

Современные репродуктивные технологии в лечении женского бесплодия.

Подготовила:

Студентка 5 курса, 3 группы

Борисенко Е.Д.



По определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), **бесплодный брак** - это отсутствие беременности в течение одного года у супругов детородного возраста, при условии, что они ведут регулярную половую жизнь без применения противозачаточных средств.

Женское бесплодие – это неспособность организма женщины к зачатию в детородном возрасте по МКБ 10 (Женское бесплодие (N97))



В семьях **бесплодие** по статистическим данным ряда стран составляет от **10** до **20%**.

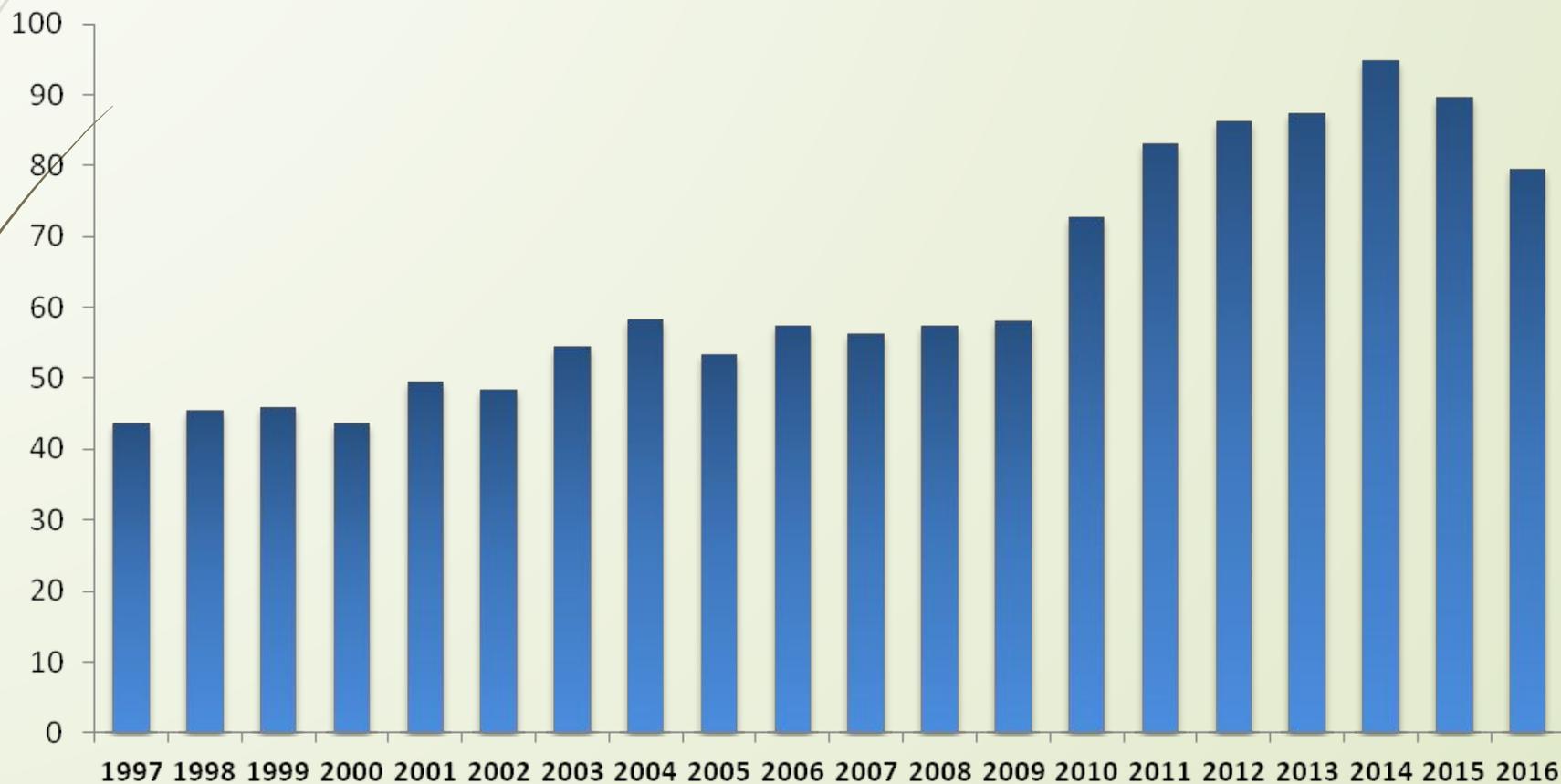
В структуре причин бесплодия **женские** причины составляют 41%, **мужские** – 33%, **комбинированные** – 26%

В Республике Беларусь количество бесплодных супружеских пар детородного возраста составляет 15%. Ежегодно в государственные организации здравоохранения первично обращается около 9 тыс. пар с бесплодием.



