

ИСТОРИЧЕСКИЕ ВЕХИ РАЗВИТИЯ МЕТОДОВ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, ОСНОВАННЫХ НА ОПЛОДОТВОРЕНИИ IN VITRO

И.И. Витязева, И.И. Бармина, Г.А. Мельниченко

ФГУ Эндокринологический научный центр
(дир. - акад. РАН и РАМН И.И. Дедов) МЗ РФ, Москва

Рождение - это та доля бессмертия и вечности,
которая отпущена смертному существу
Платон

Резюме

Данная статья, в первую очередь, посвящена истории развития метода экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В ней рассматриваются основные этапы зарождения и дальнейшего совершенствования ЭКО. Проведены параллели между развитием знаний и умений в акушерстве и гинекологии, эндокринологии, фармакологии. В хронологическом порядке изложены наиболее важные достижения таких разделов репродуктологии, как эмбриология, включая проблему криоконсервации и преимплантационной генетической диагностики эмбрионов, функциональная диагностика с ультразвуковым мониторингом развития фолликулов и особенностями доступов при аспирации ооцитов. Определены дальнейшие практические и научные перспективы развития методов вспомогательных репродуктивных технологий. Отдельное внимание уделено истории появления метода ЭКО в России и состоянию проблемы на настоящее время.

Ключевые слова: экстракорпоральное оплодотворение, вспомогательные репродуктивные технологии, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит (ИКСИ), преимплантационная генетическая диагностика (ПГД), криоконсервация гамет и эмбрионов.

HISTORICAL STAGES OF DEVELOPMENT OF METHODS OF THE ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES BASED ON FERTILISATION IN VITRO

I.I. Vityazeva, I.I. Barmina, G.A. Melnichenko

Head Research Center of Endocrinology, Moscow, Russia

Summary

This article is devoted, in the first place, to the history of in vitro fertilization method (IVF). The main phase of initiation and further perfection of IVF are elucidated. Correlations of the development knowledge and skills in obstetrics and gynecology, endocrinology, pharmacology are revealed. In a chronological order the main achievements of such reproduction medicine sections as embryology with cryopreservation and PGD analysis, functional diagnostics with ultrasonography are recited. Further practical and scientific perspectives of the artificial reproductive technology's method are determined. Special attention attends to the IVF history in Russia and ART problem's condition at present.

Key words: In vitro fertilization (IVF), assisted reproductive technology (ART), intracytoplasmic sperm injection in the oocyte (ICSI), preimplantation genetic diagnosis (PGD), cryopreservation of gametes and embryos.

Первые работы, так или иначе положившие начало экстракорпоральному оплодотворению (ЭКО) как целому направлению репродуктивной медицины, относятся даже не XX, а XIX столетию. В 1890-х годах появились первые сообщения доктора Walter Heape, профессора Кембриджского университета (Англия), об удачном переносе эмбрионов от одного животного другому с последующим рождением жизнеспособного потомства [1]. В своей работе автор выделял эмбрионы, находящиеся на преимплантационной стадии развития, из яйце-

водов самки кролика одной породы и пересаживал их в матку кролика другой породы без каких-либо последующих нарушений развития зародышей. Несмотря на важность этой работы, последующие публикации, посвященные исследованию механизмов репродукции у человека и животных, были разрозненными и эпизодическими вплоть до 30-40-х годов XX века, когда начались попытки переносить эмбрионы в животноводстве и проводить оплодотворение яйцеклеток млекопитающих in vitro [2-5].



Истории известны случаи, когда фантастические предположения писателя предшествовали настоящему научному открытию. Некоторые авторы совершали настоящие «предсказания», правильно «угадав» дальнейшее развитие науки и техники. Так, Жюль Верн описывает прообразы самолета и космического полета в своих произведениях «С Земли на Луну» и «Властелин мира». Герберт Уэллс предвидел появление видеосвязи, центрального отопления, лазерного излучения и атомного оружия. А. Беляев в 20-е годы XX столетия уже подробно описал космическую станцию и радиоуправляемую технику. В 1932 г. в опубликованном романе Aldous Huxley «Дивный новый мир» была описана в основе вероятная технология будущего метода ЭКО так, как мы ее знаем в настоящее время.

В 1934 г. Pincus и Enzmann из лаборатории общей физиологии Гарвардского университета, опубликовали работу о возможности нормального развития яйцеклетки млекопитающих вне организма - *in vitro* [6,7]. Несколько лет спустя, в 1937 г., те же авторы в статье в «New England Journal of Medicine» сообщили об успешном получении беременности у крольчих без спаривания. Изолировав яйцеклетку, они оплодотворили ее и перенесли полученный эмбрион другой особи с последующим рождением жизнеспособного потомства. Таким образом, высказывалось предположение, что концепция из романа Aldous Huxley может быть даже ближе к реализации, чем кажется.

Четырнадцать лет спустя, в 1948 г., исследователями M. Menken и J. Rock было получено более 800 яйцеклеток от женщин во время операций на органах малого таза [8]. Из них 138 яйцеклеток оплодотворились сперматозоидами в условиях *in vitro*. В 1948 г. ученые опубликовали свой опыт в «American Journal of Obstetrics and Gynecology».

Интересно, что еще в 1897 г. русский врач, в то время приват-доцент кафедры акушерства и гинекологии Санкт-Петербургской Военно-медицинской академии, В.С. Груздев пытался экспериментировать с ооцитами, извлеченными из фолликулов яичников крольчих. Он переносил полученные яйцеклетки вместе со спермой в яйцеводы животных, что явилось прообразом такого метода вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), как ГИФТ (GIFT) - перенос гамет в просвет маточной (фаллопиевой) трубы. В.С. Груздев высказал предположение, что вероятность оплодотворения яйцеклетки зависит от размеров фолликула, из которого она была извлечена. А первые сообщения нашей соотечественницы О.В. Красовской об успешной трансплантации (переносе) эмбрионов кролика в матку другого аналогичного животного появились только в 1934 г. [9,10].

