

СТАТЬЯ. Опубликовано в материалах Республиканской научно-практической конференции посв. 50-летию УЗ « 4-я городская клиническая больница им.Н.Е.Савченкo» “ Актуальные вопросы специализированной медицинской помощи, новые направления в медицине “.- С.273-278.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОПЛОДОТВОРЯЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ И НАТИВНОЙ СПЕРМЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Е.И.Юшко, С.В.Жуковская, Т.В.Игнатъева

Кафедра урологии (зав. кафедрой – профессор Стрoцкий А.В.)
Белорусского Государственного медицинского университета,
МЧУП Центр Репродуктивной Медицины (эмбриолог – Игнатъева Т.В.)

Введение Криоконсервация – замораживание и хранение живых биологических объектов с возможностью восстановления их биологических функций после размораживания [1]. За последние десятилетия в развитии репродуктивной медицины во всем мире отмечается тенденция к криоконсервации яйцеклеток, сперматозоидов, эмбрионов и бластоцист. Метод криоконсервации позволяет сохранять качество биологического материала на протяжении нескольких лет, что достигается благодаря научным достижениям последних лет, посвященных разработке и изучению методик замораживания и оттаивания. Новые подходы к криоконсервации биологической основы репродуктивной сферы человека обеспечивают возрастающую управляемость и эффективность лечения в преодолении мужского и женского бесплодия.

В настоящее время криоконсервация спермы при проведении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) применяется в следующих случаях:

- для создания банка донорской спермы

- в ситуациях, когда мужчина не может присутствовать в день проведения пункции фолликулов жены и сдать в этот же день сперму

- перед началом лечения с применением лекарственных средств и технологий, которые могут повлечь за собой ухудшение или полное отсутствие оплодотворяющей способности спермы (онкологические заболевания, гепатит С, оперативные вмешательства, такие как орхэктомия, вазэктомия, и др.)

- до начала служебных командировок в процессе которых не исключено воздействие неблагоприятных факторов внешней среды на организм в целом или органы (в первую очередь гонады), участвующие в сперматогенезе (космонавты, ликвидаторы аварий на атомных станциях, военные и др.)

- при необходимости концентрации и накопления сперматозоидов при их недостаточном количестве в эякуляте [2]

Криоконсервация спермы может применяться с целью сохранения биологического материала без наличия медицинских показаний, т.е. по желанию пациента.

Развитие репродуктивной медицины в начале 90-х годов позволило проводить оплодотворение сперматозоидами пациентов с олигозооспермией, а также сперматозоидами, полученными хирургическим путем у пациентов с азооспермией. При этом количество пригодных для оплодотворения подвижных нормальных сперматозоидов может оказаться крайне малым, а их выделение весьма трудоемким, что требует больших усилий и затрат времени. Если существует высокий риск повторного неполучения этого уникального генетического материала вследствие нарастающих необратимых изменений в репродуктивной сфере мужчины или даже такой прогноз просматривается - требуется сохранение выделенных единичных сперматозоидов путем криоконсервации [3].

Цель исследования: по материалам собственных исследований сравнить эффективность применения криоконсервированной и нативной

спермы при проведении стандартной процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО)

Задачи:

1. оценить процент фертилизации с использованием криоконсервированной и нативной спермы;
2. определить вероятность наступления беременности с использованием криоконсервированной и нативной спермы;
3. проанализировать влияние криоконсервации спермы на течение беременности и риск репродуктивных потерь.

Материал и методы. Работа проведена на основании данных, предоставленных Центром репродуктивной медицины, сотрудники которого в течение более 10 лет в полном объеме решают вопросы по диагностике и лечению женского и мужского бесплодия. Для ретроспективного анализа была составлена исследуемая группа из 72 семейных пар (ЭКО проводилось с использованием криоконсервированных сперматозоидов); и контрольная – 86 семейных пар (в процедуре ЭКО использовалась сперма без применения криоконсервации, т.е. нативная).

Средний возраст в исследуемой группе: мужчины – 33.4 года, женщины – 34.5 лет; в контрольной: мужчины – 33.1 год, женщины – 33.8 лет.

Бесплодие в контрольной группе было вызвано трубным фактором.

В исследуемой группе в 50 (69,4%) случаях причиной бесплодия являлся трубный фактор при нормальных показателях спермограммы, в соответствии с критериями ВОЗ. В 22 (30,6%) случаях наблюдалось сочетание этого фактора с субнормальными показателями спермограммы.

Всем мужчинам проведено общее медицинское обследование, исследование мочеполовой системы, проводились следующие лабораторно-диагностические методы: спермограмма, гормональный скрининг (ФСГ/ЛГ, пролактин, эстрадиол, тестостерон, тиреоидные гормоны, антитела к пероксидазе тиреоцитов и тиреоглобулину), обследование на ИППП,

серологическая диагностика инфекций (ВИЧ, сифилис, гепатит В и С), ультразвуковое исследование органов мошонки, предстательной железы, семенных пузырьков, медико-генетическое исследование (определение кариотипа). Для достижения наилучшего результата проводилась общая и специальная подготовка пациентов: психологический аутотренинг, санация очагов хронической инфекции, коррекция гормональных нарушений, стимуляция сперматогенеза при субнормальных показателях спермограммы, витаминотерапия, диетотерапия.