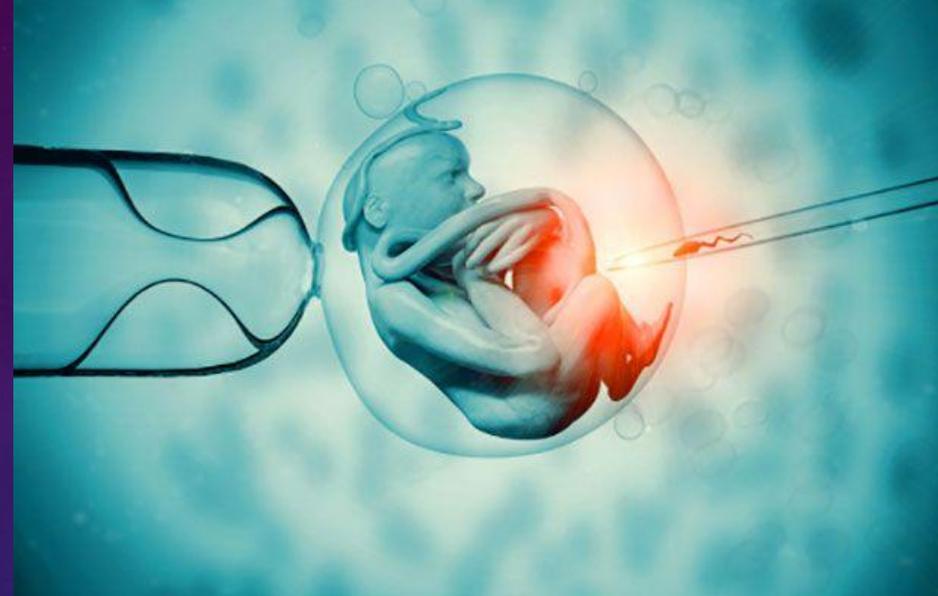
При анализе первичной заболеваемости данной нозологией по Республике Беларусь в целом установлен неуклонный рост показателя с 1997 года (43,7) по 2014 год (94,8 на 100 тысяч женского населения). В 2015 – 2016 годы отмечается тенденция к снижению его уровня

Показатель первичной заболеваемости женским бесплодием
по Республике Беларусь
(на 100 тыс.женского населения)





ЧТО ТАКОЕ ЭКО?



- **Экстракорпоральное оплодотворение** (от лат. Extra- снаружи, и лат. Corpus- тело, т.е оплодотворение вне тела.)-медицинская технология, используемая для лечения бесплодия.
- **Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО)** — ведущее направление вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). ВРТ — это методы терапии бесплодия, при которых отдельные или все этапы зачатия и раннего развития эмбрионов осуществляются вне организма.
- ЭКО используется в мировой практике в терапии бесплодия с 1978 года. В Беларуси ЭКО и перенос эмбрионов (ПЭ) в полость матки практикуется с 1995г.

Некоторые факты об ЭКО:

1. Беременность и роды при эки не отличаются от естественных.

2. "Зачатые в пробирке" дети неотличимы от обычных.

3. Метод Эки позволяет избежать наследственных болезней, отклонений и патологий.

4. Цены на процедуру Эки мире разнятся от 2 до 15 тысяч долларов.

5. Растет популярность метода Эки т. к все чаще встречаются соответствующие проблемы у людей.

Показания для проведения ЭКО

- ▣ **Патология маточных труб** - трубы заблокированы, повреждены, или отсутствуют вовсе, что делает процесс природного оплодотворения сложным или невозможным.
- ▣ **Мужской фактор бесплодия** - низкий уровень активных сперматозоидов или плохая моторика спермы.
- ▣ **Бесплодие, не поддающееся терапии**, или вероятность преодоления которого с помощью ЭКО выше, чем другими методами.



Противопоказания для проведения ЭКО



соматические и психические заболевания, являющиеся противопоказаниями для вынашивания беременности и родов

врожденные пороки развития или приобретенные деформации полости матки, при которых невозможна имплантация эмбрионов или вынашивание беременности

доброкачественные опухоли матки, требующие оперативного лечения

острые воспалительные заболевания любой локализации

злокачественные новообразования любой локализации, в том числе в анамнезе

Перечень основных диагностических мероприятий:



Женщина:

Определение группы крови и резус-фактора

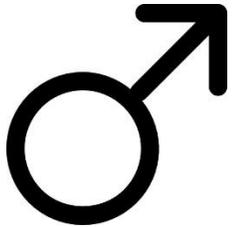
ОАК (+ свертываемость)

Анализ крови на сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С.

- ▶ Определение в крови пролактина, ЛГ, ФСГ, тестостерона, ТТГ на 3-5 день менструального цикла.
- ▶ БХ крови (АЛТ, АСТ, билирубин, глюкоза, общий белок, мочевины, креатинин).
- ▶ Коагулограмма (Протромбиновый индекс, АЧТВ, фибриноген)
- ▶ Исследование на инфекции (хламидии, ВПГ, ЦМВ, уреаплазма, микоплазма, гонорея, токсоплазма, краснуха).
- ▶ УЗИ молочных желез, УЗИ щитовидной железы.
- ▶ Мазок на цитологию с шейки матки + кольпоскопия. При отсутствии изменений действительны 1 год.

Мужчина:

- ▶ Анализ крови на сифилис, ВИЧ, гепатиты В и С.
- ▶ Определение группы крови и резус-фактора
- ▶ Спермограмма, морфологическое исследование эякулята
- ▶ Микроскопия мазка из уретры
- ▶ Кариотипирование обоим супругам (по показаниям)



стимуля
ция
яичников

включая
монитор
инг

ЭТАПЫ ЭКО



С
Н
во
н
ест
вен
мен
аль
цикл

1 этап



- ▶ **В норме 1 фолликул вырабатывает 1 яйцеклетку за цикл.**
- ▶ Стимуляция яичников проводится с целью получения наибольшего количества зрелых яйцеклеток (**12-15 яйцеклеток за цикл**). Меньшее количество снижает результаты, а большее количество может привести к развитию **синдрома избыточной стимуляции яичников**. В этом случае у женщины может возникнуть боль в животе, тошнота, рвота, отечность и тогда процедура откладывается до восстановления нормального гормонального фона.
- ▶ Существуют различные протоколы стимуляции. Классический «длинный протокол» начинается на 21-й день менструального цикла и длится месяц. Выбор схемы стимуляции, вводимых препаратов, коррекция доз и внесение изменений в протокол индукции суперовуляции осуществляются индивидуально.