Однако до 1959 г. не было бесспорных доказательств того, что оплодотворение «вне организма» действительно «работает». Только в 1959 г. благодаря достижениям в области эмбриологии и развитию микроскопической техники доктором M. Chang путем искусственного оплодотворения были получены детеныши млекопитающих (кроликов) [11]. Яйцеклетки были оплодотворены предварительно обработанной специальным методом (в дальнейшем названным методом капацитации) спермой и помещены в инкубатор на 4 ч. Так был открыт путь к дальнейшему развитию искусственного оплодотворения.

Следует отметить, что история развития ЭКО, вероятно, в большей степени, чем других дисциплин медици-

ны, неразрывно связана с научно-техническим прогрессом. Это объясняется тем широким спектром знаний, которые необходимы для получения конечного результата - рождения здорового ребенка в бесплодной супружеской паре. Метод ЭКО находится на стыке таких наук, как эндокринология, гинекология, эмбриология, хирургия, генетика, иммунология, ультразвуковая диагностика. Более того, для проведения манипуляций необходима совершенная техническая и лабораторная база. Именно поэтому, значительные прорывы в развитии программ ВРТ совершались параллельно с появлением научно-технических разработок и достижений фармакологии.

Основоположниками современного метода ЭКО являются британские ученые - биолог (эмбриолог) Р. Эдвардс и акушер-гинеколог П. Стептоу (рис. 1), которые в 1978 г. впервые успешно провели операцию ЭКО у пациентки Лесли Браун с абсолютным трубным фактором бесплодия, в результате которой у нее родилась дочь Луиза (рис. 2) [12]. Данное событие явилось революционным в мире медицины. Ему предшествовали годы напряженной работы. Так, R. Edwards совместно с Georgeanna и Howard Jones (США) в 1965 г. впервые добились нормального оплодотворения человеческой яйцеклетки *in vitro*. А в 1976 г. R. Edwards и P. Steptoe сообщили о первой беременности после переноса пациентке эмбриона на стадии морулы [13]. К сожалению, эта первая беременность оказалась эктопической (внематочной), и научная общественность не обратила должного внимания на этот факт. Долгожданная удача пришла только после более чем 600 неудачных попыток переносов эмбрионов, которые проводились на женщинах-добровольцах в естественных (нестимулированных) циклах. Имя Луизы Браун для гинекологов всего мира является знаковым. А в 2004 г. Луиза родила своего первого ребенка, который был зачат естественным путем.

Рисунок 1. Роберт Эдвардс и Патрик Стептоу



Рисунок 2. Луиза Браун с новорожденным



Метод ЭКО привлекал к себе все больше внимания и интерес общественности и специалистов, проявившийся в многочисленных региональных и всемирных конгрессах и симпозиумах, большом числе публикаций, посвященных применению и усовершенствованию этого метода, а также в постоянном росте числа клиник, занимающихся его разработкой и применением в различных странах мира: США, Англии, Дании, Германии, Франции, Израиле, Австралии и др.

Развитие фармакологии и ЭКО

Получение яйцеклеток Р.Эдвардс и П. Стептоу проводили в естественных циклах без использования стимулирующих препаратов с тщательным мониторингом роста фолликулов на пациентках-добровольцах. С 1967г. с целью индукции овуляции в мире начали применять кломифен-цитрат, обладающий антиэстрогенным действием, хорошо известный и в настоящее время. В 1980 г. появились первые данные о его использовании для стимуляции роста фолликулов при проведении процедуры ЭКО. В 70-80-е годы в двух центрах по исследованию репродукции человека в Австралии успешно проведены работы по ЭКО в стимулированных кломифеном менструальных циклах. Одним из важных выводов, сделанных на основании проведенных исследований, было заключение о повышении частоты имплантации после переноса в матку матери не одного, а большего числа эмбрионов [14].

В конце 20-х годов XX века В. Zondek, немецкий эндокринолог и гинеколог, а с 1933 г. профессор кафедры акушерства и гинекологии медицинского факультета Еврейского университета в Иерусалиме и одновременно руководитель лаборатории гормональных исследований изучил и описал гормоны яичника и гонадотропную функцию гипофиза. Основные его труды были посвящены проблемам внутренней секреции и роли половых гормонов в физиологическом и патологическом процессах женского организма. Это позволило в дальнейшем, R. Yalow разработать в 1959 г. метод объ-

ективного измерения концентрации гормонов, что сразу же вывело эндокринологию из разряда описательных дисциплин и способствовало пониманию закономерностей менструального цикла и определения момента созревания фолликулов и ооцитов в них. Первоначально группа R.Yalow предложила метод высокочувствительного определения инсулина в плазме крови человека. Разработанный радиоиммунологический метод стал широко применяться к сотням других минорных компонентов крови, таких как, витамины и ферменты, которые не могли быть измерены ранее из-за их низкой концентрации в сыворотке крови.

Значительный вклад в историю изучения гормональной регуляции половой функции внес польский физиолог и эндокринолог А. Schally. Благодаря его исследованиям было открыто действие гонадотропин-рилизинг-гормона, вырабатываемого гипоталамической областью, на выделение гонадотропных (фолликулостимулирующий - ФСГ и лютеинизирующий - ЛГ) гормонов гипофизом. Большая часть его исследований была посвящена особенностям нейроэндокринной регуляции организма. В 1977 г. Э. Шелли совместно с Р. Гийомом получили Нобелевскую премию «За открытия, связанные с секрецией пептидных гормонов мозга». В тот же год награду с ними разделила и Р. Ялоу «За развитие радиоиммунологических методов определения пептидных гормонов».

