

СМИРНОВА Татьяна Анатольевна, ПЕТРОВА Екатерина Борисовна
**Лечение мужского бесплодия методом интрацитоплазматической
инъекции сперматозоида (ИКСИ)**

Изложены современные представления о методах вспомогательной репродукции. Более детально рассмотрен вопрос лечения мужского бесплодия методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ), приведены критерии отбора супружеских пар, методика и эффективность лечения. Подчёркнута медицинская и социальная значимость проблемы бесплодия супружеских пар, важность её решения.

Ключевые слова: бесплодие, ИКСИ, мужское бесплодие, ЭКО.

Проблема бесплодия супружеских пар в настоящее время имеет особую актуальность. По данным ряда авторов, каждая десятая супружеская пара оказывается не способной к зачатию ребёнка без помощи медицины [1, 3, 7].

Бесплодие - это тяжёлое состояние, нарушающее социальную и психическую адаптацию человека, влияющее на его здоровье и качество жизни. В силу этого, инфертильность остаётся одной из важнейших медицинских, психологических и социальных проблем.

В настоящее время разработаны и широко применяются во многих странах мира новые технологии репродуктологии [1, 4, 6]. Одним из наиболее эффективных при лечении многих форм женского бесплодия является метод экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов в полость матки. Но следует отметить, что заболевания женщины становятся причиной бесплодия лишь у 40% супружеских пар, которые не могут завести ребёнка. В 30-45% случаев "виновным" оказывается мужчина [1, 4, 5, 7].

Сложно провести грань между нормой и патологией мужской фертильности. По нормам, принятым ВОЗ, в эякуляте должно быть не менее 20 миллионов в одном мл сперматозоидов, из которых не менее 65% подвижны, а 25% подвижных совершают прогрессивно поступательные движения; патологические формы не должны превышать 16%. Такую сперму можно использовать в программе экстракорпорального оплодотворения. К сожалению, у 45-50% пациентов программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки результаты исследования спермы не укладываются в эти нормы, что не позволяет применить "классическую" методику экстракорпорального оплодотворения [1, 4, 5, 12]. Применявшиеся ранее оперативные и консервативные методы лечения мужского бесплодия были мало эффективными [1, 4, 5, 6, 12]. Таким образом, единственным решением проблемы бесплодия для таких пар было использование донорской спермы. Но на это соглашались далеко не все супружеские пары.

Появление и совершенствование метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) позволяет на базе программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки лечить любые, ранее считавшиеся абсолютными, формы мужского бесплодия [1, 2, 4, 5, 8, 9, 12].

После успешного завершения предварительных исследований на животных, в середине 80-х годов в мире была начата активная разработка новых микромини-

пуляционных методов вспомогательной репродукции. Эти методы позволили решить одну из основных проблем репродукции при тяжёлых нарушениях сперматогенеза - проблему проникновения сперматозоида через zona pellucida и оолему. Но на методе интрацитоплазматической инъекции сперматозоида учёные остановились не сразу [1,5].

Широкому внедрению в практику данного метода для достижения оплодотворения при плохих характеристиках спермы, предшествовали такие методики, как частичное рассечение zona pellucida; метод инъекции нескольких сперматозоидов под zona pellucida (субзональная инсеминация). Эти методы позволили облегчить проникновение сперматозоида в яйцеклетку, повысить частоту оплодотворения на 20% при значительных изменениях показателей спермограммы [1]. При использовании данных методик резко увеличилась частота полиспермии, низким остался процент последующего наступления беременности 3-7% [1,2,4,5,6,12].

В 1992 году с помощью технологий вспомогательной репродукции была получена (Palermo с соавторами) первая беременность с использованием метода экстракорпорального оплодотворения, включающего микроинъекцию единственного сперматозоида в цитоплазму зрелого ооцита [10]. Этот год считается годом рождения нового прогрессивного метода - метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Этот метод позволил полностью решить проблему полиспермии [1, 4, 5, 10]. Научные исследования, проведённые учёными различных стран мира [1, 2, 4, 5, 12] доказали, что частота оплодотворения после интрацитоплазматической инъекции сперматозоида значительно выше, чем после частичного рассечения zona pellucida или субзональной инсеминации и варьирует между 21,4% и 75,2%. Этот метод позволяет добиться высокой частоты наступления беременности при плохих характеристиках спермы [1,2,4,5,8,9,12].