Контроль за развитием фолликулов и эндометрия во время стимуляции яичников осуществляется с помощью УЗИ. В процессе ультразвукового мониторинга констатируется *количество фолликулов*, проводится *измерение их среднего диаметра*, определяется *толщина эндометрия*.

Гормональный мониторинг заключается в динамическом определении концентрации гормонов в крови (при необходимости) и дополняет данные ультразвукового исследования в оценке функциональной зрелости фолликулов.

2 этап

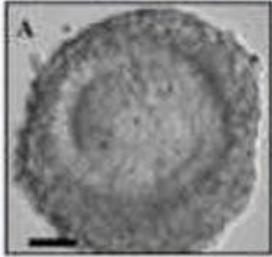
- ▶ Пункция фолликулов яичников и аспирация ооцитов выполняется амбулаторно, трансвагинальным доступом под ультразвуковым контролем с помощью специальных пункционных игл. Таким образом получают 5-10 (иногда до 30) яйцеклеток.
- ▶ При проведении этой процедуры применяется внутривенное или местное обезболивание. При получении более 15 яйцеклеток с целью профилактики Синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) пациентам может назначаться инфузионная терапия.



Оценка ооцит-кумулюсного комплекса:

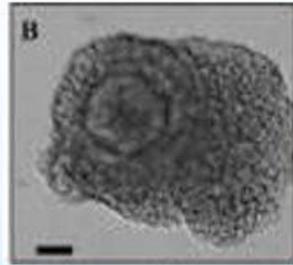
- Полученную жидкость исследуют с помощью микроскопа для обнаружения яйцеклеток. Визуально проводится оценка ооцит-кумулюсного комплекса. Обнаруженные яйцеклетки отмывают от фолликулярной жидкости в специальной среде с буфером, и переносят в лабораторную посуду с культуральной средой.
- В качестве лабораторной посуды используют чашки Петри, либо культуральные планшеты. Чашки с яйцеклетками помещают в CO₂-инкубаторы, в которых поддерживается температура 37-37,5 С и содержание CO₂ в атмосфере 5-6%.

Классификация ооцит-кумулюсного комплекса



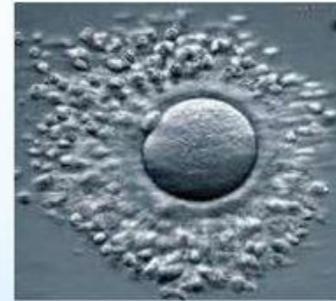
А. Профаза I
Зародышевый пузырек

- Незрелый ооцит
- Клетки кумулюса, расположены очень компактно в 1-2 слоя
- Лучистый венец не контрастирует
- Цитоплазма гранулированная с четко очерченным кортикальным слоем
- Имеется зародышевый пузырек (GV)
- Тетраплоидный – 2 набора по 46 хромосом



В. Метафаза I

- Незрелый ооцит («промежуточной зрелости»)
- Кумулюс многослойный, лучистый венец виден
- Центральная цитоплазма гранулированная или гомогенная
- Отсутствует GV
- Нет полярного тельца
- Хромосомы выстроены на экваторе клетки, но еще не расходятся

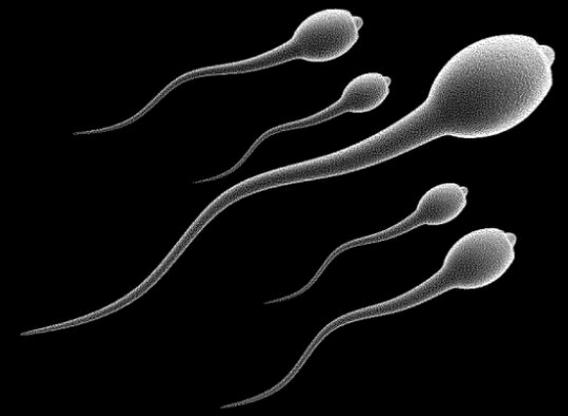


С. Метафаза II

- «Зрелый ооцит»
- Кумулюс и лучистый венец расширились
- Цитоплазма гомогенная
- Имеется первое полярное тельце
- 2N, 23 хромосомы, 46 хроматид

- Лютеинизированный ооцит – кумулюсные клетки превращаются в желатиновые массы
- Атретический ооцит – клетки гранулезы фрагментированы, кумулюса мало или он полностью отсутствует

Подготовка сперматозоидов:



- Оценка качества спермы в эякуляте, используя камеру Маклера.
- Оценивается подвижность сперматозоидов, проводится подсчет концентрации сперматозоидов категории А+В.
- Провести обработку сперматозоидов специальными средами.
- Производится конечная оценка качества сперматозоидов в обработанной среде.
- Подсчитать концентрацию сперматозоидов категории А+В в камере Маклера.
- К **категории А** относят спермии с быстрым и прямолинейным движением, скорость их движения должна быть не менее 0,025мм/с (то есть не менее половины собственной длины в секунду).
- К **категории В** относят спермии с медленным прямолинейным движением, скорость менее 0,025 мм/с, но траектория движения все-таки прямая