В 1930 г. Cole и Hart обнаружили, что экстракт сыворотки беременных кобыл обладает гонадотропной активностью. Гонадотропины были впервые выделены из мочи обследуемых женщин в 40-х годах XX века. Человеческий хорионический гонадотропин (ХГч) удалось получить в 1940 г., а в 1949 г. - человеческий менопаузальный гонадотропин (чМГ) - Пергонал, содержащий по 75 МЕ молекул ФСГ и ЛГ. Спустя более чем десятилетие клиницистам стали доступны первые лекарственные формы, содержащие мочевые гонадотропины (ХГч - Профази, чМГ - Пергонал).

В 1962 г. группа под руководством В.Lunenfeld сообщила о 3 беременностях, наступивших после стимуляции роста фолликулов Пергоналом [15]. В 1981 г. в США родился первый ребенок после лечения бесплодия методом ЭКО с применением чМГ. Дальнейшее совершенствование методов лабораторной обработки позволило в 1980 г. создать препарат, содержащий только молекулы человеческого ФСГ (Метродин), а в последующем, в 1993 г. был разработан высокоочищенный мочевой гонадотропин - Урофоллитропин- α (Метродин - НР).

В 80-х годах XX века активно стали развиваться новые клеточные технологии получения рекомбинантных лекарственных препаратов. Успешное ЭКО с последующим переносом эмбрионов в полость матки после стимуляции рекомбинантным ФСГ было осуществлено в 1992г. Лишь в 2000 г. был разработан рекомбинантный ЛГ (Люверис) и в 2001 г. - рекомбинантный ХГч (Овирель). Таким образом, было воссоздано и внедрено в клиническую практику все семейство рекомбинантных гонадотропинов [16].

Развитие лабораторной базы позволило к 1980 г. наладить исследование уровня ЛГ в сыворотке крови для определения оптимального времени пункции фолликулов. Выбор времени для пункции фолликулов создавало определенные неудобства как для пациентов, так и для медицинского персонала, который должен



был быть готов к забору ооцитов в любое время дня и ночи. Кроме этого в 10-12% случаев отмечалась спонтанная овуляция, и лечебный цикл оставался незавершенным. В 1984 г. для контроля гонадотропной функции гипофиза (блокирования собственного спонтанного пика ЛГ) во время индукции овуляции в протоколах ЭКО предложили использовать агонисты гонадотропин-рилизинг гормона (а-ГнРГ). Предположение о возможности использования антагонистов ГнРГ для подавления преовуляторного выброса ЛГ было высказано лишь в 1991 г.

Ультразвуковая диагностика и ЭКО

Теоретические основы ультразвуковых исследований (УЗИ) в первой половине XIX века заложил К. Доплер. Первый излучатель ультразвуковых волн изобрел французский ученый П. Ланжевен. Тот самый, что во время Первой мировой войны предложил использовать ультразвуковые волны для обнаружения подводных лодок. Пионером использования ультразвука на биологических объектах стала ветеринария, где ультразвуковые приборы стали использовать для определения подкожного жира у свиней. Первая попытка выполнить УЗИ человеческого тела относится к 1942 г. [17]. Однако во время войны данные исследования не вызвали энтузиазма. Зато в начале 50-х годов американские ученые М. Уилд и Э. Хаури впервые довольно успешно применили ультразвук для уточнения места кровоизлияния при инсульте. В 1979 г. J. Rez использовал УЗИ для контроля за ростом и развитием фолликулов. Им были получены ультразвуковые данные, соответствующие лапароскопической картине [18].

Большую роль в развитии метода ЭКО сыграл прогресс в развитии эндоскопической медицинской техники. Доктор Palmer (Франция) в 1961 г. впервые предложил использовать лапароскопический доступ для получения ооцитов из зрелых фолликулов. Это позволило R. Steptoe, а затем A. Lopata и соавт. [19, 20] получать зрелые яйцеклетки человека путем лапароскопии, исключив, таким образом, необходимость проведения применявшейся ранее для этой цели лапаротомии. А впервые выполнил и описал технику лапароскопии Д.О. Отт в 1901 г. - профессор, акушер-гинеколог из Санкт-Петербургской медицинской академии, впоследствии названную им вентроскопией. Он осматривал органы малого таза через кольпотомическое отверстие, используя для освещения лобный рефлектор, электрическую лампу и зеркало. Тем не менее лапароскопический доступ сопряжен с определенными техническими сложностями и возможными осложнениями. Поэтому очень важными явились сообщения в 1982 г. S. Lenz и J.G. Lauritsen о новом способе получения преовуляторных ооцитов путем трансабдоминальной трансвезикальной (через мочевого пузырь) пункции фолликулов под ультразвуковым контролем и местной анестезией в амбулаторных условиях [21]. Впоследствии M. Wikland в 1985 г. заменил этот способ на широко используемый и в настоящее время трансвагинальный доступ пункции фолликулов и аспирации преовуляторных ооцитов. В том же году J. Gonen с коллегами (Канада) стали пионерами в использовании УЗИ для определения качества эндометрия, его толщины и структуры при проведении переноса эмбрионов в полость матки [22-24].

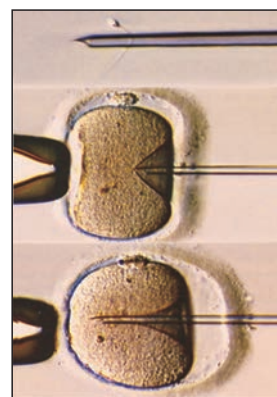
Мужской фактор бесплодия и метод ЭКО

Первоначально метод ЭКО разрабатывался для пациенток с удаленными маточными трубами – абсолютно трубным фактором бесплодия. Однако со временем появились новые возможности для дообследования и лечения пар с другими формами бесплодия. По данным ВОЗ, более 30% случаев бесплодного брака связано с наличием нарушения сперматогенеза у супруга.