Применение метода экстракорпорального оплодотворения и его модификаций в клинической практике требует индивидуального подхода к каждой супружеской паре. Критериями отбора супружеских пар для проведения лечения методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида являются [4, 12]:

1. Качество спермы мужа не удовлетворяет требованиям классического экстракорпорального оплодотворения (менее 1-2 миллионов прогрессивно подвижных сперматозоидов в эякуляте);
2. Наличие безуспешных попыток экстракорпорального оплодотворения в анамнезе (отсутствие или менее 5-15% оплодотворения);
3. Тяжёлые формы мужского бесплодия, обусловленные:
 - обструктивной азооспермией (врождённое билатеральное отсутствие vas deferens, неудачная вазоэпидимостомия);
 - патологией эякуляторных процессов, обусловленных травмами позвоночника;
 - некрооспермией;
 - ретроградной эякуляцией;
 - психо-эмоциональными причинами.

Важную роль играет правильное получение и подготовка исходного материала - сперматозоидов и ооцитов.

Большинству пациентов программы проводится гормональная стимуляция суперовуляции с использованием препаратов фолликулостимулирующего

гормона (ФСГ) - Гонал Ф, Пурегон на фоне десенситизации репродуктивной системы аналогами гонадолиберина - Олгарутран, или только препаратами ФСГ ("чистая" схема) [3, 5, 7].

Полученные при трансвагинальной пункции фолликулов ооциты (рис.1 а) культивируют в течение 1-3 часов в культуральной среде. Затем, при помощи гиалуронидазы, их освобождают от кумулюса и *corona radiata* (рис. 1б) и помещают в капли специальной манипуляционной среды, поддерживающей постоянный уровень pH [3, 5, 10, 12].

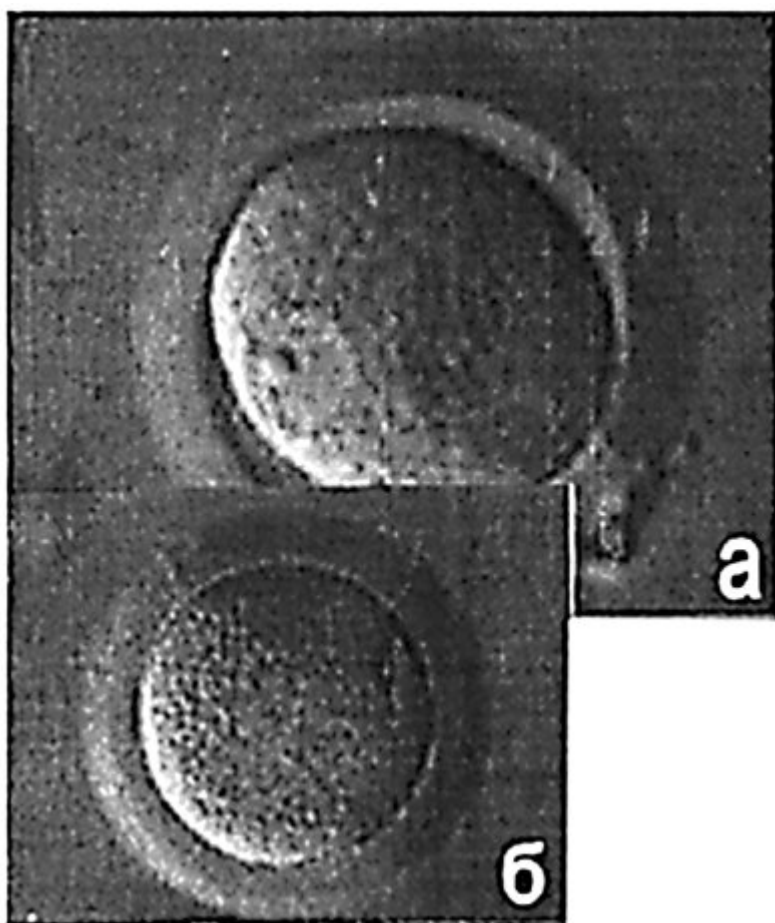


Рис.1

Подготовка яйцеклетки к интрацитоплазматической инъекции сперматозоида:

а -Полученная после трансвагинальной пункции фолликулов яйцеклетка;

б - Яйцеклетка, освобождённая от кумулюса и *corona radiata*.