4 этап

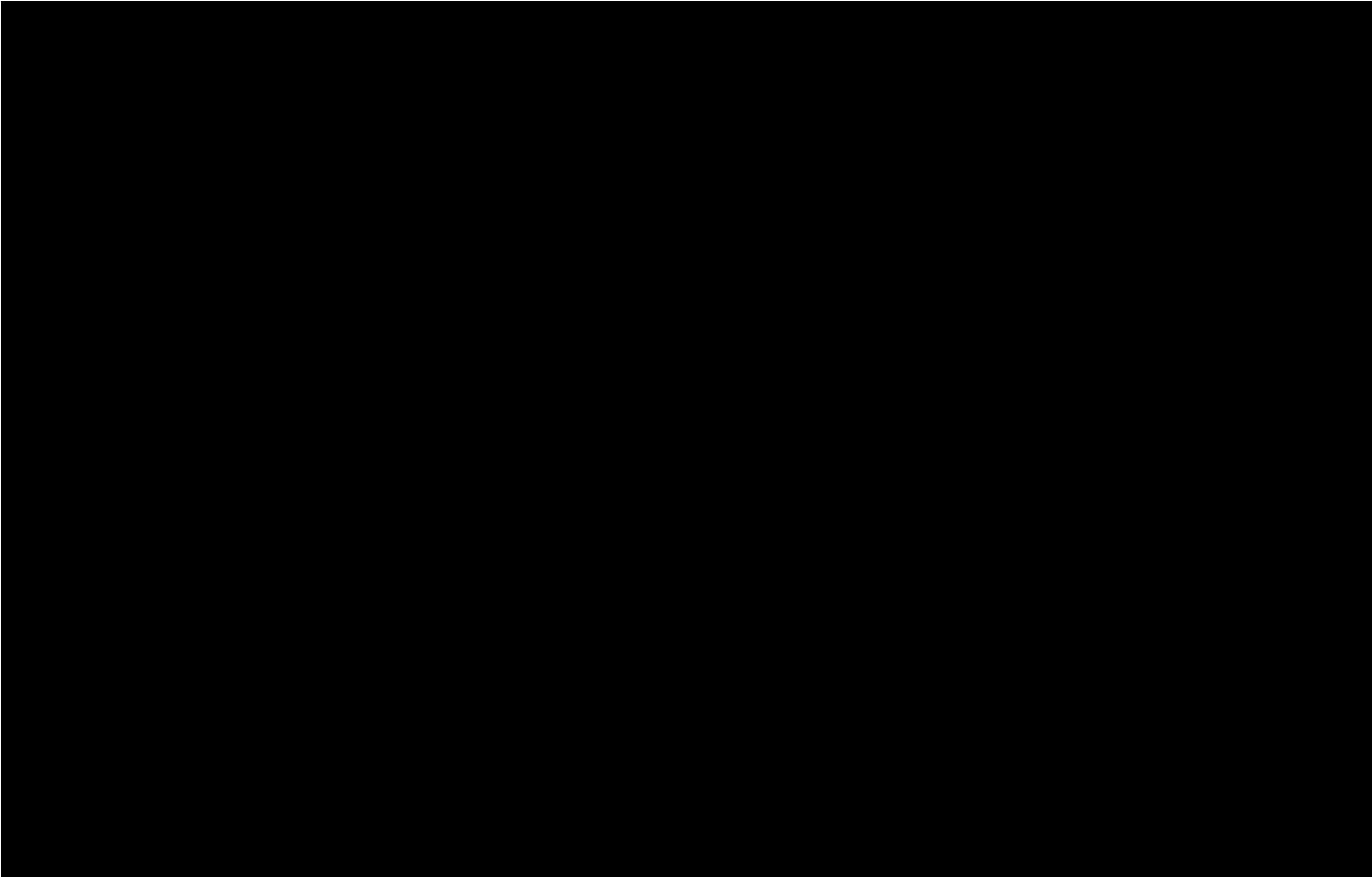
- ▶ Яйцеклетки и сперматозоиды помещаются в специальную питательную среду и они содержатся в инкубаторе, в котором поддерживается температура и подача CO₂ выдерживается 37-37,5 С и 5-6 % соответственно. [Эмбрионы](#) (а до этого [яйцеклетки](#)) в инкубаторах непосредственно содержат в пластиковых чашках ([чашки Петри](#), чашки Нунка, планшеты и пр.) с культуральной средой. В культуральную среду для эмбрионов входят основные физиологические ионы (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, CO₃²⁻ и т. д.), энергетические субстраты ([глюкоза](#), [пируват](#), [лактат](#)), [аминокислоты](#), часто [витамины](#) и белки [сыворотки крови](#).
- ▶ За время инкубации эмбрион человека практически не увеличивается в размере (первые 4 дня его размер 0,1 мм, на 5 день 0,15–0,2 мм), но количество клеток, его составляющих, возрастает многократно (1 день – 1 клетка; 2 день – 4 клетки; 3 день – 8 клеток; 4 день – от 10 до 20 клеток, 5 день – от 40 до 200 клеток).
- ▶ Время культивирования клеток и эмбрионов – 2-6 дней.
- ▶ Длительность культивации эмбрионов определяется врачом и биологом (эмбриологом) в зависимости от эмбриологических и клинических показателей.



ЭТО ВАЖНО!