После успешного завершения предварительного исследования на животных в середине 80-х годов в мире была начата разработка новых микроманипуляционных методов вспомогательной репродукции, в результате применения которых удалось найти пути решения проблемы транспорта сперматозоида в цитоплазму ооцита при тяжелых нарушениях сперматогенеза. Первоначально в таких случаях в качестве дополнительного этапа оплодотворения была использована техника частичного рассечения зоны пеллúcиды (PZD), а позже метод инъекции нескольких сперматозоидов в перивителлиновое пространство ооцита (SUZI) [25,26]. Эти методы позволили повысить частоту оплодотворения при значительных снижениях показателей спермы лишь на 20%, при весьма низкой частоте последующего наступления беременности, не превышающей 3-7% [27].

В 1985 г. наступила первая беременность в результате применения метода ЭКО с использованием сперматозоидов, полученных при пункции придатка яичка (аналог современной процедуры PESA - перкутанная аспирация сперматозоидов из придатка яичка). В 1988 г. родились два младенца, после получения эпидидимальных сперматозоидов от мужчины с врожденным отсутствием семявыносящего протока (MESA) [28]. Продолжение развития микрохирургической техники инсеминации привело к тому, что в 1992 г. G. Palermo и соавт. сообщил о наступлении первой беременности после внутриклеточной инъекции сперматозоида. Метод получил название интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит - ИКСИ (рис. 3) [29].

Рисунок 3. Инсеминация ооцита методом ИКСИ



В 1994 г. были представлены первые данные о наступлении беременности после оплодотворения сперматозоидами, полученными при пункции ткани яичка и экстракции их из семенных канатиков (TESE) с последующим проведением процедуры ИКСИ. [30].

В 1996 г., группа специалистов из Валенсии сообщила о первой беременности, наступившей после ЭКО-ИКСИ с использованием криоконсервированных тестикулярных сперматозоидов, в 1998 г. родился здоровый ребенок после лечения мужской формы бесплодия методом ЭКО-ИКСИ, проведенным сперматозоидами, полученными от мужчины с синдромом Клайнфельтера [31].

Наравне с расширением лабораторных диагностических возможностей увеличивались и знания о причинах мужского бесплодия. В 1996 г. появились первые сообщения, что некоторые мужчины с тяжелыми формами олигоастенотератозооспермии имеют делеции в определенной зоне Y-хромосомы. J. Sun, A. Jurisicova и R. Casper представили данные об использовании техники Terminal dUTP Nick-End Labeling (TUNEL) для выявления фрагментации ДНК в хроматине и корреляции с частотой наступления оплодотворения. Они показали, что присутствие повышенной фрагментации ДНК может в некоторых случаях объяснить неудачи в наступлении или преждевременном прерывании беременности [32].

Модификации программ ЭКО

Классический вариант ЭКО, состоящий из получения у пациентки преовуляторных ооцитов, оплодотворения их сперматозоидами мужа и переноса развивающихся эмбрионов в матку матери, с течением времени подвергся различным модификациям, что дало возможность объединить его с альтернативными, основанными на его принципах, методами в общую группу современных методов ВРТ. К ним, наряду с ЭКО стали относить ГИФТ (GIFT) – перенос гамет (ооцитов и сперматозоидов) в маточные трубы в случае полноценности хотя бы одной из них при нормальных показателях спермограммы мужа; ЗИФТ (ZIFT) – перенос зигот в маточные трубы при сниженных критериях спермы мужа. Так, первое сообщение о наступлении беременности в результате переноса гамет в фаллопиевы трубы было сделано в 1984 г. R. Asch во время проведения лапароскопии (антеградный перенос) [33]. Одним из преимуществ этих методов является тот факт, что при их применении отпадает необходимость в длительном культивировании зигот и эмбрионов, недостатками – в невозможности установить факт оплодотворения при применении метода GIFT и теоретический риск повышения частоты наступления трубной и/или гетеротопической беременности с одновременной локализацией плодных яиц в матке и маточной трубе.

С разработкой пункции фолликулов под контролем ультразвукового сканирования яичников и переходом большинства клиник на получение преовуляторных ооцитов в программе ЭКО не лапароскопическим, а влагалищным доступом, возможность осуществлять этот метод в амбулаторных условиях не появилась, поскольку если и можно было получать ооциты трансвагинальным доступом, то перенос гамет в трубы все равно требовал лапароскопического подхода. Положение изменилось после предложения R. Janson, J. Anderson и Lisse и соавт. переносить гаметы трансцервикально после катетеризации маточных труб со стороны полости матки (ретроградный перенос) [34, 35]. Сообщалось, что особенно эффективно применение ГИФТ у супружеских пар с идиопатическим фактором бесплодия.

А первый доклад о беременности после лапароскопического переноса зигот в маточные трубы (zygote intrafallopian transfer) представил П. Деврой в 1986 г. (рис. 4) [36]. В отличие от ГИФТ сущность ЗИФТ заключается в переносе в маточные трубы не гамет, а зигот, появившихся как следствие оплодотворения ооцитов *in vitro*. Основным морфологическим признаком зигот является наличие в яйцеклетке двух пронуклеусов, мужского и женского, поэтому ЗИФТ в отличие от ГИФТ позволяет микроскопически установить факт оплодотворения и имеет важное значение при выраженной олигоастеноспермии у мужа, неясном или иммунологическом бесплодии.

Рисунок 4. Поль Деврой и Андре Ван Стейртгхем



Следует отметить, что в настоящее время эти методы остаются в тени. Эффективность их применения в целом ниже, чем классического варианта ЭКО, однако требует большего опыта от специалиста-гинеколога.