Эякулят был получен с использованием мастурбации. При криоконсервации использовались криопротекторы производства Medicult (Дания). По данным литературы [4,5] с этой целью ранее использовался желточный буфер либо соевый лецитин; но данные вещества уступают криопротектору фирмы Medicult, оказывая более выраженное негативное влияние на подвижность и морфологические особенности сперматозоидов, на их способность связываться с гиалуроновой кислотой *in vitro* и на целостность ДНК после размораживания. Существует два варианта криоконсервации: метод медленной заморозки и более современный – витрификация, т.е. стремительная (фактически мгновенная) заморозка. При использовании второго варианта достигается значительно более высокая выживаемость и подвижность сперматозоидов после размораживания в необходимые для последующего ВРТ сроки [2].

Обязательным этапом криоконсервации является контрольное размораживание части криоконсервированной спермы для оценки влияния криопротекторов на качество сперматозоидов и определения целесообразности проведения либо стандартной процедуры ЭКО, либо ЭКО с использованием интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (международная аббревиатура - ICSI).

Все женщины исследуемой и контрольной групп также прошли тщательное обследование и предварительную подготовку для коррекции имеющихся нарушений. В соответствии с программой им была проведена

гормональная индукция овуляции по индивидуальным протоколам, а затем пункционная аспирация содержимого всех фолликулов.

По мере необходимости криоконсервированный материал подвергался размораживанию и использовался для проведения ЭКО.

Результаты и обсуждение. С каждой семейной парой в процессе подготовки к ВРТ проводилась обстоятельная беседа по регламентированным медицинским и юридическим вопросам. Изначально в контрольную группу было включено 83 пары, а в исследуемую группу - 75 семейных пар, но при проведении контрольного размораживания порции криоконсервированной спермы выяснилось, что в 3 случаях качество сперматозоидов у мужчин ухудшилось и не было достаточно высоким для проведения стандартной процедуры ЭКО, в связи с чем пациентам было предложено ЭКО+ICSI, но они отказались и предпочли ЭКО с использованием нативной спермы. Таким образом, 3 семейные пары перешли из исследуемой в контрольную группу. У оставшихся 72 пар контрольное размораживание показало высокую сохранность качества спермы, им было проведено ЭКО. В таблице отражены основные количественные данные, отражающие этапы реализации намеченных программ в исследуемой и контрольной группах.

Таблица 1. Этапы и итоговые результаты ЭКО в исследуемой и контрольной группах

Этапы ЭКО	Криоконсервированная сперма (n = 72)	Нативная сперма (n = 86)
Всего использовано ооцитов	674	825
Фертилизация наступила от количества использованных ооцитов	566 – 84%	709 – 85.9%
Нормальное развитие эмбрионов от количества оплодотворенных ооцитов	504 – 89%	639 – 90.1%

Среднее количество эмбрионов, перенесённых в полость матки	2.1	2.4
Наступление беременности от числа проведенных процедур ЭКО в группе	32 – 44.4%	39 – 45.3%
-из них многоплодных:	8 – 25%	10 – 25.6%
Беременности, закончившиеся родами	26 – 81.3%	32 – 82%
-из них преждевременные:	5 – 19%	7 – 21.9%
Репродуктивные потери	6 – 18.8%	7 – 18%
из них внематочные беременности:	1	1
- выкидыши:	5	6

Сравнение показателей даёт возможность сделать заключение о том, что криоконсервация сперматозоидов не оказывает значительного негативного влияния на их оплодотворяющую способность, так как результативность применения криоконсервированного материала в процедурах ЭКО сравнима с результативностью применения нативной спермы, что свидетельствует о достаточно высокой сохранности качества сперматозоидов. Кроме того, проведена оценка не только фертилизации и вероятности наступления беременности, но и влияния криоконсервации сперматозоидов на риск репродуктивных потерь: результаты свидетельствуют о том, что использование криоконсервированных сперматозоидов не повышает риск репродуктивных потерь и преждевременных родов. С учетом вышеперечисленного и, главное, с учетом причин приводящих к использованию криоконсервации спермы практическая целесообразность и значимость обсуждаемого способа сохранения качества спермы не вызывает сомнений.

Также следует особо отметить, что контрольное размораживание части криоконсервированной спермы является обязательным этапом проведения процедуры и выполняется как с целью определения качества материала так и с целью выбора дальнейшей стратегии: стандартное ЭКО либо ЭКО+ICSI.

Проведенное исследование является доказательством того, что криоконсервация спермы значительно расширяет возможности современной вспомогательной репродуктивной медицины и является перспективным направлением в лечении бесплодия, а также в сохранении биологического материала.

ВЫВОДЫ:

1. Фертилизация при использовании криоконсервированной спермы – 84%, при использовании нативной – 85,9%.
2. Частота наступления беременности: с использованием криоконсервированной спермы – 44.4%, нативной – 45.3%.
3. Репродуктивные потери в исследуемой группе – 18.8%, в контрольной – 18%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ken Muldrew. Cryobiology — A Short Course. Canada, 1999
2. Vutyavanich T., Piromlertamorn W., Nunta S. Rapid freezing versus slow programmable freezing of human spermatozoa // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 93, № 6. – P. 1921–1928.
3. Agca Y, Critser JK. Cryopreservation of spermatozoa in assisted reproduction. Semin Reprod Med. 2002 Feb; 20(1):15-23.
4. Reed M. L., Fzeh P. C., Hamic A. et al. Soy lecithin replaces egg yolk for cryopreservation of human sperm without adversely affecting postthaw motility, morphology, sperm DNA integrity, or sperm binding to hyaluronate // Fertil. Steril. 2009. – Vol. 92, № 5. – P. 1787–1790.
5. Wolfe J., Bryant G. Cryobiology and anhydrobiology of cells. – Sydney, 2004.