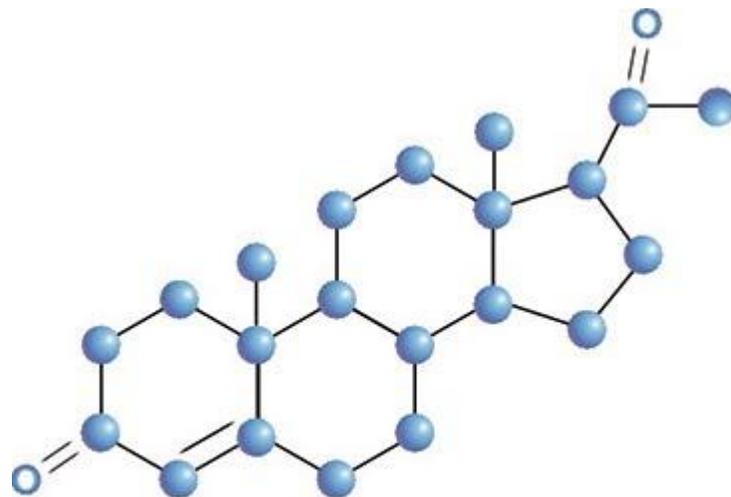
5 этап

- ▶ Перенос эмбрионов в полость матки осуществляется в определённый промежуток времени называемый "окно имплантации".
- ▶ Окно имплантации - это промежуток времени, в течение которого возможна имплантация бластоцисты (эмбриона) в эндометрий. Окно имплантации "открывается" примерно на 6-8 сутки после овуляции. С целью достижения оптимальных результатов в международной практике рекомендуется переносить 2-3 эмбриона в полость матки.
- ▶ Для переноса эмбрионов используются специальные катетеры, которые вводятся в полость матки через цервикальный канал. Этот этап лечения обычно не требует анестезии.

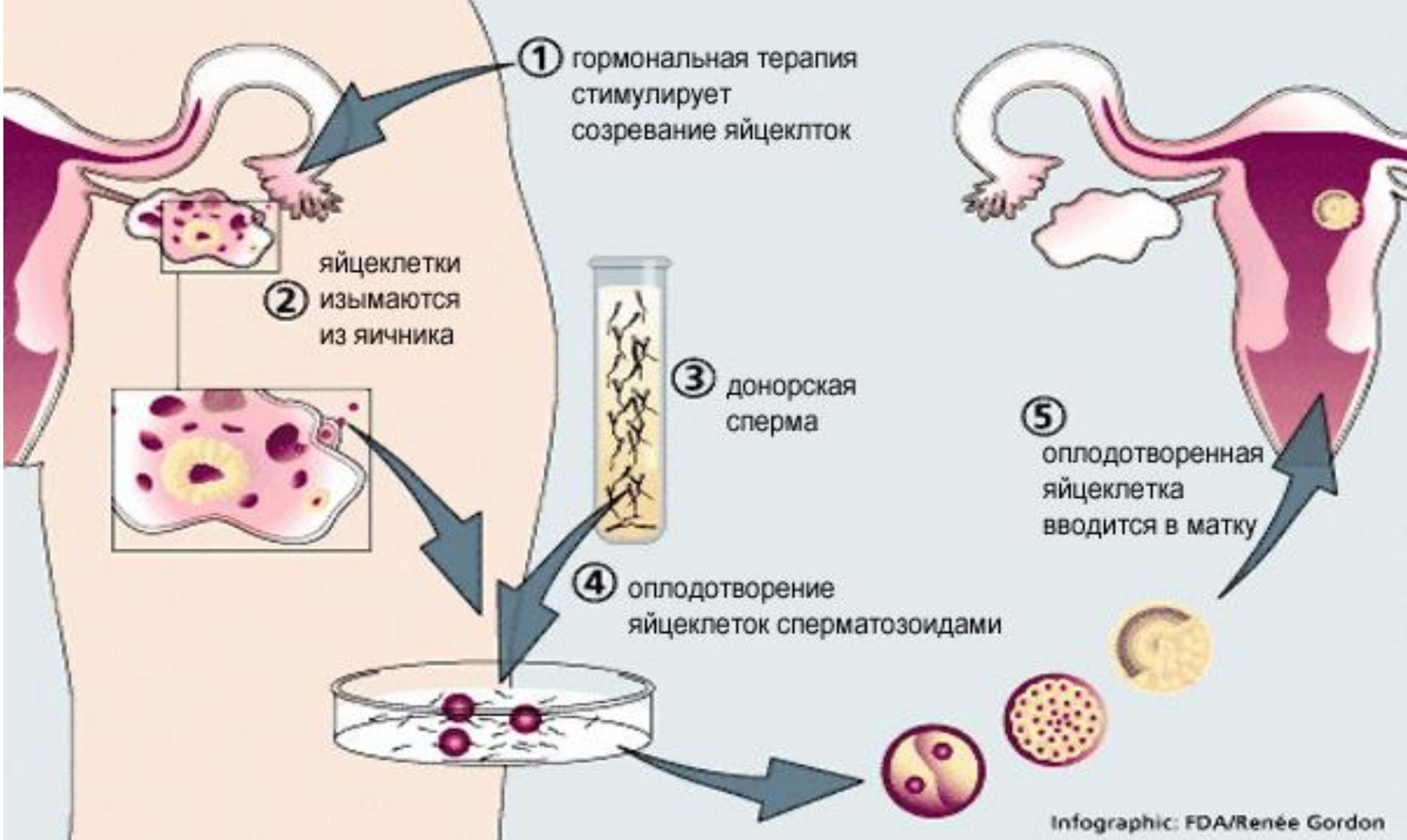


6 этап

- ▶ Поддержка лютеиновой фазы стимулированного менструального цикла обычно проводится препаратами прогестерона или его аналогов. При отсутствии риска развития Синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) поддержка лютеиновой фазы цикла может включать также введение препаратов ХГ.