Классический вариант ЭКО, предусматривающий использование ооцитов, извлеченных из собственных яичников женщины, не может быть применен при нефункционирующих яичниках или при их отсутствии. Еще одной модификацией метода ЭКО является программа донории ооцитов (Ovum donation). Донория ооцитов – программа, основанная на методе ЭКО ооцитов донора с последующим переносом эмбрионов в матку реципиентки. С ее использованием может быть оказана помощь в лечении бесплодия женщинам детородного возраста, находящимся в преждевременной менопаузе, пациенткам, страдающим различными видами дисгенезии гонад, синдромом резистентных яичников, подвергшимся по разным причинам хирургической, радиационной или медикаментозной кастрации, а также страдающим наследственными генетическими заболеваниями. В эту же группу могут быть включены женщины находящиеся и в естественной менопаузе. В 1986 г. группа ученых Z. Rozenwack, L. Veeck, H. Liu сообщили о наступлении первой беременности в результате применения метода ЭКО с использованием донорских ооцитов [37].



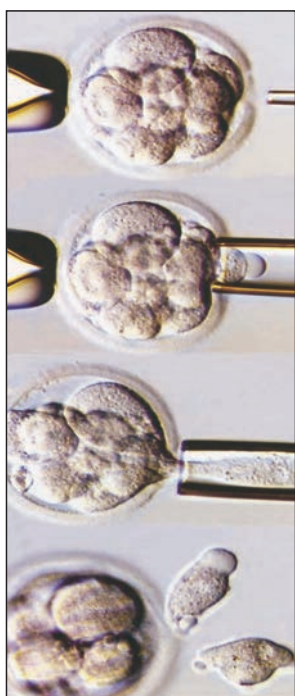
А в 1988 г. в Австралии в группе А. Trounson на свет появился первый младенец, рожденный от суррогатной матери с помощью ЭКО. Программа «суррогатного материнства» предусматривает перенос эмбрионов «генетических родителей» в матку другой женщины с целью вынашивания беременности. Этот метод вспомогательной репродукции позволяет иметь детей женщинам без матки и пациенткам с тяжелой соматической патологией, когда вынашивание беременности для них невозможно или противопоказано, но сохранена функция яичников.

Достижения эмбриологии и генетики

Рассказ о современных достижениях эмбриологии невозможен без упоминания ученого, стоящего у ее истоков. Карл Максимович Бэр - естествоиспытатель, основатель эмбриологии, один из учредителей Русского географического общества, академик Петербургской академии наук. Именно он открыл яйцеклетку у млекопитающих (собаки), описал стадию бластулы; изучил эмбриогенез. В 1827 г. впервые исправил неверные представления о том, что яйцеклеткой млекопитающих и человека является не весь граафов пузырек (фолликул), а находящийся в нем ооцит в составе кумулюсных клеток, выстилающих внутреннюю его поверхность.

Преимплантационная Генетическая Диагностика (ПГД). Техника биопсии бластомеров эмбриона (рис. 5) была впервые разработана на клетках мыши профессорами А. Trounson и L. Wilton в 1988 г. Доклад о биопсии эмбрионов человека и определении пола зародыша с последующим переносом его в полость матки состоялся в 1989 г. [38]. А в 1990 г. U. Verlinsky сделал сообщение о биопсии первого полярного тельца с последующим наступлением беременности [39].

Рисунок 5. Этапы биопсии 8-бластомерного эмбриона на 3 сут



В 1999 г. родился здоровый ребенок после ПГД у пациентки с серповидно-клеточной анемией. Рождение живого ребенка после биопсии бластоцисты и ПГД состоялось в 2002 г. [40].

Первая успешная беременность после ПГД и скрининга анеуплоидии эмбрионов, полученных после ЭКО в естественном цикле в сочетании с доразвиванием ооцитов in vitro (IVM), достигнута в McGill Reproductive Centre в 2006 г. [41].

Вспомогательный «хетчинг». Экспериментально было доказано, что в некоторых случаях блестящая оболочка (Zona Pellucida) ооцита может быть патологически плотной, что затрудняет последующее «вылупление» (hatching) эмбриона. В 1988 г. при помощи микроманипуляционной техники было проведено надсечение блестящей оболочки эмбриона механическим способом с последующим наступлением беременности. В 1989 г. состоялся первый доклад по возможному использованию лазерных технологий в области вспомогательной репродукции для гамет и эмбрионов, а в дальнейшем D. Palanker в 1991 г. описал технику применения лазера для вспомогательного «хетчинга» эмбриона [42].

Криоконсервация гамет и эмбрионов. Значительно расширили возможности ЭКО А. Trounson (рис. 6) и С. Kirby, впервые добившиеся успеха в замораживании эмбрионов и переносе в матку размороженных зародышей. Доктор Трунсон и соавт. в 1985 г. сообщили о рождении первого ребенка после процедуры замораживания - размораживания эмбриона [43, 44].

Рисунок 6. Алан Трунсон



В 1992 г. был выполнен перенос замороженных - размороженных эмбрионов, полученных при оплодотворении эпидидимальными сперматозоидами, в результате которого на свет появились два здоровых младенца. А рождение ребенка, последовавшее после витрификации (быстрая заморозка) яйцеклетки, размораживания и оплодотворения состоялось в 1999 г. [45].

Перспективы развития ЭКО

Одним из новых и перспективных разработок в рамках направления ВРТ является использование In Vitro Maturation (IVM). IVM представляет собой методику дозревания яйцеклеток вне организма женщины. При этом от пациентки получают незрелые гаметы и культивируют их необходимое время in vitro, после чего проводят процедуру оплодотворения, как и при классическом варианте ЭКО. Применение данной методики не требует использования медикаментозной стимуляции роста фолликулов либо используемая терапия минимальна. Данный метод, предположительно, позволит избежать синдрома гиперстимуляции. Более того, он может применяться в тех ситуациях, когда по соматическим показаниям проведение стимулирующей терапии невозможно. Первое сообщение о том, что применение IVM в нестимулированном цикле привело к беременности в программе донорских яйцеклеток, было сделано еще в 1991 г. К. Cha и соавт. [46].

