересадке двух, 18 % при пересадке трех и 17,5 % при пересадке четырех эмбрионов [55].

10.8.6. Число попыток ОИВ

Частота случаев наступления "клинической" беременности остается постоянной вплоть до седьмой попытки, при

условии успешной пересадки эмбриона, а затем начинает снижаться [13, 71].

10.8.7. Имплантация

Отмечается значительная разница между обычно наблюдаемой частотой случаев успешного оплодотворения (70 — 90 %) и частотой случаев наступающей затем беременности, которая составляет примерно 20 %; эта разница объяснялась отсутствием оптимальной гормональной среды в момент имплантации [11, 72, 73]. Вероятность имплантации после ОИВ-ПЭ составляет около 20 %. Успех имплантации зависит как от состава внутренней среды матки, так и от "качества" эмбриона. Роль матки в успехе имплантации оценить трудно, однако считается, что на нее влияют следующие факторы:

- Патологические изменения в полости матки: врожденные аномалии, миомы, аденомиоз, туберкулез и другие инфекции, а также синехии;
- Эндокринологические факторы:
 - синхронное развитие эмбриона и подготовка эндометрия к имплантации: "окно имплантации" [74 — 78];
 - адекватная эндокринная функция в лuteиновой фазе [79];
 - секреция биологически активных веществ, необходимых для роста эмбриона.

В настоящее время невозможно оценить и качественно измерить степень участия маточных факторов как в наступлении беременности, так и в нормальном развитии эмбриона и плода.

10.8.8. Лечение в лутеиновой фазе

Как упоминалось выше, на успех имплантации после ОИВ может влиять несовпадение по времени изменений, происходящих в эндометрии, и степени зрелости эмбриона в тот момент, когда последний помещают в полость матки [74 — 78]. Эмбрионы помещают в полость матки через 36 — 48 ч после аспирации фолликулов, тогда как ооциты, оплодотворенные *in vivo*, имплантируются через 5 — 7 дней после овуляции [80]. Медикаментозная стимуляция функции яичников может вызвать стойкое повышение уровней эстрадиола [81], при этом имеются данные о

том, что колебания уровней гормонов в лuteиновой фазе, в циклах, когда осуществляется ОIV, изменены [82]. Поэтому было высказано мнение, что прерыванию беременности на ранних сроках может до некоторой степени способствовать нарушение функции желтого тела [83]. В одном исследовании [84] было показано, что хорионический гонадотропин (10 000 МЕ через пять дней после овуляторной дозы) корректирует в середине лuteиновой фазы наблюдаемое снижение уровней экстрадиола и прогестерона в плазме крови и обеспечивает статистически достоверное повышение частоты случаев успешного наступления беременности, однако результаты двух других исследований не подтвердили подобных выводов [85, 86].

Другие исследователи пробовали дополнительно вводить прогестерон в лuteиновой фазе. Если одни авторы утверждают, что благодаря этому повышается частота случаев наступления беременности [87], другим не удалось получить таких же результатов [88]. Более высокая частота случаев наступления беременности была также отмечена после введения прогестерона за 33 — 34 ч до аспирации фолликулов [89], однако другая группа исследователей не подтвердила подобных данных [90].

Следует отметить, что в указанных исследованиях назначаемые препараты прогестерона были различны по дозировке, форме применения и фармакологическому составу и, следовательно, различались по биологической доступности. Необходимы дальнейшие исследования с целью сравнения эффективности биологически эквивалентных препаратов прогестерона в фолликулярной и лuteиновой фазах цикла, а также сравнение схем лечения ХГч, предусматривающих назначение гормона в различных дозировках.

10.8.9. Мужские факторы

Метод ОIV-ПЭ применялся в лечении мужского бесплодия любого происхождения, за исключением, разумеется, идиопатической азооспермии [51, 91 — 93].

Низкая концентрация сперматозоидов в семенной жидкости нередко бывает связана с повышенной частотой различных аномалий и/или сниженной подвижностью сперматозоидов. ОIV с использованием аномальной спер-

мы сопряжена с более низкой частотой случаев успешного оплодотворения и наступления беременности, чем при использовании сперматозоидов с нормальной подвижностью и морфологической структурой [94, 95]. В случаях, когда при осеменении *in vitro* более 14 — 16 % сперматозоидов не имеют отклонений от нормы, вероятность оплодотворения выше 87 % [47, 96]. В одном исследовании в случаях, когда более 14 % сперматозоидов были морфологически нормальными, частота беременностей на один цикл составляла 39 — 41 %; в других случаях, когда доля нормальных сперматозоидов была менее 14 %, соответствующий показатель составил всего 24 — 25 % [47]. Если доля морфологически нормальных сперматозоидов ниже 4 %, частоту случаев успешного оплодотворения можно повысить с 64 до 90 % путем повышения концентрации спермы, используемой для осеменения *in vitro*, в 10 раз до уровня 500 000 сперматозоидов на 1 мл на 1 ооцит, однако частота случаев наступления беременности при этом повышается всего лишь от 0 до 6,3 %. По-видимому, разница в показателях частоты случаев оплодотворения ооцитов почти незаметна, независимо от того, составляет ли доля сперматозоидов, обладающих поступательной подвижностью, 10 — 20 % или 31 — 40 % [47]. Показатели частоты случаев успешного оплодотворения для двух указанных групп в одной серии составили соответственно 69 и 73 %, что все же ниже показателей, получаемых при использовании нормальной спермы, и частота последующих беременностей на одну пересадку эмбрионов также была ниже [47].

Плотность спермы и общую концентрацию сперматозоидов следует определять с учетом их морфологических характеристик и подвижности, однако вообще считается, что прогноз вероятности деторождения плохой при концентрации спермы ниже 10×10^6 на 1 мл или когда концентрация спермы в подвижной фракции спермы ниже $1,5 \times 10^6$ на 1 мл [47, 97 — 99]. Одна группа исследователей не нашла четкой корреляции между концентрацией спермы и частотой случаев оплодотворения; морфологические характеристики и подвижность сперматозоидов были теми факторами, которые обеспечивали наиболее точный прогноз успешного оплодотворения. Частота случаев оплодотворения заметно снижалась в случаях, когда пропорциональная доля сперматозоидов, обладающих поступательной подвижностью и имеющих нормальные морфологи-

ческие характеристики, уменьшалась до уровня ниже 20 %. Анализ компьютеризированного изображения, по-видимому, не обладает большей прогностической ценностью, чем традиционный анализ свойств семенной жидкости [106]. Результаты других исследований показали, что морфологические характеристики сперматозоидов обеспечивают наиболее точный прогноз успешного исхода ОИВ [95, 106 – 108]. Если процентная доля сперматозоидов, обладающих нормальными морфологическими характеристиками и подвижностью, составляет 14 % или выше, частота случаев успешного оплодотворения значительно не снижается [107, 109]. В группе больных, где анализ семенной жидкости выявляет наличие единичного дефекта (количество, подвижность или структура сперматозоидов), прогноз лучше, чем в группах, где обнаруживаются одновременно два дефекта или более [100].

Иммунологические факторы, связанные с мужским бесплодием, включают наличие агглютинирующих и иммобилизирующих антиспермальных антител. Когда для культивирования ооцитов, взятых у женщин с наличием антиспермальных антител, используется сыворотка плодного канатика, частота случаев беременности, наступающей после ОИВ, не отличается от данного показателя у женщин, не имеющих подобных антител [101]. Когда антиспермальные антитела обнаруживали у мужчины, частота случаев беременности, наступающей после ОИВ, достигала, согласно литературе, 44 % на один цикл, в котором происходила пересадка [102], 6 % на один цикл лечения [54] и 53 % на одного пациента, 34 % на один цикл и 38 % на одну пересадку [47].

При врожденном отсутствии семявыносящего протока и возникающей вследствие этого обструктивной азооспермии лечение состояло в создании резервуара методом алопластики или аспирации спермы с целью получения сперматозоидов из эпидидимиса для последующего использования их для целей ОИВ [103 – 105].

10.8.10. Сохранение эмбрионов методом глубокого замораживания (криопрезервация)

Как отмечалось выше, во многих центрах с целью снижения частоты многоплодия и особенно случаев высокой степени многоплодной беременности количество переса-

живаемых эмбрионов, независимо от срока осуществления данной процедуры, ограничивается тремя или четырьмя. Остальные эмбрионы можно сохранить методом глубокого замораживания для последующей пересадки в самопроизвольных или стимулированных циклах или использования в качестве донорского материала. Применяемые в настоящее время методики стимулирования овуляции приводят к развитию и получению множественных ооцитов, количество которых нередко превышает фактические потребности одной больной в конкретном цикле. Следует заметить, что результаты пересадки эмбрионов, подвергнутых замораживанию, хуже результатов, наблюдаемых после рутинных ОГВ-ПЭ, во-первых, из-за воздействия глубокого замораживания и, во-вторых, поскольку при этом, как правило, пересаживают меньшее количество эмбрионов.

Замораживание эмбрионов человека стало рутинной процедурой во многих центрах, где осуществляется ОГВ. Данные по 106 центрам были представлены в 1989 г. на Всемирном конгрессе по проблемам оплодотворения *in vitro* и альтернативным методам индуцированной репродукции: глубокому замораживанию были подвергнуты 30 850 эмбрионов, из них 18 322 были разморожены и 10 290 (56,2 %) расценены как пригодные для пересадки. Всего был пересажен 6441 эмбрион, отмечались 632 клинические беременности (9,8 %), родилось 329 детей, при этом отмечалось 220 текущих беременностей; 19 % беременностей окончились выкидышем [42]. Мнения до сих пор противоречивы в отношении стадии зрелости эмбриона человека, оптимальной для глубокого замораживания, а также оптимального криозащитного вещества (см. раздел 8.4); до сих пор не существует надежного, простого и дешевого метода [110]. В некоторых центрах производится глубокое замораживание эмбрионов на стадии бластоцисты, в других — на стадии восьми клеток, а в ряде центров данным методом сохраняют даже ооциты в пронуклеарной стадии [111]. Lassalle и соавт. [112] не обнаружили никаких различий между стандартно применяемыми криозащитными веществами по показателям выживаемости эмбрионов. Согласно данным литературы, существует корреляция между выживаемостью эмбрионов и морфологическими характеристиками, однако беременность наступала даже в тех случаях, когда после размораживания оставалось менее половины неповрежденных бластомеров [113].

Судя по объединенным данным по США, в 1987 г. сохранению методом глубокого замораживания было подвергнуто 7397 эмбрионов и ооцитов, взятых у 2085 больных. В центрах, где было пересажено наименьшее количество эмбрионов на одну беременность, более 150 пересаженных эмбрионов подвергались глубокому замораживанию с применением в качестве криозащитного вещества 1,2-пропандиола. Всего размораживанию было подвергнуто 127 ооцитов, однако частота случаев успешного оплодотворения была низкой (17,3 %), как и частота случаев деления и пересадки (36,4 %), причем беременность не наступала [114].

Срок хранения в жидким азоте, по-видимому, не влияет на выживаемость или жизнеспособность эмбрионов; отмечались случаи наступления беременности после пересадки эмбрионов, которые хранили в течение срока до 21 мес [115, 116].

10.9. Использование донорских яйцеклеток и сопряженные процедуры

10.9.1. Использование донорских яйцеклеток

Использование донорских яйцеклеток рекомендуется при целом ряде клинических состояний, и особенно в случаях недостаточности функции яичников. По законодательным и этическим причинам практика использования донорских яйцеклеток распространена далеко не во всех странах. Частота случаев наступления беременности при использовании донорских яйцеклеток выше, чем при использовании других вспомогательных методик содействия зачатию, и составляет 20 — 36 % [117]; возможно, причиной является получение ооцитов от женщин с доказанной способностью к деторождению.

10.9.2. Использование донорских эмбрионов

Показания к использованию донорских эмбрионов включают бесплодие как мужчины, так и женщины, повторное прерывание беременности на ранних сроках, включая неоднократные неудачи при медицински индуцированном зачатии. Донорские эмбрионы используются только в 10 странах, данные по всему миру отсутствуют. Очевидно, что правовые и этические проблемы, возникающие в

связи с использованием донорских эмбрионов, намного серьезнее, чем при использовании донорской спермы или ооцитов.

10.9.3. Пересадка гамет в маточные трубы

Методы МГМТ (см. также раздел 9.2) был впервые описан Asch и соавт. в 1984 г. и с тех пор приобрел значительную популярность [118–124]. Существует утверждение, что метод ПГМТ более физиологичен, чем ОIV, поскольку оплодотворение происходит *in vivo*, и данная процедура может оказаться приемлемой для противников ОIV по религиозным или другим соображениям. Кроме того, при данной методике отсутствует необходимость культивирования гамет и эмбрионов и пересадки эмбрионов, т.е. процедур, которые являются компонентами ОIV. Недостатками ПГМТ являются ограничение его применения группами женщин, у которых устья маточных труб легко визуализируются при лапароскопии или минилапаротомии [49], необходимость одновременной подготовки сперматозоидов и лапароскопического забора ооцитов и более длительная процедура оперативного вмешательства, чем при ОIV [124]. Наиболее типичными показаниями к применению ПГМТ являются бесплодие неясного генеза [49, 125], эндометриоз [124–126], иммунологические факторы [49, 101, 126, 127] и олигоспермия [124, 125, 128, 129]. Данную процедуру осуществляли с использованием донорских ооцитов в случаях преждевременно наступающей недостаточности яичников [130] и после неудачного искусственного осеменения семенной жидкостью донора [126, 131]. У кандидатов на ПГМТ должна быть налицо хотя бы одна проходимая маточная труба, которая выглядит анатомически и функционально нормальной.

Методика предусматривает следующие этапы: стимуляция овуляции, подготовка сперматозоидов, забор ооцитов и пересадка гамет методом лапароскопии (см. раздел 9.2). В большинстве центров производится пересадка в одну трубу не более двух ооцитов [5, 7]. Несмотря на то что частота случаев наступления беременности может быть выше при пересадке трех или более ооцитов [132], при этом возрастает вероятность многоплодия [133]. Пересадка большего количества ооцитов была рекомендована бесплодным женщинам старшей возрастной группы; в этих случаях, согласно литературе, беременность наступает в

два раза чаще у женщин, которым пересаживают 11 или более ооцитов, по сравнению с теми, кому производят пересадку от одного до четырех ооцитов [134].

Частота беременностей на один цикл лечения при применении метода ПГМТ одинакова в различных центрах и составляет около 25 %; частота случаев самопроизвольных абортов — около 24 %; частота эктопических беременностей — 4 — 6 %; а частота многоплодия такая же, как при ОИВ, когда пересаживают до четырех ооцитов [5 — 8].

10.9.4. Прочие методы

Процедуры, сходные с методом ПГМТ, включают пересадку зигот в маточные трубы (ПЗМТ) по поводу бесплодия неясного генеза (согласно сообщениям в литературе, частота беременностей при этом методе составляет 48 %; тогда как данный показатель составляет 22 % при ОИВ-ПЭ и 30 % при ПГМТ [135], мужского бесплодия [102] и бесплодия иммунологического происхождения [136]. Методы пересадки в пронуклеарной стадии (ПРОСТ) [137, 138], пересадка эмбрионов в трубы [139] и пересадка в трубы яйцеклеток с поздним внутриматочным осеменением (FREDI) [140] имеют более ограниченную область применения, а результаты исследований, опубликованные в литературе, недостаточны для того, чтобы можно было сделать четкие выводы об их относительных достоинствах.

Список литературы

1. Saunders, D. M. & Lancaster, P. A. L. Pregnancy rates and perinatal outcome after IVF and GIFT in Australia and New Zealand. In: Maschiach, Z. et al., ed. *Advances in assisted reproductive technologies*. New York, Plenum Press, 1990, pp.4—13.
2. Medical Research International & the American Fertility Society Special Interest Group. *In vitro fertilization-embryo transfer in the United States: 1985 and 1986 results from the National IVF/ET Registry*. *Fertility and sterility*, 49: 212—215 (1988).
3. Saunders, D. M. et al. Uniform assessment of success rates with assisted reproductive technology. *Fertility and sterility*, 53: 383—384 (1990).
4. Schenker, J. G. Research on human embryos. *European journal of obstetrics and gynaecology and reproductive biology*, 36: 263—273 (1990).
5. Voluntary Licensing Authority for Human *In Vitro* Fertilization and Em-

bryology. The fourth report. London, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 1989.