Progesterone



7 этап

- ▶ Диагностика беременности по содержанию бета-ХГ в крови или в моче осуществляется через 12-14 дней от момента переноса эмбрионов. Ультразвуковая диагностика беременности может уверенно проводиться с 21 дня после переноса эмбрионов.

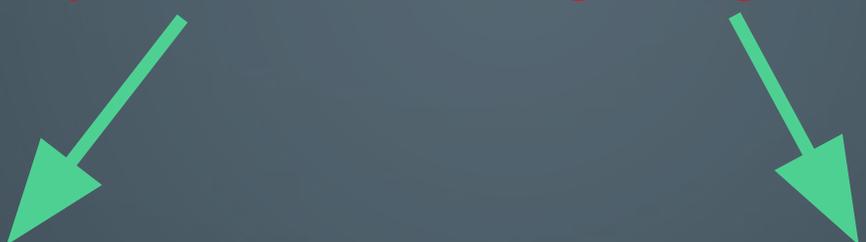


Методика ИКСИ:

- ИКСИ (от англ. ICSI-IntraCytoplasmic Sperm Injection “введение сперматозоида в цитоплазмцу”)-интраплазматическая инъекция сперматозоида- метод лечения бесплодия, один из вспомогательных методов искусственного оплодотворения.



ОТЛИЧИЕ ИКСИ ОТ ЭКО:



- Состоит лишь в том, что во время ЭКО в среду с яйцеклетками помещают порцию сперматозоидов, и они там оплодотворяются.
- Во Время ИКСИ выбирают несколько (желательно 3-4 самых красивых яйцеклеток, 3-4 самых красивых и здоровых сперматозоида, и при помощи микро иглы конкретный сперматозоид внедряется в конкретную яйцеклетку.

ЭТАПЫ ИКСИ



1. Иммобилизация
сперматозоида.
2. Засасывание
сперматозоида в
иглу.



3. Закрепление
ооцита
4. Инъекция
сперматозоида



Внешний вид
яйцеклетки после
проведения
ИКСИ



ЭКО С IVM (IN VITRO MATURATION)

- ▶ In Vitro Maturation (IVM) или созревание яйцеклеток вне организма это метод лечения бесплодия, при котором так же как и при методе ЭКО **оплодотворение яйцеклеток сперматозоидами проводится в условиях in vitro**, но основное отличие этого метода от ЭКО то, что забор яйцеклеток производится раньше времени их финального созревания, то есть **яйцеклетки** полученные при пункции являются **незрелыми**.



Показания:

при наличии
противопоказаний
к полноценной
гормональной
стимуляции;

при синдроме
поликистозных
яичников;

при высоких
рисках
возникновения СГЯ
(синдрома
гиперстимуляции
яичников) или
случаях СГЯ
в анамнезе;

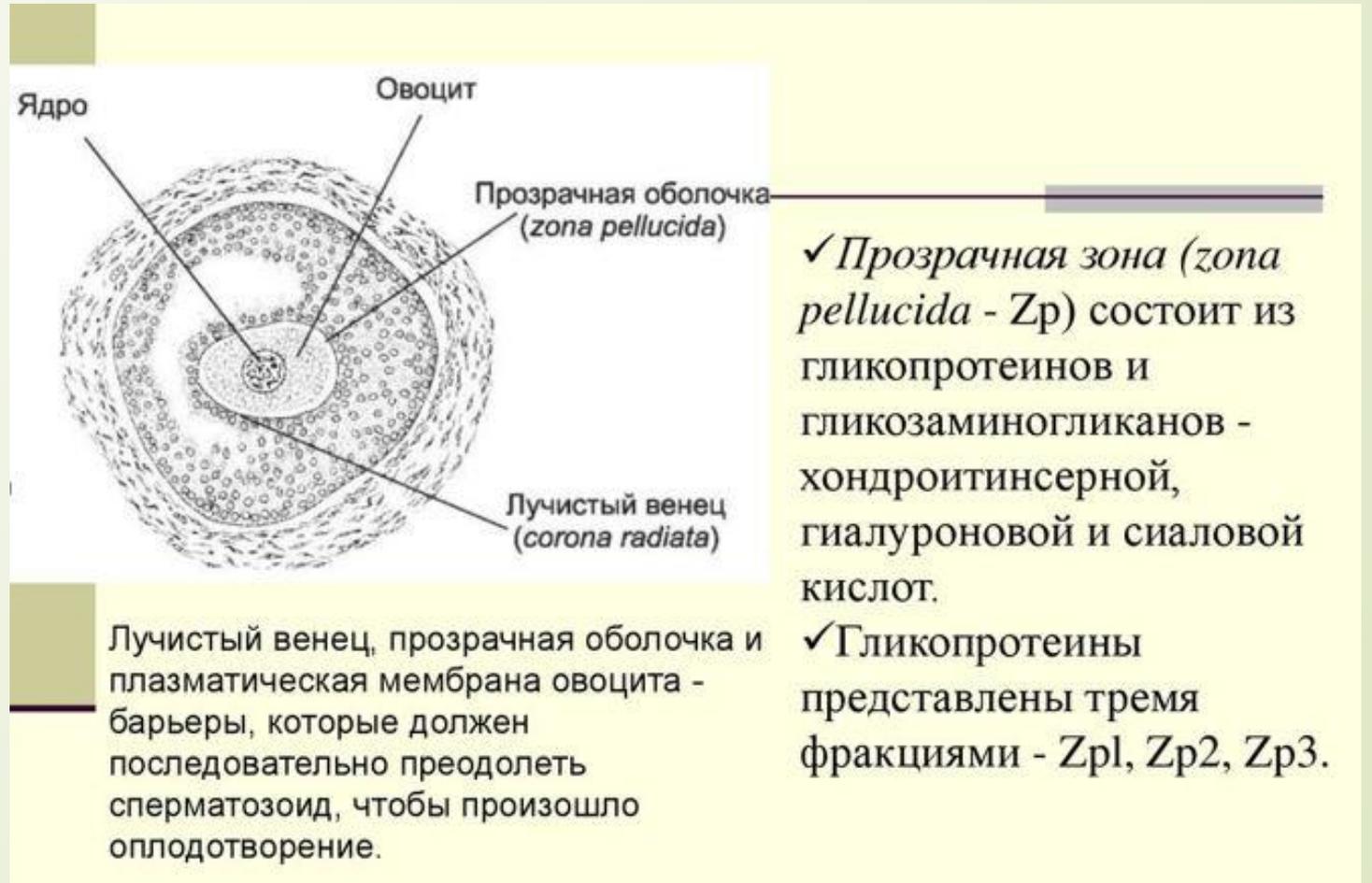
- ▶ Женщина подвергается минимальной стимуляции synthetic follicle stimulating hormones, которая ставит своей целью запустить **механизм созревания** яйцеклеток. Затем у нее пунктируются фолликулы небольшого размера, которые только начали свой рост и которые содержат незрелые яйцеклетки. После их получения в лабораторных условиях в специальных питательных средах (in vitro от лат. “в стекле” - проще говоря в пробирке), содержащих гормоны и собственную сыворотку пациентки производится их дозревание до стадии метафазы II, то есть до той стадии развития, на которой возможно оплодотворение.

