

ד"ר אייבי לוין וד"ר ענת ספרן

הפרייה חוץ-גופית - תשנ"ה (1995)

- א. הפרייה חוץ-גופית - רקע היסטורי
- ב. אוכלוסית היעד של הפרייה חוץ-גופית
 1. עקרות מכנית
 2. עקרות הגבר
 3. אנדומטריוזיס
 4. עקרות אימונולוגית
 5. עקרות בלתי מוסברת
 6. תרומת ביציות
 7. פונדקאות
- ג. קבלת המטופלים להפרייה חוץ-גופית
- ד. גירוי השחלות להתפתחות זקיקים
 1. תרופות להשראת ביוץ
 2. גרימת ביוץ
 3. בחירת גורמי הביוץ
 4. תואמי GnRH למניעת ביוץ מוקדם
 5. גירוי יתר שחלתי
- ה. תפקיד האולטרהסאונד בהפרייה חוץ-גופית
- ו. שאיבת ביציות להפרייה חוץ-גופית
 1. שאיבה באמצעות לפרוסקופ
 2. שאיבה בהנחית אולטרהסאונד
 3. בחירת הגישה לשאיבת ביציות
- ז. שיטות מעבדה בהפרייה חוץ-גופית
 1. הטיפול בביציות
 2. הכנת הזרע
 3. תהליך ההזרעה
 4. תהליך ההפרייה והתפתחות העובר
 5. מיקרומניפולציה לטיפול בביציות ובעוברים
- ח. שיטות מיקרומניפולציה לשיפור כושר ההפרייה של הזרע
 1. חירור המעטפת
 2. פתיחה מכנית של המעטפת השקופה
 3. הזרקת זרע מתחת למעטפת השקופה
 4. הזרקה לציטופלסמה
- ט. טיפול מיקרומניפולציה בעוברים
 1. פתיחת פתח במעטפת השקופה להחשת תהליך ההנצה
 2. דגימת תאים לאבחון גנטי
- י. החזרת עוברים לרחם
 1. עיתוי ושיטות החזרה לרחם
 2. תמיכה הורמונלית לאחר החזרת העוברים
 3. החזרה לחצוצרות
 4. הכנת הרחם לתרומת ביציות
- יא. הקפאת עוברים וביציות
 1. שיטות הקפאה והפשרה
 2. הערכת תוצאות ההקפאה/הפשרה
 3. החזרת מוקפאים
- יב. הריון
- יג. סיכום

א. הפריה חוץ-גופית - רקע היסטורי*

לידתה של התינוקת הראשונה שנוצרה מחוץ לגוף האדם בשנת 1978 גרמה לרעידת אדמה מחשבתית בכל הנוגע לפוריות האדם. אין הרבה תקדימים לפריצת דרך יחודית כל-כך המשפיעה באופן רחב היקף וכלל עולמי על המחקר והטיפול בפוריות וגנטיקת האדם בהווה וכלל הנראה עוד יותר בעתיד, אם לשפוט מההתקדמות העצומה שחלה בנושא עם פיתוח שיטות המיקרומניפולציה של ביציות ועוברים ויישום טכניקות הביולוגיה המולקולרית במסגרת ההפריה החוץ-גופית. רבות מהטכניקות בשמוש באדם פותחו ויושמו במחקר בבעלי חיים, כבר ב-1878 נעשו הנסיונות הראשונים בהפריה חוץ-גופית של ביציות יונקים. בהמשך הצליחו בשנת 1890 להוציא ביציות ארנבת ולהעבירן לארנבת אחרת. בשנת 1891 הראה חוקר בשם דרייש שניתן להפריד שני תאי קיפוד-ים ולקבל התפתחות של שני עוברים נורמלים. מחקרו היה בסיס לטכניקת הביופסיה מהעובר המשמשת כיום לאבחון טרום-השרשתי של מין העובר ומחלות תורשתיות. מצע התרבות הראשון בו השתמשו בסוף המאה ה-19 היה תמיסה פיזיולוגית (סליין), אך בתחילת המאה ה-20, עם התרחבות הבנת צרכי הגדילה של התאים בתרבות, נעשה שמוש בנסיוב מחבל טבור ותוספות חלבון, בדומה לנוזלי התרבות המשופרים של היום. כבר ב-1893 טען חוקר בשם הונאנוף להצלחה בהפריה חוץ-גופית ביונקים, אך המחקרים המבוססים הראשונים בהם הוכחה הפריה חוץ-גופית ובעקבותיה לידה ביונקים ובהם גם נקבעו שלבי הבשלת הביציות, ההפריה והחלוקה, נעשו בשנים 1930-1936 והניחו את היסוד לתחילת חקר ההפריה של ביציות אדם. בשנים 1946-1948 הצליחו להשיג הפריה חוץ-גופית וחלוקה של עוברי אדם. בתחילת שנות החמישים הוכר הצורך שעל תאי הזרע לעבור הכשרה המעניקה להם את היכולת להפרות הביצית מהווה תנאי הכרחי לפני הפריה חוץ-גופית. בהמשך הוכרו שלבי הבשלת הביצית ההכרחיים להפריה, ובסוף שנות החמישים בוצע תהליך מושלם של הפריה חוץ-גופית בארנבת. בשנות השישים התרכז המחקר במטבוליזם וצרכי האנרגיה של עוברים בתרבות ופותחה טכניקת טיפת מדיום תחת שמן פרפין המשמשת עד היום. טכניקת הקפאת עוברים פותחה גם היא בשנות החמישים ושוכללה בשנות השבעים. בשנת 1969 פירסמו אדוארדס וחב' בקימברידג'

* הפריה חוץ-גופית מהווה דוגמא לקשר אמיץ בין התפתחות טכנולוגית מרשימה בתחום הפוריות לבין עולם ההלכה והפוסקים.

עד היום נשאלות שאלות הלכתיות הנוגעות להפריה חוץ-גופית ולטיפולים הרפואיים הכרוכים בה, אשר המידע הרפואי חיוני להכרעה ההלכתית. מאמרם של ד"ר א' לוי וד"ר ע' ספרן מהווה תרומה חשובה להצגת הנתונים המדעיים המעודכנים. - העורך.

את מחקרם על יישום הידע המעבדתי בכל הקשור להבשלת ביציות, הכשרת הזרע ומדיום התרבית להפריה חוץ-גופית של ביציות אדם שהביאו, כמעט עשור מאוחר יותר, ללידה הראשונה מהפריה חוץ-גופית.

ב. אוכלוסית היעד של הפריה חוץ-גופית

זו מתחלקת לשתי אוכלוסיות עיקריות: אחת מורכבת ממקרים בהם הפריה חוץ-גופית מהווה טיפול יחודי וסופי בהעדר כל דרך אחרת להרות, כמו נשים עם חסימה חצוצרתית או הדבקויות קשות בהן שאיבת הביציות היא האמצעי היחיד להפגיש אותן עם הזרע, או גברים הסובלים מחוסר מולד של צינורית הזרע ורק שאיבת הזרע מתוך יותרת האשך מאפשרת להזריע את ביציות האשה. האוכלוסיה השניה המהווה היום את רוב המקרים מורכבת ממכלול של כמעט כל בעיות הפוריות, אשר כעקרון קיים סיכוי להרות בהן גם ללא הפריה חוץ-גופית. אלה כוללים הדבקויות סביב החצוצרות והשחלות, חסימה חלקית של חצוצרה או חצוצרות, פגיעה בתפקוד החצוצרה עקב פגיעה בשרירי החצוצרה או שכבת תאי הציפוי הפנימי המשתתפים בתהליך ההפריה, מיעוט זרע, נוכחות נוגדנים נגד הזרע באשה, אנדומטריוזיס ועקרות לא מוסברת. מקרים אלה מופנים לנסיון הפריה חוץ-גופית כאל שיטת טיפול נוספת ולא בהכרח סופית לפתרון הבעיה, עקב התארכות תקופת הנסיון להרות ללא הצלחה. במקביל משמשת הפריה חוץ-גופית גם לברור תקינות ההפריה מצד הביציות והזרע ובכך מהווה מבחן אבחנתי בלעדי. עם זאת מסתמנת מגמה של קיצור תהליכים בכל הקשור לטיפול בבעיות הפוריות, בעיקר עקב זמינות הטכניקה של הפריה חוץ-גופית ברוב המרכזים הרפואיים, עם הפניה להפריה חוץ-גופית כטיפול ראשוני במקרים מסוימים. אין ספק שהצלחתה של ההפריה החוץ-גופית סוחפת אחריה שמוש להתוויות נוספות, כאשר העקרון המנחה אינו בהכרח ההצלחה הסופית אלא הקלות היחסית של התהליך כמו למשל בהעדפת הפריה חוץ-גופית על פני נתוח משקם של החצוצרות בחלק ממקרי העקרות המכנית.

1. עקרות מכנית

אי-פוריות על רקע מכני, חסימת חצוצרות, אובחנה לראשונה ב-1849. בעקבות אבחנה זו נעשו, כבר אז, נסיונות לצינתור החצוצרות שנונחו לטובת הכירורגיה ורק לאחר למעלה ממאה שנה חזרו למרכז הבמה. כרבע ממקרי העקרות נגרמים ע"י בעיה מכנית חצוצרתית או אגנית. קיימים מספר גורמים לבעיה המכנית ואלו כוללים תהליכים דלקתיים או ניתוחים באגן, אנדומטריוזיס ונזק מהריון חצוצרתי בעבר. ברור והערכה של הבעיה

המכנית דורשים בדיקות חודרניות שונות. צילום רחם מאפשר הערכה ראשונית של מצב תעלת הצוואר, חלל הרחם, המעבר דרך החצוצרות ופיזור חומר הניגוד באגן. היסטרוסקופיה (הסתכלות לרחם) מאפשרת הסתכלות ישירה באמצעות סיבים אופטיים לתוך תעלת הצוואר וחלל הרחם ובנוסף לאבחנה גם טיפול מיידי ברוב הממצאים כמו הדבקויות תוך רחמיות ופוליפים. פאלופוסקופיה (הסתכלות לחצוצרה) נעזרת בטכניקת הסיבים האופטיים להערכת פנים החצוצרות עם אבחון פגמים חלקיים שהצילום אינו מאבחן, והערכה נוספת של מצבן התפקודי בשאלת כדאיות ניתוח משקם במקרי חסימה. לפרוסקופיה (הסתכלות לחלל הבטן) בוחנת את אברי האגן והבטן בעיקר להערכת חומרת ההדבקויות סביב החצוצרות והשחלות ומצב החצוצרות, עם יכולת לתיקון מיידי של הליקוי במקרים המתאימים. ישנם מקרים בהם הפגיעה החצוצרתית היא קשה, עם חסימה בחלק הקרוב לרחם (פרוקסימלי) אשר לא נפתחה בצנתור, או חסימה בחלק החיצוני (דיסטלי) עם דופן מעובה ופיברוטי או הצטברות נוזל בחצוצרות והדבקויות קשות סביבן, וכן במקרים שעברו כבר כירורגיה משקמת בעבר עם התחדשות הסתימה או ההדבקויות, ואותם עדיף להפנות מייד להפריה חוץ-גופית עקב סיכויי הצלחה נמוכים בגישה הכירורגית (5%-30%).

במקרים מכניים קלים יותר ובמקרי אנדומטריוזיס (בהם שעור ההצלחה בהפריה חוץ-גופית הוא יחסית גבוה ודומה לזה של עקרות מכנית), קיימות שתי אפשרויות טיפול המשכי לאחר שטיפול תרופתי להגברת הביוץ לא עזר: ניתן לתקן, בחלק מהמקרים, את הליקוי בגישה לפרוסקופית או לנסות מספר טיפולי הפריה חוץ-גופית ולשמור את האופציה של ניתוח משקם למקרה אי-הצלחה. לעתים יעדיף המטפל לנתח תחילה, כיוון שהצלחה ניתוחית יכולה לשמש למספר הריונות, בעוד שעל ההפריה החוץ-גופית יש לחזור עבור כל הריון, אך כאן יש לבחור בקפדנות את המקרים המתאימים. דוגמאות לבעיות מכניות הניתנות לפתרון כירורגי קל יחסית הן בעית ההדבקויות באגן והיצרות פתח החצוצרה לחלל הבטן. במקרי הדבקויות, נוכחותן עשויה למנוע חריגת הביציות מהשחלות וקליטתן ע"י החצוצרות. בדומה, היצרות פתח החצוצרה מפריעה לאיסוף הביצית. הפרדת ההדבקויות סביב השחלות או החצוצרות, במקרים בהם החצוצרות פתוחות ומראה קצוות החצוצרות תקין, ו-"שרוול" פתח החצוצרה להרחבתה במקרי היצרות באמצעות ניתוח מיקרוכירורגי ובמקרים רבים אף בלפרוסקופיה בלבד, מביאה תכופות לשקום טוב של האנטומיה התפקודית שלהן. באוכלוסיה זו שיעור הצלחת הטיפול הכירורגי בעקרות והשגת הריון תוך-רחמי הוא הגבוה ביותר (50%-60%). מטופלות

מבוגרות וכאלה שהטיפול הכירורגי לא הביא להריון בתוך כשנה מומלץ להפנות להפריה חוץ-גופית.