6. **Mouzon, J. et al.** Dossier FIVNAT: analyse des résultats 1987. [FIVNAT file: analysis of 1987 results.] *Contraception, fertilité et sexualité*, 16: 599—615 (1988).
7. **Medical Research International, Society of Assisted Reproductive Technology & The American Fertility Society.** *In vitro fertilization/embryo transfer in the United States: 1987 results from the National IVF-ET Registry. Fertility and sterility*, 51: 13—19 (1989).
8. **National Perinatal Statistics Unit, Fertility Society of Australia.** *IVF and GIFT pregnancies, Australia and New Zealand 1987.* Sydney University of Sydney 1988.
9. **Ratnam, S. S. et al.** Survey of assisted reproductive technologies In Asia/Africa. In: Maschlach, Z., et al., ed. *Advances in assisted reproductive technologies.* New York, Plenum Press, 1990, pp.1033—1040.
10. **Boklage, C. E.** Survival probability of human conceptions from fertilization to term. *International journal of fertility*, 35: 75—94 (1990).
11. **Walters, D. E. et al.** A statistical evaluation after replacing one or more human embryos. *Journal of reproduction and fertility*, 74: 557—563 (1985).
12. **Tietze, C.** Introduction to the statistics of abortion. In: Engle, E.T., ed. *Pregnancy wastage.* Springfield, IL, Charles C. Thomas, 1953, pp.135—148.
13. **Padilla, S. L. & Garcia, J. E.** Effect of maternal age and number of *in-vitro* fertilization procedures on pregnancy outcome. *Fertility and sterility*, 52: 270—273 (1989).
14. **Romeau, A. et al.** Results of *in-vitro* fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience. *Fertility and sterility*, 47: 130—136 (1987).
15. **Toshinobu, T. et al.** Correlation between dosage and duration of clomid therapy and abortion rate. *International journal of fertility*, 24: 183—187 (1979).
16. **Ben Rafael, Z. et al.** Abortion rate in pregnancies following ovulation induced by human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin. *Fertility and sterility*, 39: 157—161 (1983).
17. **Acosta, A. A. et al.** Preclinical abortions; incidence and significance in the Norfolk *in-vitro* fertilization program. *Fertility and sterility*, 53: 673—676 (1990).
18. **Liu, H. C. et al.** Human chorionic gonadotropin as a monitor of pregnancy outcome in *in-vitro* fertilization-embryo transfer patients. *Fertility and sterility*, 50: 89—94 (1988).
19. **Sundstrom, S. & Wramby H.** Evaluation of variations in pregnancy rates, implantation rates and early abortion rates within an *in-vitro* fertilization programme. *Human reproduction*, 4: 443—445 (1989).

20. Steer, C. et al. Spontaneous abortion rates after natural and assisted conception. *British medical journal*, 229: 1317—1318 (1989).
21. Steptoe, P. C. & Edwards, R. G. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet*, 2: 880—882 (1976).
22. Seppala, M. The world collaborative report on *in vitro* fertilization and embryo replacement. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 442: 558—563 (1985).
23. Cohen, J. et al. Pregnancy outcome after *in vitro* fertilization. A collaborative study of 2342 pregnancies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 541: 1—6 (1988).
24. Benger, M.J. & Taymor, M. L. Simultaneous intrauterine and tubal pregnancies following ovulation induction. *American journal of obstetrics and gynecology*, 113: 812—814 (1972).
25. Yovich, J. L. et al. Heterotopic pregnancy from *in-vitro* fertilization. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 2: 143—150 (1985).
26. Bearman, D. M. et al. Heterotopic pregnancy after *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, 45: 719—721 (1986).
27. Lower, A. M. & Tyack, A.G. Heterotopic pregnancy following IVF and ET. Two case reports and review of the literature. *Human reproduction*, 4: 726—728 (1989).
28. Abdalla, H.I. et al. Combined intra-abdominal and intrauterine pregnancies after gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 1153—1154 (1986).
29. Dimitry, E. S. et al. Nine cases of heterotopic pregnancies in 4 years of *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 53: 107—110 (1990).
30. MRC Working Party on Children Conceived by In Vitro Fertilisation. Births in Great Britain resulting from assisted conception, 1978—87. *British medical journal*, 300: 1229—1233 (1990).
31. Medical Research International & The American Fertility Society Special Interest Group. *In vitro* fertilization/embryo transfer in the United States: 1988 results from the National IVF—ET Registry. *Fertility and sterility*, 53: 13—20 (1990).
32. Hobbins, J.C. Selective reduction — a perinatal necessity? *New England journal of medicine*, 316: 1062—1063 (1988).
33. Berkowitz, R. L. et al. Selective reduction of multifetal pregnancies in the first trimester. *New England journal of medicine*, 318: 1043—1047 (1988).
34. Shalev, J. et al. Selective reduction in multiple gestations: pregnancy outcome after transvaginal and transabdominal needle-guided procedures. *Fertility and sterility*, 52: 416—420 (1989).
35. Evans, M. I. et al. Selective first trimester termination in octuplet and quadruplet pregnancies: clinical and ethical issues. *Obstetrics and gynecology*, 71: 289—296 (1988).

36. Lancaster P. A. L. et al. High incidence of preterm births and early losses in pregnancy after *in-vitro* fertilisation. *British medical journal*, 291: 1160—1163 (1985).
37. Diamond, M. P. et al. Weight of babies conceived *in-vitro*. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 291—293 (1987).
38. Plachot, M. et al. From oocyte to embryo: a model, deduced from *in-vitro* fertilization for natural selection against chromosome abnormalities. *Annals of genetics*, 30: 22—32 (1987).
39. Plachot, M. Chromosome analysis of spontaneous abortions after INF. A European survey. *Human reproduction*, 4: 425—429 (1989).
40. Boue, J. G. & Boue, A. Chromosomal abnormalities in early spontaneous abortion. (Their consequences on early embryogenesis and *in-vitro* growth of embryonic cells). *Current topical pathology*, 62: 193—208 (1976).
41. Boue, J. G. & Boue, A. Increased frequency of chromosomal anomalies in abortions after induced ovulation. *Lancet*, 2: 679—680 (1973).
42. Van Steeghem, A. C. & Van Abbeel, E. World results of human cryopreservation. In: Maschiach, Z., et al., ed. *Advances in assisted reproductive technologies*. New York, Plenum Press, 1990, pp. 601—609.
43. Lancaster, P.A.L. Congenital malformations after *in-vitro* fertilisation. *Lancet*, 2: 1392 (1987).
44. Cornel, M. C. et al. Ovulation induction, *in-vitro* fertilisation and neural tube defects. *Lancet*, 2: 1530 (1989).
45. Ward, V. R., ed. *International clearing house for birth defects monitoring systems: 1984 annual report*. Wellington, New Zealand, Government Printer, 1986.
46. Winston, R. M. L. Additional aspects of tubal surgery: a British perspective. In: Seibel, M.M., ed. *Infertility: a comprehensive text*. Norwalk, Connecticut, Appleton & Lange, 1990, pp.417—432.
47. Acosta, A. A. et al. Assisted reproduction in the diagnosis and treatment of the male factor. *Obstetrical and gynecological survey*, 44: 1—18 (1989).
48. Navot, D. & Schenker J. G. The role of *in vitro* fertilization in unexplained and immunological infertility. In: Toder, V. & Beer, A.E., ed. *Immunology and immunopathology of reproduction*. Basel, Karger, 1985, pp.161—166.
49. Leeton, J. et al. A controlled study between the use of gamete intrafallopian transfer (GIFT) and *in-vitro* fertilization and embryo transfer in the management of idiopathic and male infertility. *Fertility and sterility*, 48: 605—607 (1987).
50. Lopata, A. et al. Use of *in vitro* fertilization in the infertile couple. In: Pepperell, R.G. et al., ed. *The infertile couple*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1980, pp. 209—228.

51. Mahadevan, M. M. et al. The relationship of tubal blockage, infertility of unknown cause, suspected male infertility and endometriosis to success of *in-vitro* fertilization and embryo transfers. *Fertility and sterility*, 40: 755—762 (1983).
52. Ashekenazi, J. et al. The value of GnRH analogue therapy in IVF in women with unexplained infertility. *Human reproduction*, 4: 667—669 (1989).
53. Steptoe, P. C. et al. Observations on 767 clinical pregnancies and 500 births after human *in-vitro* fertilization. *Human reproduction*, 1: 89—94 (1986).
54. Hughes, et al. A prospective study of prognostic factors in *in-vitro* fertilization and embryo transfers. *Fertility and sterility*, 51: 838—844 (1989).
55. Craft, I. et al. Analysis of 1071 GIFT procedures — the case for a flexible approach to treatment. *Lancet*, 1: 1094—1098 (1988).
56. Cohen, J. & Mauzon, J. Dossier FIVNAT: analyse des résultats 1988. [FIVNAT file: analysis of 1988 results.] *Contraception, fertility et sexualité*, 17: 689—690 (1989).
57. Hamburg, R. et al. Cotreatment with human growth hormone and gonadotropins for induction of ovulation: a controlled clinical trial. *Fertility and sterility*, 53: 254—260 (1990).
58. Volpe, A. et al. Ovarian response to combined growth hormone and gonadotropin treatment in patients resistant to induction of superovulation. *Gynecological endocrinology*, 3: 126—133 (1989).
59. Pellicer, A. et al. Outcome of *in-vitro* fertilization in women with low response to ovarian stimulation. *Fertility and sterility*, 47: 812—815 (1987).
60. Serafini, P. et al. An alternative approach to controlled ovarian hyperstimulation in "poor responders", pretreatment with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertility and sterility*, 49: 90—95 (1988).
61. Neveu, S. et al. Ovarian stimulation by a combination of a gonadotropin-releasing hormone agonist and gonadotropins for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 47: 639—643 (1987).
62. Hill, G.A. et al. The influence of oocyte maturity and embryo quality on pregnancy rate in a program for *in-vitro* fertilization-embryo transfer. *Fertility and sterility*, 52: 801—806 (1989).
63. De Kretser, D.M. et al. The use of IVF in the management of male infertility. In: Rolland, R.G. et al., ed. *Gamete quality and fertility regulation*. Amsterdam, Excerpta Medica, 1985, pp.213—223.
64. Puissant, F. et al. Embryo scoring as a prognostic tool in IVF treatment. *Human reproduction*, 2: 705—708 (1987).
65. Khan, I. et al. Time of insemination and its effect on *in-vitro* fertilization, cleavage and pregnancy rates in GnRH agonist/HMG stimulated cycles. *Human reproduction*, 4: 921—926 (1989).
66. Quinn, P. et al. Suboptimal laboratory conditions can affect pregnancy

- outcome after embryo transfer on day 1 or 2 after insemination *in vitro*. *Fertility and sterility*, 53: 168—170 (1990).
67. O'Neill, C. et al. Supplementation of *in-vitro* fertilization culture medium with platelet activation factor. *Lancet*, 2: 769—772 (1989).
 68. Oehninger, S. et al. Delayed fertilization during *in-vitro* fertilization and embryo transfer cycles: analysis of causes and impact on overall results. *Fertility and sterility*, 52: 991—997 (1989).
 69. Tesarik, J. Viability assessment of preimplantation concepti: a challenge for human embryo research. *Fertility and sterility*, 52: 364—366 (1989).
 70. Bongso, A. et al. Improved quality of human embryos when co-cultured with human ampullary cells. *Human reproduction*, 4: 706—713 (1989).
 71. Guzick, D.S. et al. Cumulative pregnancy rates for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 46: 663—667 (1986).
 72. Edwards, R.G. & Steptoe, P.C. Current status of *in-vitro* fertilization and implantation of human embryos. *Lancet*, 2: 1265—1269 (1983).
 73. Hutchinson-Williams, K. A. et al. Luteal rescue *in vitro* fertilization-embryo transfer. *Fertility and sterility*, 55: 495—501 (1990).
 74. Graf, M.F. et al. Histological evaluation of the luteal phase in women following follicular aspiration for oocyte retrieval. *Fertility and sterility*, 49: 616—619 (1988).
 75. Sterzik, K. et al. *In-vitro* fertilization: the degree of endometrial insufficiency varies with the type of ovarian stimulation. *Fertility and sterility*, 50: 457—462 (1988).
 76. Frydman, R. et al. Hormonal and histological study of the luteal phase in women following aspiration of the preovulatory follicle. *Fertility and sterility*, 38: 312—317 (1982).
 77. Garcia, J.E. et al. Advanced endometrial maturation after ovulation induction with human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 41: 31—35 (1984).
 78. Rosenwaks, Z. Donor eggs: their application in modern reproductive technologies. *Fertility and sterility*, 47: 895—909 (1987).
 79. Diug, A.M. et al. The periovulatory and luteal phase of conception cycles following *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, 41: 530—537 (1984).
 80. Diaz, S. et al. Studies of the duration of egg transport in the human oviduct III. The time interval. *American journal of obstetrics and gynecology*, 137: 116—120 (1980).
 81. DeCherney A. H. et al. Follicular development: lessons learnt from human *in-vitro* fertilization. *American journal of obstetrics and gynecology*, 153: 911—923 (1985).
 82. Hutchinson-Williams, K.A. et al. Human chorionic gonadotropin, estradiol

- and progesterone profiles in conception and non-conception cycles in an *in-vitro* fertilization program. *Fertility and sterility*, 52: 441—445 (1989).
83. Hutchinson-Williams, K.A. et al. Luteal rescue in *in vitro* fertilization-embryo transfer. *Fertility and sterility*, 53: 495—501 (1990).
84. Casper, R.F. et al. Enhancement of human implantation by exogenous chorionicgonadotropin. *Lancet*, 2: 1191 (1983).
85. Mahadevan, M.M. et al. Effects of low dose human chorionic gonadotropin on corpus luteum function after embryo transfer. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 2: 190—194 (1985).
86. Buvat, J. et al. A randomized trial of human chorionic gonadotropin support following *in-vitro* fertilization and embryo transfer. *Fertility and sterility*, 49: 458—461 (1988).
87. Jones, H.W. Jr et al. Three years of *in-vitro* fertilization at Norfolk. *Fertility and sterility*, 42: 826—834 (1984).
88. Leeton, J.A. et al. Support of the luteal phase *in vitro* fertilization programs: results of a controlled trial with intramuscular prolutin. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 2: 166—169 (1985).
89. Ben-Nun, I. et al. Effect of pre-ovulatory progesterone administration on the endometrial maturation and implantation rate after *in-vitro* fertilization and embryo transfers. *Fertility and sterility*, 53: 276—281 (1990).
90. Trounson, A.O. et al. The effect of progesterone supplementation around the time of oocyte recovery in patients superovulated for *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 45: 532—535 (1986).
91. Cohen, J. et al. *In-vitro* fertilization: a treatment for male infertility. *Fertility and sterility*, 43: 422—432 (1985).
92. Awadalla, S.G. et al. *In-vitro* fertilization and embryo transfer as a treatment for male factor infertility. *Fertility and sterility*, 47: 807—811 (1987).
93. Yates, C.A. & de Kretser D.M. Male factor infertility and *in-vitro* fertilization. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 4: 141—147 (1987).
94. Mahadevan, M. M. et al. The influence of seminal characteristics on the success rate of human IVF. *Fertility and sterility*, 42: 400—405 (1984).
95. Van Uem, J.F.H.M. et al. Male factor evaluation in IVF: Norfolk experience. *Fertility and sterility*, 44: 375—383 (1985).
96. Hinting, A. et al. Value of sperm characteristics and the results of *in-vitro* fertilization for predicting the outcome of assisted reproduction. *International journal of andrology*, 13: 59—66 (1989).
97. Barlin, D. et al. The correlation between *in-vitro* fertilization of human oocytes and semen profile. *Fertility and sterility*, 44: 835—838 (1985).
98. Hirsch, I. et al. *In-vitro* fertilization in couples with male factor infertility. *Fertility and sterility*, 45: 659—664 (1986).

99. Gerris, J. & Khan, I. Correlation between *in vitro* fertilization and human sperm density and motility. *Journal of andrology*, 8: 48—54 (1987).
100. Trounson, A.O. et al. IVF and male infertility. In: Serin, M., ed. *Perspectives in andrology*. New York, Raven Press, 1989, pp.421—423.
101. Clarke, G.N. et al. *In-vitro* fertilization results for women with sperm antibodies in plasma and follicular fluid. *American journal of reproductive immunology and microbiology*, 8: 130—131 (1985).
102. Palermo, G. et al. Assisted procreation in the presence of a positive direct mixed antiglobulin reaction test. *Fertility and sterility*, 52: 645—649 (1989).
103. Kelami, A. Kelami-Affeld alloplastic spermatocele and successful human delivery. *Urology international*, 36: 368—372 (1981).
104. Silber, S.J. et al. Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertility and sterility*, 50: 525—528 (1988).
105. Muller-Tyl, E. et al. *In-vitro* fertilization with spermatozoa from alloplastic spermatocele. *Fertility and sterility*, 53: 744—746 (1990).
106. Grunert, J.-H. et al. Does computerised image analysis of sperm movement enhance the predictive value of semen analysis for *in-vitro* fertilization results? *International journal of andrology*, 12: 329—338 (1989).
107. Kruger, T.F. et al. Predictive value of abnormal sperm morphology in *in-vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 49: 112—117 (1988).
108. Lin, D.V. et al. The use of *in-vitro* fertilization to evaluate putative tests of human sperm function. *Fertility and sterility*, 49: 272—277 (1988).
109. Comhaire, F.H. et al. Accuracy of sperm characteristics in predicting the *in-vitro* fertilizing capacity of semen. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 5: 326—331 (1988).
110. Pensis, M. et al. Screening of conditions for rapid freezing of human oocytes: preliminary study toward their cryopreservation. *Fertility and sterility*, 52: 787—794 (1989).
111. Plachot, M. Choosing the right embryo: the challenge of the nineties. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 6: 100—104 (1988).
112. Lassalle, B. et al. Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2-propanediol. *Fertility and sterility*, 44: 645—651 (1985).
113. Veiga, A. et al. Pregnancy after the replacement of a frozen thawed embryo with 2% intact blastomeres. *Human reproduction*, 2: 321—323 (1987).
114. Fugger E.F. Clinical status of human embryo cryopreservation in the United States of America. *Fertility and sterility*, 52: 986—990 (1989).
115. Freeman, N.L. et al. Cryopreservation of human embryos: progress on the

- clinical use of the technique in human IVF. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 3: 53—61 (1986).
116. Trounson, A.O. & Freeman, I.R. The use of embryo cryopreservation in human IVF programmes. *Clinical obstetrics and gynecology*, 22: 825—833 (1985).
 117. Schenker J. G. Ovum donation: the state of the art. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 541: 743—754 (1988).
 118. Asch, R.H. et al. Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 1034—1035 (1984).
 119. Asch, R.H. et al. Preliminary experience with gamete intrafallopian transfer (GIFT). *Fertility and sterility*, 45: 366—371 (1986).
 120. Asch, R.H. et al. Gamete intrafallopian transfer: international cooperative study of the first 800 cases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 541: 722—727 (1988).
 121. Borrero, C. et al. The GIFT experience: an evaluation of the outcome of 115 cases. *Human reproduction*, 3: 227—230 (1988).
 122. Wong, P. C. et al. Eighty consecutive cases of gamete intrafallopian transfer. *Human reproduction*, 3: 231—233 (1988).
 123. Braeckmans, P. et al. Gamete intrafallopian transfer: evaluation of 100 consecutive attempts. *Human reproduction*, 2: 201—205 (1987).
 124. Pouly, J.L. et al. Gamete intrafallopian transfer: benefits of programmed stimulation. *Fertility and sterility*, 52: 1012—1017 (1989).
 125. Fakih, H. & Vijayakumar R. Improved pregnancy rates and outcome with gamete intrafallopian transfer when follicular fluid is used as a sperm capacitation and gamete transfer medium. *Fertility and sterility*, 53: 515—520 (1990).
 126. Guzick, D.S. et al. The importance of egg and sperm factors in predicting the likelihood of pregnancy from gamete intrafallopian transfer. *Fertility and sterility*, 52: 795—800 (1989).
 127. Van der Merwe, J.P. et al. Treatment of male sperm auto-immunity by using the gamete intrafallopian transfer procedure with washed spermatozoa. *Fertility and sterility*, 53: 682—687 (1990).
 128. Matson, P.L. et al. The role of gamete intrafallopian transfer (GIFT) in the treatment of oligospermic infertility. *Fertility and sterility*, 48: 608—612 (1987).
 129. Cittadini, E. et al. IVF/ET and GIFT in andrology. *Human reproduction*, 3: 101—104 (1988).
 130. Asch, R. H. et al. Oocyte donation and gamete intrafallopian transfer in premature ovarian failure. *Fertility and sterility*, 49: 263—267 (1988).
 131. Cefalu, E. et al. Successful gamete intrafallopian transfer following failed

artificial insemination by donor: evidence for a defect in gamete transport.
Fertility and sterility, 50: 279—282 (1988).