- ▶ Весь процесс лечения состоит из двух - трех УЗИ;
- ▶ первое проводится на 2-3 день менструального цикла пациентки, а второе на 6-9 день, с целью оценки эндометрия и замера количества и размеров растущих фолликулов. Извлечение ооцитов обычно проводится на 9-14 день цикла. Инъекция ХГЧ для яйцеклетки делается приблизительно за 36 часов до пункции.
- ▶ Пункция проводится под ультразвуковым контролем с помощью специальной иглы и вся процедура занимает 30-40 минут. Яйцеклетки созревают в специальной среде от 24 до 48 часов. Затем зрелые ооциты оплодотворяются с использованием техники ИКСИ. Перенос эмбрионов в полость матки обычно проводится на 2-5 день после пункции и забора. После извлечения яйцеклеток и эмбриотрансфера требуется фармацевтическая поддержка эндометрия для увеличения шансов успешной имплантации. Успех процедуры достигает 35-40%



Вспомогательный хетчинг

Яйцеклетка и эмбрион человека окружены внеклеточной оболочкой, названной прозрачной зоной или *zona pellucida*.



Функции блестящей оболочки:

- **Оплодотворение.** После проникновения сперматозоида в яйцеклетку оболочка изменяет свою структуру, не пропуская остальные сперматозоиды
- **Защитная функция.** (облегчение и предохранение яйцеклетки или эмбриона во время прохождения по маточным трубам) Растущий эмбрион (стадия бластоцисты) прорывает прозрачную оболочку и выходит из нее (этот процесс называется хэтчинг) и прикрепляется к стенке матки (имплантация). Плотность блестящей оболочки яйцеклетки может изменяться вследствие влияния различных факторов, в результате чего возникший эмбрион не может самостоятельно высвободиться из нее, и соответственно не может в дальнейшем имплантироваться.

Причины изменения плотности блестящей оболочки:



Возрастной фактор (возможные эндокринные изменения у женщин старше 38 лет)

Культивирование вне организма, то есть в лабораторных условиях (недостаток в среде культивирования некоторых веществ)

Криоконсервация (замораживание эмбрионов)

- **Вспомогательный хэтчинг** — это искусственное надсечение оболочки эмбриона. Эту манипуляцию осуществляет эмбриолог в день переноса эмбриона в полость матки.

- **Показания к проведению вспомогательного хэтчинга**

- ✓ возраст женщины старше 38 лет;
- ✓ толщина прозрачной оболочки > 17 мкм;
- ✓ другие аномалии прозрачной оболочки (двуслойная или неправильной формы)
- ✓ наличие эмбрионов с плохими морфологическими показателями (более 20% фрагментов цитоплазмы)
- ✓ предшествующие неудачные попытки ЭКО (отсутствие имплантации)
- ✓ повышенный уровень фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в крови
- ✓ перенос размороженных эмбрионов

Способы вспомогательного хэтчинга:

- Путем **химического воздействия** на прозрачную зону раствором кислоты или специального фермента, растворяющего ее
- Путем **механического рассечения** прозрачной зоны с помощью микроинструментов
- Создание микроотверстий в прозрачной зоне с **помощью лазера**.
- **Пьезо-методика** (один из последних вариантов этой микроманипуляции) – к эмбриону подводится пьезо-электрический микроманипулятор с высокой частотой микровибраций, которым оставляют несколько конических углублений в оболочке эмбриона, что в целом истончает прозрачную зону.

Преимплантационная диагностика наследственных болезней

-метод определения наиболее часто встречаемых генетических аномалий в эмбрионах до имплантации.

- ▶ в ходе стандартного цикла ЭКО. При ПГД из эмбриона извлекают 1-2 клетки, а затем проводят их генетический анализ методами:
- ▶ 1)FISH (fluorescent in situ hybridization) на анеуплоидии, транслокации и другие структурные патологии.
- ▶ 2)ПЦР-для диагностики моногенных заболеваний. Проходит в 2 этапа:
- ▶ -биопсия эмбриона и фиксация бластомера
- ▶ -генетическая диагностика.