Сперма подготавливается по стандартной для экстракорпорального оплодотворения методике: после разжижения, занимающего в норме от 15 до 50 минут сперма дважды центрифугирует в специальной среде для отмывания сперматозоидов в конических пробирках по 7 минут. Затем, супернатант сливается, и на осадок наслаивается культуральная среда (1 ml). Далее пробирки помещаются в термостат при температуре 37°C для проведения флотации сперматозоидов: всплытия активно подвижных сперматозоидов [7, 12]. При очень низкой концентрации сперматозоидов в эякуляте, либо при их получении непосредственно из яичка или эпидидимиса, ограничиваются однократным центрифугированием спермы без флотации. Сперматозоиды в этом случае

достают из осадка [4, 12]. Для замедления движения сперматозоидов, они помещаются в 10% раствор поливинилпиролидона [4, 7, 12].

Капли раствора, содержащие сперму и ооциты, помещают в одну чашку Петри под слой минерального масла. При этом проводят визуальную оценку морфологии и степень зрелости ооцита. Сперматозоид вводят только в полностью созревшие ооциты, находящиеся в метафазе II деления мейоза.

Методика проведения микроманипуляций впервые описана Palermo G в 1992 году [1,5, 10, 11, 12].

На первом этапе производится иммобилизация сперматозоида при помощи микроиглы. Очень важно полностью остановить сперматозоид. Это достигается путём неполного перетирания его хвоста о дно чашки Петри. Далее - засасываем сперматозоид в микропипетку при помощи отрицательного давления таким образом, чтобы в пипетку первым зашёл хвост сперматозоида (рис. 2 а, б).

Ориентация ооцита производится с помощью микроприсоски - полярное тело находится строго на 6 или 12 часов (рис. 2 в: полярное тело указано стрелкой); затем осуществляем прокол ооцита и отсасываем небольшое количество ооплазмы для констатации прокола мембраны. Производим инъекцию сперматозоида (рис. 2 г, д, е, ж: стрелкой указан инъецированный сперматозоид).

Во время микроинъекции визуально оценивается качество цитоплазмы ооцита (по цвету, наличию грануляций или вакуолей) и сопротивление ооплазмы проколу.

После интрацитоплазматической инъекции сперматозоида, ооциты необходимо поместить в культурную среду.

Оценка результатов интрацитоплазматической инъекции сперматозоида производится через 19-20 часов по наличию двух пронуклеусов (оплодотворение считается нормальным). Через 60-120 часов после проведения микроманипуляций оцениваем дробление, и лучшие по качеству эмбрионы (стадия 6-8 бласто-меров) переносим в полость матки (рис. 2 и, к).