132. Yovich, J.L. et al. Simultaneous IVF and GIFT. *Fertility and sterility*, 48: 897—899 (1987).
133. Guastella, G. et al. Gamete intrafallopian transfer in the treatment of infertility: the first series of the University of Palermo. *Fertility and sterility*, 46: 417—423 (1986).
134. Craft, I. et al. Analysis of 1071 GIFT procedures — the case for a more flexible approach to treatment. *Lancet*, 1: 1094—1098 (1988).
135. Devroey P. et al. Zygote intrafallopian transfer as a successful treatment for unexplained infertility. *Fertility and sterility*, 52: 246—249 (1989).
136. Devroey, P. et al. Pregnancy after translaparoscopic zygote intrafallopian transfer in a patient with sperm antibodies. *Lancet*, 1: 1329 (1986).
137. Blackledge, D.G. et al. Pronuclear stage transfer (PROST) and modified gamete intrafallopian transfer (GIFT) techniques for oligospermic cases. *Medical journal of Australia*, 145: 173—174 (1986).
138. Yovich, J.L. et al. Pregnancies following pronuclear stage tubal transfer. *Fertility and sterility*, 48: 851—857 (1987).
139. Balmaceda, J.R. et al. Tubal embryo transfer as a treatment for infertility due to male factors. *Fertility and sterility*, 50: 476—479 (1988).
140. Leung, C.K.M. et al. Pregnancies from fallopian replacement of immature eggs with delayed intrauterine insemination. *Human reproduction*, 4: 80—81 (1989).

11. Получение, хранение и подготовка донорской семенной жидкости для искусственного осеменения

За последние 10 лет в ряде стран значительно возросла потребность в искусственном осеменении донорской семенной жидкостью: так, в США к маю 1988 г. в результате искусственного осеменения семенной жидкостью, взятой от донора, родилось 30 000 детей, а во Франции с 1980 г. ежегодно отмечалось 3000 обращений с просьбой о выполнении подобной процедуры. Ввиду несомненно возросших потребностей в нескольких странах рассматривался вопрос о создании общенациональных систем банков семенной жидкости для лечения бесплодия, а также сохранения семенной жидкости в качестве “страхования детородной способности” мужчин, которым предстоит курс

химиотерапии или радиотерапии, или вазэктомия [1]. В некоторых странах, например Великобритании и США, существуют коммерческие предприятия, которые занимаются сохранением спермы, или банки спермы на базе больниц или университетов, а в других странах, таких как Дания или Франция, созданы национальные системы банков спермы [2, 3].

11.1. Отбор доноров

Чаще всего в качестве доноров привлекают студентов, далее идут сотрудники больниц и мужчины, чьи жены недавно забеременели или родили ребенка. В идеале доноры сдают семенную жидкость на основе принципа альтруизма, получая минимальную компенсацию, которая не должна служить мотивацией для того, чтобы стать донором. Желательно иметь свежие доказательства оплодотворяющей способности спермы каждого донора, однако такое требование не является безусловным; если fertильность донора не была продемонстрирована, качественные характеристики семенной жидкости должны удовлетворять критериям ВОЗ, разработанным для анализа нормальной спермы (табл. 8) [4]. В обоих случаях пропорциональная доля сперматозоидов, обладающих поступательной подвижностью после размораживания, должна быть выше 40 % [5]. Возраст доноров должен быть менее 55 лет. Доноров следует проинформировать об условиях сдачи семенной жидкости и получить письменный документ, подтверждающий их информированность и согласие на указанные условия. Подписание документа по указанной форме должно быть обязательным; в этот документ необходимо включить положение, обязующее донора не предпринимать попыток установить личность лица или лиц, которым будет предоставлена донорская семенная жидкость.

Привлекать доноров можно следующим образом: 1) рекламируя банк спермы в средствах массовой информации; 2) используя контакты среди медиков; 3) привлекая кандидатов на вазэктомию; 4) предлагая супружеским парам — кандидатам на искусственное оплодотворение, приглашать близких друзей или родственников для участия в сдаче донорской спермы с условием, что они не будут использованы в качестве доноров для тех пар, которые их рекомендовали.

Таблица 8
Анализ нормальной семенной жидкости^a

Объем эякулята	$\geq 2,0$ мл
pH	7,2 — 7,8
Концентрация спермы	$\geq 20 \times 10^6$ сперматозоидов/мл
Общее количество сперматозоидов	$\geq 40 \times 10^6$ сперматозоидов
Подвижность	≥ 50 % обладают поступательной подвижностью или ≥ 25 % с быстрой линейной прогрессией при исследовании не позднее 60 мин после получения образца
Морфология	≥ 50 % с нормальными морфологическими характеристиками
Жизнеспособность	≥ 50 % живых
Лейкоциты	$\leq 1 \times 10^6$ /мл
Смешанная антиглобулиновая реакция	<10 % с прилипшими частицами
Иммуногранулотест	<10 % с прилипшими гранулами

^a Источник: ссылка 4.

Размер донорского фонда, необходимого для конкретного центра, можно определить по количеству полученных заявок на искусственное осеменение с привлечением донора [6].

$$\text{Необходимое количество доноров} = \frac{\text{Количество заявок}}{6}$$

11.2. Скрининг доноров

Потенциальных доноров, которые представляют риск либо для реципиента (наличие заболевания, передаваемого половым путем, включая инфекцию, вызываемую вирусом иммунодефицита человека), либо для будущего ребенка (заболевание, передаваемое половым путем или наследственное заболевание), следует исключить из числа пациентов [7]. Микроорганизмы, которые, согласно литературе, обнаруживались в семенной жидкости, взятой от доноров, включают *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis* [4], *Ureaplasma urealyticum* [8], *Chlamydia trachomatis* [9], *Trichomonas vaginalis* [10], ВИЧ [11] и вирус гепатита В [12]. Вероятность заражения заболеванием, передаваемым половым путем, можно свести до минимума, затребовав у донора полную историю его половых контактов и исключая лиц, имеющих одновременно много сексуаль-

ных партнеров или опыт гомосексуальных или бисексуальных контактов, а также лиц, принимающих наркотики внутривенно, лиц, которым ранее производилось переливание крови в ВИЧ-эндемической местности, а также лиц, сексуальные партнеры которых имеют положительную реакцию на тест гепатита В. Ниже перечислены виды исследований, которые обычно входят в процедуру обследования донора [3, 13]. Кроме того, потенциальный донор должен быть подвергнут физикальному обследованию. Свежую семенную жидкость, взятую от донора, нельзя сразу использовать для искусственного осеменения из-за риска передачи инфекционного заболевания, в особенности ВИЧ.

11.2.1. Микробиологические исследования доноров и семенной жидкости

Хламидиоз

Если у потенциального донора в последнее время отмечались жалобы на болезненность при мочеиспускании или выделения из уретры, необходимо взять уретральный мазок для исследования методом окрашивания флюоресцентным антителом для иммуносорбентного анализа с ферментной меткой. Следует отметить, что чувствительность указанных методов исследования у мужчин при отсутствии симптомов составляет всего 50 — 60 %. Если любое из этих исследований дает положительные результаты, до взятия донорской семенной жидкости и мужчины, и его сексуальный партнер должны пройти курс соответствующего лечения. Если исследование двух последовательно взятых мазков дает отрицательные результаты, мужчину можно использовать в качестве донора.

Цитомегаловирус

Американское общество фертильности рекомендовало обследовать всех доноров, сдающих семенную жидкость, на наличие антител к цитомегаловирусу (ЦМВ) [12]; для всех реципиентов в первую очередь следует использовать сперму, взятую от доноров, не имеющих подобных антител, независимо от наличия у них положительных или отрицательных результатов такого исследования [2]. Для этих целей можно применять методы реакции связывания комплемента ЦМВ или пассивной реакции латекс-агглютинации [14, 15]. Семенную жидкость потенциальных доноров, у которых обнаруживаются положительные результаты ис-

следования на антитела к ЦМВ, использовать нельзя, за исключением случаев, когда у реципиента также обнаруживаются положительные результаты.

Neisseria gonorrhoeae

Если у потенциального донора в анамнезе отмечены выделения из уретры или дизурия, необходимо взять уретральный мазок для высеивания гонококка. Если результаты уретрального посева положительные, мужчина не может быть принят в качестве донора и должен вместе со своим сексуальным партнером пройти курс соответствующего лечения.

Вирус гепатита В

Потенциального донора необходимо обследовать на наличие поверхностного антигена гепатита В. Если результаты анализа положительные, данный мужчина не может стать донором. В странах с низкой заболеваемостью гепатитом из группы доноров можно исключать также лиц, у которых обнаруживаются основные антитела гепатита В.

Вирус простого герпеса человека типа 2

Если у мужчины обнаруживаются клинические поражения на половых органах, он не может быть привлечен в качестве донора.

Вирус иммунодефицита человека

При наличии положительных результатов исследования на ВИЧ данное лицо не может стать донором: ему необходимо обеспечить необходимое консультирование, а также выявить сексуальные контакты. Если результаты ВИЧ-теста отрицательные, и мужчина принят в качестве донора, тест на наличие антител к ВИЧ необходимо повторить через три месяца, а затем через каждые шесть месяцев. Все образцы семенной жидкости следует подвергать карантинному сроку хранения до тех пор, пока последующее исследование крови на наличие ВИЧ не покажет отрицательных результатов.

Вирус папилломы человека

При наличии клинических поражений мужчина не может стать донором.

Условно-патогенные бактерии

Если исследование посева семенной жидкости показывает присутствие патогенных бактерий, мужчина должен прой-

ти курс лечения и может стать донором лишь после того, как результаты исследования двух последовательных посевов окажутся отрицательными.

Treponema pallidum

Все потенциальные доноры должны пройти обследование в лаборатории исследований венерических заболеваний. Если результаты как первичного, так и вторичного подтверждающего теста, например методом гемагглютинации или абсорбирующей пробы с флюoresцирующими антителами, положительные, мужчине необходимо назначить лечение по поводу инфекционного заболевания, и он не может стать донором.

11.2.2. Передача наследственного заболевания

Вероятность передачи наследственного заболевания можно резко снизить путем проведения генетического обследования и исследования кариотипа всех доноров: один лишь последний метод позволяет исключить до 4,2 % кандидатов [16, 17].

Доноры, обладающие такими специфическими факторами риска, как аллергия или сахарный диабет, приемлемы при условии, что взятая от них семенная жидкость не используется для реципиентов, страдающих теми же заболеваниями [18]. Доноры, принадлежащие к расово-этническим группам, для которых характерна повышенная распространенность ряда заболеваний, например серповидноклеточной анемии или талассемии, должны пройти обследование с целью выявления соответствующей предрасположенности, и в случае положительных результатов их исключают из числа кандидатов.

11.3. Сохранение семенной жидкости методом глубокого замораживания

Семенную жидкость получают путем мастурбации после 2 — 3-дневного воздержания, собирают в подогретый стерильный стеклянный контейнер, предпочтительнее в лабораторных условиях, и оставляют на срок до 20 мин при комнатной температуре (20 — 30 °C). Сразу после разжижения добавляют криозащитное вещество, разбавляя жидкость в соотношении 1:1 или 1:2. В качестве такого вещества обычно используют глицерин [19] или питательную

среду, например раствор Ackerman или раствор, созданный Mahadevan и Trounson [20]. Однако, согласно некоторым сообщениям, более высокая подвижность после размораживания обеспечивается при использовании других буферных систем, особенно буферных растворов Herpes и zwitterion (Tes-Tris)¹, содержащих яичный желток, соль лимонной кислоты и глицерин [21]. Rao и David [22] высказывали предположение, что добавление 1,4-дитиотретола в среду замораживания может улучшить восстановление подвижности и жизнеспособности сперматозидов после размораживания.

Глицерин или питательный раствор следует добавлять к семенной жидкости в форме капель при комнатной температуре, а температуру образца следует понижать со скоростью 1 °C в мин до уровня 5 °C. Температуру необходимо поддерживать на данном уровне не менее 5 мин, но не более 1 ч [21 — 24]. Затем образец семенной жидкости набирают в тонкие трубки-соломинки объемом 0,25 мл, которые помечают определенным цветом и штриховым кодом.

Образец можно заморозить путем внезапного погружения в жидкий азот (метод быстрого замораживания) или последовательно снижая температуру до температуры жидкого азота (медленный метод). При ускоренном методе температура снижается со скоростью 16—25 °C в 1 мин, а при медленном — иногда не быстрее 0,5 °C в 1 мин. Ни один из этих методов не имеет преимуществ по сравнению с другим [25]. Семенную жидкость хранят в жидким азоте при температуре —196 °C до использования.

11.4. Размораживание

Сперму человека размораживают как быстрым, так и медленным методом. Медленный метод предполагает самостоятельное согревание образца до комнатной температуры, вначале до 5 °C, затем до 25 °C. Когда сперму хранят в тонких трубках, наилучшие результаты получаются в случае, если трубки оставляют на несколько минут при комнатной температуре, что обеспечивает довольно медленное размораживание [26]. Различия в степени подвижности сперматозоидов при размораживании быстрым или медленным методом очень небольшие [27].

¹ Herpes: 4-(2-гидроксиметил)-1-пиперазинтансульфокислота.

Tes: N-тригидроксиметил метил-2-аминоэтансульфокислота.

Tris: 2-амино-2-гидроксиметил-1,3-пропанедиол.

Для искусственного оплодотворения трубки, содержащие донорскую семенную жидкость, используют непосредственно после размораживания, при этом первую каплю берут для проверки подвижности сперматозоидов после перенесенного глубокого замораживания. Если доля подвижных сперматозоидов в данном образце семенной жидкости составляет более 40 %, он пригоден к употреблению. Для ОИВ с использованием донорской спермы содержимое двух или трех трубок либо осторожно смешивают с питательным раствором, а затем промывают и обрабатывают методом “всплыивания” (см. раздел 8.3.2), либо подвергают прерывистому центрифугированию в градиенте плотности и промывают в питательном растворе.

11.5. Влияние глубокого замораживания на свойства сперматозоидов

Подвижность сперматозоидов после размораживания является наиболее эффективным показателем качества процедуры сохранения спермы.

Показатель частоты беременностей на один цикл, согласно литературе, составлял 7,1 % в случаях, когда доля сперматозоидов, обладающих поступательной подвижностью, была ниже 25 %, и 18,1 %, если эта доля была выше 60 % [13]. Глубокое замораживание снижает потребление фруктозы и глюкозы, изменяет процессы продукции молочной кислоты и снижает потребление кислорода [28].

Глубокое замораживание, по-видимому, не изменяет геном спермы, поскольку частота врожденных пороков у детей, рожденных в результате искусственного оплодотворения размороженной донорской спермой, не отличается от данного показателя в нормальной популяции [13]. Содержание ДНК уменьшается в процессе глубокого замораживания и последующего оттаивания [29], однако замораживание, по-видимому, не снижает оплодотворяющей способности сперматозоидов, что видно по аналогичным показателям успешного оплодотворения и частоты случаев наступления беременности после ОИВ, наблюдаемым при использовании свежей и замороженной спермы [8]. Однако, как было показано, при использовании замороженной семенной жидкости частота случаев наступления беременности ниже, чем при использовании свежих образцов в случаях, когда реципиентку используют одновременно как контрольное лицо для нее самой [30]; данное

обстоятельство объясняют снижением подвижности сперматозоидов, наблюдаемым после размораживания [31]. Для повышения данного свойства после размораживания был предложен целый ряд различных соединений; при использовании спермы, обработанной пентоксифиллином, в случаях олигоастеноспермии наблюдалось наступление беременности как при пересадке ооцитов в пронуклеарной стадии [32], так и при ОИВ-ПЭ [33].