2. עקרות הגבר

ההפריה החוץ-גופית שפותחה במקור לטיפול העקרות מכנית משמשת יותר ויותר לטיפול בבעיית עקרות הגבר. כמות הזרע הדרושה להפריה החוץ-גופית נמוכה עשרות מונים מזו הדרושה להפריה טבעית, בה אובדים זרעונים רבים בדרך מהנרתיק למפגש עם הביצית בחצוצרה. לכן גם נקבעו נורמות לתקינות זרע הדורשות כמות כוללת של לפחות 50 מיליון זרעונים בזרמה, מהם 20 מיליון בתנועה ועשרים מיליון בעלי מבנה תקין. גם השימוש בהשבחת הזרע (אשר כוללת העברתו בסירכוז [צנטריפוגציה] דרך תמיסות המנקות אותו מנוזל הזרע, מזרעונים כושלים וכדוריות לבנות והמאפשרת הזרקתו הישירה לרחם או לחצוצרה ואף לאגן), לא נתן מענה לאוכלוסיה נרחבת של גברים עם בעיית פוריות. מול אלה דרושים, למעשה, רק 50 - 100 אלף זרעונים נעים לביצית בהפריה חוץ-גופית רגילה, ובשיטות המיקרומניפולציה בהן מוזרק הזרע אל מתחת למעטפת הביצית או לתוך הציטופלסמה של הביצית ניתן להשיג הפירות במקרים קשים של עקרות הגבר; בהם קיים מיעוט קיצוני של זרעונים (לעיתים ניתן להשיג הפריה עם זרעון בודד); במקרים עם מיעוט תנועה ולעיתים העדר תנועה מוחלט; במקרים של ריכוז צורות פתולוגיות של הזרעונים, אך גם במקרים בהם מדדי ספירת הזרע תקינים אך לא משיגים הפריה גם בתנאי הפריה חוץ-גופית עקב ליקוי אנזימטי או אחר בזרעונים או ליקוי בביציות. מול ההצלחה היחסית בשימוש בהפריה חוץ-גופית בעקרות הגבר ניצב הכשלון הגדול של רוב שיטות הטיפול, התרופתיות והכירורגיות. למעשה טיפול תרופתי בגבר, כמו שימוש בגונדוטרופינים מוצדק כיום רק במקרים של חוסר הפרשת גונדוטרופינים ולא הוכיח יעילות ברוב המכריע של המקרים בהם רמות הגונדוטרופינים תקינות.

טיפול כירורגי מוצדק כאשר מאובחנת בעיה בהחזר הווריד מהאשך, אם במישוש וריד מורחב ואם באמצעי הדמיה כמו דופלר או צילום עם חומר ניגוד. גם אז ניתן לשפר את מצב הזרע רק בחלק מהמקרים, והשיפור עשוי להדחות כדי 12-18 חודשים. במסגרת הערכת כושר הפוריות של הגבר והצורך בהפריה חוץ-גופית לפתרון הבעיה נבדקים מספר מדדים. המדד הבסיסי הוא כמובן ההערכה המספרית של הזרע כפי שצויין לעיל. זרע בריכוז ותנועתיות נמוכים עם שיעור פגמים מורפולוגיים גבוה יתקשה להגיע לביצית בחצוצרה ולהפרותה, ולכן סיכויי ההריון בקיום יחסים רגיל ואף בהזרקת זרע לרחם קטנים. לעתים נוהגים לתת תרופות להגברת הביוץ

לאשה כדי להגביר את סיכויי ההפריה. במקרה כשלון יש מקום להפריה חוץ-גופית בגלל מספר הזרעונים התקינים הנמוך הדרוש להצלחת ההפריה. במקרים אלה אין הצדקה להמתין מעבר ל- 3-6 מחזורים לפני ההפניה להפריה חוץ-גופית.

קיימות גם שיטות איבחון היכולות לאתר ליקויים במפגש בין הזרע והביצית כמו מבחן התנפחות הזרעונים (Swelling Test) ומבחן ההתקשרות בין הזרע למעטפת השקופה של ביצית במעבדה (Hemizona Test). העדר התקשרות מחשיד לבעיה בטיב הזרע או נוכחות נוגדנים נגדו. תוצאה בלתי תקינה במבחן זה המעידה על סיכוי הפריה נמוך יכולה לכוון לבצוע הפריה חוץ-גופית עם הזרקת זרע לתוך הביצית. מבחן אחר הוא מבחן חדירת הזרע לביציות אוגרת (מבחן אוגר). במבחן זה מודגר זרע הגבר הנכדק עם ביציות אוגרת שעברו קילוף כימי של המעטפת השקופה (המונעת בכל סוגי הביציות חדירת זרע של מין אחר). מעל 20% חדירה מהווה ברוב המעבדות תוצאה תקינה. שיעור חדירה נמוך של הזרע לביציות עשוי להגרם עקב ריכוז נמוך של הזרע גם במקרים של זרע פורה, אך אם ספירת הזרע תקינה יש לתוצאה בלתי תקינה במבחן האוגר משמעות חיזוי שלילי של מעל 80% לגבי סיכויי ההפריה של ביציות האשה.

3. אנדומטריוזיס

במחלה זו ניתן למצוא קטעים של רירית רחם הצומחים מחוץ לרחם במקומות כמו קירות האגן, על-פני הרחם, החצוצרות, הנרתיק, צוואר הרחם, על פני השחלות ואף בתוך השחלות עם יצירת ציסטות אופייניות המכילות דם ישן ומכונות "ציסטות שוקולד". אפיינית למחלה היא תלונה של כאבים קשים באגן סביב הוסת ובעת קיום יחסים. תלונות אלה מקורן באירועי דם מחזורי ממוקדי המחלה באגן הגורמים לגירוי צפקי, וכן מגירוי מקומי של חדירת המוקדים לקרום הצפק והרקמות תחתיו. במקרים רבים גורמת האנדומטריוזיס לבעיה מכנית עם יצירת הדבקויות באגן, סביב הרחם, השחלות או החצוצרות, עם הפרעה למנגנון חריגת הביצית וקליטתה ע"י החצוצרה בביוץ. בעיה נוספת שנצפתה בחולות אלו היא הפרעה במנגנון המפקח על הביוץ וירידה בכושר ההפריה של הביציות. אבחנת אנדומטריוזיס נעשית לאחר הדגמת מוקדי המחלה באגן בעת לפרוסקופיה או ניתוח וכן בשאיבת תוכן "שוקולד" מציסטה שחלתית, או הדמייתה באולטרהסאונד. הטיפול היסודי במחלה הוא כירורגי, תכופות באמצעות לפרוסקופיה תוך סילוק מוקדי האנדומטריוזיס ע"י לייזר, צריבה או כריתה. במקרים קלים יותר ניתן לנסות טיפול תרופתי הניתן למשך מספר חדשים ומבוסס על דיכוי המערכת ההורמונלית המפקחת על הביוץ ומונע את

השינויים המחזוריים של רירית הרחם וההתקפים החדשיים של המחלה. קיימת סתירה בין הטיפול התרופתי באנדומטריוזיס לבין טיפולי גרימת ביוץ, ולא ניתן לשלבם בעת ובעונה אחת. מקובל לכן, במידה והוחלט על טיפול תרופתי, לתיתו מייד לפני טיפול הגברת הביוץ. במידה ולא מושג הריון תוך 3-6 מחזורי טיפול או כאשר דרגת ההדבקויות באגן חמורה, יש להפנות את הזוג להמשך טיפול בהפרייה חוץ-גופית. נימוק חשוב לכך שאין להשהות יתר על המידה את הטיפול בהפרייה חוץ-גופית הוא הפגיעה בשעור ההפרייה במקרים אלו. נמצא שנוזל שמקורו בחלל האגן של חולות אנדומטריוזיס יכול לעכב הפריית ביציות. על מנת להתגבר על הפרעה זו מקובל להשתמש במצע התרבית של הביציות בהפרייה חוץ-גופית כנסיוב אחר שאינו מכיל את גורמי ההפרעה להפרייה, ולא של המטופלת.

4. עקרות אימונולוגית

נוכחות נוגדנים נגד הזרע הוכחה זה מכבר כגורם לעקרות עם שכיחות של 8% בגברים ו-5% בנשים עם בעית פוריות. ניתן לחשוד בבעיה אימונולוגית כאשר הזרע אינו חודר את ריר הצואר בנוכחות ספירת זרע תקינה וצמיגות ריר תקינה, כאשר הזרע חודר לריר, אך אינו נע או שהוא מתנועע ללא התקדמות, וכאשר קיימת תופעת הצמדות הזרעונים בקבוצות בתוך הזירמה. עם זאת אבחון הבעיה לא תמיד קל מאחר והנוגדנים, גם אצל האשה וגם אצל הגבר, יכולים להופיע כנסיוב ובהפרשות התאים בדרכי המין או רק באחד מהם. לכן, שלילת נוכחות נוגדנים רק כנסיוב או רק בהפרשות דרכי המין עשויה להוביל לאבחון מוטעה בשעור של עד 35% מהמקרים. אצל הגבר נוכחות נוגדנים על-גבי הזרע היא ההוכחה הטובה ביותר לבעית פוריות על רקע אימונולוגי. קיימות מספר שיטות אבחון, למשל שיטת MAR ושיטת Immunobeads בהן נעשה שמוש בנוגדנים של ארנבת כנגד האימונוגלובולינים בזרע או נסיוב הגבר ובריר הצואר, הפרשות הנרתיק ונסיוב האשה. כאשר מאובחנת בעיה אימונולוגית קיימות מספר אופציות לטיפול. כאשר בעית הנוגדנים היא בזרע, ניתן לדכא את הפרשתם ע"י מתן טיפול סטרואידים ובצוע שטיפות חוזרות של הזרע (עם יעילות חלקית בלבד לסילוק הנוגדנים) לפני הזרקתו לצואר או לרחם. כאשר בעית הנוגדנים לזרע היא אצל האשה, הדרך הבטוחה ביותר להשגת הפרייה היא באמצעות הפרייה חוץ-גופית. שכן בהפרייה חוץ-גופית אין חשיפת המערכת החיסונית של האשה לזרע ולכן אין ריגוש נוסף. כאלטרנטיבה ניתן לשקול מתן טיפול ממושך בסטרואידים, שמוש בקונדום בתקופות שבין הביוצים ושיטות זרע.

5. עקרות בלתי מוסברת

כאשר כל הבדיקות שנעשו לזוג עם בעית פוריות לא העלו ממצא חולני ובכל זאת לא מושג הריון זו עקרות בלתי מוסברת. תופעה זו אינה נדירה וכוללת כ-14% מכלל המטופלים בבעית פוריות. הברור המקדים צריך לכלול כל גורם אפשרי ידוע ובכלל זה ברור הפרופיל ההורמונלי, טיב הביוץ, ריר הצואר והכנת רירית הרחם (ע"י ביופסיה במועד המתאים); ברור טיב הזרע ומבחני הערכת המפגש זרע-ביצית; ברור נוגדנים לזרע בשני בני הזוג; צלום רחם, היסטרוסקופיה, פאלופוסקופיה ולפרוסקופיה לשלילת בעיה מכנית רחמית-חצוצרתית. במקרים אלה הפריה חוץ-גופית אינה הבחירה הראשונה אלא האחרונה, כאשר לפני כן מוצעים טיפולים להגברת הביוץ בתרופות כמו גונדוטרופינים ואחרות, השבחת זרע והזרקת זרע לרחם סביב מועד הביוץ. לאחר 3-6 מחזורי טיפול ללא הריון יש מקום לשקול טיפול בהפריה חוץ-גופית המעניקה שעור הצלחה הדומה לזה של עקרות מכנית. במקרים אלה להפריה חוץ-גופית יש, בנוסף לערכה הטיפולי, גם ערך אבחנתי, וביכולתה לאבחן סיבה לעקרות שיכולה להיות על רקע בעיה בהתפתחות הביציות בזיקי השחלה, בעיה ביכולת הזרע לחדור לביצית ולהפרותה ובעיה ביכולת הביציות להיות מופרות ולהתפתח לעוברים תקינים. בחלק מהמקרים ניתן השמוש בטכניקות המיקרומניפולציה לקדם את פתרון הבעיה ע"י החדרת הזרע לביציות והפרייתן או פתיחת חריץ במעטפת העובר כדי להקל על הנצתו וקליטתו ברחם. כמו-כן ניתן לנסות שיטות שונות להשתלת ביציות ועוברים לחצוצרה ולרחם היכולות להגדיל את סכויי ההריון, וכן להציע תרומת ביציות במקרים שטיב הביציות אינו מאפשר הפריה תקינה.