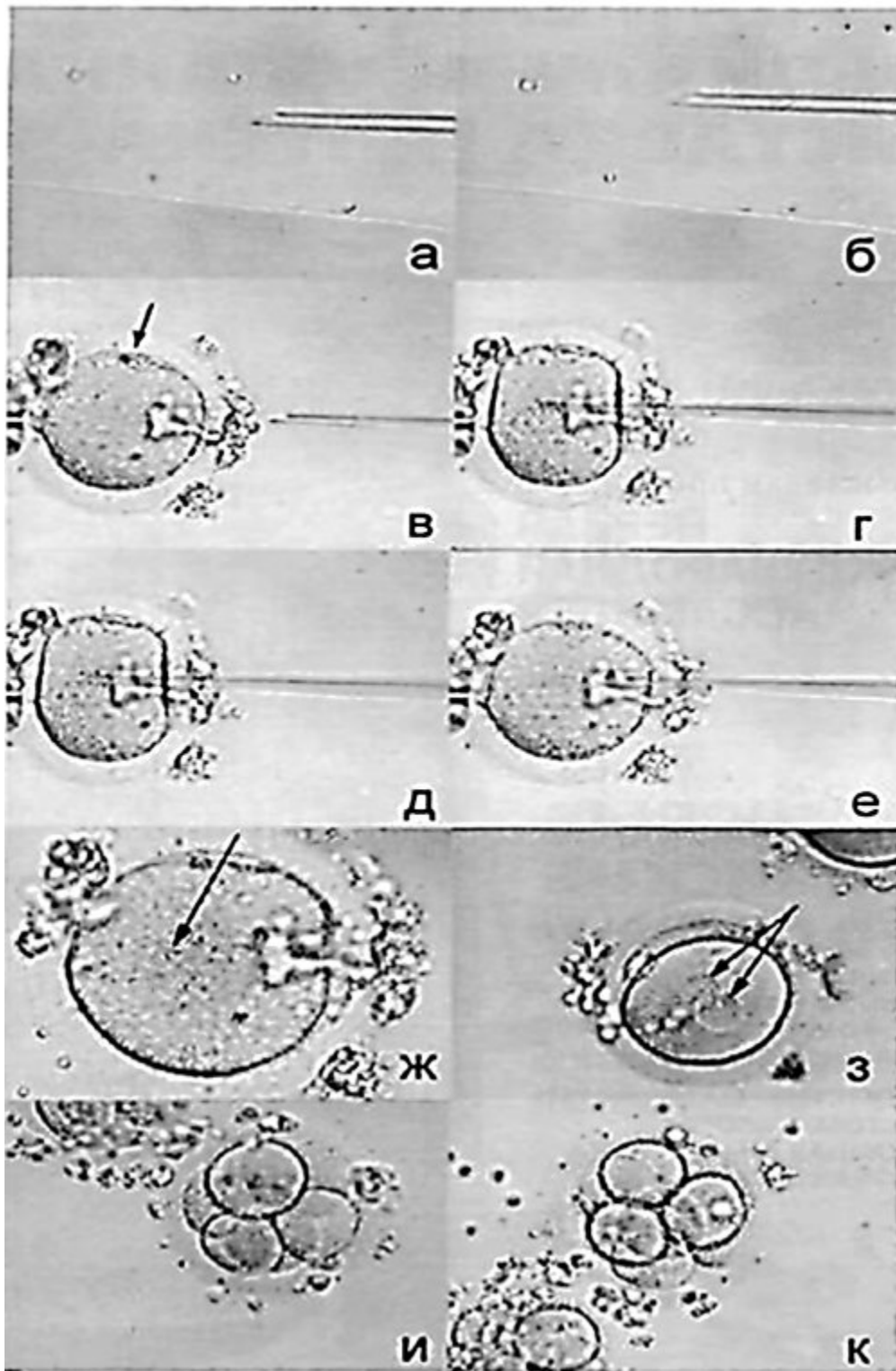


Рис. 2: Этапы проведения интрацитоплазматической инъекции сперматозоида, дробление оплодотворённых ооцитов:

- а, б - засасывание сперматозоида в микропипетку;
- в - ориентация ооцита (полярное тело на 12 часах);
- г, д, е - прокол ооцита, отсасывание небольшого количества цитоплазмы, инъекция сперматозоида;
- ж - инъецированный сперматозоид внутри яйцеклетки;
- з - вид двух пронуклеусов внутри яйцеклетки;
- и - эмбрион на стадии 6 бластомеров;
- к - эмбрион на стадии 8 бластомеров.

Первое сообщение о беременности после применения метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида появилось в 1992 году в журнале Lancet (микроманипуляции были проведены группой Van Steirteghem A. C. по методике Palermo G) [9], а в 1993 году были описаны первые роды [11].

В настоящее время метод интрацитоплазматической инъекции сперматозоида широко используется во многих зарубежных центрах, занятых лечением бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения. Получение и использование сперматозоидов из эякулята, из придатков яичка и яичка открыло новые возможности в лечении даже таких, казалось бы, бесперспективных форм бесплодия, при которых сперматозоиды в эякуляте полностью отсутствуют или при наличии единичных сперматозоидов, что наблюдается при обструктивной форме азооспермии или других тяжёлых органических поражениях репродуктивной системы мужчин [1, 2, 4, 5, 8, 10, 12].