Список литературы

1. Richardson, D. Organization of sperm banks on a national basis. In: David, G. & Price, W S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.65—71.
2. American Fertility Society. 'New guidelines for the use of semen for donor insemination. *Fertility and sterility*, 53(suppl. 1): 1S—12S (1990).
3. Hummel, W. P. & Talbert, L. Management of a donor insemination programme. *Fertility and sterility*, 51: 919—930 (1989).
4. World Health Organization Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. *WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction*. Cambridge, Cambridge University Press, 1987.
5. Serres, C. Effects of freezing on spermatozoa motility. In: David, G. & Price, W. S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.147—160.
6. Lelannou, D. et al. Sperm bank and donor recruitment in France. In: David, G. & Price, W.,ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.89—94.
7. Mascola, L. & Guinan, M.E. Screening to reduce transmission of sexually transmitted diseases in semen used for artificial insemination. *New England journal of medicine*, 314: 1354—1359 (1986).
8. Barwin, B.N. Transmission of Ureaplasma urealyticum by artificial insemination by donor. *Fertility and sterility*, 41: 326—327 (1984).
9. Nagel, T.C. et al. Transmission of Chlamydia trachomatis by artificial insemination. *Fertility and sterility*, 46: 956—960 (1986).
10. Kleegman, S.J. Therapeutic donor insemination. *Connecticut medicine*, 31: 705—713 (1967).
11. Stewart, G.J. et al. Transmission of human T-cell lymphotropic virus type II (HTLV-II) by artificial insemination by donor. *Lancet*, 14: 581—585 (1985).
12. Berry, W.R. et al. Transmission of hepatitis B virus by artificial insemination. *Journal of the American Medical Association*, 257: 1079—1081 (1987).
13. *Fédération française des Centres d'Etude et de Conservation des CEufs*

- et du Sperme et al. Artificial procreation with frozen donor semen: experience of the French C.E.C.O.S. Federation. *Human reproduction*, 4: 757—761 (1989).
14. Bradstreet, C.M.P. & Taylor C.E.D. Complement fixation test. *Monthly Bulletin of the Ministry of Health and the Public Health Laboratory Service*, 21: 96—98 (1962).
 15. Chauhan, M. et al. Screening for cytomegalovirus antibody in a donor insemination program: difficulties in implementing. The American Fertility Society Guidelines. *Fertility and sterility*, 51: 901—902 (1989).
 16. Selva, J. et al. Genetic screening for artificial insemination by donor. *Clinical genetics*, 29: 389—396 (1986).
 17. Matthews, C. D. et al. Screening of karyotype and semen quality in an artificial insemination program: acceptance and rejection criteria. *Fertility and sterility*, 40: 648—654 (1983).
 18. Jalbert, P. et al. Genetic aspects of artificial insemination with donor semen. The French C.E.C.O.S. Federation guidelines. *American journal of medical genetics*, 33: 269—275 (1989).
 19. Hammitt, D.G. et al. Concentration of glycerol required for optimal survival and *in-vitro* fertilizing capacity of frozen sperm is dependent on cryopreservation medium. *Fertility and sterility*, 49: 680—687 (1988).
 20. Mahadevan, M.M. & Trounson, A.D. Effect of cooling, freezing and thawing rates and storage conditions on preservation of human spermatozoa. *Andrologia*, 16: 52—60 (1984).
 21. Weidel, L. & Prins, G.S. Cryosurvival of human spermatozoa frozen in eight different buffer systems. *Journal of andrology*, 8: 41—47 (1987).
 22. Rao, B. & David, G. Improved recovery of post thaw mobility and vitality of human spermatozoa cryopreserved in presence of dithiothreitol. *Cryobiology*, 21: 536—541 (1984).
 23. Fernandez-Canol, L. et al. Refrigerant preservation of human spermatozoa I. Factors influencing recovery in euspermic semen: clinical application. *Fertility and sterility*, 15: 390—406 (1964).
 24. Freund, M. & Widerman, J. Controlling and recording rates of freezing and defrosting human semen. *Journal of applied physiology*, 18: 407—415 (1963).
 25. Sherman, J. K. Improved methods of preservation of human spermatozoa by freezing and freeze-drying. *Fertility and sterility*, 14: 49—64 (1963).
 26. Guerin, J.F. et al. Biochemical modifications of frozen sperm. In: David, G. & Price, W. S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.139—146.
 27. Taylor, P. J. et al. A comparison of freezing and thawing methods for the cryopreservation of human semen. *Fertility and sterility*, 37: 100—103 (1982).

28. Wang, Z. & Guerin, J. F. Effets de la cryoconservation sur les taux d'ATP extra et intracellulaires du sperme humain. [Effects of cryopreservation on extra- and intracellular levels of ATP in human sperm.] *Contraception, fertilité et sexualité*, 15: 712—714 (1987).
29. Royere, D. et al. Freezing and thawing alter chromatin stability of ejaculated human spermatozoa: fluorescence acridine orange staining and Feulgen DNA cytophotometric studies. *Gamete research*, 21: 51—57 (1988).
30. Richter, M.A. et al. Artificial donor insemination: fresh versus frozen semen: the patient as her own control. *Fertility and sterility*, 41: 277—281 (1977).
31. Aitken, R.J. et al. Influence of caffeine on movement characteristics, fertilizing capacity and ability to penetrate cervical mucus of human spermatozoa. *Journal of reproduction and fertility*, 67: 19—23 (1983).
32. Yovich, J. M. et al. Preliminary results using pentoxyfylline in a pronuclear stage transfer (PROST) program for severe male factor infertility. *Fertility and sterility*, 50: 179—181 (1988).
33. Hammitt, D. G. et al. Comparison of motility stimulants for cryopreserved human semen. *Fertility and sterility*, 52: 495—502 (1989).

12. Искусственное осеменение — показания и методики

Хотя искусственное осеменение упоминается уже в Талмуде (II век н.э.), первое описание процесса оплодотворения приписывается Spallanzani из Модены [1]. В 1770 г. Hunter впервые успешно выполнил процедуру искусственного осеменения у человека, используя для этой цели семенную жидкость, взятую от мужа, который страдал гипоспадией [2]. В 1890 г. в Англии Dickinson впервые осуществил искусственное осеменение донорской спермой [2]. Первое успешное замораживание семенной жидкости человека было описано в 1953 г. Bunge и Sherman [3].

Согласно данным Бюро по оценке технологий США, к маю 1988 г. в США искусственное осеменение было выполнено 172 000 женщин, в результате родилось 35 000 детей после осеменения спермой, взятой от мужа, и 30 000 детей после осеменения донорской спермой [4]. Во Франции, где численность населения составляет 55 млн человек, в 1980 г. ежегодное количество заявок на искусственное осеменение с привлечением донора составляло около 3000, при этом 0,5—1 % вновь созданных супружеских пар оказывались бесплодными [5].

12.1. Оценка состояния женщины

Когда супружеская пара обращается с заявкой на искусственное осеменение, прежде чем приступить к выполнению данной довольно трудоемкой процедуры, пробуждая надежды, которые могут оказаться напрасными, необходимо обследовать женщину. При составлении истории болезни особое внимание следует уделять тщательному обследованию семьи с целью выявления генетических нарушений. Наличие нормальной овуляторной функции проверяют путем отслеживания изменений базальной температуры тела и уровня прогестерона в сыворотке крови в середине лuteиновой фазы или исследование биопсии эндометрия. С помощью методов гистеросальпингографии и/или лапароскопии можно исключить пороки развития матки или маточных труб.

Необходимо выполнить исследования на наличие заболеваний, передаваемых половым путем, например сифилиса, а также гепатита В и ВИЧ, в соответствии с существующими медико-правовыми нормами. Клинико-лабораторные исследования должны включать определение группы крови и резус-фактора, а также титров краснухи и токсоплазмоза. Крайне важно определить способность спермы проникать в шейочную слизь. В случаях неудачных результатов посткоитальных тестов наличие дефектов сперматозоидов необходимо подтвердить соответствующими исследованиями и, возможно, тестом ОГВ на модели животного, например с использованием ооцитов хомяка, лишенных зоны, или метода исследования полузоны [6].

12.2. Искусственное осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа

При осеменении семенной жидкостью, взятой от мужа, сперматозоиды можно вводить интрацервикально [7 – 10] или непосредственно в полость матки [11 – 17]; можно использовать различные препараты спермы, например расщепленный эякулят или сперматозоиды, полученные после прохождения через градиент плотности (метод “всплывания”) или центрифугирования. Сроки осеменения зависят от качества шейочной слизи, наличия пикового уровня ЛГ или результатов отслеживания развития фолликулов ультразвуковым методом. Предпринимались попытки улучшить результаты с помощью стимуляции овуляции в том цикле, когда производится осеменение [18 – 23].

12.2.1. Показания к интрацервикальному осеменению

Данный метод можно использовать при эякуляторной дисфункции, например ретроградной эякуляции и анэякуляции [24]. В случаях, когда мужчине предстоит пройти курс химиотерапии или радиотерапии в области таза, эякулят необходимо получить до начала лечения. Данных, которые подтверждали бы, что метод эффективен в случаях, когда мужское бесплодие обусловлено другими факторами, не получено.

12.2.2. Показания к внутриматочному осеменению

В литературе по данному вопросу можно найти много различных показаний к внутриматочному осеменению, в отличие от интрацервикального. Тем не менее эффективность первой методики, определяемая на основании показателей числа беременностей на один цикл, обычно ниже 10 %; она представляется эффективной только в первых шести циклах осеменения [8 – 10, 16]. Наиболее распространенные показания включают цервикальный фактор и иммунологические факторы, однако в одном рандомизированном исследовании при сравнении результатов внутриматочного осеменения и нормального полового акта никаких преимуществ данного метода обнаружено не было [9, 16, 17]. При выполнении процедуры искусственного осеменения в сочетании со стимуляцией овуляции в двух перспективных рандомизированных исследованиях у супружеских пар, страдавших бесплодием неясного генеза, были получены удовлетворительные результаты [18, 20].

12.2.3. Использование свежей или замороженной семенной жидкости

Результаты нескольких исследований показали более высокую эффективность использования свежей семенной жидкости, по сравнению с замороженной [22, 25]. Однако другие исследования продемонстрировали ограниченность преимуществ свежей семенной жидкости [23, 26]. Тем не менее, даже если свежая семенная жидкость окажется более эффективным материалом, по-видимому, она будет использоваться все реже и реже, поскольку замороженная семенная жидкость обладает такими преимуществами, как:

- доступность всегда;
- возможность использовать образцы после бактериологического и вирусологического исследования [27];
- легкость транспортировки;
- возможность выполнения нескольких процедур осеменения;
- возможность хранения в течение нескольких лет и зачатия у одной супружеской пары нескольких детей.

12.3. Искусственное осеменение с привлечением донора

С целью снижения вероятности передачи ВИЧ следует использовать лишь те образцы семенной жидкости, которые имеют соответствующие гарантии.

12.3.1. Показания

В подавляющем большинстве случаев заявки на искусственное осеменение с привлечением донора поступают от гетеросексуальных пар; согласно данным одной национальной программы, доля одиноких женщин и гомосексуалистов среди лиц, которые обращаются за подобной услугой, составляет всего 3 % [4].

Искусственное осеменение с привлечением донора обычно предлагаю в случаях, когда мужчина страдает не обратимым бесплодием, например обусловленным идиопатической или обструктивной азооспермией (50 % обращений), идиопатической олигоспермией, генетическим заболеванием [5] или непсихогенной эякуляторной дисфункцией (травматическое вмешательство, неврологическое заболевание, травмы позвоночника). Данная методика рекомендуется также для женщин с выраженной резус-сенсибилизацией.

12.3.2. Подбор донора и реципиента

Большинство программ искусственного осеменения предусматривают подбор донора по фенотипу, сходному с фенотипом мужа, включая рост, цвет глаз и волос, расовую принадлежность, группу крови и резус-фактор. В некоторых центрах для более точного подбора доноров, соответствующих реципиентам по типу черт лица и общефизическим характеристикам, используют фотоснимки доно-

ров и реципиентов. Группу крови донора подбирают таким образом, чтобы группа крови ребенка соответствовала группам крови пары реципиентов [28].

Особенно тщательно подбирают группу крови в случаях, когда у реципиента отмечается отрицательный резус-фактор и сенсибилизация к Rh-антителу [23]. Если женщина имеет отрицательный резус-фактор, но отсутствует Rh-сенсибилизация, лучше использовать донора с отрицательным резус-фактором. При отсутствии донорского материала с подобными характеристиками реципиентов об этом информируют и предлагают в качестве альтернативы осеменение с использованием доступных материалов с последующими инъекциями анти-D (анти-Rh_O)-иммуноглобулина в период беременности и в послеродовом периоде [28].

12.3.3. Риск кровного родства

Можно вычислить риск случайного брака кровных родственников в результате искусственного осеменения с привлечением донора в одной отдельно взятой популяции [29]. Степень риска варьируется в зависимости от размера популяции и количества детей, рожденных в результате привлечения одного донора. За исключением случаев, когда данная популяция представляет собой истинно изолированную подгруппу населения, фактор риска кровного родства, по-видимому, можно свести до минимума, если на каждого донора приходится не более пяти случаев успешного наступления беременности [5, 30].

12.3.4. Практические методики

Практическая методика искусственного осеменения проста, но пока для нее не выработано определенных стандартов. Осеменение осуществляется обычно в области шейки матки, при этом объем используемой семенной жидкости варьируется от 0,25 мл до 0,5 мл. Можно использовать шеечный колпачок. Крайне важно выполнить одну (или более) процедуру осеменения в тот день цикла, когда вероятность зачатия наиболее высокая. Наиболее простой способ определения оптимального срока — отслеживание кривой базальной температуры тела, измеряемой в течение одного или нескольких предшествующих циклов. Было показано, что зачатие вероятнее всего происходит в дни от -3 до -1 (при этом день 0 — последний

день гипотермии, определяемый по температурной таблице) [31]. Успех зависит от трех дополнительных факторов: 1) дилатации шеечного канала; 2) количества шеечной слизи; 3) вязкости слизи [32]. Более точно срок овуляции можно определить с помощью ультразвукового исследования или определения уровня эстрadiола и в особенности ЛГ в плазме [28]. При отсутствии ановуляции, как показали исследования, экзогенная стимуляция овуляции не способствует повышению частоты случаев наступления беременности [28]. Вероятность успешного исхода возрастает пропорционально количеству процедур осеменения, выполненных в течение одного цикла, при этом наилучшие результаты отмечались при выполнении трех процедур; данных, которые показывали бы дальнейшее повышение эффективности при выполнении большего количества процедур, получено не было [32].

Список литературы

1. Medvei, V.C. In: Hingman, M.A., ed. *A history of endocrinology*. Lancaster, MTP Press, 1982.
2. Cianfrani, T. In: Charles, C. & Thomas ed. *Short history of obstetrics and gynecology*. Springfield, IL, 1960.
3. Bunge, R. G. & Sherman, J. K. Fertilizing capacity of frozen human spermatozoa. *Nature*, 173: 767—768 (1953).
4. Office of Technology Assessment. *Infertility: medical and social choices*. Washington, DC, Congress of the United States, 1988.
5. Fédération française des Centres d'Etude et de Conservation des CEufs et du Spermis. Artificial procreation with frozen donor semen: experience of the French Federation C.E.C.O.S. *Human reproduction*, 3: 757—761 (1989).
6. Hull, M.R.J. et al. Prognostic value of the post coital test. A prospective study. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 89: 299—305 (1982).
7. Emperaire, J.C. Intérêt des inseminations artificielles avec le sperme du conjoint en cas d'anomalies non spécifiques du sperme. [Importance of artificial insemination with the partner's sperm in the case of nonspecific sperm abnormalities.] In: Englert, Y. et al., ed. *Sérité masculine et procréations médicalement assistées. [Male sterility and medically assisted reproduction.]* Paris, Doin, 1989, pp.83—99.
8. Gernigon, C. & Kuntmann, J.M. A.I.H. for semen insufficiency. In: David, G. & Price, W., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1979, pp.529—539.
9. Hughes, E. Homologous artificial insemination for oligo-asthenospermia: a randomized controlled study comparing intracervical and intrauterine techniques. *Fertility and sterility*, 48: 278—280 (1987).