6. תרומת ביציות

קיימים מקרים בהם אין האשה יכולה להרות מביצית שלה וזקוקה לתרומת ביציות. אלו כוללים העדר פעילות שחלתית על רקע חסר שחלות (מלידה או עקב כריתתן), או עקב בלות מוקדמת; מקרים עם מחלות תורשתיות וסיפור של הריונות ולידות כושלים בעבר; ביציות לא תקינות שלא הופרו בכל שיטות ההפריה שבשמוש. בניגוד לתרומת זרע אותה ניתן לתת באוננות, תרומת ביציות יכולה להנתן רק לאחר הכנה הורמונלית של השחלות ודיקור השחלות לשאיבת הביציות תחת אלחוש או הרדמה. עקב קשיים אלה הוגבל מתן תרומת ביציות לנשים העוברות הפריה חוץ-גופית עבור עצמן ומוכנות לותר על ביציות ולתרום אותן לטובת אשה אנונימית. עקב הקושי הרב בהשגת תרומת ביציות מול הביקוש הגדול נעשו נסיונות לספק ביציות ממקורות אחרים כמו שחלות שנכרתו לנשים ואף שחלות מהפללות. התוקף החוקי והאתי של נסיונות אלו עדיין לא ברור.

7. פונדקאות

המושג מתייחס לשימוש ברחמה של אשה אחת לצורך לידת תינוק שנוצר מביצית מופרית של אשה אחרת. אוכלוסית הנשים העשויות להזדקק לטיפול זה מורכבת מנשים שיש להן שחלות פעילות אך אין להן רחם או שרחמן אינו מסוגל לשאת הריון או שהאשה עצמה אינה במצב בריאותי המאפשר לה לשאת הריון. התהליך כולל שאיבת ביצית או ביציות משחלותיה של המטופלת, הפרייה בזרע בעלה והשתלתה ברחמה של אשה אחרת לאחר שעבר הכנה הורמונלית. התהליך כרוך בבעיות הלכתיות, אתיות ומשפטיות קשות ולכן אינו מותר בארץ. במקרים מיוחדים עשוי משרד הבריאות להתיר שאיבת הביציות והפרייה בארץ לצורך העברה (כעוברים מוקפאים) לארץ אחרת בה הפונדקאות מותרת.

ג. קבלת המטופלים להפרייה חוץ-גופית

זוג עם בעית פוריות המופנה למרפאת הפרייה חוץ-גופית מתבקש להגיע עם כל התיעוד של עברו הרפואי בכלל ובעית הפוריות בפרט. הצוות הקולט את הזוג מחוייב להעריך את ההתוויות וההצדקה לטיפול, את יכולת המעבדה לענות על צרכים יחודיים של אותו זוג, לדוגמה: לא בכל מקום ניתן להשתמש בזרע או ביצית מתרומה ולא בכל מקום מבצעים מיקרומניפולציה להחדרת הזרע לביצית. השלב הבא כולל הסבר על מהות הטיפול, יתרונותיו וחסרונותיו לגבי הזוג המתקבל, הסבר על מהלך הטיפול ומטרות השלבים השונים, הסבר על הסיכונים הכרוכים בטיפול, כמו גירוי יתר שחלתי וסיכוני ההרדמה, הסבר על סיכויי ההפרייה, ההריון והקפאת עוברים במקרה הצורך, ועל סבוכי ההריון האפשריים. לאחר שבני הזוג הבינו את משמעות הטיפול הם מתבקשים לחתום על טפסי הסכמה.

ד. גירוי השחלות להתפתחות זקיקים

בתחילה בוצעה ההפרייה החוץ-גופית במחזור טבעי וגם הלידה הראשונה הושגה במחזור כזה. ע"מ להגיע לשאיבת ביציות בשלות במחזור הטבעי, נדרש ניטור אינטנסיבי ביותר לקראת הביוץ (כל 3-4 שעות) כדי לאתר את תחילת העליה של הורמון הביוץ LH. כמו כן היה צורך לבצע שאיבת ביציות בכל שעות היממה לפי מועד עלית ה-LH. גם מספר הביציות המושג בדרך זו הוא קטן, ולכן כמות העוברים המוחזרת לרחם קטנה עם שעור הריונות נמוך. אף כי במשך השנים היו נסיונות רבים, חלקם מוצלחים, להפרייה במחזורים טבעיים, הרי ברוב המרכזים בעולם מעדיפים לבצע את תהליך ההפרייה לאחר הכנה הורמונלית הגורמת להתפתחות

זקיקים רבים בשחלות. לטיפול במחזור הטבעי יתרון מבחינת ההכנה הטבעית של הרחם והעדר סיכון של גירוי יתר שחלתי, סיבות שבעטיין קיימת גם היום נטיה במקרים מסוימים להעדיף שיטה זו, אך הצורך במעקב מאוד תכוף לקראת הביוץ אחר סימני ביוץ, ומספר הביציות הנמוך אינם מתאימים למצב היום בו השמוש בהפריה חוץ גופית הולך ומתרחב, וקיים קושי לוגיסטי בהפעלת המערכת סביב השעון. כמו כן, בחלק מההתוויות, בעיקר בפוריות הגבר, סכויי ההפריה ירודים ומספר ביציות גדול משפר מאד את הסיכוי להגיע להחזרת עוברים. בהשראת ביוץ ע"י תרופות עיתוי הטיפול ניתן לתכנן וברוב המקרים מושג מספר רב יותר של ביציות. ככל שיש יותר ביציות יש סיכוי גדול יותר להפריה של כמה מהן, וכך גם עולה מספר העוברים המוחזרים לרחם וסכויי ההריון, ובמקרים רבים נשארים גם עוברים עודפים להקפאה ולהחזרה במועד אחר, דבר המעלה את הסיכוי המצטבר להריון מאותו דיקור. התרופות העיקריות המשמשות להגברת הביוץ, לבד או בשילוב, הן כלומיפן וגונדוטרופינים. כמו כן ברוב תכניות ההפריה חוץ-גופית נעשה שמוש שגרתי בתואמים של ההורמון המשתחרר גונדוטרופינים (GnRH).

1. תרופות להשראת ביוץ

התרופות העיקריות הנמצאות בשמוש בטיפול גרימת ביוץ הן כלומיפן וגונדוטרופינים. כלומיפן (איקאקלומין) הוא אנטי-אסטרואגן המשפיע על מרכז במוח (היפותלמוס) המפקח על הביוץ. הכלומיפן מגביר את השפעת ההיזון החוזר השלילי על הקולטנים לאסטרואגנים בהיפותלמוס ומביא להגברת הפרשה של ההורמון המשתחרר גונדוטרופינים, וזה מצידו מגביר הפרשת ההורמונים הגונדוטרופיים (FSH, LH) מבלוטת יותרת המוח, הפועלים על השחלות לגיוס וצמיחת זקיקים. השראת הביוץ ע"י כלומיפן להפריה חוץ-גופית בעייתית מבחינות רבות כמו המחזור הטבעי, כי גם כאן הביוץ עשוי להתרחש טרם שאיבת הביציות ויש צורך בניטור מוגבר ושיעור אבדן המחזורים יחסית גבוה. לעומתו, הגונדוטרופינים פועלים ישירות על השחלות. בתחילת שנות השישים הראה לונגפלד כי בהפקת גונדוטרופינים משתן של נשים בבלות (menopause) ניתן להגיע לתכשיר רב עצמה לגרימת ביוץ. נסיונות ראשונים בתכשיר להפריה חוץ-גופית נעשו כבר בשנות השבעים, ולמעשה ההריון הראשון שהושג בהפריה חוץ-גופית, שהתברר כהריון מחוץ לרחם, הושג לאחר השראת ביוץ עם גונדוטרופינים.

כיום נמצאים בשמוש מספר תכשירים וביניהם: פרגונל המכיל FSH ו-

LH ממקור אנושי. מטרודין המכיל FSH ממקור אנושי וגונל-F המכיל FSH

טהור ממקור של הנדסה גנטית. מתן כלומיפן משולב בד"כ עם גונדוטרופינים, ואז הוא ניתן בד"כ במינון של 2 כדורים ליום החל מיום 5-2 מתחילת הוסת למשך 5 ימים. הטיפול בפרגונל או מטרודין הניתן בשילוב עם כלומיפן דומה לטיפול בו הם ניתנים בנפרד וכולל מינון התחלתי 4-2 אמפולות ליום, החל מיום 5-2 למשך 5-3 ימים. לפני התחלת הטיפול התרופתי חייבים לבצע סקירה באולטרהסאונד של האגן כדי לוודא שאין הריון ברחם ושאיין ציסטות בשחלות העלולות לגדול בעקבות הטיפול ההורמונלי. המעקב אחר תגובת השחלות לטיפול ההורמונלי מתחיל אחרי 5-3 ימי הטיפול הראשונים בגונדוטרופינים וכולל מעקב של רמת האסטרדיול (E2) והפרוגסטרון בדם וגודל הזקיקים באולטרהסאונד. שלוב בדיקת הפרוגסטרון, ולעיתים גם LH, בא להוסיף מדדים החוזים ביוץ מוקדם העשוי להתרחש לפני דיקור הזקיקים. עליה ברמת שני הורמונים אלה עשויה לגרום להקדמת הדיקור לשאיבת הביציות כדי שלא לאבד חלק מהביציות, או להפסקת הטיפול עקב סיכון מוגבר לשאיבת ביציות באיכות ירודה שסכויי ההפריה שלהן נמוכים מאוד. המעקב אחר רמת E2 בדם וגודל הזקיקים מאפשר שינוי מינון הגונדוטרופינים בהתאם לתגובה השחלתית. ניתן להעלות בהדרגה את כמות האמפולות היומית עד להשגת התגובה הרצויה, וניתן גם להפחית את המינון במידה והתגובה מוגזמת ועלולה להוביל לגירוי יתר שחלתי. רצוי שרמת E2 לא תהיה נמוכה מדי (רמה הנחשבת תקינה לפני ביוץ היא מעל 500 pg/ml (1830 pmol/ml), אך מצד שני ברמות גבוהות מאוד, מעל 4000 pg/ml (14680 pmol/ml) עולה הסיכון לגירוי יתר שחלתי. בעת ההחלטה על שינוי מינון הגונדוטרופינים ובתכנון מועד הדיקור יש לקחת בחשבון גם את מספר הזקיקים וגדלם ואסור לסמוך בהחלטות אלה רק על בדיקת רמת E2 בדם, כיוון שאין בדיקת הדם יכולה להבדיל אם רמה מסוימת של E2 מיוצרת ע"י מעט זקיקים גדולים או הרבה זקיקים קטנים, הבדל בעל משמעות רבה בתכנון המשך הטיפול התרופתי. הגירוי התרופתי לגדילת הזקיקים נמשך עד להשגת גודל המוערך כבשל לביוץ. יש לזכור שההחלטה שהזקיקים הגיעו לבשלות היא החלטה שרירותית, כאשר זקיקים במחזורי השראת ביוץ עם גונדוטרופינים עשויים לבייץ בהגיעם לקוטר ממוצע בין 15-30 מ"מ. לכן כאשר השראת הביוץ היא ע"י גונדוטרופינים (עם או בלי כלומיפן), גודל הזקיק המוביל המוגדר בשל נקבע ל- 17 מ"מ.

2. גרימת ביוץ

כשזקיק מגיע לבשלות באופן טבעי, מופרש מבלוטת יותרת המוח ההורמון LH הגורם למספר שנויים בזקיק וביצית. בראש ובראשונה גורם LH להשלמת הבשלת הביצית. זאת. ע"י גרימת השלמת חלוקת ההפחתה

הראשונה של הביצית (חלוקת ההפחתה השניה קורית לאחר חדירת הזרעון לביצית), שבלעדיה לא תיתכן הפריה. בנוסף גורם LH לשינוי בתפקוד שכבת התאים המצפים את פנים הזקיק (תאי גרנולוזה) והפיכתם מתאים המייצרים בעיקר E2 בשלב צמיחת הזקיקים לפני הביוץ, לתאים המייצרים בעיקר פרוגסטרון, המיועד להפוך את רירית הרחם מרירית שגשוגית (בגדילה) לרירית הפרשתית המאפשרת השרשת העובר לתוכה. ללא שינוי זה באופי הרירית לא יתכן הריון. LH גורם גם להחלשת הקשרים בין התאים המקיפים את הביצית (תאי הקומולוס) ומקל בכך את הנתקות הביצית מהדופן בעת הביוץ הטבעי או בעת שאיבת הביציות. כמו כן גורם LH להפעלת אנזים (קולגנאז) המחליש את דופן הזקיק ומקל על פקיעתו.