Другим активно развивающимся направлением является разработка методов криоконсервации гамет. Эта процедура разрабатывается прежде всего для лиц с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, которые являются противопоказаниями как к наступлению беременности и родам, так и к проведению классического протокола ЭКО. Так, криоконсервация тканей гонад может дать надежду пациентам с онкологическими заболеваниями, которым предстоит оперативное или химиотерапевтическое лечение, стать в последующем родителями. Процедура криоконсервации неразрывно связана с развитием IVM. K. Oktay and G. Karlikaу были первыми, кто сообщил о пересадке тканей яичников после криоконсервации в 2000 г. [47]. А в 2004 г. J. Donnez сделал доклад о первом рождении ребенка беременности и родах после ортотопической трансплантации криоконсервированной ткани яичников [48]. Первый доклад о возможности сохранения фертильности у онкологических больных при использовании IVM и последующей витрификацией ооцитов был сделан G. Rao в 2004 г. [49].

В последние годы увеличивается количество публикаций и рекомендаций о необходимости использования щадящей терапии и минимальной стимуляции при проведении протоколов ЭКО, а также о достижении желаемого результата при использовании тактики «один эмбрион - одна беременность - один ребенок». Активно разрабатываются подходы к ведению пациенток с бедным овариальным резервом. В 2007 г. была сформулирована данная концепция стратегии лечения ЭКО - «Mild Treatment Strategy for IVF».

История ЭКО в России

Постепенно метод ЭКО стал привлекать к себе все больше внимания и интерес специалистов во всем мире. Какова же ситуация с разработкой метода ЭКО была в СССР? Опубликованные воспоминания Э.М. Китаева многое позволяют понять о зарождении репродуктологии и метода ЭКО в России [50]. Одним из первых организаторов и ученых, которые дали толчок к развитию эмбриологии и ЭКО был академик АМН М.А. Петров-Маслаков, директор Института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, который в начале 70-х годов предложил заняться проблемой культивирования вне организма половых клеток (яйцеклеток)

человека. Под его руководством и начала свою работу группа молодых ученых, в которую вошли А.И. Никитин и Э.М. Китаев.

Еще в 1934 г. ученые G. Pincus и E. Enzmann с использованием простых солевых сред и при поддержании соответствующей температуры наблюдали преобразования (созревание) яйцеклеток кроликов, называемых в то время «зародышевыми пузырьками». В 60-х годах Р.Эдвардс опубликовал свои первые работы по изучению и культивированию яйцеклеток человека. По воспоминаниям Э.М.Китаева, «повторить опыты Пинкуса и Энцмана оказалось не так просто... Дело, прежде всего, было в том, что специальной аппаратуры для культивирования клеток не было, и долгое время чашки с культурой ооцитов инкубировали в эксикаторе, который помещали в обычный термостат, в котором при температуре 37°C он находился двое суток».

В 1971 г. А.И. Никитин познакомился с Р. Эдвардсом, приехавшим в Сухуми на Международную акушерско-гинекологическую конференцию, что дало новый толчок к продолжению исследований. В 1974 г. были опубликованы первые в СССР результаты изучения характера и динамики созревания вне организма так называемых фолликулярных ооцитов. Длительное время не удавалось достичь оплодотворения полученных клеток вне организма женщины. Наконец, Эдвардс описал метод обработки («отмывки») спермы, и, в один из дней, после добавления к созревшим ооцитам «отмытых» от семенной плазмы сперматозоидов, А.И. Никитин к своему удивлению обнаружил два округлых образования, которые оказались женским и мужским пронуклеусами (рис. 7).

Рисунок 7. Пронуклеусы на 1 сут после ЭКО



В Москве первым учреждением, в котором успешно начали развивать метод лечения бесплодия при помощи ЭКО, стал Всесоюзный НИИ акушерства и гинекологии Минздрава СССР. Лабораторию, занимавшуюся разработкой данного направления с 1972 г., возглавил Б.В. Леонов при большой поддержке директора инсти-



тута, академика АМН Л.С. Персиянинова. Б.В.Леонов, будучи наделенным огромной созидательной энергией и даром убеждения, сумел создать и развить целое направление в медицинской науке страны.

В СССР в 1983 - 1984 гг. практически одновременно метод ЭКО стал применяться для лечения бесплодия в 4 лечебных учреждениях: во Всесоюзном НИИ акушерства и гинекологии Минздрава СССР (Москва), Институте акушерства и гинекологии АМН СССР им. Д.О. Отта (Ленинград), на кафедре акушерства и гинекологии 2-го Московского медицинского института и аналогичной кафедре Харьковского медицинского института. Первый ребенок (девочка), зачатый с помощью ЭКО в России (СССР), появился на свет в феврале 1986 г. в лаборатории Б.В.Леонова. Через полгода в лаборатории А.И.Никитина в том же 1986 г. родился мальчик.

В настоящее время в мире родились более 5 млн детей после применения метода ЭКО. В России насчитывается более 100 центров, проводящих процедуру ЭКО. Большая часть из них сосредоточена в Москве и Санкт-Петербурге.