10. Cyzlick, F. et al. Autoconservation du sperme et préservation de la fertilité des hommes stérilisés. [Autoconservation of sperm and preservation of the fertility of sterilized men.] In: Englert, Y. et al., ed. *Sérilité masculine et procréations médicalement assistées*. [Male sterility and medically assisted reproduction.] Paris, Doin. 1989, pp.113—118.
11. Toffle, R.C. et al. Intrauterine insemination: the University of Minnesota experience. *Fertility and sterility*, 43: 743—747 (1985).
12. Hoing, L.M. et al. Treatment of infertility because of oligoasthenoteratospermia by transcervical intrauterine insemination of motile spermatozoa. *Fertility and sterility*, 45: 388—391 (1986).
13. Confino, E. et al. Intrauterine insemination with washed human spermatozoa. *Fertility and sterility*, 45: 55—60 (1986).
14. Di Marzo, S.J. & Rakoff, J.S. Intrauterine insemination with husband's washed sperm. *Fertility and sterility*, 46: 470—475 (1986).
15. Cruz, R. I. et al. A prospective study of intrauterine insemination of processed sperm from men with oligoasthenoteratospermia. *Fertility and sterility*, 46: 673—677 (1986).
16. Te Velde, E. et al. Intrauterine insemination of washed husband's spermatozoa: a controlled study. *Fertility and sterility*, 51: 182—185 (1989).
17. Ho, P.C. et al. Intrauterine insemination is not useful in oilgoasthenospermia. *Fertility and sterility*, 51: 682—684 (1989).
18. Dodson, W.C. et al. Superovulation with intrauterine insemination in the treatment of infertility: a possible alternative to gamete intrafallopian transfer and IVE. *Fertility and sterility*, 48: 441—445 (1987).
19. Guerrero, R. Association of the type and time of insemination within the menstrual cycle with the human sex ratio at birth. *New England journal of medicine*, 291: 1056—1059 (1974).
20. Serhal, P. F. et al. Unexplained infertility: the value of Pergonal superovulation combined with intrauterine insemination. *Fertility and sterility*, 49: 602—606 (1988).
21. Matthews, C.D. Artificial insemination: donor and husband. In: Pepperell, R.J. et al., ed. *The infertile couple*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1980, pp.182—208.
22. Richter, M.A. et al. Artificial donor insemination: fresh versus frozen semen. *Fertility and sterility*, 41: 277—280 (1984).
23. Smith, K.D. et al. The influence of ovulatory dysfunction and timing of insemination on the success of donor artificial insemination with fresh or cryopreserved semen. *Fertility and sterility*, 36: 496—502 (1981).
24. Jouannet, P. Intérêts des inséminations artificielles en cas de perturbation de l'éjaculation. [Importance of artificial insemination in the case of ejaculatory disturbance.] In: Englert, Y. et al., ed. *Sérilité masculine et procréation médicalement assistée*. [Male sterility and medically assisted reproduction.] Paris, Doin, 1989, pp.73—81.

25. Steinberger, E. & Smith, K.D.T. Artificial insemination with fresh or frozen semen: a comparative study. *Journal of the American Medical Association*, 223: 778—783 (1973).
26. Steinberger, E. et al. The female factor in A.I.D. In: David, G. & Price, W.S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.301—311.
27. Ceyrie-Cohen, M. The frequency of consanguineous mating due to multiple use of donors in artificial insemination. *American journal of human genetics*, 32: 589—600 (1980).
28. Hummel, W. & Talbert, L. Current management of a donor insemination program. *Fertility and sterility*, 51: 919—930 (1989).
29. Jacquard, A. & Schovaert, D. Artificial insemination and consanguinity. In: David, G. & Price, W.S., ed. *Artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.385—388.
30. American Fertility Society. New guidelines for the use of semen donor insemination. *Fertility and sterility*, 53(suppl.1): 1S—13S (1990).
31. Schwartz, D. et al. Donor insemination: conception rates according to cycle day in a series of 821 cycles with a single insemination. *Fertility and sterility*, 31: 226—229 (1979).
32. Schwartz, D. et al. Importance of insemination timing and frequency of AID. In: David, G. & Price, W.S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.333—340.

13. Результаты искусственного осеменения

13.1. Оценка результатов

Результаты искусственного осеменения следует оценивать по показателю средней частоты успешных исходов (т.е. беременностей) на один цикл лечения и по совокупной частоте успешных исходов; для анализа данных следует применять метод таблиц смертности (life-table method) [1, 2]. Не рекомендуется пользоваться показателями частоты беременностей, выраженнымными в процентных долях от количества пролеченных больных.

13.2. Осеменение семенной жидкостью, взятой от мужа

Достигнутые результаты обычно зависят от особенностей показаний к искусственному осеменению с использованием семенной жидкости мужа. Результаты, получаемые в случаях недостаточности половой функции, например

ретроградной эякуляции или анэякуляции, зависят от качественных характеристик семенной жидкости [3]; это относится к случаям использования сохраненной методом глубокого замораживания семенной жидкости, полученной у больного, которому затем был проведен курс химиотерапии или радиотерапии. Обычно частота случаев наступления беременности составляет 8 — 10 % на один цикл, если содержание сперматозоидов в одной трубке выше 2 млн (8 млн/мл) [4] или если женщинам, которые получали препараты, стимулирующие овуляцию, вводят при осеменении не менее 10 млн подвижных сперматозоидов [5]. Семенную жидкость можно хранить в замороженном виде до 10 лет без утраты ею оплодотворяющей способности [4].

Частота случаев наступления беременности составляла до 16 % на один цикл у больных с измененным составом шеечной слизи или наличием антиспермальных антител [1, 6, 7]. В последнем случае частота случаев беременности составляет около 3 % на один цикл при использовании свежей семенной жидкости, 6 % при использовании промытых сперматозоидов и 9 % при использовании сперматозоидов, полученных методом “всплыивания” [8].

Степень эффективности использования семенной жидкости мужчины, страдающего олигоастеноспермией, оценивается по-разному. Опубликованные результаты исследований трудно сравнивать ввиду вариабельности популяции больных, применяемых методов осеменения и методов определения сроков овуляции.

Внутриматочное осеменение представляется более эффективным по сравнению с интрацервикальным осеменением [9, 10], однако за исключением случаев, когда у женщины обнаруживаются антиспермальные антитела, метод обработки семенной жидкости (промывание, “всплыивание”, центрифугирование) не влияет на частоту случаев наступления беременности [11, 12].

Некоторые исследователи [6, 13 — 15], в отличие от остальных [1], сообщали, что стимуляция овуляции является эффективным методом улучшения показателей наступления беременности. В некоторых исследованиях в большинстве случаев успешного зачатия оно происходило не позднее 3 — 6 мес после начала применения метода ис-

кусственного осеменения [1, 6, 11, 12, 16], однако процентная доля лиц, исключаемых из группы лечения, была высокой (17 — 72 %) [17].

Результаты небольшого числа рандомизированных исследований позволили предположить, что при олигоастено-спермии неэффективны ни интрацервикальное, ни внутриматочное осеменение. В сообщении Kegin и соавт. [18] о результатах контрольного исследования внутриматочное осеменение в срок, определяемый по достижению пикового уровня ЛГ с использованием промытых сперматозоидов, обеспечивало более высокую частоту беременностей, чем обычный половой акт, однако показатели, полученные данными авторами (22 % беременностей на один цикл), не удалось воспроизвести другим исследователям [10, 19].

Еще одно исследование было проведено на материале 345 супружеских пар, страдавших бесплодием нетрубного происхождения, и включало 702 цикла лечения, во время которых внутриматочное осеменение промытой семенной жидкостью, взятой от мужа, выполняли в периовуляторном периоде ежедневно в течение трех дней. Частота случаев наступления беременности была следующая: в случаях, когда единственным нарушением у супружеской пары были стойкие отрицательные результаты посткоитального теста — 15,8 %; при наличии антиспермальных антител у мужчины — 18,5 %; при наличии антиспермальных антител у женщины — 17,1 %; при низком качестве шеечной слизи — 4,7 %; при астеноспермии — 0 %; эндометриозе — 4,1 — 7,7 % в зависимости от тяжести заболевания; бесплодии неясного генеза — 8,5 %. Авторы пришли к заключению, что осеменение с использованием семенной жидкости, взятой от мужа, можно рассматривать как лечение первой очереди в случаях нарушения нормального взаимодействия семенной жидкости и шеечной слизи или наличия антиспермальных антител, проводимое до ОИВ-ПЭ или ПГМТ [20, 21].

Что касается бесплодия неясного генеза, то результаты двух исследований [13, 15] показали, что внутриматочное осеменение в сочетании с суперовуляцией — вполне возможная альтернатива методам ОИВ-ПЭ или ПГМТ. Показатели частоты случаев наступления беременности возрастили от 2,7 % на один цикл при выполнении только внутриматочного осеменения до 26,4 % при внутриматочном

осеменении в сочетании с суперовуляцией. При использовании данного метода лечения частота многоглодной беременности составляла 30 % [13]. Полученные результаты требуют дальнейшего подтверждения.

Помимо исследований эффективности искусственного осеменения семенной жидкостью, взятой от мужа, в случаях нарушенной половой функции [3], других масштабных исследований, которые показали бы, что данный метод повышает способность к деторождению в случаях мужского бесплодия и бесплодия неясного генеза, не проводилось. Прежде чем признать более высокую эффективность метода внутриматочного осеменения, необходимо будет разработать стандартные показания к его применению, обеспечить более точное определение сроков овуляции, стандартизацию процедуры осеменения и провести исследование с привлечением контрольных групп.

13.3. Осеменение с привлечением донора

Результаты масштабного серийного исследования в одной стране показали, что средняя частота беременностей на один цикл составляла 10,3 % в течение первых шести циклов лечения с использованием замороженной семенной жидкости, после чего данный показатель начинал снижаться: по прошествии 24 циклов средняя частота составляла 2,3 % на один цикл [22]. Совокупная частота беременностей при использовании семенной жидкости, сохраняемой методом глубокого замораживания, составляет приблизительно 50 % после первых шести циклов и приблизительно 70 % к концу первого года [22, 23]; эти результаты мало отличаются от результатов, получаемых при использовании свежей семенной жидкости [24 – 26].

В число факторов, влияющих на показатели частоты беременностей, входят качественные характеристики шеечной слизи, овуляторный статус, состояние половых путей женщины и ее возраст [2, 8, 27, 28]. В одном исследовании частота беременностей возрастила от 4 до 20 % на один цикл в результате повышения количества сперматозоидов до 15 млн в одной трубке или 60 млн/мл (выше указанного предела частота беременностей остается неизменной) [29].

Как было определено, наиболее важным параметром семенной жидкости является подвижность сперматозоидов

после размораживания. Поэтому рекомендуется использовать только ту семенную жидкость, которая обладает хорошими показателями подвижности сперматозоидов после размораживания (более 40 % подвижных сперматозоидов) [29].

13.3.1. Продолжительность лечения

У женщин, не имеющих в анамнезе заболеваний органов малого таза, в случаях, когда беременность наступает после осеменения, последовательно проводимого в течение шести циклов, следует выполнить лапароскопию с целью выявления бессимптомных патологических изменений, например эндометриоза начальной стадии или спаечного процесса. По истечении одного года безуспешного лечения методом искусственного осеменения с привлечением донора супружеским парам необходимо обеспечить консультации клинициста и психолога и предложить другие доступные варианты решения проблемы бесплодия, включая бездетный образ жизни, усыновление или применение других методов, например ПГМТ или ОИВ-ПЭ.

За исключением женщин с заболеваниями труб и в возрасте старше 35 лет, для всех остальных наиболее простым и экономичным методом лечения первой очереди является, по-видимому, искусственное осеменение с привлечением донора. После 12 последовательных неудачных циклов лечения следует рассмотреть возможность ОИВ с использованием спермы, взятой от донора, особенно если женщина находится в возрасте 35 лет или старше, страдает ановуляцией или если бесплодию способствует наличие эндометриоза или только одной нормальной маточной трубы [22].

13.3.2. Исход беременности

Было проведено несколько исследований исхода беременности, наступающей в результате искусственного осеменения с привлечением донора [28, 30, 31], однако в большинстве случаев без сравнения с контрольными группами; при этом не всегда четко разделяли группы, где производилось осеменение с использованием замороженной и свежей семенной жидкости [25, 28].

Самопроизвольные аборты и внематочная беременность
Частота самопроизвольных абортов после искусственного осеменения варьируется от 11 до 22 %, при этом средний

показатель составляет 16,1 % [31 — 33]; такая же частота отмечается при самопроизвольно наступающей беременности.

Внематочная беременность составляет до 2 % от общего числа случаев [31, 32]; данное осложнение связано с наличием некоторых факторов риска, например ранее перенесенного воспалительного заболевания в области таза.

Многоплодная беременность

Сообщаемая в литературе частота многоплодной беременности после искусственного осеменения достигает 4,5 % на один цикл лечения при одновременном стимулировании функции яичников [24], однако частота осложнений у матери в случаях искусственного осеменения с привлечением донора не выше, чем при нормально наступившей беременности [31, 32].

Осложнения у матери

Более высокая частота преэклампсии (9,3 % против ожидаемых 5 %) отмечалась только в одном исследовании [34]. Однако в указанном исследовании не учитывали возраст матери, хотя искусственное осеменение производится, как правило, в более позднем возрасте [22]; этот фактор может способствовать повышению частоты как преэклампсии, так и хирургического родоразрешения [32].

Соотношение полов, врожденные пороки развития и хромосомные нарушения

Соотношение полов детей, рожденных в результате искусственного осеменения с привлечением донора, не отличается от данного показателя при самопроизвольно наступающей беременности [30, 33, 35, 36]. Общая частота врожденных пороков менее 2 %, т.е. ниже, чем в целом среди населения [22]. Однако частота хромосомных нарушений после осеменения с использованием семенной жидкости, которую сохраняют методом глубокого замораживания, приближается к верхнему пределу нормы [30], поэтому для подобного изучения данной проблемы необходимо провести масштабное перспективное исследование.

13.3.3. Исследования с длительным последующим наблюдением

Было проведено крайне мало исследований, которые включали бы последующее наблюдение за развитием нескольких сотен тысяч детей, зачатых в результате искус-

ственного осеменения с привлечением донора [37—39]. По-видимому, данное обстоятельство не оказывало отрицательного влияния на развитие детей, однако такой вывод может быть подтвержден только результатами формальных исследований.

Список литературы

1. Lallich, R. et al. Life table analysis of intrauterine insemination pregnancy rates. *American journal of obstetrics and gynecology*, 158: 980—984 (1988).
2. Schwartz, D. & Mayaux, M.J. Mode of evaluation of results in artificial insemination. In: David, G. & Price, W.S., ed. *Gender after artificial induction of ovulation and artificial insemination*. New York, Plenum Press, 1980, pp.474—475.
3. Jouannet, P. Intérêt des inséminations artificielles en cas de perturbation de l'éjaculation. [Importance of artificial insemination in the case of ejaculatory disturbance.] In: Englert, Y. et al., ed. *Sérilité masculine et procréation médicalement assistée*. [Male sterility and medically assisted reproduction.] Paris, Doin, 1989, pp.73—81.
4. Czyglick, F. et al. Autoconservation du sperme et preservation de la fertilité des hommes stérilisés. [Autoconservation of sperm and preservation of the fertility of sterilized men.] In: Englert, Y. et al., ed. *Sérilité masculine et procréations médicalement assistées*. [Male sterility and medically assisted reproduction.] Paris, Doin, 1989, pp.83—99.
5. Horvath, P. M. et al. The relationship of sperm parameters to cycle fecundity in superovulated women undergoing intrauterine insemination. *Fertility and sterility*, 52: 288—294 (1989).
6. Margalloth, E. et al. Intrauterine insemination as treatment for anti-sperm antibodies in the female. *Fertility and sterility*, 50: 441—446 (1988).
7. Te Velde, E. et al. Intrauterine insemination of washed husband's spermatozoa: a controlled study. *Fertility and sterility*, 51: 182—185 (1989).
8. Emperaire, J. C. Intérêt des inséminations artificielles avec le sperme du conjoint en cas d'anomalies non spécifiques du sperme. In: Englert, Y. et al., ed. *Sérilité masculine et procréations médicalement assistées*. [Male sterility and medically assisted reproduction.] Paris, Doin, 1989, pp.83—99.
9. Cruz, R. I. et al. A prospective study of intrauterine insemination of processed sperm from men with oligoasthenoteratospermia. *Fertility and sterility*, 46: 673—677 (1986).
10. Hughes, E. Homologous artificial insemination for oligoasthenospermia: a randomized controlled study. Comparing intracervical and intrauterine techniques. *Fertility and sterility*, 48: 278—280 (1987).
11. Allen, N. et al. Intrauterine insemination: a critical review. *Fertility and sterility*, 44: 569—581 (1985).

12. **Wiltbank, M.C. et al.** Treatment of infertile patients by intrauterine insemination of washed spermatozoa. *Andrologia*, 17: 22—30 (1985).
13. **Dodson, W.C. et al.** Superovulation with intrauterine insemination in the treatment of infertility: a possible alternative to gamete intrafallopian transfer and IVF. *Fertility and sterility*, 48: 441—445 (1987).
14. **Kemmann, E. et al.** Active ovulation management increases the monthly probability of pregnancy occurrence in ovulatory women who receive intrauterine insemination. *Fertility and sterility*, 48: 916—920 (1987).
15. **Serhal, P. F. et al.** Unexplained infertility: the value of Pergonal superovulation combined with intrauterine insemination. *Fertility and sterility*, 49: 602—606 (1988).
16. **Di Marzo, S.J. & Rakoff, J.S.** Intrauterine insemination with husband's washed sperm. *Fertility and sterility*, 46: 470—475 (1986).
17. **Nachtigall, R. et al.** Artificial insemination of husband's sperm. *Fertility and sterility*, 32: 141—147 (1979).
18. **Kerin, J. et al.** Improved conception rate after intrauterine insemination of washed spermatozoa from men with poor quality semen. *Lancet*, 1: 533—534 (1984).
19. **Ho, P-C. et al.** Intrauterine insemination is not useful in oligoasthenospermia. *Fertility and sterility*, 51: 682—684 (1989).
20. **Yovich, J. L. & Matson, P. L.** Pregnancy rates after high intra-uterine insemination of husband's spermatozoa or gamete intrafallopian transfer. *Lancet*, 2: 1287 (1986).
21. **Yovich, J. L. & Matson, P. L.** The treatment of infertility by the high intrauterine insemination of the husband's washed spermatozoa. *Human reproduction*, 3: 939—943 (1988).
22. **Fédération française des Centres d'Etude et de Conservation des CEufs et du Sperme et al.** Artificial procreation with frozen donor semen: experience of the French federation C.E.C.O.S. *Human reproduction*, 4: 757—761 (1989).
23. **Trounson, A.O. et al.** Artificial insemination by frozen donor semen: results of multicenter Australian experience. *International journal of andrology*, 4: 227—232 (1981).
24. **Smith, K. D. et al.** The influence of ovulatory dysfunction and timing of insemination on the success of artificial insemination donor (AID) with fresh or cryopreserved semen. *Fertility and sterility*, 36: 496—502 (1981).
25. **Steinberger, E. & Smith, K.D.T.** Artificial insemination with fresh or frozen semen: a comparative study. *Journal of the American Medical Association*, 223: 778—783 (1973).
26. **Trounson, A.O. et al.** Studies of the deep freezing and artificial insemination of human semen. In: Richardson, D. et al., ed. *Frozen human semen*. London, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 1979, pp.173—183.