בשונה מתהליך שאיבת הביציות הטבעי, בעת ההכנה להפריה חוץ-גופית אנו מעונינים בהכשלת הביצית ובהכנת רירית הרחם אך איננו רוצים שהזקיקים יפקעו והביציות תאבדנה בחלל האגן. לכן ניתן לעקוב אחר ההורמון LH בדם ולהמתין לתחילת עלייתו המבשרת ביוץ לקביעת מועד לשאיבת הביציות, או לעקוב אחר התפתחות הזקיקים ובהגיעם לגודל מספיק להזריק באופן מתוכנן, כ- 30 שעות לאחר זריקת הפרגונל האחרונה, הורמון בעל פעילות דמוית LH (קוריון) (HCG - גונדוטרופין ממקור שלייתי) שיגרום לשינויים הטרומ-ביוציים של LH ו- 36 שעות מאוחר יותר לשאוב את הביציות.

3. עקרונות העדפת הטיפול בגורמי הביוץ השונים

גונדוטרופינים המכילים שילוב של FSH ו-LH (פרגונל או הומגון) מהווים את הטיפול הסטנדרטי להגברת הביוץ לקראת הפריה חוץ-גופית. קיימות שיטות שונות להתחלת טיפול ומינונים שונים, וברוב המקרים תתקבל התגובה הצפויה בשחלות. רוב הנסיון בטיפול הגברת ביוץ עם גונדוטרופינים נצבר בטיפול פרגונל, והשילוב של שני ההורמונים FSH ו-LH הוכח כהשלמה חיוכית ברוב המקרים. קיימים אף מקרים בהם לא הושגו התוצאות המצופות עם תכשיר אחר, כמו מטרודין, בעוד שהושגו עם פרגונל ולהיפך. בנשים עם שחלות פוליציסטיות, שרמת האנדרוגנים (ההורמונים הגבריים) בדמן מוגברת ורמת ההורמון LH מוגברת יחסית להורמון FSH, מעדיפים לעתים מתן תכשיר השראת ביוץ המכיל FSH בלבד (מטרודין), כדי שלא להעלות עוד יותר את רמת ה-LH בדם ולא לגרות את השחלות לייצר אנדרוגנים המפריעים בתהליך הביוץ.

תוספת קלומיפן ציטראט (איקאקלומין) לטיפול בפרגונל או מטרודין ניתנת בד"כ לנשים עם תגובה שחלתית לא מספקת במטרה להגדיל את מספר הזקיקים במחזור ואת רמת האסטרדיול. ולעזור בתמיכה ההורמונלית

של הגופיפים הצהובים שבשחלות ובהארכת המשך תפקודם אחרי החזרת העוברים. נצפתה גם האצת גדילת הזקיקים לעומת מתזורים של פרגונל בלבד. חסרונותיו העיקריים של הקלומיפן במסגרת הפריה חוץ-גופית הם עליה מוקדמת של LH, ההורמון הגורם לביוץ, בכשליש המקרים, עם אבדן המחזור בחלק מהם עקב ביוץ מוקדם, וכן השפעה שלילית אפשרית על רירית הרחם עקב תכונותיו האנטי אסטרוגניות של הקלומיפן. אבדן מחזור הטיפול יכול להגרם ע"י פקיעת הזקיקים וביוץ לפני שאיבת הביציות, או ע"י עליה בטרם עת של רמת הפרוגסטרון שבנוכחותה, במידה ומתבצעת שאיבת ביציות, נצפתה שכיחות גבוהה של ביציות שאינן מופרות. במתזורים כאלה הסכוי להריון נמוך גם אם הביציות הופרו ובוצעה החזרת עוברים לרחם.

4. השימוש בתואמי-GnRH למניעת ביוץ מוקדם

תהליך הביוץ הטבעי נמצא תחת פקוח ההיפוטלמוס ממנו מופרש, בתגובה לגירויים שונים, ההורמון המשחרר גונדוטרופינים (GnRH), וזה מצידו משפיע על בלוטת יותרת המוח להפריש את ההורמונים הגונדוטרופיים (FSH, LH) הפועלים על השחלות לגיוס וצמיחת זקיקים. בהשראת ביוץ ע"י תרופות כמו פרגונל פעילות זו של הציר היפותלמוס-יותרת המוח-שחלה נעקפת ע"י התרופות הפועלות ישירות על השחלות לגיוס וצמיחת זקיקים, ובהתאם לתגובת השחלות אנו משנים את מינון התרופה וקובעים את עיתוי שאיבת הביציות. מטרת הטיפול היא להשיג מספר גדול ככל האפשר של ביציות בשלות, מאחר וסכויי ההריון הם נגזרת של מספר העוברים המוחזרים לרחם וטיבם. לכן, ככל ששיעור הביציות הבשלות שנשאב יהיה גדול יותר, כך עשוי שיעור ההפריות לגדול ואתו מספר העוברים שנשיג. לכן נשאף לשאוב את הביציות בקוטר גדול ככל האפשר. מפריעים לכך שני תהליכים טבעיים. האחד הוא חוסר האחידות בגודל הזקיקים במחזור השראת הביוץ, עקב דרגות התפתחות שונות בהן היו הזקיקים עם תחילת הגירוי בפרגונל. לכן בעוד חלק מהזקיקים יהיו גדולים עם ביציות בשלות, החלק האחר יהיו קטנים עם ביציות לא בשלות. מאחר ועיתוי מתן הכוריון נגזר מגודל הזקיקים המובילים, יהיו בעת השאיבה גם הרבה זקיקים קטנים עם ביציות לא בשלות שסכוי הפריתן קטן יותר. הגורם השני הוא הפעלה עצמונית של מנגנון גרימת הביוץ עם עליית LH הפנימי עם הגעת הזקיקים לבשלות. כך יתכן ביוץ מוקדם לפני שאיבת הביציות המתוכננת ואמנם עד 10% מכלל המתזורים עם גירוי השחלות ע"י פרגונל אבדו עקב ביוץ והעלמות הזקיקים לפני השאיבה. כדי להתמודד עם "הפרעות" המערכת הטבעית יושמה גישה טיפולית בה הציר ההורמונלי הטבעי מנוטרל ואינו מתערב בתהליך גירוי השחלות ע"י הגונדוטרופינים.

התרופה בה משתמשים נקראת תואם-GnRH והיא בעלת פעילות דמוית ההורמון המשחרר גונדוטרופינים. פעילות זו, המוכפלת בתכשיר המסחרי מאות מונים לעומת ההורמון הטבעי, גורמת בשעות הראשונות לגירוי של בלוטת יותרת המוח ואח"כ, בעקבות ניצול כל הקולטנים על פני התאים המייצרים גונדוטרופינים, לדיכוי של פעילות התאים ועצירה כמעט מוחלטת של הפרשת גונדוטרופינים. דיכוי זה, המתחיל ביום ה-21 של המחזור שלפני הטיפול (פרוטוקול ארוך), אמור להביא לכך שפעילות התפתחות זקיקים בשחלה תרד למינימום ועם תחילת הטיפול בפרגונל יתפתח מקבץ זקיקים סינכרוניים שיגיעו לבשלות ביחד. בהמשך גורם הדיכוי למניעת עליית LH לקראת הביוץ עקב חוסר יכולת התאים המפרישים גונדוטרופינים בבלוטת יותרת המוח להעלות את ההפרשה. לכן, כדי להכין את הביציות לשאיבה יש צורך במתן תחליף ל-LH בדמות כורייגון. מתן תואם-GnRH נמשך עד ליום מתן הכורייגון. ליכולת זו לשלוט על לוח הזמנים של הביוץ חשיבות לוגיסטית והלכתית. עקב ביטול האפשרות לביוץ מוקדם ניתן לנווט את מועד השאיבה באופן שיקל על חלוקת העבודה במעבדה וניתן להמנע מדיקור בשבתות וחגים, דבר חשוב כשלעצמו לציבור רחב של מטופלים שומרי מסורת. יש להדגיש עם זאת, שהתרופה אינה מתאימה לכלל הנשים. נשים מעל גיל 40 או עם תגובת שחלות נמוכה נוטות להגיב לגירוי השחלות לאחר הדיכוי בתואם-GnRH באופן לא מספק, ולעתים קרובות המחזור מבוטל מחוסר זקיקים. כדי להגדיל את אוכלוסית המטופלות בהן ניתן להשתמש בהשפעה מונעת ביוץ מוקדם של התרופה, הוכנסו שיטות חלופיות קצרות מועד בהן ניטלת התרופה מתחילת המחזור, ומייד אחריה ניתן פרגונל ללא תקופת דיכוי והתרופה מופסקת עם נטילת הכורייגון (פרוטוקול קצר) או אחרי שלושה ימים (פרוטוקול אולטרה-קצר). אין ספק שהתרופה מעלה את סכויי ההריון בנשים בהן התגובה השחלתית לגיוס הזקיקים היא תקינה. בשימוש נמצאים תכשירים שונים המבוססים על נטילת התרופה בשאיפה לנחירי האף (סינרל) או בזריקות (דקפפטיל). תופעות לוואי קלות דווחו בעת השימוש בתואם-GnRH בהכנה להפריה חוץ-גופית. מקורן בדיכוי הזמני של הפעילות השחלתית וכוללות בעיקר תופעות דמויות גיל המעבר כמו גלי חום, כאבי ראש, שיבושים בהופעת הוסת או דימומים בלתי סדירים.

5. גירוי-יתר שחלתי

תופעת לוואי בעיתית של הטיפול בגורמי ביוץ היא גירוי יתר שחלתי הקשורה לריבוי זקיקים ורמות אסטרדיול גבוהות בדם. התמונה המופיעה מספר ימים אחרי מתן כורייגון כוללת במקרים הקלים הגדלת השחלות עם נוכחות ציסטות בשחלות, כאבי בטן ותפיתות בבטן התחתונה. במקרים

בינוניים יהיו שחלות מוגדלות מאד, עם סימני גירוי בטני, הקאות ושלשולים. לרוב גם תהיה כמות מסוימת של נוזל חפשי בחלל הבטן. מקרים קשים הם נדירים (0.1%-0.3%) ובהם תתכן הצטברות של כמות נוזל גדולה בחלל הבטן ובכית החזה סביב הראות עקב בריחת נוזלים מכלי הדם, ותתכן גם קרישת יתר של הדם. מצב זה דורש אשפוז מיידי. לשמחתנו, למרות שכיחות המקרים עם ריבוי זקיקים ורמות אסטרדיול גבוהות ואשר בהם קיימת אפשרות לגירוי יתר, זה נמנע ברוב המקרים ע"י הקפדה יתרה על שאיבת כל הזקיקים מהשחלות, אם כי אין בכך למנוע את התופעה באופן מוחלט.

ה. תפקיד האולטרהסאונד בהפריה חוץ-גופית

עם הרחבת ההתוויות להפריה חוץ-גופית לרוב סוגי בעיות הפריה, מספר הזוגות המופנים לטיפול עולה בהתמדה. מאידך גיסא, מאחר וטיפול ההפריה החוץ-גופית מעניק סכוי להריון שאינו עולה על 30% לטיפול, ברור שזוגות רבים נאלצים לחזור על הטיפול מספר פעמים לפני השגת הריון. מסיבה זו קיימת התארכות מעיקה של זמן ההמתנה לטיפול, וצוואר הבקבוק הוא יכולת חדרי הניתוח והמעבדה לטפל במספר מוגבל של מקרים. הכנסתה לשימוש שגרתי של שיטת שאיבת הביציות דרך הנרתיק אפשרה להפוך את שאיבת הביציות להליך אמבולטורי פשוט יותר. פתוח זה הוא חוליה אחרונה בשרשרת שינויים בקשר לתפקידו של האולטרהסאונד בטיפולי הפריה חוץ-גופית. הדמיה באולטרהסאונד ששמשה בעבר רק להדמית השחלות ולמעקב אחר זקיקים בהתפתחות טבעית לקראת שאיבתם דרך דופן הבטן בלפרוסקופיה, הפכה לכלי העיקרי במעקב אחר הגירוי המבוקר להתפתחות זקיקים בשחלות באמצעות גונדוטרופינים. ניטור זה איפשר להתאים את הטיפול באופן אישי לכל מטופלת כדי להגיע להתפתחות מספר מירבי של זקיקים בשלים, עיתוי נכון של מתן הכוריוגון ושאיבת מספר מירבי של ביציות בשלות. בהמשך, עם התפתחות דור חדש של מכשירי אולטרהסאונד נוחים להפעלה, הוחל בשימוש בהדמיה להדרכת הדיקור לשאיבת הביציות דרך דופן הבטן במקום לפרוסקופיה. פתוח נוסף היה הכנסתו לשימוש של המתמר הנרתיקי שאפשר הדמיה טובה יותר של השחלות והרחם עם מעבר לשאיבת ביציות בדרך זו כמעט בכל העולם. אולטרהסאונד גם מסייע בבצוע החזרה באמצעות צנתור של ביציות לחצוצרות ושל עוברים לרחם, וכן לאבחון וטיפול בסיבוכי הטיפול כמו גירוי יתר שחלתי, הריון מחוץ לרחם והריונות מרובי עוברים עם אפשרות להפתחתם.