Весной 2009 г. в ФГУ Эндокринологический научный центр МЗ РФ России, возглавляемом академиком РАН и РАМН И.И. Дедовым, открыло свои двери для пациентов с бесплодием новое подразделение - отдел ВРТ. Необходимость создания такого отделения была вызвана, с одной стороны, значимым вкладом эндокринного фактора в структуру бесплодия как у мужчин, так и у женщин, с другой - теми особыми возможностями и огромным опытом специалистов Эндокринологического центра по ведению пациентов с сопутствующей эндокринной патологией в программах ЭКО и во время беременности. Менее чем за 2 года работы отдела были проконсультированы более 1500 пациентов с проблемами бесплодия. В отделе ВРТ наблюдаются и проходят лечение методом ЭКО пациенты с заболеваниями щитовидной железы, гипоталамо-гипофизарной системы, сахарным диабетом.

Стратегическим направлением работы отделения ВРТ является создание оптимальных алгоритмов репродуктивной реабилитации пациентов с эндокринопатиями. Только совместная работа врачей репродуктологов и эндокринологов может обеспечить компенсацию основного эндокринного заболевания у таких пациентов как до начала применения методов ВРТ, так и во время индуцированной беременности. Это также позволит оценить все многообразие особенностей метаболизма и продукции гормонов в условиях экзогенного

введения высоких доз гонадотропинов и вызванных ими изменений пиков секреции эстрадиола с учетом отклонения от физиологических норм функционирования эндокринной системы. Кроме того, во время проведения лечения бесплодия методами ВРТ, даже у здоровых женщин имеются существенные колебания уровней гормонов, ключевых для эмбриогенеза, таких как ТТГ, СТГ, кортизол, пролактин, что создает определенные сложности в интерпретации этих показателей. А имеющиеся данные о влиянии супрафизиологических доз гонадотропинов на скрытые формы тиреопатий, пограничные варианты гиперпролактинемии недостаточны. В последнее время возросло число супружеских пар, имеющих сочетанные формы бесплодия, обусловленные трубно-перитонеальным, эндокринным, иммунологическим, мужским и другими факторами. Ведение таких пациентов требует дальнейшего внедрения и развития методов ВРТ в условиях Эндокринологического центра.

В этом юбилейном номере хотелось бы пожелать удачи и благополучия настоящим и будущим пациентам, и здоровья всем деткам, которые уже появились на свет в результате лечения методом ЭКО в нашем отделении.

Прошло более 30 лет после рождения первого ребенка, зачатого при помощи ЭКО, и R. Edwards - великий ученый, стоявший у истоков этого метода, был удостоен Нобелевской премии в области физиологии и медицины с формулировкой «за разработку технологии искусственного оплодотворения». По версии «Daily Telegraph» в 2007 г. Роберт Эдвардс занял 26-е место в списке 100 величайших ныне живущих гениев. К сожалению, его друг и коллега, акушер-гинеколог Патрик Стептоу скончался в 1988 г., не дожив до этого знаменательного события.

Но история ЭКО на этом не заканчивается. Безусловно, в столь коротком обзоре мы не смогли упомянуть всех врачей, эмбриологов, ученых, в той или иной степени прикоснувшихся к разработкам методов ЭКО, лекарственных препаратов, сред для культивирования гамет и эмбрионов, инструментов и материалов. Впереди у нас еще много интересных открытий.

И, как сказал Р. Роллан, «Человечество может все. Изумительное развитие науки в течение одного века и еще более изумительные и быстрые успехи ее за последнее двадцатилетие благодаря неслыханным открытиям, преобразовавшим важнейшие наши представления о мире, - это триумфальное шествие человеческого ума открывает человеческой деятельности безграничные просторы».

Литература

1. Heape W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova with in a uterine foster-mother. Proc R Soc 1891; 48: 457-458.
2. Hammod JJ. Culture of mouse embryo using an egg. Nature- 1949; 16:28-30.
3. Fekete E, Little C. Observation on the mammary tumor incidence in mice born from transferred ova. Cancer Res 1942; 2: 525 - 530.
4. Warwick BL, Berry RO. Intergenetic and intraspecific embryo transfers. J Hered 1949; 40: 297-303.
5. Umbaugh RE. Superovulation and ovum transfer in cattle. Am J Vet Res 1949; 10: 295-305.
6. Pincus G. Observation on the rabbit. Proc R Soc (Biol) 1930; 107: 132-132.
7. Pincus G, Enzmann EV. Can mammalian eggs undergo normal development in vitro? Proc Nat Acad Sci USA 1934; 20: 121-124.
8. Rock J, Menkin MF. In vitro fertilization and cleavage of human ovarian eggs. Science 1944; 100: 105-107.