27. David, G. et al. Results of AID for a first and succeeding pregnancies. In: David, G. & Price, W. S., ed. *Artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.211—221.
28. Katzorke, T. et al. Results of donor artificial insemination in 415 couples. *International journal of fertility*, 26: 260—266 (1981).
29. David, G. The success of AID and semen characteristics: study on 1,489 cycles and 192 ejaculates. *International journal of andrology*, 3: 613—619 (1980).
30. Fédération française des Centres d'Etude et de Conservation des CEufs et du Sperme et al. Genetic aspects of artificial insemination by donors. Indications, surveillance and results. *Clinical genetics*, 23: 132—138 (1983).
31. Virro, M. R. & Schewchuk, A. B. Pregnancy outcome in 242 conceptions after artificial insemination with donor sperm and effects of maternal age on the prognosis for successful pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 148: 518—524 (1984).
32. Lansac, J. et al. La grossesse et l'accouchement après IAD avec sperme congelé. [Pregnancy and delivery after AID with frozen sperm.] *Revue française gynécologique obstétrique*, 79: 565—569 (1984).
33. Yovich, J. M. & Matson, P. L. Early pregnancy wastage after gamete manipulation. *British journal of obstetrics and gynaecology*, 95: 1120—1127 (1988).
34. Need, S.A. et al. Pre-eclampsia in pregnancies from donor inseminations. *Journal of reproductive immunology*, 5: 329—338 (1983).
35. Guerrero, R. Association of the type and time of insemination within the menstrual cycle with the human sex ratio at birth. *New England journal of medicine*, 291: 1056—1059 (1974).
36. Mortimer, D. & Richardson, D.W. Sex ratio at births resulting from artificial insemination. *British journal of obstetrics*, 89: 132—135 (1982).
37. Manuel, C. & Czyba, J. C. Follow-up study on children born through AID. In: David, G. & Price, W. S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.313—324.
38. Mochimaru, F. et al. Physical and mental development of children born through AID. In: David, G. & Price, W.S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.277—282.
39. Semonov, G. et al. Attempt at follow up of children born through AID. In: David, G. & Price, W. S., ed. *Human artificial insemination and semen preservation*. New York, Plenum Press, 1980, pp.475—477.

14. Оборудование и персонал

Опыт, полученный за последнее десятилетие, показал, что эффективность работы центров, предлагающих лечение

методом медицински индуцированного зачатия, в значительной степени зависит от качества доступных технологий и квалификации кадров, а также от общего объема работы, выполняемой в клинике. Данная область медицины постоянно развивается, поэтому персонал подобных центров должен быть готов активно внедрять новые технологии и методики, а также новые схемы медикаментозного лечения по мере их появления. При этом необходимо обеспечить такой поток больных, который позволял бы поддерживать на необходимом уровне квалификацию персонала и обеспечивал бы необходимую мотивацию к эффективной работе.

Важно различать те центры, где предлагается только клиническое лечение, и те, которые одновременно проводят научные исследования. Указанные два вида деятельности должны осуществляться раздельно, при этом для проведения научных исследований необходимо разработать формальные протоколы в соответствии с установленными требованиями; кроме того, темы исследований должны быть научно обоснованными и получать одобрение независимых рецензентов, а также официального комитета по этике и экспериментированию на материале человека. Национальные требования к проведению исследований были опубликованы компетентными профессиональными органами в Австралии [1] и США [2, 3], а также Добровольным лицензионным управлением в Великобритании [4].

Вся деятельность в области медицински индуцированного зачатия должна ограничиваться одним специально созданным для этой цели клиническим подразделением. Конкретная структура данного подразделения зависит от местных условий; так, например, если в центре давно существует квалифицированная лаборатория гормональных исследований, можно не создавать отдельной лаборатории подобного типа внутри подразделения, где осуществляется ОГУ. Одно из наиболее важных требований предусматривает размещение эмбрионологической лаборатории в непосредственной близости от операционного блока.

В центре медицински индуцированного зачатия могут быть созданы условия для оплодотворения *in vitro* и/или оплодотворения *in vivo*. В данном контексте оплодотворение *in vivo* включает методы прямого интраперитонеального осеменения и ПГМТ, а оплодотворение *in vitro* —

стандартные процедуры ОГВ-ПЭ, ПРОСТ, пересадки эмбрионов в маточные трубы и ПЗМТ. Для выполнения данных процедур *in vitro* необходимо иметь специально подготовленные кадры и оборудование для экстракорпорального оплодотворения, включая культивирование гамет и эмбрионов и тщательное наблюдение за развитием эмбрионов. Перечень оборудования для оснащения подобных центров и дополнительное обучение персонала зависят от конкретных видов предоставляемой медицинской помощи.

14.1. Оборудование

Минимальный перечень оборудования, необходимого для оснащения центров ОГВ, включает:

- Лабораторные установки для анализа семенной жидкости, как минимум в соответствии со спецификациями, которые содержатся в *Руководстве ВОЗ для лабораторий исследований семенной жидкости человека и взаимодействия семенной жидкости и цервикальной слизи* [5], включая световые микроскопы с фазово-контрастной оптикой, гемоцитометр, счетные камеры и реагенты, необходимые для определения жизнеспособности сперматозоидов.
- Полностью автономную лабораторию для работы с гаметами и эмбрионами; лаборатория должна быть оснащена стереомикроскопом, ламинарным боксом с направленными воздушными потоками, инкубатором и пластиковой стеклянной лабораторной посудой одноразового пользования для культивирования клеток.
- Питательные среды и дистиллиированную воду; указанные материалы можно закупать в готовых формах или приготавливать в лаборатории. Вода должна быть стерильной и деионизированной. Следует заметить, что для производства стерильной деионизированной воды необходимо сложное оборудование, поэтому для большинства лабораторий выгоднее закупать данные продукты. Все применяемые в настоящее время питательные среды следует инкубировать с 5 % двуокисью углерода.
- Установки для исследований гормонов. Данный вид оборудования следует разместить непосредственно в отделении ОГВ или в лаборатории, расположенной в непосредственной близости от отделения, чтобы обеспечить к нему ежедневный доступ. Как правило, необхо-

димо иметь методики исследований следующих гормонов: эстрадиола, прогестерона, ФСГ, ЛГ и ХГ. Для подобных исследований необходимо иметь специальные наборы для радиоиммуноанализа и счетчик гаммаизлучения. Рекомендуется закупать готовые наборы для радиоиммуноанализа, оснащенные устройствами для внутреннего и внешнего контроля качества. Для исследований большинства перечисленных гормонов в настоящее время созданы методики твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), преимущества которых состоит в том, что они не требуют применения радиоактивных реагентов и обеспечивают быструю обработку большого количества образцов.

- Ультразвуковое оборудование. Подобное оборудование должно быть всегда доступно в центре ОIV для обеспечения мониторного наблюдения за функцией яичников и может включать специальный датчик, предназначенный для ультразвукового контроля во время трансвагинальной процедуры забора яйцеклеток.
- Малая операционная. Подобная операционная необходима для выполнения вмешательств, которые требуют общей анестезии. В этой операционной должно быть размещено оборудование для лапароскопии, забора ооцитов, вакуумной аспирации фолликулов и пересадки эмбрионов. Необходимо иметь постоянный доступ к оборудованию для экстренной операции и реанимации.

Минимальный перечень оборудования для центров, которые занимаются только оплодотворением *in vivo*, включает весь приведенный выше перечень, за исключением специфических видов оборудования для выполнения ОIV.

В тех центрах, где не может быть гарантировано бесперебойное поступление электроэнергии, необходимо обязательно установить регуляторы напряжения в сети и автономные генераторы электрического тока. В тех странах, где сложно обеспечить инженерно-техническое обслуживание и не налажена доставка запасных частей, необходимо дополнительно создать специальный механизм бесперебойного снабжения необходимым оборудованием и запасными частями, а также регулярного инженерно-технического обслуживания.

Если одним из видов деятельности центра является глубокое замораживание биологических материалов, необходимо обеспечить соответствующее оборудование, включая контролируемую биологическую камеру замораживания и установки с жидким азотом, работающие в режиме автоматического заполнения [6]. В тех центрах, где, помимо клинического лечения, проводятся научные исследования, потребуется дополнительно установить более сложное оборудование.

14.2. Кадры

Для эффективной работы центров, обеспечивающих медицински индуцированное зачатие, необходимо тесное взаимодействие всех сотрудников по принципу единой команды. Команда специалистов, обеспечивающих подобное обслуживание, должна включать:

- специалиста-гинеколога, имеющего специальное образование и практический опыт лечения бесплодия, в частности репродуктивной эндокринологии и оперативной гинекологии;
- специалиста по ультрасонографии для мониторного наблюдения за развитием фолликулов. Эту обязанность должен выполнять клиницист, получивший специальную подготовку в области гинекологической ультрасонографии и способный выполнять трансвагинальный забор яйцеклеток под контролем сонографии;
- биолога, обладающего практическим опытом в области клинической эмбрионологии, культивирования тканей и работы с гаметами;
- эмбриолога или биолога, специализирующегося в области криобиологии, если одним из видов деятельности центра является глубокое замораживание биологических материалов;
- лаборантов общего профиля, имеющих специальное образование и практический опыт культивирования тканей. Если в центре производятся исследования гормонов, данный вид исследований должны выполнять специально обученные лаборанты;
- опытных и квалифицированных акушерок или медицинских сестер для обеспечения постоянного ухода за

больными, а также координации и детального планирования всех выполняемых процедур;

- технический персонал для ведения историй болезни, регистрации данных и обеспечения надежного хранения и конфиденциальности историй болезни.
- Других специалистов в области здравоохранения, включая психологов, андрологов и социальных работников.

Необходимо помнить, что центр, обеспечивающий медицински индуцированное зачатие, работает круглосуточно и без выходных дней, включая официальные праздничные дни. Поэтому необходимо иметь достаточное количество персонала, чтобы обеспечить подмену лиц, которые находятся в отпусках или больны, а также дежурства в ночное время и в выходные дни.

Список литературы

1. **The Fertility Society of Australia.** Guidelines to the code of practice for units using *in vitro* fertilization and related reproductive technologies. *Newsletter, Fertility Society of Australia*, 14: 4—5 (1989).
2. **The American Fertility Society.** Minimal standards for programs of *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 46(suppl. 1): 875—885 (1986).
3. **The American Fertility Society.** Revised minimum standards for *in vitro* fertilization, gamete intrafallopian transfer, and related procedures. *Fertility and sterility*, 53: 225—226 (1990).
4. **Interim Licensing Authority.** *IVF research in the UK: a report on research licensed by the Interim Licensing Authority (ILA) for human *in vitro* fertilization and embryology 1985—1989*. London, Medical Research Council/Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 1989.
5. **World Health Organization Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction.** *WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction*. Cambridge, Cambridge University Press, 1987.
6. **Trounson, A.O.** Preservation of human eggs and embryos. *Fertility and sterility*, 46: 1—12 (1986).

15. Исследования, проводимые в настоящее время, и перспективы на будущее

Тематика проводимых в настоящее время исследований в области медицински индуцированного зачатия включает качественные характеристики ооцитов, взаимодействие

ооцитов и сперматозоидов, отбор “оптимальных” эмбрионов, процесс имплантации, а также функциональные свойства эндометрия.

15.1. **Ооцит**

15.1.1. *Индуцирование овуляции*

Необходимо создать более тонко разработанные схемы индуцирования овуляции с использованием рекомбинантных ФСГ и ЛГ с учетом индивидуальных особенностей больных, что позволит снизить риск развития синдрома гиперстимуляции и многоглодной беременности.

Замена ХГч рекомбинантным ЛГ в схеме индуцирования овуляции, вероятно, обеспечит определенные преимущества, которые состоят в коротком периоде полувыведения препарата [1] и более эффективной селекции ооцитов; например, при этом появляется возможность забирать только те ооциты, которые достигли оптимального уровня созревания. Возможно, ЛГ обладает более совершенными физиологическими свойствами, по сравнению с ХГч, в отношении эффективности индуцирования овуляции, которые пока не определены.

При использовании чистых рекомбинантных препаратов появляется возможность имитировать естественный цикл путем поддержания минимального уровня ЛГ в фолликулярной фазе и резкого повышения уровня ФСГ в середине цикла.

Последние работы продемонстрировали преимущества агонистов ГнВГ, назначаемых дополнительно к уже применяемым схемам индуцирования овуляции [2]. Возможно, применение антагонистов ГнВГ позволит еще более снизить частоту побочных осложнений.

15.1.2. *Периферические маркеры созревания ооцитов*

Действующие в настоящее время стандарты оценки степени созревания ооцитов основаны на исследовании уровней эстрадиола в плазме и ультразвуковом мониторном наблюдении с помощью влагалищного датчика с целью определения количества и размеров фолликулов. Ежедневное определение уровней прогестерона и ЛГ [3] не обеспечивает более точных показателей созревания

ооцитов, поэтому для выявления более специфичных маркеров необходимы дальнейшие исследования.

15.1.3. Местные маркеры созревания ооцитов

Был проведен ряд важных исследований, посвященных оценке паракринной регуляции фолликулогенеза. Участвующие в этих процессах регуляторные механизмы включают факторы роста [4] и связывающие их белки, ренин-ангиотензиновую систему [5] и местное воздействие белковых факторов [6].

15.1.4. Хромосомный анализ

Было показано, что до 50 % ооцитов, созревающих в результате индуцированной овуляции, имеют аномальный набор хромосом [7], а у ооцитов, которые сохраняли методом глубокого замораживания, нередко наблюдается нарушенный состав хромосом. Механизмы, лежащие в основе указанных важных биологических явлений, требуют глубокого изучения. Были начаты предварительные исследования аберраций тубулинового компонента веретена деления [8].

15.1.5. Созревание *in vitro*

Недавно был опубликован отчет о проведенном исследовании процессов созревания незрелых ооцитов *in vitro* и значения этих процессов для оплодотворения и оценки возможности наступления беременности [9].

15.2. Сперма

15.2.1. Видоспецифичные поверхностные рецепторы сперматозоидов к *zona pellucida*

Исследования поверхностных рецепторов сперматозоидов, определение их характеристик и специфический биохимический анализ крайне важны для лучшего понимания оплодотворяющей способности сперматозоидов [10].

15.2.2. Хромосомный анализ аномальных сперматозоидов

В большинстве исследований, судя по данным литературы, отмечается низкая частота (около 8 %) структурных или количественных хромосомных аберраций в популяци-

ях нормальных сперматозоидов, однако пока не было получено результатов исследований хромосом ненормальных сперматозоидов.

15.2.3. Биохимические маркеры

Были идентифицированы различные биохимические маркеры функции сперматозоидов. Большинство из них основано на процессах метаболизма; так, например, в сперме мужчин, страдающих олигоспермией, повышенены уровни креатинкиназы, что указывает на нарушение процессов метаболизма [11]. Необходимы дальнейшие исследования процессов метаболизма сперматозоидов с целью определения их подвижности и оплодотворяющей способности. Необходима точная оценка анатомической целостности и функциональных способностей акросомы, поскольку она играет важнейшую роль в проникновении сперматозоида в zona pellucida. Были проведены испытания некоторых методов оценки акросомы [12], однако необходимо разработать новые методы с более эффективными и воспроизводимыми результатами.

15.2.4. Взаимодействие сперматозоид — ооцит

Метод исследования полузоны представляет собой метод приблизительной оценки взаимного сродства и взаимодействия сперматозоидов и zona pellucida [13]. Другой метод предусматривает изъятие сперматозоидов, которые не обеспечивают оплодотворения *in vitro*, из области zona pellucida и повторное осеменение ооцита фертильной донорской спермой; данный метод был рекомендован для оценки оплодотворяющей способности сперматозоидов и относительной ответственности ооцита за неудачное оплодотворение [14]. Необходимы дальнейшие исследования с целью более точного выявления рецепторов на поверхности сперматозоидов и ооцитов. Кроме того, следует тщательно изучить процессы видоизменения сперматозоидов.

15.2.5. Микроманипулирование

Большинство проводимых в настоящее время исследований низкой оплодотворяющей способности мужчин, страдающих олигоспермией, предусматривают микроманипулирование на ооците с целью облегчения успешного оп-

лодотворения [15]. Данные методы включают сверление или рассечение zona pellucida, пункцию ее и прямую инъекцию спермы в околожелточное пространство яйцеклетки или ооплазму (см. раздел 8.3). Утверждалось, что дополнительная кортикостероидотерапия способствует улучшению показателей имплантации ооцитов после рассечения zona pellucida [16], однако в настоящее время подобное лечение не считается эффективным.