1. שאיבת ביציות להפריה חוץ-גופית

כאן נפרט את השיטות לשאיבת הביציות הכוללות שיטה לפרוסקופית, שאיבה באולטרהסאונד דרך דופן הבטן ושאיבה נרתיקית.

1. שאיבה באמצעות לפרוסקופ

הלפרוסקופ הוא צנור דק המורכב מסיבים אופטיים המוחדר דרך הטבור לאחר מילוי חלל הבטן בדו-תחמוצת הפחמן ומשמש להסתכלות על אברי האגן ובצוע פעולות כירורגיות שונות. הגישה הלפרוסקופית היתה השיטה המקורית לשאיבת ביציות, וזו בוצעה 26 שעות לאחר העליה בהורמון LH המתרחשת לקראת הביוץ, או 36 שעות לאחר מתן זריקת כוריון. למרות ההצלחות בגישה הלפרוסקופית יש לה מספר חסרונות משמעותיים. הצורך בהרדמה כללית עמוקה יותר ומילוי חלל הבטן בגז דו-תחמוצת הפחמן מעלה את סיכוני הפעולה. קיים סיכון לנזק לאברים פנימיים כמו מעיים, שלפוחית שתן וכלי דם. השמוש בדו-תחמוצת הפחמן גורם לחמצת (acidosis) בנוזל הזקיקים ועשוי לפגוע בביציות בפעולה ממושכת. במקרים של עקרות מכנית עם הדבקויות קשות באגן לא ניתן לעתים להגיע לשחלות בהסתכלות דרך הלפרוסקופ. חסרונות אלה, וכן הצורך בקיצור משך הפעולה והפיכתה לקלה יותר עקב מספר המועמדים הגדול והצורך בטיפולים חוזרים, דחקו הצידה את הגישה הלפרוסקופית עם התפתחות האולטרהסאונד והכנסתו לשימוש בשאיבת ביציות. עם זאת, גם כיום קיים שמוש בלפרוסקופיה להפריה חוץ-גופית, בעיקר לצורך החדרת ביציות וזרע או ביציות מופרות לחצוצרות, או לשילוב של לפרוסקופיה אבחנתית לברור מצב האגן במקרי עקרות ביתר עם אבחון מצב הביציות ויכולת הפרייתן ע"י הזרע בהפריה חוץ-גופית.

2. שאיבה בהנחית אולטרהסאונד

שתי השיטות העיקריות כוללות גישה דרך דופן הבטן וגישה נרתיקית. בעבר נוסתה גם גישה דרך השופכה ושלפוחית השתן אך זו נזנחה.

הגישה הבטנית

היתה הראשונה ליישום בהפריה חוץ-גופית והוכחה כשיטה יעילה בהשוואה לגישה הלפרוסקופית. יתרונה העיקרי הוא בכך שזו פעולה כירורגית קלה בהרבה ואין בה רוב הסיכונים הכרוכים בלפרוסקופיה. הדיקור בהנחיית אולטרהסאונד אינו מוגבל רק לשחלות הניתנות לראיה כמו דרך הלפרוסקופ, אלא ניתן לדקור גם שחלות מכוסות הדבקויות קשות.

דיקור השחלות נעשה עם שלפוחית שתן מלאה, הדרושה בגישה הבטנית כדי ליצור חלון אקוסטי בין דופן הבטן לבין השחלות וכדי להעלות את השחלות הנמצאות באופן רגיל בתחתית האגן לכיוון הכניסה לאגן ולהקל בכך את הגישה אליהן. כיוון שהמעבר מדופן הבטן לשחלות נעשה דרך השלפוחית, וכיוון שהשתן הוא חומצי מדי עבור הביציות, יש לרוקן את שלפוחית השתן ולמלאה מחדש באמצעות קטטר בתמיסה פיזיולוגית עד להשגת הדמייה טובה של השחלות. לאחר חיטוי הבטן וכיסוי מכשיר האולטרהסאונד בכיסוי סטרילי, מקבלת המטופלת תרופות אלחוש למניעת כאבים, ומבוצע דיקור במחט ארוכה דרך דופן הבטן והשלפוחית לתוך הזקיקים בשחלה אחת, ולאחר ריקונם נשאבים הזקיקים בשחלה השנייה. הנוזל הזקיקי המכיל את הביציות נשאב בלחץ מבוקר, למניעת נזק לביציות, לתוך כוסית שאיבה סטרילית ומועבר לבקורת מיקרוסקופית לאיתור הביציות והעברתן לתמיסת מצע גידול.

הגישה הנרתיקית

גישה זו התאפשרה לאחר פיתוח מכשירים מותאמים לבדיקה דרך הנרתיק. הדיקור נעשה דרך חלקו הפנימי של הנרתיק הקרוב ביותר לשחלות. לאחר מתן תרופת אלחוש למניעת כאבים מבוצע חיטוי הנרתיק בתמיסת חיטוי. המתמר של מכשיר האולטרהסאונד המכוסה בכיסוי סטרילי מוחדר לנרתיק והדיקור מבוצע בעזרת מחט הצמודה למתמר, תחת הדגמה מתמדת של השחלה על מסך האולטרהסאונד. המחט מוחדרת דרך דופן הנרתיק ישירות לתוך הזקיק הקרוב ביותר והנוזל הזקיקי שנשאב מועבר למעבדה לאיתור הביציות. דיקור הזקיקים הבאים אינו דורש בד"כ דיקור חוזר של דופן הנרתיק אלא נעשה ע"י קידום המחט מהזקיק שנדקר לזקיקים הבאים ולכן הכאב הנלווה לדיקור הנרתיקי מוגדר כקל יחסית, אינו דורש הרדמה עמוקה וניתן במקרים רבים להסתפק באלחוש קל. משך פעולת שאיבת הביציות הוא כ- 10-20 דקות, ובמהלכה אנו מקפידים, במידת האפשר, על שאיבת כל הזקיקים הנצפים בשחלה. להקפדה היתרה על שאיבת כל הזקיקים, גם הקטנים, יש חשיבות רבה בהורדת שעור המקרים המגיעים לגירוי יתר שחלתי בעקבות השראת הביוץ ע"י גונדוטרופינים. לגישה הנרתיקית יתרון על פני השיטה הבטנית בדרגת כאב נמוכה יותר, העדר הצורך במילוי שלפוחית השתן, איכות הדמיה מעולה של השחלות עקב הקירבה לאברי האגן הפנימיים, הדמיה טובה של הרחם ושל כלי הדם באגן. יכולת התמרון עם המחט טובה יותר בגישה הנרתיקית ומאפשרת לבצע דיקור מבוקר של הזקיקים. בנשים שמנות ונשים עם צלקות בטניות ההדמיה הנרתיקית טובה מזו דרך הבטן. קלות הבדיקה הנרתיקית ואיכות ההדמיה הביאו גם לכך, שרובו של המעקב אחר תגובת השחלות נעשה כיום

בדרך זו. גם הכנסח השימוש בדופלר צבע מאפשרת הערכה טובה יותר של תפקוד הרחם והשחלות והשפעת התרופות וההורמונים עליהם. חסרונותיה של הגישה הנרתיקית הם בעיקר חוסר אפשרות לעתים לבצע דיקור של שחלות ממוקמות גבוה באגן עקב הדבקות, וכן הסיכון המוגבר יחסית להחדרת זיהום עקב יכולת חיטוי מופחתת של הנרתיק בהשוואה לעור הבטן, אם כי בפועל ארועים כאלה הם נדירים מאד ובמידה וקורה תהליך דלקתי הוא ככל הנראה על רקע של תהליך דלקתי כרוני באגן. עם זאת, אין להמעיט מחשיבותו של זיהום כזה היכול לזהם את תרבית הביציות ולמנוע הפרייתן. כדי להפחית סיכון זה ניתן בד"כ טיפול אנטיביוטי מונע למטופלת, וכן ניתן הטיפול לבעל כדי להפחית הסיכון לזיהום תרבית הביציות מתיידקים בזרע. סיכון נוסף בגישה הנרתיקית הוא הדיקור בקרבת כלי הדם של האגן ואפשרות דימום, אך גם כאן, עקב מידת הזהירות הרבה הנהוגה בדיקור וניטור מהלך הדיקור באולטרהסאונד, דיווחים על אירועים כאלה הם נדירים. עם זאת, דימום לחלל האגן כתוצאה מדיקור השחלות הוא ארוע שכיח עקב היותן גדולות וגדושות עם ריכוז כלי דם, אך במידה ואין למטופלת בעית קרישת דם, הדימום יפסק תוך דקות, ורק לעתים נדירות יש צורך בהתערבות נוספת. גם דימום ממקום הדיקור בנרתיק קורה לפעמים ובד"כ נעצר מייד מעצמו או לאחר הפעלת לחץ מקומי קל. תופעות לואי שלאחר ההרדמה מופיעות אצל חלק מהמטופלות וכוללות טשטוש, בחילה והקאות החולפים במהרה.

3. בחירת הגישה לשאיבת ביציות

בחירה זו צריכה לענות על התנאים הבאים:

- * הגישה צריכה להיות מותאמת לצרכי האיבחון, כמו למשל שילוב של לפרוסקופיה אבחנתית עם שאיבת ביציות סביב הביוץ.
- * עדיפה הגישה בה מספר הביציות שיושגו יהיה הגבוה ביותר.
- * התחשבות בתנאים האנטומיים של המטופלת, למשל בנוכחות הדבקות באגן עם שחלות גבוהות יתכן שעדיפה הגישה הבטנית.
- * הקפדה על נושא הבטיחות ושליטת המנתחים בגישה המועדפת.
- * התחשבות בנוחיות המטופלת (כאן נכלל גם סוג ההרדמה שתועדף).

ז. שיטות מעבדה בהפריה חוץ-גופית

למעבדה תפקיד בעל חשיבות מכרעת בתהליך ההפריה החוץ-גופית. להשגת עוברים שסיכויי השרשתם טובים נדרשת מיומנות גבוהה של צוות העובדים במעבדה, וכן מרכיבי ציוד חיוניים אשר יבטיחו את יעילות תיפקודה, כמו מיקרוסקופים המאפשרים בדיקת איכות הביציות והזרע.

ותקינות תהליך ההפריה, ואינקובטורים לשמירת טמפרטורה ותנאי חומציות קבועים מזמן הוצאת הביציות ועד החזרת העוברים אל הרחם. תהליכי ההפריה והתפתחות העוברים מתרחשים בצלחת המכילה נוזל מצע גידול המורכב ממים מזוקקים באיכות גבוהה, מלחים שונים, מקורות אנרגיה, חומצות אמינו וויטמינים שונים התומכים בביצית בתהליך ההפריה ובעובר בשלבי ההתפתחות הראשוניים. המצע מכיל גם חלבונים שמקורם בנסיוב המטופלת או נסיוב עוברי שנלקח מחבל הטבור או אלבומין.

1. הטיפול בביציות

לקראת שאיבת הביציות, מוכנות מיום קודם צלחות מיוחדות המכילות את מצע הגידול. הצלחות מסומנות בקפידה בשם המטופלת ומוכנסות לאינקובטור למשך הלילה לקבלת טמפרטורה וחומציות אופטימליים. השלב הראשון בטיפול בביציות הינו זיהויין המידי בנוזל שנשאב מן הזקיקים ובחינת מידת בשלותן. בעת הוצאתן, הביציות עטופות בתאים שמקורם בזקיק היוצרים מבנה מאורגן סביבן. קביעת בשלות הביציות בשלב שאיבתן מתבססת לפיכך על קביעת מאפייני התאים העוטפים אותן. מבנה בלתי צפוף של תאים מאפיין ביצית בשלה ומבנה צפוף מאפיין ביצית בלתי בשלה, בעוד שהעדר תאים סביב הביצית מצביע על בשלות יתר. בעת הבשלתה לקראת הביוץ, עוברת הביצית חלוקת הפחתה מ-46 ל-23 כרומוזומים, ואשר במהלכה נעלם קרום הגרעין ונפלט הגופיף הקוטבי הראשון המכיל את 23 הכרומוזומים שהופחתו. רק ביצית אשר עברה שלב זה מתאימה להפרייה. ניתן לזהות מאפיינים אלו לאחר הרחקת התאים העוטפים את הביציות כחלק מהכנתן לתהליך הזרקת זרע במיקרומניפולציה שידון בהמשך. ביצית בה ניתן לזהות לאחר הפשטתה את נוכחות הגופיף הקוטבי הראשון סיכויי הפרייה טובים, בעוד שביצית אשר נצפה בה קרום הגרעין הינה ביצית בלתי בשלה וסיכויי הפרייה נמוכים. ביציות בעלות ציטופלסמה מגורגרת ושלפוחיות הינן ביציות באיכות נמוכה.

מרגע זיהויי הביציות בתוך הנוזל שנשאב מהזקיקים הן נשטפות ומועברות לצלחות הגידול ומוכנסות לאינקובטור לשהייה בת מספר שעות עד לשלב הפגשתן עם תאי הזרע.