9. Красовская О.В. Оплодотворение яйца кролика in vitro. Арх. анат., гистол. 1934; 13(2): 327-342.
10. Красовская О. В. Трансплантация яйца кролика в матку другого животного. // Архив анат., гистол. - 1936. - Т.15, N2. - P.135-145.
11. Chang MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. Nature 1959; 184: 466-467.
12. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after reimplantation of a human embryo. Lancet 1978; 1: 366-336.
13. Steptoe PC, Edwards RG. Preimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. Lancet 1976; 3: 880-882.
14. In vitro fertilization pregnancies Australia and New Zealand 1979-1985. National Perinatal Statistics Unit. Fertility Society of Australia; Sydney, 1987.
15. Lunenfeld B, Rabau E, Pardavid N et al. HMG: indications, technics, results in women. Minerva Ginecol 1967; 19(10): 502-507.
16. Lunenfeld B. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. Hum Reprod Update - 2004; 10(6): 453-467.
17. Lynn JG, Zwemer RL, Chick AJ et al. A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology. J Gen Physiol 1942; 26(2): 179-193.
18. Cohen J, Debache C, Pez JP, Junca AM et al. Transvaginal sonographically controlled ovarian puncture for oocyte retrieval for in vitro fertilization. J In Vitro Fert Embryo Transf 1986; 3(5): 309-313.
19. Steptoe PC, Edwards RG. Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming the ovaries with gonadotropins. Lancet 1970; 1: 683-685.
20. Lopata A, Jonston W, Leeton J et al. Collection of human oocytes at laparoscopy and laparotomy. Fertil Steril 1974; 25: 1030-1038.
21. Lenz S, Lauritsen JS, Kjellow M. Collection of human oocytes for in vitro fertilization by ultrasonically guided follicular puncture. Lancet 1981; 1(8230): 1163-1164.
22. Seifer DB, Collins RL, Paushter DM et al. Follicular aspiration: a comparison of an ultrasonic endovaginal transducer with fixed needle guide and other retrieval methods. Fertil Steril 1988; 49(3): 462-467.
23. Gleicher N, Friberg J, Fullan N et al. EGG retrieval for in vitro fertilisation by sonographically controlled vaginal culdocentesis. Lancet 1983; 2(8348): 508-509.
24. Wikland M, Enk L, Hamberger L. Transvesical and transvaginal approaches for the aspiration of follicles by use of ultrasound. Ann NY Acad Sci 1985; 442: 182-194.
25. Sakkas D, Diotallevi L, Ferraretti A et al. Preliminary results on the comparison of sperm microinjection and partial zona dissection as a treatment of male factor infertility: The 7th World Congress on IVF ESHRE. Hum Repod 1991; Suppl: 88-88.
26. Ng SC, Bongso A, Ratnam SS et al. Pregnancy after transfer of sperm under the zona. Lancet 1988; 2 (8614): 790-790.
27. Palermo G, Joris H, Derde MP et al. Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1993; 59(4): 826-835.
28. Silber S, Balmaceda J, Borrero C et al. Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens. Fertil. Steril. 1988; 50(3): 525-528.
29. Palermo G, Joris H, Devroe P et al. Pregnancy after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. Lancet 1992; 340(8810): 17-18.
30. Hovatta O, Moilanen J, Von Smitten K et al. Testicular needle biopsy, open biopsy, epididymal aspiration and intracytoplasmic sperm injection in obstructive azoospermia. Hum Reprod 1995; 10: 2595-2599.
31. Reubinoff BE, Abeliovich D, Werner M et al. A birth in non-mosaic Klinefelter's syndrome after testicular fine needle aspiration, intracytoplasmic sperm injection and preimplantation genetic diagnosis. Hum Reprod 1998; 13(7): 1887-1892.
32. Lopes S, Sun JG, Jurisicova A, Meriano J, Casper RF. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1998; 69 (3): 528-532.
33. Asch RH, Balmaceda JP, Ellsworth LR et al. Gamete intrafallopian transfer (GIFT): A new treatment for infertility. Int J Fertil 1985; 30(1): 41-45.
34. Jansen R, Anderson JC. Catheterization of the fallopian tubes from vagina. // Lancet 1987; 2 (8554): 309-310.
35. Kretzer D, Dennis P, Hudson B. Transfer of human zygote. Lancet 1983; 2: 728-730.
36. Devroey P, Braeckmans P, Smitz J et al. Pregnancy after translaparoscopic zygote intrafallopian transfer in a patient with sperm antibodies. Lancet 1986; 1(8493): 1329 - 1329.
37. Rozenwack Z, Veeck L, Liu HC. Pregnancy following transfer of in vitro fertilized donated oocytes. Fertil Steril 1986; 45(3): 417-420.
38. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K et al. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. Nature 1990; 344(6268): 768-770.
39. Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A. et al. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. Hum Reprod 1990; 5(7): 826-829.
40. De Boer K, McArthur S, Murray C and Jansen R. First live birth following blastocyst biopsy and PGD analysis. Reprod Biomed Online 2002; 4: 35.
41. Ao A, Jin S, Rao D et al. First successful pregnancy outcome after preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in embryos generated from natural-cycle in vitro fertilization combined with an in vitro maturation procedure. Fertil Steril 2006; 85(5): 1509-1511.
42. Palanker D, Ohad S, Lewis A et al. Technique for cellular microsurgery using the 193-nm excimer laser. Lasers Surg Med 1991; (6): 580-586.
43. Dowling BG, Mohr LR, Trounson AO et al. Birth after transfer of cryopreserved embryos. Med J Aust 1985; 142(7): 409 - 411.
44. Trounson A, Peura A, Kirby C. Ultrarapid freezing: a new low cost and effective method of embryo cryopreservation. Fertil Steril 1987; 48: 843-846.
45. Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C et al. Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report. Hum Reprod 1999; 14(12): 3077-3079.
46. Cha KY, Koo JJ, Ko JJ. Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. Fertil Steril 1991; 55(1): 109-113.



47. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. N Engl J Med 2000; 342(25): 1919.

48. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. Lancet 2004; 364 (9443): 1405-1410.

49. Rao GD, Chian RC, Son WS et al. Fertility preservation in women undergoing cancer treatment. Lancet 2004; 363(9423): 1829-1830.

50. Аншина М. Б. Из истории ЭКО в России. Пробл. репрод. 2002; 4:12-17

Поступила 14.01.2011.

Сведения об авторах:

1. И.И.Витязева - к.м.н., врач акушер-гинеколог, эндокринолог, зав. отделением ВРТ ФГУ Эндокринологический научный центр МЗ РФ.
E-mail: vitiazeva@yandex.ru
2. И.И.Бармина - к.м.н., с.н.с. отделения ВРТ ФГУ Эндокринологический научный центр МЗ РФ.
E-mail: barm-i@mail.ru
3. Мельниченко Г.А. - д.м.н., профессор кафедры эндокринологии лечебного факультета 1-го МГМУ им. И.М. Сеченова, член-корр. РАМН, директор Института клинической эндокринологии ФГУ Эндокринологический научный центр МЗ РФ.
E-mail: teofrast2000@mail.ru