Был опубликован предварительный отчет применения микрохирургических методик, включая пронуклеарную экстракцию спермы с целью коррекции полиспермии [17]. До внедрения подобных методик в клиническую практику необходимо провести исследования хромосом, которые подтвердили бы возможность полного удаления дополнительного мужского пронуклеуса [18]. Микроманипулирование во время осеменения было рекомендовано при отсутствии подвижных сперматозоидов, тяжелой олигоспермии (менее 5×10^6 на 1 мл) и мнимой неспособности сперматозоидов проникать сквозь наружные оболочки ооцита [19]. Полиспермия обеспечивает успешное оплодотворение *in vitro* приблизительно в 5 % случаев [20, 21], однако значительно чаще наблюдается после микрохирургического оплодотворения, которое все более широко применяется по поводу олигоастеноспермии [22].

15.3. Эндометрий

Процессы имплантации эмбриона и его взаимодействие с эндометрием у человека изучены крайне слабо. Исследования с использованием донорских эмбрионов показали, что "окно рецептивности" эндометрия шире, чем предполагалось ранее; необходимо иметь более точные данные о его детерминантных характеристиках. Дальнейшего изучения требуют и процессы регуляции созревания и дифференциации эндометрия, в частности лежащие в их основе биохимические, генетические и молекулярные механизмы.

15.4. Методы исследования и сохранения эмбриона методом глубокого замораживания

Проводить исследования на материале эмбрионов довольно сложно ввиду ограничений, налагаемых общепринятыми морально-этическими нормами. Многие государственные органы и негосударственные организации разработа-

ли специальные научные и этические стандарты проведения исследований на эмбрионах; в качестве примера можно привести руководство, подготовленное Британским добровольным лицензионным управлением [23]. Поэтому приходится пользоваться в основном косвенными методами оценки состояния эмбрионов.

Несмотря на то что сохранение методом глубокого замораживания стало обычным компонентом медицински индуцированного зачатия, необходимы дальнейшие исследования влияния различных применяемых методов на исход беременности и развитие плода и новорожденного. Необходимы также исследования на ооцитах, которые позволили бы определить возможный предельный срок их хранения в замороженном состоянии с сохранением жизнеспособности.

15.4.1. Биопсия эмбриона

Последние достижения в области генетических технологий, включая использование реакции цепи полимеразы и полиморфизм с ограничением длины фрагмента, обеспечили более точную диагностику генетических заболеваний. В настоящее время появилась возможность удаления частицы эмбриона, например одного бластомера или его ядра, с целью выявления специфических генетических нарушений [24]; подобным образом можно диагностировать более двухсот известных генетических заболеваний, обусловленных рецессивной X-хромосомой, в частности адренолейкодистрофию и задержку умственного развития, обусловленные X-хромосомой [25]. Такую же методику можно применять для определения пола [26]. Отдаленные последствия взятия биоптата эмбриона пока окончательно не изучены. По мере углубления наших знаний о геноме человека можно ожидать дальнейших достижений в данной области.

15.4.2. Совместное культивирование

Предпринимались попытки ускорить созревание эмбриона путем совместного культивирования. В подобных экспериментах в качестве матрицы использовали бычье фибробласти [27] и эпителий маточных труб человека [28], руководствуясь теоретическим положением, что процессы имплантации ускоряются при культивировании эмбриона в контакте с тканью.

15.4.3. Биохимические маркеры качества эмбриона

Ранее уже предлагались косвенные биохимические маркеры качественных характеристик эмбриона, включая фактор активации тромбоцитов [29], различные факторы роста и связывающие их белки, ферменты, ФСГ, ЛГ и пролактин [30]. Поэтому при добавлении в культуральную среду некоторых веществ можно, вероятно, ускорить процессы эмбриогенеза [29].

Поскольку развитие эмбриона человека вплоть до стадии восьми клеток, по-видимому, контролируется генетическими факторами ооцита после полной активации его генома, исследование маркеров генетической активности эмбриона, выделяемых в культуральную среду, могут иметь прогностическую ценность для определения его жизнеспособности. Однако дальнейшее развитие в данной области исследований будет зависеть от усовершенствования технологии культивирования эмбриона в период ранее стадии восьми клеток [31].

15.4.4. Облегченный выход эмбриона

Недавно появились сообщения о том, что разрыв zona pellucida до введения эмбриона в организм женщины облегчает процесс имплантации. Эти работы были основаны на наблюдении, что до 30 % эмбрионов в эндометрии далее не развиваются [32].

15.4.5. Усовершенствование методики пересадки эмбриона в организм женщины

Были разработаны новые методики помещения гамет и эмбрионов в матку и маточные трубы, которые обладают четко выраженным преимуществами по сравнению с ранее созданными методиками, поскольку не требуют общей анестезии и выполнения лапаротомии. Контроль процесса введения катетера в маточную трубу осуществляется тактильно, с помощью получения изображения или прямого наблюдения. Одним из указанных методов является пересадка эмбрионов в маточные трубы через катетер, заранее введенный в трубу под ультразвуковым контролем через трансцервикальный доступ [33]. Пока не опубликовано данных, которые подтвердили бы удобство, эффективность и безопасность новых методик.

15.5. Усовершенствование технологий

Поскольку ОIV и сопутствующие процедуры высокотехнологичны, вполне целесообразно ожидать дальнейшего усовершенствования применяемых в настоящее время технологий и оборудования, в том числе получение более качественных изображений с помощью допплера, цветного допплера и датчиков более высокой степени разрешения. Для лабораторных исследований в настоящее время предлагается более совершенный состав питательных сред, а также разрабатываются методы микроманипулирования с помощью лазерного луча. Кроме того, ввиду появления новых достижений в области генетики человека и молекулярной медицины следует ожидать быстрого внедрения их в практику репродуктивной медицины.

15.6. Исследования в области охраны здоровья населения и социологических наук

Необходимо исследовать возможные последствия внедрения в практику здравоохранения новых технологий, о которых шла речь выше. Важную область исследований представляет собой оценка психологических последствий этих достижений, главным образом при взаимодействии их с социально-культурными традициями населения тех местностей, где они будут внедрены.

Список литературы

1. Simon, J.A. et al. Characterization of recombinant DNA derived human luteinizing hormone *in vitro* and *in vivo*. Efficacy in ovulation induction and corpus luteum support. *Journal of the American Medical Association*, **259**: 3290—3295 (1988).
2. Wildt, L. et al. Ovarian hyperstimulation for IVF controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotropin. *Human reproduction*, **1**: 15—19 (1986).
3. Ferraretti, A.P. et al. Serum luteinizing hormone during ovulation induction with human menopausal gonadotropins for *in vitro* fertilization in normally menstruating women. *Fertility and sterility*, **40**: 742—747 (1983).
4. Hernandez, E.R. et al. Rat ovarian insulin-like growth factor 1 (IGF-1) gene expression is granulosa cell-selective: 5'-untranslated mRNA variant representation and hormonal regulation. *Endocrinology*, **125**: 572—574 (1989).
5. Itskovitz, J. et al. The ovarian prorenin-angiotensin system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **541**: 179—189 (1988).

6. Seppala, M. et al. Human preovulatory follicles and corpus luteum contain placental protein 12. *Journal of clinical and endocrinological metabolism*, 58: 505—510 (1984).
7. Wranisby, H. et al. Chromosome analysis of human oocytes recovered from preovulatory follicles in stimulated cycles. *New England journal of medicine*, 316: 121—124 (1987).
8. Sathananthan, A.H. The effects of ultrarapid freezing on meiotic and mitotic spindles of mouse oocytes and embryos. *Gamete research*, 21: 385—401 (1988).
9. Cha, K.Y. et al. Pregnancy after *in vitro* fertilization of human follicular oocytes collected from non-stimulated cycle, their culture *in vitro* and their transfer according to the donor oocyte program. *Fertility and sterility*, 52(suppl.): 1 (1989).
10. Kinloch, R.A. & Wasserman, P. M. Nucleotide sequence of the gene encoding zona pellucida glycoprotein ZP3 — the mouse sperm receptor. *Nucleic acids research*, 17: 2861—2863 (1989).
11. Huszar, G. et al. Correlation between sperm creatine phosphokinase activity and sperm concentrations in normospermic and oligospermic men. *Gamete research*, 19: 67—75 (1988).
12. Bruckner, C. & Alexander, N.J. Evaluation of the acrosome: immunological methods. In: Acosta, A.A. et al., ed. *Human spermatozoa in assisted reproduction*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1990, pp.114—118.
13. Franken, D.R. et al. The hemizona assay (HZA): a predictor of human sperm fertilizing potential in *in vitro* fertilization (IVF) treatment. *Journal of in vitro fertilization and embryo transfer*, 6: 44—50 (1989).
14. Tesarik, J. The potential diagnostic use of human zona-free eggs prepared from oocytes that failed to fertilize *in vitro*. *Fertility and sterility*, 52: 821—824 (1989).
15. Gordon, J.W. Use of micromanipulation for increasing the efficiency of mammalian fertilization *in vitro*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 541: 601—613 (1988).
16. Cohen, J. et al. Immunosuppression supports implantation of zona pellucida dissected human embryos. *Fertility and sterility*, 53: 662—665 (1990).
17. Maiter, H.E. & Cohen, J. Embryonic development after microsurgical repair of polyspermic human zygotes. *Fertility and sterility*, 52: 373—380 (1989).
18. Gordon, J. W. et al. Successful microsurgical removal of a pronucleus from tripronuclear human zygotes. *Fertility and sterility*, 52: 367—372 (1989).
19. Ng, S-C. et al. Micromanipulation: its relevance to human *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 53: 203—219 (1990).
20. Wentz, A.C. et al. The problem of polyspermy in *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 40: 748—754 (1983).
21. Kola, I. et al. Tripronuclear human oocytes: altered cleavage patterns and

- subsequent karyotypic analysis of embryos. *Biology of reproduction*, **37**: 395—401 (1987).
22. Gordon, J.W. et al. Fertilization of human oocytes by sperm from infertile males after zona pellucida drilling. *Fertility and sterility*, **50**: 68—73 (1988).
 23. Voluntary Licensing Authority for Human *In Vitro* Fertilization and Embryology. *The fourth report*. London, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 1989.
 24. McLaren, A. *Can we diagnose genetic disease in preembryos? Report on the use of human foetal, embryonic and preembryonic material for diagnostic, therapeutic, scientific, industrial and commercial purposes*. Strasbourg, Council of Europe, 1989, pp. SS6.1—6.4.
 25. Handyside, A.H. et al. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*, **344**: 768—770 (1990).
 26. Handyside, A.H. et al. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet*, **2**: 347—349 (1989).
 27. Wiemer, K.E. et al. *In vitro* development and implantation of human embryos following culture on fetal uterine fibroblast cells. *Human reproduction*, **4**: 595—600 (1989).
 28. Bongso, A. et al. Improved quality of human embryos when co-cultured with human ampullary cells. *Human reproduction*, **4**: 706—713 (1989).
 29. O'Neill, C.O. et al. Supplementation of *in vitro* fertilization culture medium with platelet activating factor. *Lancet*, **2**: 769—771 (1989).
 30. Laufer, N. et al. Gonadotropin and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized *in vitro*. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, **58**: 430—434 (1984).
 31. Tesarik, J. Viability assessment of preimplantation concepti: a challenge for human embryo research. *Fertility and sterility*, **52**: 364—366 (1989).
 32. Cohen, J. et al. Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement in implantation by assisting hatching using micromanipulation. *Human reproduction*, **5**: 7—13 (1990).
 33. Jansen, R.P.S. & Anderson, J.C. Catheterization of the fallopian tubes from the vagina. *Lancet*, **2**: 30—37 (1987).

16. Разработка национальных государственных документов, обеспечивающих гарантии качества медицински индуцированного зачатия

В 1980-е годы, когда ОИВ и сопутствующие процедуры перестали быть чисто экспериментальными и их начали

применять в клинике для лечения определенных типов бесплодия, при быстром росте количества центров, предлагающих подобные виды медицинской помощи, возникла потребность в контролировании практических методик, возможных побочных реакций, а также клинической эффективности метода. В большинстве стран были созданы неформальные системы регистрации и учета данных. Так, в Великобритании все центры подлежат регистрации и периодической инспекторской проверке и обязаны сообщать результаты своей деятельности [1]. Добровольная система в США включает 181 из известных 200 клиник, применяющих в практике методы медицински индуцированного зачатия, и действует под эгидой национальной профессиональной организации — Американского общества фертильности [2—4]. Австралийская система включает 22 центра в Австралии и 3 в Новой Зеландии; она была организована отделом национальной перинатальной статистики Сиднейского университета [5].

В большинстве стран пока нет клиник, которые имели бы количество больных, достаточное для получения необходимого объема данных, подтверждающих относительную безопасность и эффективность исследуемых методов. Кроме того, успех применения многих указанных методик в значительной степени зависит от квалификации персонала. Динамика деятельности каждого вновь открываемого центра вначале следует “кривой познания”, однако усовершенствование практики возможно только при условии, что все полученные данные и результаты исследований точно и систематически регистрируются и позволяют проводить сравнение с данными, получаемыми в других центрах. Давно созданным клиникам также необходимо иметь доступ к результатам, получаемым в других центрах, чтобы адекватно контролировать собственную деятельность.

Хотя регистрационная система служит источником информации для работников клиник и организаций здравоохранения, а также политических деятелей и общественности, основное назначение ее — учитывать все сообщаемые данные о практическом применении технологий содействия репродуктивной функции человека, включая ОИУ, ПГМТ, пересадку эмбрионов и донорских ооцитов после замораживания, а также сопутствующих процедур (во многих странах результаты искусственного осемене-

ния регистрируются отдельно). Таким образом, первоочередная задача состоит в описании и стандартизации практического применения этих методик и определении их относительной эффективности. Другой основной задачей является документирование частоты неблагоприятных результатов, например хромосомных нарушений и врожденных пороков у потомства, невозможности наступления беременности, а также побочных реакций, связанных с лечением по поводу бесплодия.

16.1. Методология

Первоначальная задача вновь создаваемой регистрационной системы состоит в выделении базовой информации, необходимой для разработки эффективных процедур сбора данных, и, что наиболее важно, если в основе системы лежит принцип добровольного участия, в привлечении возможно большего числа клиник и обеспечении постоянного сотрудничества и взаимодействия между этими клиниками. После создания регистрационной системы на первый план выходят долгосрочные задачи создания базы данных, которую могли бы использовать как ученые, так и клиницисты для проведения клинических и эпидемиологических исследований с целью проверки различных гипотез.

Отчеты, предоставляемые центрами в регистрационную систему, должны включать формы для сбора данных с выделением специфических данных по отдельным больным. В компьютерную базу данных необходимо занести демографические данные, общий анамнез и анамнез бесплодия, информацию о супружах и донорах, схемы лечения с целью стимуляции овуляции, информацию о заборе гамет и пересадке эмбрионов, поддерживающей медикаментозной терапии, назначаемой в лютеиновой фазе, данные о случаях наступления беременности и ее развитии, а также данные об исходе беременности, включая врожденные пороки и хромосомные нарушения у детей.

Можно, кроме того, разработать соответствующую форму для сбора ретроспективных данных в клиниках, не имеющих доступа к компьютерным системам [5], куда следует вносить краткий отчет данной клиники о выполнении каждого отдельного вида лечения, т.е. ОIV с использова-

нием свежих ооцитов, ПГМТ, ПЗМТ, ПРОСТ, пересадки эмбрионов в трубы, а также пересадку ооцитов, взятых от донора, и эмбрионов после сохранения их методом глубокого замораживания. Эти отчеты должны содержать информацию о количестве циклов стимулированной овуляции, "отмененных циклов" и пролеченных больных, процедурах забора ооцитов и количестве и степени зрелости полученных ооцитов, количестве эмбрионов, пересаженных методом ОГВ, и количестве ооцитов; пересаженных методом ПГМТ, а также частоте случаев гиперстимуляции яичников, случаев наступления беременности (с подробным описанием ее исхода), врожденных пороках и хромосомных нарушениях у детей.

16.2. Международный опыт

В США Регистрационная система данных по ОГВ Американского общества фертильности, существующая с 1986 г., обеспечила контрольное отслеживание данных о количестве циклов, в которых было выполнено медицински индуцированное зачатие, а также о частоте успешных исходов, с подробной информацией о беременности, самопривольных выкидышиах, случаях внематочной беременности, многоплодии и видах родоразрешения [2 — 4]. По состоянию на апрель 1989 г. система объединяла 181 клинику, т.е. 90 % от общего количества клиник, выполняющих лечение методом ОГВ и других подобных процедур [5]. Новые репродуктивные технологии представляют собой уникальный раздел в системе медицинской помощи США, поскольку стали объектом строгого надзора со стороны общественности и профессионалов как на уровне регулирования практики, так и оценки результатов [5]. Создание системы учета позволило добиться высокоэффективных результатов в обоих указанных направлениях. Помимо участия в создании Регистрационной системы, Американское общество фертильности предложило переработанный вариант минимальных стандартов практического выполнения ОГВ, ПГМТ и сопутствующих процедур с целью обеспечить единство методик как внутри центров, так и на межцентровом уровне [6]. Цель состоит в том, чтобы все лаборатории США, занимающиеся исследованиями эмбрионов, последовали примеру Регистрационной системы и внедрили у себя контроль со стороны профессиональных ассоциаций.