2. הכנת הזרע

מתן זרע להפריה חייב להתבצע בבוקר שלפני שאיבת הביציות ויכול גם להיות בבית ע"י שמוש בקונדום מיוחד שאינו מכיל קוטל זרע (HYGENE). לפני השמוש בזרע להפריה הביציות יש להעבירו תהליך של ניקוי והשבחה. מגוון שיטות ניתנות לישום לשם השבחת דגימות זרי

(ejaculate) בהתאם למאפיינים כמותיים, תנועתיים ומורפולוגיים שונים. הדרישות המינימליות לקבלת שעור הפריה גבוה בתהליך הפריית מבחנה הינן מספר תאי זרע העולה על 5 מיליון תאי זרע למ"ל נוזל זרע בלתי מטופל מתוכם לפחות 30% מן התאים בתנועה. דרושים לפחות 14% מן התאים שבתנועה שיהיו בעלי צורה תקינה להשגת שעורי הפריה טובים. שיטות צביעה (KRUGER) המאפשרות אבחנה יחודית של חלקי הזרעון השונים כמו גרעין ואקריוזום, וכן יכולת לבחון את מבנה ראש הזרעון וזנבו, מיושמות כיום במעבדתנו לקבלת מידע מהימן לגבי תקינות מבנה הזרעונים בדגימה הנבדקת.

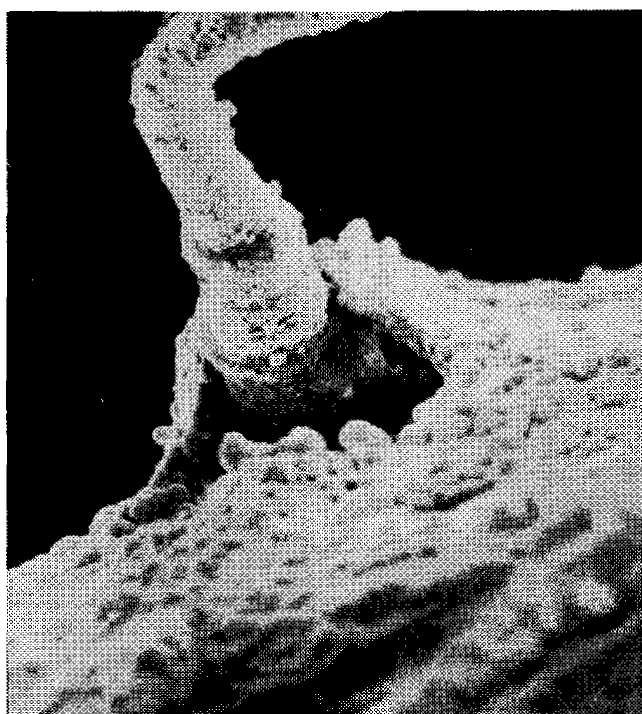
אחת השיטות להשבחת דגימות זרי בעל מדדים תקינים (רכוז מעל 20 מיליון למ"ל, תנועתיות מעל 40% ומורפולוגיה תקינה) הינה הפרדתו ע"ג עמודת צפיפות רצופה (פרקול). השיטה מבוססת על הבדלי צפיפות הקיימים בין תאי הזרע בעלי התנועה לתאים חסרי תנועה. עמודת הצפיפות מורכבת מפרקול ומצע גידול המכיל 0.4% אלבומין ודוגמת הזרי הבלתי מטופל מועמסת על גבי העמודה ומוכנסת לצנטריפוגה לסרכוז למשך 10 דקות. לאחר הסרכוז ימצאו תאי הזרע בעלי התנועה בתחתית העמודה. בדרך זו מושבחת דגימת הזרע בריכוז תאי הזרע תקינים בעלי התנועה ומורחקים מנוזל הזרי מרכיבים הפוגמים באיכות הזרע, שכרי תאים, תאים מתים ותאי זרע בעלי מורפולוגיה בלתי תקינה. תאי הזרע הנאספים מתחתית העמודה מועברים למבחנה המכילה מצע גידול נקי, והם נשטפים פעמיים ע"י סרכוז. העשרת המקטע בתאים בעלי תנועה בסוף התהליך מגיעה לכ- 90%.

חסרונה של השיטה הנ"ל הינה באובדן ניכר של תאי זרע תקינים לאורך העמודה תוך כדי תהליך ההפרדה, ולפיכך אינה מתאימה למקרים של מעוט תאי זרע. עבור מקרים אלה פותחה שיטה דומה המבוססת על עמודת צפיפות בעלת נפח קטן (מיני-פרקול). בשיטה זו מופרדים תאי הזרע על גבי עמודת פרקול בלתי רצופה בעלת שכבות של ריכוזי פרקול שונים (47%-90%). נפחה הכולל של העמודה אינו עולה על 2 מ"ל. דוגמת הזרי נשטפת במצע ולאחר סרכוז למשך 10 דקות מורחק הפלט בנפח של 0.6 מ"ל ומועמס ע"ג עמודת המיני-פרקול. לאחר סרכוז של 45 דקות נאספים תאי הזרע הנעים מתחתית העמודה ונשטפים פעמיים. פלט תאי הזרע לאחר השטיפות מורחק במצע גידול בנפח מינימלי לקבלת תרחיף תאי זרע בריכוז גבוה ככל האפשר. ע"י ישום שיטה זו נשמרת היכולת להפריד את תאי הזרע בעלי התנועה משאר מרכיבי הזרע. בעוד שמופתת שעור אבוד הזרעונים.

עבור דגימות זרי המכילות אחוז גבוה של תאים נעים ניתן גם לישם שיטת השבחה פשוטה ומהירה במהלכה נשטף נוזל הזרי פעמיים ע"י סרכוז למשך 10 דקות במצע גידול. לאחר השטיפות מורחף פלט תאי הזרע במצע גידול בנפח של כ- 1 מ"ל. הפרדת תאי הזרע בעלי התנועה נעשית על ידי איסוף שכבת הנוזל העליונה אליה "שוחים" תאי הזרע הנעים (Swim-up). הנוזל העליון שנאסף מכיל מעל 80% תאים נעים בעלי מורפולוגיה תקינה ברובם, אך חסרונה הברור של שיטה זו הינה איבוד חלק ניכר מתאי הזרע הנעים במשקע.

3. תהליך ההזרעה

תהליך הפגשת תאי הזרע והביצית (ההזרעה) מבוצע לאחר השהיית הביציות באינקובטור למשך זמן התלוי במידת בשלותן. הדגרה של 3-6 שעות נמצאה כמשפרת את שעורי ההפרייה. כאשר הביציות אינן בשלות, ניתן להאריך את משך ההדגרה לפני הוספת הזרע עד 10-24 שעות ולאפשר לביציות להגיע לבשלות בתרבית.



תא זרע חודר לביצית כפי שצולם במיקרוסקופ אלקטרוני סורק

מספר תאי הזרע המוספים לצלחת המכילה את הביצית משתנה בהתאם לנתוני הזרי. במקרים של זרי בעל מדדים תקינים יוספו בין 50,000 ל- 300,000 תאי זרע לכל ביצית. במקרים של זרי שנתוני פחותים, יוספו עד מיליון תאי זרע לכל ביצית. במקרים של מעוט קיצוני של תאי זרע ניתן להכניס מספר ביציות לצלחת הזרעה אחת. כמו-כן ניתן להעלות את ריכוז

תאי הזרע סביב הביציות במהלך תהליך ההזרעה ע"י הכנסת הביציות ותאי הזרע לטפות מצע בנפח של 20-30 מיקרוליטר ולכסותן בשמן פרפין למניעת אידוי הנוזל. במקרה שלא נצפתה הפריה 16-20 שעות לאחר ההזרעה הראשונה ניתן להפגיש את הביציות פעם נוספת עם תאי זרע (הזרעה חוזרת) וניתן להשיג שעורי הפריה נוספים של 5%-7%.

4. תהליך ההפרייה והתפתחות העובר

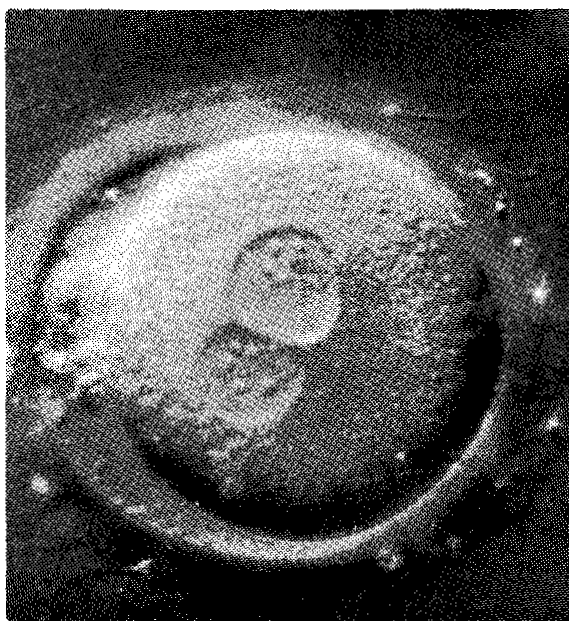
כשעה לאחר מגע ישיר בין הזרע ובין הביצית יתרחש האיחוי ביניהם. מידת צפיפות התאים סביב הביצית אינה משפיעה על משך זמן זה, ולאחר כשעה יופרו מירב הביציות. לאחר 16-20 שעות מרגע הפגשת הביצית עם תאי הזרע תיבחן הפריית הביצית ע"י נוכחות שני קדם גרעינים (Pronuclei) בציטופלסמה של הביצית. כדי לבחון את הביצית, מורחקים מכנית התאים העוטפים אותה ע"י שימוש בפיפטות זכוכית דקות. בשלב זה הרחקת התאים מן הביצית הינה קלה במיוחד בשל התפוררות צבר התאים הנגרמת ע"י אנזימים המופרשים מתאי הזרע. מבחן נוסף לקיום תהליך ההפרייה הינו נוכחות הגופיף הקוטבי השני, המצביע על כך שהביצית השלימה את חלוקת ההפחתה השנייה (המתרחשת בעקבות חדירת תא הזרע אל הביצית). עם זאת, מבחן זה אינו חד-משמעי בשל נטייתם של הגופיפים הקוטביים לעבור פרוק ולהעלם.

חשוב לאבחן בשלב זה האם מצויים רק שני קדם-גרעינים בציטופלסמה. נוכחות של יותר משני קדם-גרעינים בציטופלסמה מצביעה על כך שהביצית הופרתה הפריה פוליספרמית (הפריה ע"י יותר מזרעון אחד). מעניין שלמרות חשיפת הביצית למספר עצום של תאי זרע, שיעור ההפרייה הפוליספרמית נמוך יחסית (2%-10%), זאת מכיוון שמניעת פוליספרמיה תלויה במנגנון פנימי של הביצית הבשלה ואינו תלוי בריכוז תאי הזרע סביבה. ביציות שהופרו בכל זאת ע"י יותר מתא זרע אחד מכילות מטען גנטי לא תקין, והעובר שיתפתח מהן אינו ראוי להחזרה. לכן, כיוון שכאשר הן תתחלקנה למחרת היום לא ניתן יהיה להבדיל ביניהן לבין ביציות שהופרו הפריה תקינה, יש להרחיקן מיתר הביציות ולהימנע מהחזרתן לרחם.

במקרים נדירים נצפה רק קדם-גרעין אחד בציטופלסמה. ביצית כזו בספק לגבי תקינות הפרייתה למרות שיתכן ותעבור חלוקה תקינה לכאורה. ההחזרה אל הרחם של עובר שמקורו בביצית בה נצפה קדם גרעין אחד שנוייה במחלוקת עקב האפשרות שמדובר באקטיבציה של ביצית לא מופרית. מקובל כי במידה ונצפה גופיף קוטבי שני ותאי זרע נראים קשורים למעטפת השקופה, הרי שהביצית הופרתה וכי העדר הגרעין הנוסף נובע

מאחור בהופעתו. חשוב לפיכך במקרה כזה לבחון בשלב מאוחר יותר האם נצפה גרעין נוסף. אקטיבציה של הביצית הינה תהליך העשוי להיגרם ע"י חשיפת הביציות לשינויי טמפרטורה וחומציות, חשיפה לאנזים היאלורונידזה המבוצעת בעת הכנת הביציות לתהליך הזרקת זרע לביציות במיקרומניפולציה, וכן בעקבות פגיעה מכנית. בעקבות אקטיבציה של הביצית יופיע קדם-גרעין יחיד ולאחר מכן תעבור הביצית חלוקות מספר, על אף שאינה מופרית. ברור שמביצית שלא הופרתה, אף אם התחלקה בעקבות אקטיבציה, לא יתפתח הריון תקין.