В России первое успешное клиническое применение метода начато в 1997 году на базе научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН г. Москвы [4, 5, 6].

К 2003 году в Минске существуют и успешно функционируют несколько медицинских центров вспомогательной репродукции, занимающихся вопросами диагностики и лечения женского и мужского бесплодия.

В мире насчитывается уже более 800 000 детей, родившихся благодаря применению экстракорпорального оплодотворения [8, 10], из них около 7 000 детей появились на свет благодаря методу интрацитоплазматической инъекции сперматозоида - ИКСИ.

Таким образом, метод интрацитоплазматической инъекции сперматозоида представляет собой дальнейшее развитие метода экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки, является одним из наиболее эффективных методов вспомогательной репродукции при лечении тяжёлых форм мужского бесплодия, даёт уникальную возможность во время проведения микроманипуляций оценить качество оплодотворённых ооцитов по зрелости, гомогенности цитоплазмы, наличию включений и тургору.

В настоящее время метод интрацитоплазматической инъекции сперматозоида широко используется во многих медицинских центрах мира. Но требуется проведение дальнейших исследований с целью оценки безопасности данного метода, установления необходимого объёма предимплантационной диагностики, расширения показаний к применению и поиска возможных путей повышения его эффективности.

Литература

1. Здановский В. М., Гоголевский П. А., Хилькевич Л. В. Первые положительные результаты лечения мужского бесплодия методом интрацитоплазматической инъекции сперматозоида. // Проблемы репродукции. - 1996. - № 2. - с.53-56.
2. Каменецкая Ю. К., Тишкевич О. Л., Жуковская С. В., Каменецкий Б. А. Первый опыт успешного применения интрацитоплазматической инъекции сперматозоида при тяжёлых формах мужского бесплодия. // Проблемы репродукции. - 1996.-№ 2. - с. 51-52.
3. Корсак В. С., Исакова Э. В. Бесплодие: вопросы и ответы. - Санкт-Петербург: Человек, 1998. - с. 25-29.

4. Леонов Б. В., Беляева А. А., Кузьмичёв Л. И., Масесова Р. Е. Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида - новый подход к лечению мужского бесплодия. // Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия. / Под редакцией Кулакова В. И. и Леонова Б. В. - Москва: медицинское информационное агенство, 2000. -с. 221-249.
5. Леонов Б. В., Кузьмичёв Л. И., Беляева А. А., Кулаков В. И. Наш опыт применения метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в программе экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки. // Акушерство и гинекология. - 1999. - № 4. - с. 35-38.
6. Леонов Б. В., Кулаков В. И. Общая характеристика программы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки. // Экстра-корпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия. / Под редакцией Кулакова В. И. и Леонова Б. В. -Москва: медицинское информационное агенство, 2000. - с. 5-14.
7. Финогенова Е. Я. Принципы реализации метода экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона в полость матки у бесплодных супружеских пар. // Автореферат кандидатской диссертации. - Москва, 1994. - с. 3-8.
8. Kahraman S., Tasdemir M., Tasdemir I. et al. Pregnancies achieved with testicular and ejaculated spermatozoa in combination with intracytoplasmic sperm injection in men with totally or initially immotile spermatozoa in the ejaculate. // Hum Rep-rod. - 1996.-Vol. 11, №6.-p. 1343-1346.
9. Kupker W., Hasani S., Schuize W. et al. Morphology in intracytoplasmic sperm injection preliminary result. // I Assist Reprod Genet. - 1995. - Vol. 12, № 9. -p. 620-626.
10. Palermo G., Joris H., Devroey P., Van Steirteghem A. C. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. // Lancet. - 1992. - Vol. 340, №8810.-p. 17-18.
11. Van Steirteghem A. C., Nagy Z., Joris H. et al. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection.// Hum Reprod. - 1993. - Vol. 8, №7. -p. 1061-1066.
12. Zech N., Zech H. Инъекция сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки. // Проблемы репродукции. - 1997. - № 4. - с. 46-53.