• **Преимущества
предимплантационной
диагностики:**

- ✓ Выбор и перенос в матку эмбрионов, которые не имеют хромосомных патологий.
- ✓ Снижение риска невынашивания беременности (в 2 раза)
- ✓ Снижение риска многоплодия (в 2 раза)
- ✓ Увеличение шанса на успешную имплантацию(на 10 %)

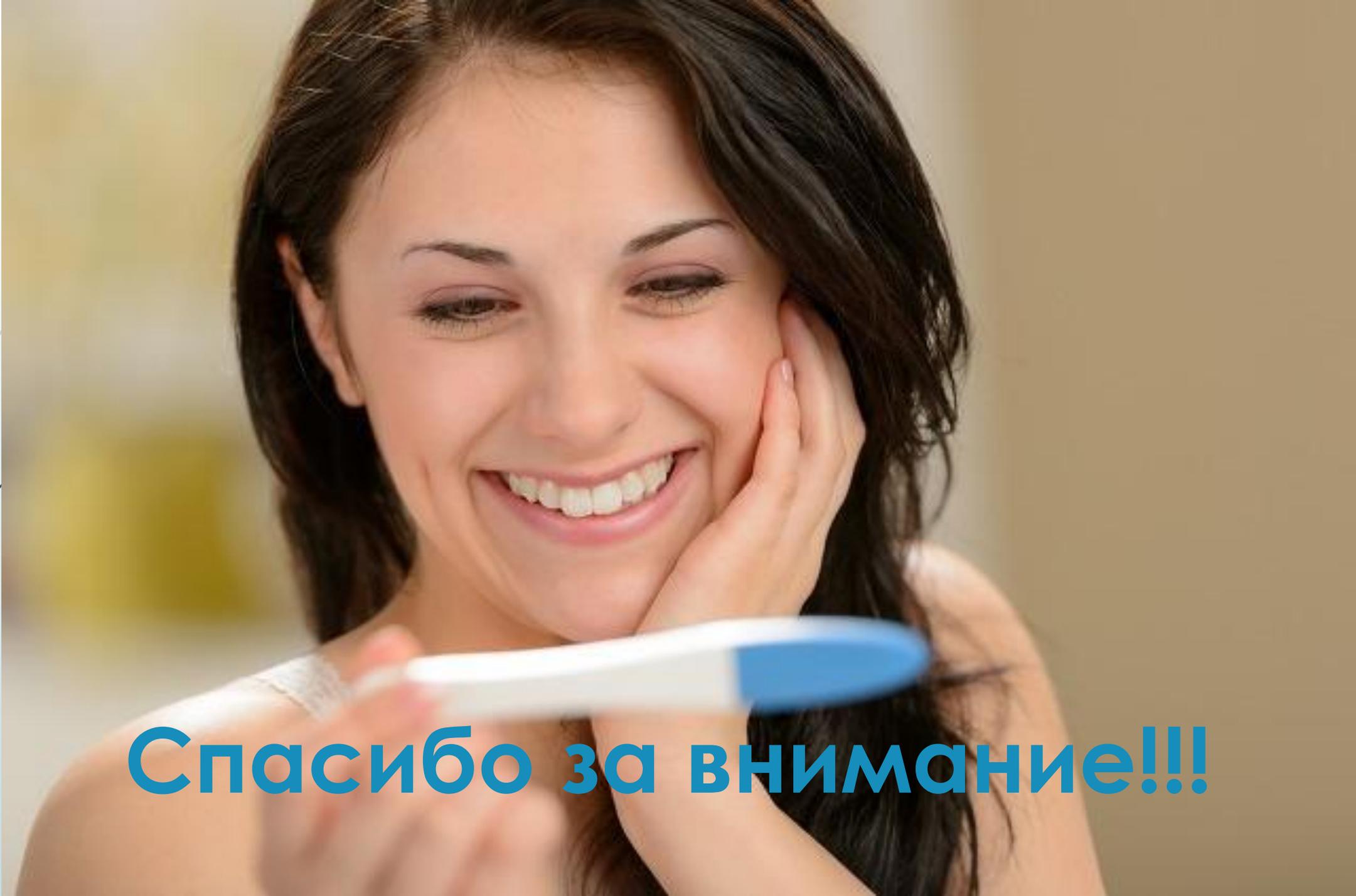
**Риск при проведение
предимплантационной
подготовки:**

- ✓ Риск случайного повреждения эмбриона (<1%)
- ✓ Ошибочная диагностика (до 10%)
- ✓ 3,5% вероятности того, что эмбрион с патологией будет диагностирован как нормальный
- ✓ 10% вероятности того, что здоровый эмбрион будет диагностирован как эмбрион с патологией
- ✓ Отмена переноса эмбрионов из – за того, что по результатам ПГД во всех эмбрионах будет обнаружена патология (до 20%)

Основные генетические заболевания, диагностируемые методом ПГД.

- 1. Хорея Гентингтона
- 2. Синдром ломкой X-хромосомы
- 3. Миотическая дистрофия
- 4. Синдром марфана
- 5. Ретиношизис
- 6. Гидроцефалия
- 7. Фиброзно-кистозная дегенерация
- 8. Недержание пигмента
- 9. Аденолейкодистрофия
- 10. Мышечная дистрофия Дюшенна и др.





Спасибо за внимание!!!