אתווי ההפריה המדווחים מסכום תוצאותיהם של מרכזים שונים בעולם עלו בעבר על 70%. עם הרחבת קשת המטופלים והכללת קבוצות של עקרות הגבר או עקרות בלתי מוסברת ירדו שעורי ההפרייה, והם נעים בין 50%-70%. **שעור ההפרייה המתקבל במעבדתנו הינו 70%.**



ביצית מופרית. נראים שני קדם-גרעינים.

שים לב לתאי זרע צמודים למעטפת החיצונית

ביום השני לשהותן באינקובטור יעברו מירב הביציות המופרות חלוקה לעוברים בני 2-8 תאים. שעור החלוקה של ביציות שעברו הפריה תקינה הינו בדרך כלל גבוה - 80%-95%. קשר ישיר הוכח בין האיכות המורפולוגית של העובר, בין קצב חלוקתו ובין סיכויי השרשתו. מאפיינים מורפולוגיים כמו סימטריה של תאי העובר ונוכחות או העדר שברי תאים בעובר מצביעים על עוברים שסיכויי השרשתם טובים יותר. שיטת הדרוג המקובלת כיום מדרגת ארבע דרגות איכות: עוברים מדרגה A מכילים תאים שווים בגודלם שאינם מכילים שברי תאים כלל. עוברים מדרגה B מכילים תאים סימטריים בגודלם ומעט שברי תאים (פחות מ- 20% מנפח העובר). עוברים מדרגה C מכילים תאים בלתי סימטריים ושיעור שברי תאים של

20%-50% מנפח העובר. עוברים מדרגה D מכילים תאים בלתי שווים ושיעור שברי תאים העולה על 50%. גם קצב חלוקת העוברים חשוב, ועוברים שקצב חלוקתם מהיר ולפיכך מכילים מספר תאים רב יותר (מעל 4 תאים 48 שעות לאחר השאיבה) נחשבים לבעלי סיכויי השרשה טובים יותר.

5. מיקרומניפולציה לטיפול בביציות ובעוברים

מיקרומניפולציה הינה טיפול מיקרוסקופי עדין ביותר המבוצע בביציות ובעוברים תוך שמוש בפיפטות זכוכית עדינות תחת מיקרוסקופ בעל כושר הפרדה גדול. קיים מגוון שיטות מיקרומניפולציה לטיפול בביציות והן כוללות חירור המעטפת השקופה, הזרקת תאי זרע בודדים אל מתחת למעטפת השקופה או הזרקת תא זרע בודד אל תוך ציטופלסמת הביצית וכל זאת לאפשר את הפריית הביצית. טפולי מיקרומניפולציה בעוברים כוללים פתיחת פתח במעטפת השקופה להחשת תהליך ההנצה, וכן דגימת תאים בודדים לאבחון גנטי.

הישום הראשוני לשיטות מיקרומניפולציה באדם היו מקרי עקרות שמקורם בבעיות זרע קשות כמו מעוט ניכר של תאי זרע, פגיעה בכושר תנועתו של הזרע או במורפולוגיה שלו, ואי יכולתו לחדור את המעטפת השקופה. כדי שניתן יהיה להגיע אל הביצית עצמה ולטפל בה בשיטות המיקרומניפולציה השונות יש להרחיק את התאים העוטפים אותה. תהליך זה מבוצע תוך שמוש באנזים היאלורונידזה. האנזים מצוי בראש תא הזרע, מופרש בעקבות תגובת האקרוזום ומסייע לתא הזרע לעבור את שכבת התאים בדרכו אל הביצית ע"י המסת החומר הבין-תאי. חשיפת הביצית לאנזים היא קצרה ביותר (30 שניות) ובכוח נמוך של 80 יחידות אנזים למ"ל. הרחקה ראשונית של התאים מבוצעת ע"י שמוש בפיפטת זכוכית שקוטרה כ- 200 מיקרון. בשלב זה מועברת הביצית, שחלק ניכר מהתאים סביבה כבר הורחקו, לצלחת המכילה מצע גידול בלבד ומבוצעת הרחקה התאים הקרובים ביותר אל הביצית ע"י שמוש בפיפטת זכוכית שקוטרה עולה אך מעט על קוטר הביצית (150 מיקרון). הביציות מועברות שוב לאחר שטיפה לצלחת המכילה מצע גידול ומושהות כשעה באינקובטור לפני שיוחל בהן הטיפול במיקרומניפולציה.

ח. שיטות מיקרומניפולציה לשפור כושר ההפרייה של הזרע

1. חירור המעטפת (Zona Drilling)

הביצית המיועדת לטיפול מוכנסת לתוך טיפת נוזל מצע הגידול המכוסה בשמן פרפין למניעת אידוי הנוזל ושינויי טמפרטורה וחומציות

במהלך הטפול. פיפטת אחיזה שקוטרה החיצוני 150 מיקרון וקוטרה הפנימי 20 מיקרון מופעלת ע"י לחץ שלילי ומקבעת את הביצית. באמצעות מיקרופיטה שקוטרה כ- 10 מיקרון מוזרם חומר שביכולתו להמיס חור במעטפת השקופה כמו נוזל מצע חומצי או האנזים טריפסין. לאחר בצוע החירור במעטפת מוכנסות הביציות שטופלו לצלחת ובה זרע ברכוז של 10-5 מליון תאי זרע למ"ל. החירור הכימי הוכח כפוגע בכושר ההפרייה של ביציות שטופלו בדרך זו, כפי הנראה ע"י פגיעה בכישור החלוקה, והשיטה לפיכך אינה נפוצה. בשיטה אחרת נעזרים בקרן לייזר קרה לבצוע חירור מעטפת הביצית. גם שיטה זו אינה מיושמת כמעט כיום.

2. פתיחה מכנית של המעטפת - PZD (Partial Zona Dissection)

בשיטה זו מבוצע קרע מכני במעטפת השקופה או ע"י שמוש במחט זכוכית מיקרוסקופית או ע"י שפשוף המעטפת על פיפטת אחיזה. לאחר בצוע הקרע במעטפת מוכנסות הביציות שטופלו לצלחת ובה זרע בריכוז של 10-5 מליון תאי זרע למ"ל. רכוז הזרע הנדרש להפריית הביצית בשיטה זו ובקודמתה הינו גבוה, ודומה לנתוני הזרע הנדרשים להפרייה רגילה. הזרע נדרש גם לכושר תנועה סביר וגם ליכולת לעבור איחוי עם ממברנת הביצית ולהפרותה. לפיכך ההפריה הינה קשה להשגה במקרים של עקרות שמקורה בזרע פגום.

3. הזרקת זרע מתחת למעטפת - SUZI (Sub-Zonal Insemination)

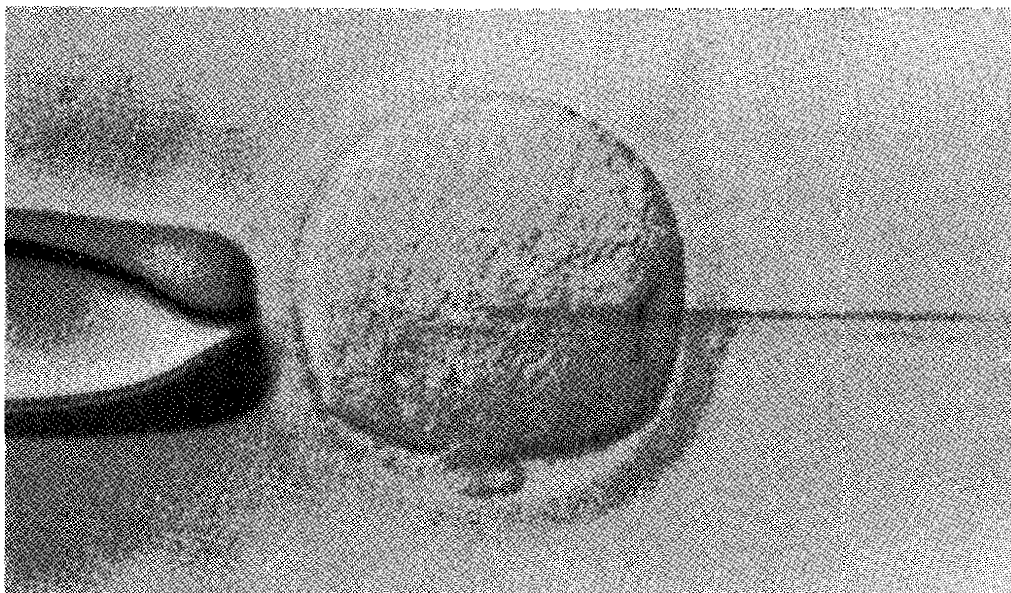
תהליך ההזרקה מתבצע בתוך מצע גידול (HTF) המכיל 0.1M סוכרוז. בנוכחות סוכרוז מאבדת הביצית מים בשל שינוי אוסמוטי במצע. היא מתכווצת מעט והחלל בינה למעטפת השקופה (Periviteline space) גדל. הביצית מוחזקת ע"י פיפטת אחיזה ומספר תאי זרע (עד 10) נשאבים לפיפטת הזרקה שקוטרה החיצוני 7-8 מיקרון וקוטרה הפנימי 5-7 מיקרון ומוזרקים אל מתחת למעטפת השקופה. יש יתרון בהזרקת מעל 5 זרעונים, כיוון שבמקרים אלו הוכח כי אחוז ההפריה עלה. החסרון הוא בכך שגם שעור ההפריה הפוליספרמית עלה במקביל. לישום שיטה זו נדרשים רק תאי זרע בודדים בתנועה, והיא הוכחה כיעילה למקרים שבהם ריכוז הזרע בדגימה נמוך מ- 5 מליון תאי זרע למ"ל, בנוסף לבעיות של צורניות ותנועה.

הכנת הזרע להזרקת נעשית בדרך כלל בשיטת מיני-פרקול שתוארה לעיל. לאחר הטפול בזרע חשוב להשהותו באינקובטור למשך כשעה לפני הזרקתו לשם השגת תנאי טמפרטורה וחומציות אופטימליים. תהליך ההזרקת מבוצע בתמיסת סוכרוז ויש להרחיקו באופן הדרגתי למניעת שוק אוסמוטי לביצית. לכן, הביצית תועבר לאחר ההזרקת לתמיסת מצע גידול המכילה 0.05M סוכרוז, למשך 3 דקות. בשלב הבא תודגר הביצית 3 דקות

במצע גידול המכיל 0.025M סוכרוז ורק אח"כ תועבר למצע גידול ללא סוכרוז ותוכנס לאינקובטור עד לבחינת תוצאות ההפריה למחרת.

4. הזרקה לציטופלסמה - ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection)

בשיטה זו נשאב תא זרע בודד לתוך פיפטת זכוכית דקה ומוזרק בנפח מינימלי של נוזל ישירות אל תוך ציטופלסמת הביצית. הכנת הזרע להזרקה נעשית בדרך כלל בשיטת מיני-פרקול שתוארה, והכנת הביציות דורשת רק ניקוי משכבות התאים שסביבן ואינה דורשת כיווץ הביצית ע"י סוכרוז כפי שתואר לגבי שיטת SUZI. ליישום שיטה זו נדרשת למעשה השגת תא זרע בודד בלבד, וניתן אף להזריק תא זרע חי שאינו בתנועה. למרות ששיטה זו חדשה יחסית אחוזי ההפרייה בה גבוהים, ושעורי ההריון מקבילים לאלו המתקבלים במקרי הפריה חוץ-גופית שבהם נתוני הזרע הינם תקינים.



תהליך הזרקת תא זרע בודד לתוך הציטופלסמה של הביצית (ICSI).
משמאל פיפטת האחיזה ומימין פיפטת ההזרקה נעוצה בתוך הציטופלסמה.
למטה נראה הגופיף הקוטבי הראשון.

מאות רבות של תינוקות נורמליים נולדו כתוצאה משימוש בשיטות המיקרומניפולציה להזרקת זרע, וצפוי כי שיפור הטכניקות הקיימות ונסיון רב ביישומן יביא להצלחת הטיפול, לקבוצה גדולה יותר של מטופלים שהיו עד לפני זמן לא רב חסרי תקווה.

ט. טפולי מיקרומניפולציה בעוברים

1. פתיחת פתח במעטפת השקופה להחשת תהליך ההנצה

כאופן טבעי מתרחש תהליך חריגת העובר מן המעטפת השקופה (Hatching) כאשר העובר בשלב הבלסטוציסט השלים את נדידתו מן

החצוצרה אל הרחם והוא מתכוון לתהליך ההשרשה ברירית הרחם. שיטת ההנצה המושרית (Assisted Hatching) פותחה בכדי לסייע לעוברים המתקשים להניץ מן המעטפת השקופה וזאת ע"י פתיחה מכנית, כימית או בלייזר של מעטפת העובר בשלב של 4-8 תאים. במחקרים שבוצעו נמצא כי הבדלים בשיעור ההשרשה לאחר ההפריה החוץ-גופית היו קשורים להתעבות המעטפת השקופה והתקבלו בנשים מעל גיל 38, שרמת ההורמון FSH שבגופן גבוהה ($>15 \text{ mIU/mL}$). נראה כי קיים קשר בין מדדים אלו לבין מבנה המעטפת השקופה המעכב את תהליך ההנצה. לא נמצא יתרון לפתיחת המעטפת כאשר היתה דקה ובעוברים בדירוג מורפולוגי גבוה. מומלץ לפיכך ליישם שיטה זו לגבי נשים שעבורן התקבלו עוברים תקינים ולא התקבלה השרשה, ולבצעה בעוברים בדירוג בינוני ומטה שעובי המעטפת שלהם עולה על 15 מיקרון.