Статистические данные об ОИВ по Австралии и Новой Зеландии собирает отдел национальной перинатальной статистики Сиднейского университета, созданный в 1979 г. Департаментом здравоохранения Австралийского Союза с целью сбора и анализа данных о рождаемости в этой стране и, в частности, наблюдения за частотой врожденных пороков. В 1983 г. отдел принял на себя обязанности сбора данных по ОИВ и сопутствующим процедурам (Австралийский реестр ОИВ). В 1983 г. были получены данные от восьми лечебных единиц Австралии; в 1987 г. — от 14 в Австралии и 1 в Новой Зеландии; а в 1988 г. — от 22 в Австралии и 3 в Новой Зеландии. Данные в Регистрационной системе ежегодно обновляются на основании информации, поступающей от ее участников. Сбор данных осуществляется с помощью стандартных анкетных форм, которые объединяются и высылаются в Регистрационную систему, где их проверяют, сопоставляют и анализируют. Копии обобщенных отчетов высылаются участникам, а объединенные статистические отчеты публикуются с регулярными интервалами [4, 7, 8]. Одна из наиболее важных задач отдела состоит в оценке исходов ОИВ как в краткосрочной, так и в отдаленной перспективе.

В Великобритании все центры, где производятся ОИВ и сопутствующие процедуры (исключая те, где производится только искусственное осеменение), подлежат инспекторскому надзору и сертификации Временным (ранее Добровольным) лицензионным управлением [1]. В 1989 г. было 38 утвержденных центров, из них 17 по лицензии проводили научные исследования в области ОИВ. В настоящее время участие в национальной регистрационной системе Франции добровольное [9], а в Швеции были предприняты предварительные шаги по созданию национальной регистрационной системы, с последующим возможным созданием Северной или Скандинавской объединенной системы [10].

Основные преимущества создания национальной регистрационной системы центров, выполняющих искусственное осеменение, включают: стандартизацию клинических показаний к лечению; стандартизацию оборудования для глубокого замораживания и хранения семенной жидкости, а также контроля качества; повышенная доступность доноров для отдельных центров и возможность более точного подбора доноров и реципиентов; последующее на-

блюдение за результатами лечения; и объединенные совместные исследования, проводимые многими центрами.

После создания такой регистрационной системы, при условии, что она объединяет либо все клиники данной страны, где осуществляется ОИВ и сопутствующие процедуры, либо подавляющее их большинство, и в случае организации регистрационной системы на основе принципа добровольного участия ее можно использовать для наблюдения и контроля за процессами внедрения новых технологий путем организации испытаний на базе многих центров. В любой стране лишь немногие центры обладают достаточным количеством больных для научно обоснованной оценки относительных достоинств и недостатков вновь предлагаемых методов лечения.

Однако подобный порядок сообщения результатов отдельно взятыми центрами имеет некоторые недостатки, например склонность представлять полученные результаты в более выгодном свете по чисто экономическим соображениям. Кроме того, с целью улучшить показатели успешной работы отбор больных может производиться достаточно предвзято; так, например, отдельные клиники могут брать в качестве пациенток только женщин молодого возраста с заболеваниями маточных труб и отказывать в лечении женщинам старшего возраста или супружеским парам, где муж страдает олигоспермией. В странах, где существуют системы обязательной регистрации, центры должны подчиняться установленным требованиям к составлению отчетности. Там же, где действует принцип добровольности, сложнее обеспечить как единую форму отчетности, так и повсеместное внедрение единой системы определений и практических методик. Существует веская аргументация как в пользу того, чтобы в публикуемых отчетах регистрационной системы указывать конкретные центры (право общественности на информированность), так и против подобной практики (стремление не допустить коммерциализации).

16.3. Отчетные данные

Национальная регистрационная система должна издавать регулярные отчеты, где содержалась бы подробная информация об исходах беременности, неудачных результатах, годовые данные о количестве стимулированных циклов и процедур забора гамет, частоте случаев наступления бере-

менности, а также раздельно показатели частоты беременностей и родоразрешений по возрастным группам и применяемым методикам.

Список литературы

1. **Voluntary Licensing Authority for Human *In Vitro* Fertilization and Embryology. The fourth report.** London, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 1989.
2. **Medical Research International & The American Fertility Society Special Interest Group.** *In-vitro fertilization/embryo transfer in the United States: 1985 and 1986 results from the National IVF-ET Registry.* *Fertility and sterility*, 49: 212—215 (1988).
3. **Medical Research International & The American Fertility Society Special Interest Group.** *In vitro fertilization/embryo transfer in the United States: 1987 results from the National IVF-ET Registry.* *Fertility and sterility*, 51: 13—19 (1989).
4. **Medical Research International & The American Fertility Society Special Interest Group.** *In vitro fertilization/embryo transfer in the United States: 1988 results from the IVF-ET Registry.* *Fertility and sterility*, 53: 13—20 (1990).
5. **DeCherney, A. H. & Hartz, S. C.** Assisted reproduction: registration vis-à-vis regulation. *Fertility and sterility*, 51: 68 (1989).
6. **The American Fertility Society.** Revised minimum standards for *in vitro* fertilization, gamete intrafallopian transfer, and related procedures. *Fertility and sterility*, 53: 225—226 (1990).
7. **Saunders, D. M. & Lancaster, P.** The wider perinatal significance of the Australian *in vitro* fertilization data collection program. *American journal of perinatology*, 6: 2, 252—257 (1989).
8. **Australian In Vitro Fertilization Collaborative Group.** High incidence of preterm births and early losses in pregnancy after *in-vitro* fertilization. *British medical journal*, 291: 1160—1163 (1985).
9. **Junca, A. M. Grossesses 1987. Dossier FIVNAT: analyse des résultats.** [Pregnancies 1987. FIVNAT file: analysis of results.] Paris, Krémlin-Bicêtre, 1988, pp.27—50.
10. **Anonymous.** *In-vitro fertilisering: varefemte behandling lederetill graviditet.* [In-vitro fertilization: every fifth treatment results in pregnancy.] *Läkartidningen*, 87: 1561—1562 (1990).

17.

Рекомендации

Дополнительно к специфическим рекомендациям, помещенным в других разделах настоящего отчета, научная группа выработала следующие рекомендации для лиц, ко-

торые участвуют в разработке и внедрении программ медицински индуцированного зачатия. Эти рекомендации относятся, в частности, к исследованиям и лечению бесплодия, фундаментальным исследованиям, проведению клинических исследований и анализу результатов и оценке эффективности различных схем лечения.

17.1. Методы научных исследований и лечения бесплодия

1. Все работники центра репродуктивной медицины и лечения бесплодия должны понимать относительные достоинства, показания к применению и степени риска, связанные с различными типами медицински индуцированного зачатия.
2. В центрах, обеспечивающих помощь методами медицински индуцированного зачатия, должны быть доступны различные типы ОГВ и сопутствующих процедур, чтобы для каждой супружеской пары можно было подобрать наиболее подходящий метод лечения.
3. Врачи, направляющие супружеские пары на специализированное лечение, должны владеть полноценной информацией о существующих различных методиках и их сравнительных достоинствах, чтобы не давать пациентам оснований для неоправданных надежд.
4. Универсальный лечебный центр должен иметь полный набор методов лечения бесплодия, чтобы не допустить неоправданной потери времени до осуществления медицински индуцированного зачатия.
5. Консультирование пациентов должно предусматривать предоставление информации об альтернативных вариантах решения проблемы бесплодия в случае неудачного лечения. Необходимо обеспечить психологическую поддержку как в процессе лечения, так и после завершения одной или нескольких предпринятых процедур медицински индуцированного зачатия.
6. При обсуждении бесплодия и методов его лечения необходимо точно определять такие термины, как “мужской фактор” или “бесплодие неясного генеза”.
7. При подозрении на непроходимость маточных труб диагноз необходимо подтвердить до начала лечения по поводу бесплодия с помощью лапароскопии.

8. Общее обследование мужчины в случае бесплодия супружеской пары должно включать стандартный анализ семенной жидкости, например, в соответствии со стандартами, предлагаемыми в *Руководстве ВОЗ для лабораторий исследований семенной жидкости человека и взаимодействия семенной жидкости/шеечной слизи* [1].
9. Отчеты о результатах медицински индуцированного зачатия должны включать, помимо прочего, данные о частоте случаев рождения живых детей на 100 циклов лечения.
10. При расчетах частоты случаев наступления беременности в результате применения методик лечения, предусматривающих искусственное осеменение, следует применять метод анализа таблиц смертности.
11. Для исследования более одного метода лечения или лабораторной процедуры рекомендуется метод перспективного двойного слепого рандомизированного испытания.
12. Влияние общего количества сперматозоидов на fertильность хорошо известно, однако необходимы дополнительные данные о влиянии и других параметров на успешный процесс естественного оплодотворения, например морфологических характеристик и подвижности сперматозоидов.
13. Необходимо дальнейшее изучение эффективности и безопасности методов исследования биопсий эмбриона, применяемых для диагностики генетических заболеваний.

17.2. Рекомендуемые направления исследований

17.2.1. Фундаментальные исследования

1. Фундаментальные исследования необходимы по следующим направлениям:
 - Роль неоплодотворяющих сперматозоидов в процессах деления и имплантации эмбриона [2].
 - Пересадка донорских ооцитов в оптимальные сроки с целью более точного определения “окна имплантации”.
 - Роль иммуномодуляции и белков, выделяемых при беременности, в успешной имплантации эмбриона у приматов [3 – 5].

- Созревание ооцитов *in vitro* в интервале между торможением стадии диктиата и возобновлением мейоза.
 - Роль функции маточных труб в раннем развитии эмбриона.
 - Роль эндометрия в создании “окна имплантации”.
2. Необходимы дальнейшие исследования толщины эндометрия в день накануне забора ооцитов как фактора, позволяющего прогнозировать успешную имплантацию [6].

17.2.2. Искусственное осеменение

1. Необходимо исследовать частоту обнаружения цитомегаловируса в семенной жидкости потенциальных доноров, обладающих сероположительной реакцией к данному вирусу [7].
2. Необходимо исследовать степень патогенности различных штаммов цитомегаловируса и влияние глубокого замораживания на их патогенные свойства [8].

17.2.3. Методы сохранения, оплодотворения и культивирования

1. Необходимо продолжать исследования методов витрификации и мгновенного замораживания для целей глубокого замораживания.
2. Необходимо разработать методы глубокого замораживания, не повреждающие zona pellucida.
3. Необходимо исследовать эффективность прямой инъекции или введения сперматозоидов непосредственно в ооцит.
4. Исследование процессов созревания первичных ооцитов *in vitro*, по-видимому, позволит осуществлять успешное вмешательство в случаях прекращения созревания ооцитов.
5. Необходимо разработать метод идентификации ооцитов, которые не развиваются до стадии “нормальных” эмбрионов, а также селекции жизнеспособных эмбрионов.
6. Необходимо подтвердить сообщаемые в литературе

данные об улучшении показателей наступления беременности при добавлении в культуральную среду фосфолипидов, например фактора активации тромбоцитов.

17.2.4. Схемы лечения

1. Необходимо дальнейшее исследование схем лечения, предусматривающих ОГВ в естественном цикле.
2. Необходимо исследовать эффект добавочного включения гормона роста человека в схемы стимуляции функции яичников, с целью определить, не снижается ли при этом потребность в стимулировании гонадотропином. При наличии подобного эффекта, вероятно, можно будет снизить или вообще исключить случаи побочного действия гонадотропинов, например синдрома гиперстимуляции яичников [9].
3. Необходимо продолжать клинические испытания с целью определения положительного эффекта чистого ФСГ у мужчин с крайне низкими морфологическими характеристиками спермы (<14 % нормальных форм) [10].
4. Необходимо организовать рандомизированные двойные слепые испытания методов гормональной поддержки прогестеронами, включая прогестерон и/или ХГч, в лuteиновой фазе с целью выяснения степени эффективности подобной терапии при медицински индуцированном зачатии.
5. Необходимо провести перспективные рандомизированные испытания методов контролируемой стимуляции функции яичников путем назначения МГч отдельно или в сочетании с а-ГнВГ [11].
6. Необходимо продолжать исследования комбинированного применения а-ГнВГ и гонадотропинов с целью стимулирования овуляции в случаях бесплодия неясного генеза [12].

Список литературы

1. World Health Organization Special Programme of Research, Development and Training in Human Reproduction. WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge, Cambridge University Press, 1987.

2. **Tucker, M.J. et al.** Periimplantation events post-IVF. *International journal of fertility*, 35: 100—105 (1990).
3. **Bolton, A. E. et al.** Identification of placental protein 14 as an immunosuppressive factor in human reproduction. *Lancet*, 1: 593—595 (1987).
4. **Morton, H.** Early pregnancy factor (EPF): a link between fertilization and immunomodulation. *Australian journal of biological sciences*, 37: 393—407 (1984).
5. **Daya, S. & Clark, D.A.** Immunosuppressive factor (or factors) produced by human embryos *in vitro*. *New England journal of medicine*, 315: 1551—1552 (1986).
6. **Gonen, Y. et al.** Endometrial thickness and growth during ovarian stimulations: a possible predictor of implantation in *in vitro* fertilization. *Fertility and sterility*, 52: 446—450 (1989).
7. **Hammitt, D.G. & Williamson, R.A.** Screening for cytomegalovirus antibody. *Fertility and sterility*, 53: 185—186 (1990).
8. **Barratt, C.I.R. et al.** Screening for cytomegalovirus antibody. *Fertility and sterility*, 53: 186 (1990).
9. **Hamburg, R. et al.** Cotreatment with human growth hormone and gonadotropins for induction of ovulation: a controlled clinical trial. *Fertility and sterility*, 53: 254—260 (1990).
10. **Acosta, A.A. et al.** Assisted reproduction in the diagnosis and treatment of the male factor. *Obstetrical and gynecological survey*, 44: 1—18 (1989).
11. **Cedars, M. I. et al.** Leuprolide acetate lowers circulating bioactive luteinizing hormone and testosterone concentrations during ovarian stimulation for oocyte retrieval. *Fertility and sterility*, 53: 627—631 (1990).
12. **Ashkenazi, J. et al.** The value of GnRH analogue therapy in IVF in women with unexplained infertility. *Human reproduction*, 4: 667—669 (1989).

Приложение

Определения технических терминов, используемых в настоящем докладе

Некоторые из приведенных ниже определений могут отличаться от принятых в литературе. Данные фразанты определений не предназначены для того, чтобы заменить последние; они были приняты научной группой ВОЗ для целей настоящего доклада.

Искусственное осеменение (*in vivo*): введение мужских гамет в канал шейки или полость матки.

Биохимическая беременность: признаки состоявшегося зачатия, основанные только на биохимических данных, т.е. повышенных титрах ХГч в сыворотке крови или моче до начала следующего менструального периода.

Бластоциста: эмбрион с заполненной жидкостью полостью.

Бластомер: стадия развития эмбриона от первого деления клетки до появления бластоцисты.

“Отмененный цикл”: цикл лечения, в котором попыток забора ооцитов не производится ввиду аномального развития фолликулов, преждевременной овуляции, избыточной стимуляции яичников или проявления других типов побочных реакций при медикаментозно индуцированной овуляции.

“Клиническая беременность”: беременность, определяемая на основании как клинических, так и ультразвуковых параметров.

Криопрезервация (сохранение методом глубокого замораживания): замораживание гамет или эмбрионов с целью хранения их для последующего использования.

Внематочная (эктопическая) беременность: беременность, наступившая в результате имплантации эмбриона вне полости матки.

Эмбрион: продукт зачатия от момента оплодотворения до

окончания эмбриональной стадии развития спустя 8 нед после оплодотворения. (Термин “преэмбрион” в настоящем докладе Научной группы ВОЗ не употребляется. Данный термин был использован в других источниках в определенном контексте для обозначения стадии развития, которая начинается с завершения оплодотворения и оканчивается появлением примитивной первичной полоски 15 — 17 дней спустя.)

Использование донорского эмбриона: пересадка женщины эмбриона, возникшего в результате взаимодействия как сперматозоидов, так и ооцитов, полученных от доноров.

Оплодотворение (фертилизация): процесс, который начинается с проникновения сперматозоида во вторичный ооцит и завершается до первого деления. Полный процесс оплодотворения у человека обычно занимает до 24 ч.

Плод: продукт зачатия от окончания эмбриональной стадии (8 нед после оплодотворения) до родоразрещения.

Выход эмбриона: процесс выхода эмбриона из zona pellucida.

Имплантация: процесс, который начинается с прикрепления бластоцисты, лишенной зоны, к стенке матки (через 5 — 6 дней после оплодотворения). Затем бластоциста пронизывает эпителий матки и проникает в строму эндометрия. Процесс завершен, когда у бластоцисты развиваются первичные ворсинки и дефект на поверхности эпителия закрывается (через 13 — 14 дней после оплодотворения).

Осеменение (инсеминация) *in vitro*: помещение мужских гамет в питательную среду, содержащую ооцит, с целью оплодотворения.

Медицински индуцированное зачатие: оплодотворение в результате некоитального слияния гамет.

Микроманипулирование: применение специальной увеличительной техники, позволяющей выполнение оперативного вмешательства на ооците, сперматозоиде или эмбрионе.

Стимуляция овуляции: медикаментозное лечение, направленное на индуцирование развития в яичниках множест-

венных фолликулов с целью получения множественных ооцитов.

Полиспермальное оплодотворение: оплодотворение яйцеклетки сперматозоидами в количестве более одного.

Число беременностей на один цикл лечения: число случаев наступления клинической беременности на один цикл лечения.

Мертворождение: гибель жизнеспособного плода до завершения родоразрещения.

Бесплодие неясного генеза: невозможность зачатия после того, как все традиционно применяемые методы обследования по поводу бесплодия не выявили причины бесплодия у кого-либо из супружов.

Витрификация: метод глубокого замораживания.

Зигота: диплоидная клетка, образуемая слиянием сперматозоида и яйцеклетки в процессе оплодотворения.

Перевод с английского *A.B. Юрасовской*
Научный редактор проф. *И.С. Сидорова*
Ответственная за редактирование *И.Ю. Крепких*

Заказ № 159

Типография № 9