2. דגימת תאים לאבחון גנטי

תחום הצובר תגובה בעולם וגם אצלנו הוא אבחון טרום-השרשתי של מחלות גנטיות בעובר. לצורך אבחון העובר נלקחים ממנו, בהיותו בשלב התפתחות של 8 תאים לערך, תא אחד או שניים ובהם מבוצעות בדיקות האבחון של מחלות תורשתיות. הטכניקה כוללת פתיחת חלון במעטפת העובר באופן מכני או ע"י תמיסה חומצית כ-72 שעות לאחר שאיבת הביציות, הוצאת תא או שניים וכיצוע האבחון תוך מספר שעות, כאשר עוד באותו יום ניתן להתזיר את העובר לרחם במידה ונמצא בריא. כמובן שאין הליך זה מהווה תהליך לבדיקת סיסי שליה או בדיקת מי שפיר או דם עוברי, בעיקר עקב הצורך בהחלת כל תהליך ההפריה החוץ-גופית להשגת העוברים, אך במקרים מסוימים יוכל הליך זה לתת מענה לשאלת האבחון, בעיקר במשפחות בהן קיים סיכון לעובר פגוע גנטית, ושהשגת ההריון מלכתחילה דורשת הפריה חוץ-גופית, ואז לא יזדקקו לאבחון במהלך ההריון.

י. החזרת עוברים

1. עיתוי ושיטות החזרה לרחם

לאחר ההפריה והתפתחות העוברים כמעבדה הם מוחזרים לרחם. שלב החזרת העוברים הינו שלב קריטי בתהליך ההפריה החוץ-גופית, ובשתיים מתוך שלוש החזרות אל הרחם לא מתרחשת השרשת עוברים. בהתחשב במספר העוברים המוחזרים (3-4), שיעור השרשתו של עובר יחיד קטנה מ-10%. השרשתו של עובר ברחם מושפעת מאיכותו ומהכנת רירית הרחם. השלב העוברי האופטימלי להחזרה אינו מוסכם, וקיימים דיווחים על

הריונות שהתקבלו מהחזרת עוברים בשלב קדם-גרעינים ועד לעובר בשלב בלסטוציסט. החזרת עובר בשלב מוקדם מקצרת את חשיפתו לתנאים בלתי אופטימליים, אך החזרה מאוחרת מאפשרת התאמה טובה יותר לשלב בו מגיע העובר אל הרחם במהלך הפריה טבעית (4-6 ימים לאחר ההפרייה). עם זאת, במספר מחקרים לא ניתן היה להראות שפור בשעורי ההריון כאשר הוחזרו עוברים כעבור 72 שעות לעומת ההחזרה המקובלת כעבור 48 שעות. גם החזרה מדורגת של עוברים, 2 עוברים לאחר 48 שעות ו-2 עוברים נוספים 24 שעות מאוחר יותר, לא שיפרה באופן משמעותי את שיעורי ההריון. שיפור משמעותי בשיעור ההריונות הושג רק כאשר בהחזרה המדורגת, 2 העוברים של ההחזרה השניה הוקפאו ביום ההחזרה הראשונה וכן נשמרו בדרגת ההתפתחות המקורית, בעוד רירית הרחם המשיכה להתפתח וכעבור 48 שעות (96 שעות מהשאיבה) הוחזרו לרחם. אך שיטה זו קשה ליישום מאחר ודורשת השקעת משאבים רבים בהקפאת והפשרת העוברים סביב ההחזרה. לפיכך מקובלת כיום החזרת עד 4 עוברים 48-72 שעות לאחר שאיבת הביציות אל חלל הרחם דרך צואר הרחם. מספר העוברים המוחזרים הוא אחד הגורמים החשובים בהצלחת הטיפול. החשיבות מתחילה מכך, שאם התגובה השחלתית טובה יתפתחו הרבה זקיקים שיניבו הרבה ביציות וחלקן לפחות יופרה. בנוכחות מספר עוברים ניתן לברור את הטובים יותר להחזרה ולאלו יש פוטנציאל יצירת הריון גבוה יותר. אם נחזיר מספר גדול יותר (עד 4) של עוברים באיכות גבוהה, יגדל הסכוי להריון מהממוצע שלנו של 26%-28% ויגיע ל- 35%-40%.

לפני ההחזרה מועברים העוברים מנוזל המצע בו שהו באינקובטור לתמיסה מועשרת בנסיוב האישה ונטענים לתוך צינורית טפלון דקה עם טיפה מתמיסת המצע. לקראת החזרת העוברים המטופלת מתבקשת לשתות מספר כוסות שתיה כדי למלא את שלפוחית השתן. המילוי מיישר את הרחם (רוב הרחמים ממוקמים באגן בכפיפה קדמית) ומאפשר החדרה קלה יותר ולא טראומטית של הצינורית, ואף הראינו שפור בשעור ההריונות בשיטה זו. מילוי השלפוחית אף מאפשר להעזר באולטרהסאונד בטני במקרי קושי בהחזרה עקב היצרות או עקמומיות בתעלת צואר הרחם. גורמים רבים עשויים להשפיע על השרשת העובר ברחם. ביניהם כמוכך איכות העובר והתאמתה של רירית הרחם לקליטתו, אך גם טכניקת ההחזרה. החדרת חיידקים דרך תעלת הצואר בתהליך ההחזרה עלולה להפריעה בקליטה. טראומה לריריות במהלך ההחזרה עם שחרור הורמון מקומי - פרוסטגלנדין, עלולה לגרום להתכווצויות הרחם ופליטת העובר אל מחוץ לחלל הרחם, אל הנרתיק או החצוצרות. גם כמות נוזל גדולה מדי בצינורית ההחזרה עלולה לגרום לשטיפת העובר אל מחוץ לחלל הרחם. כדי להתגבר על בעיות אלה

נוסו בעבר מספר שיטות כירורגיות של הזרקת עוברים לרירית הרחם, ביניהן גישה דרך שלפוחית השתן ודופן הרחם או דרך הנרתיק ודופן הרחם, אך ללא הצלחה יתרה. בשיטה חדשה שנוסתה לאחרונה הוחדרו העוברים לעובי הרירית דרך תעלת הצואר. כדי למנוע שטיפת העובר החוצה בעקבות החזרה לחלל הרחם, אנו משתמשים בטיפת נוזל של 10-15 מיקרוליטר, וכדי למנוע החזרה טראומטית אנו מחזירים עוברים רק לאחר יישור הרחם באופן פאסיבי ע"י השלפוחית המלאה, ונעזרים באולטרהסאונד למיקום ההחזרה כדי לא לחדור קרוב מידי לפתחי החצוצרות. כדי להגביר את סיכויי התאמתה של רירית הרחם לקליטת העובר אנו משתדלים להחזיר עוברים לרחם רק כאשר עובי רירית הרחם מפותח (9 מ"מ או יותר). במקרים בהם הרירית אינה עבה דיה, נשקול הקפאת העוברים והחזרתם לרחם במועד אחר לאחר הכנה מתאימה של הרירית.

במסגרת המאמצים לשפר את תוצאות ההפריה החוץ-גופית היו נסיונות להשתמש בדבק ביולוגי העוטף את העוברים המוחזרים ואמור למנוע פליטתם מהרחם, אך גם חידוש זה לא הביא שיפור בשיעור ההריונות.

2. תמיכה הורמונלית לאחר החזרת העוברים

לאחר החזרת העוברים המטופלת נשארת במנוחה במיטה כשעה ואח"כ נוסעת לביתה עם המלצה לפעילות גופנית מופחתת למשך שבועיים-שלושה במסגרת עבודתה. אין המלצה לשכיבה במיטה כיון שאין הוכחה להשפעתה על סכויי ההריון ומאד מעיקה על חלק מהנשים. עם זאת יש בהחלט צורך, ביחוד במחזורי הפריה חוץ-גופית שטופלו בתואמי-GnRH, בתמיכה הורמונלית במהלך התקופה שלאחר ההחזרה עד לקבלת תוצאות בדיקת ההריון. התמיכה ניתנת כטיפול מונע למצב של אי-ספיקת הגופיפים הצהובים בשחלות, שתפקידם לייצר אסטרוגנים ופרוגסטרון לתמיכה ברירית הרחם. קיימות הוכחות שמחזורים שטופלו בתואמי-GnRH נוטים יותר למצב של אי-ספיקת הגופיפים הצהובים בשל העדר התמיכה של ההורמון LH שהפרשתו מדוכאת במחזורים אלה. קיימים פרוטוקולים רבים לתמיכה הורמונלית, ואין חשיבות רבה לסוג הטיפול ובלבד שתישמר רמה הורמונלית תקינה שתבטיח את התפתחותה התקינה של רירית הרחם והתאמתה לקליטת הריון. הפרוטוקולים הנפוצים כוללים תכשירי פרוגסטרון בטבליות נרתיקיות (בית מרקחת דיזנגוף) הניתנות במינון של 50-200 מ"ג ליום, או בזריקות (גסטון) הניתנות במינון של 50-100 מ"ג ליום. קיימים גם תכשירים בכדורים לשמוש דרך הפה (Micronized Progesterone, ביפסטון). סוג אחר של תמיכה הוא ע"י זריקות כוריגון או

פרגניל המכילים גונדוטרופין שלייתי בעל פעילות דמוית LH, ופעולתו היא דרך הגופיפים הצהובים אותם הוא מגרה לייצור אסטרוגנים ופרוגסטרון. ניתן במינון של 2500-5000 יחידות כל 4-5 ימים. לא נמצא יתרון לפרוטוקול זה על פני השמוש בפרוגסטרון. במקרים מסוימים ניתן גם לשלב את שניהם. אין לתת כוריון בנוכחות סימני גירוי יתר שחלתי עקב יכולתו להחמיר את הבעיה.

3. החזרה לחצוצרות

ב- 1984 הוצגה שיטה להחזרה של ביציות וזרע לחצוצרות באמצעות לפרוסקופיה שנקראה GIFT (Gamete Intra Fallopian Transfer). הרעיון מאחוריה הוא לאפשר לביציות ולעוברים להפגש במקום המפגש הטבעי ובכך נשיג תנאי גידול טובים יותר מאלו שהמעבדה יכולה לספק באינקובטור וכתוצאה מכך איכות העוברים תהיה טובה יותר. בנוסף, העוברים מגיעים לרחם במועד הטבעי ולכן יהיו מוכנים להשרשה יותר מאשר העוברים בני היומיים שאנו מחדירים לרחם בהפריה חוץ-גופית רגילה. גישה זו הוכיחה את יעילותה, ואמנם שעור ההריונות אחרי GIFT בלפרוסקופיה עולה במעט על זה שבהפריה רגילה (כ- 35%). מגבלות השיטה הן בכך שניתן לישמה רק במקרים בהם החצוצרות תקינות, ולא ניתן לישמה בכל המקרים של עקרות מכנית מחשש להריון חצוצרתי. כמו כן, אין כל מידע אם היתה הפריה ותקינותה פרט לאותם מקרים שהרו, אם כי ניתן ללמוד על שיעור ההפריה בעקיפין משיעור ההפריה של הביציות העודפות אשר לא הוחזרו לחצוצרה ועברו הפריה חוץ-גופית. כדי לודא הפריה לפני ההחזרה הוכנס שינוי בשיטה, ובגרסתה החדשה הביציות מופרות במעבדה, עוברות אינקובציה עד למחרת, תקינות ההפריה נבדקת (לודא הפריה ע"י זרעון אחד בלבד) והביצית המופרת בשלב של שני קדם-גרעינים (זיגוטה) מוחזרת לחצוצרה - ZIFT (Zigote Intra Fallopian Transfer) יממה אחרי השאיבה. לשיטה זו יש יתרון במקרים עם בעית פוריות הגבר בהם שעור ההפריה נמוך, וכך ניתן להחזיר לחצוצרה רק ביציות שהופרו. שיטה נוספת שיתרונה לא הוכח היא החזרת עוברים (48 שעות אחרי השאיבה) לחצוצרה - TET (Tubal Embryo Transfer). מגבלה נוספת של שיטות ההחזרה המקוריות לחצוצרות היתה הצורך לבצע לפרוסקופיה ע"מ להגיע לחצוצרות בהיות פתחה של החצוצרה מצד הרחם צר מאוד. על מגבלה זו התגברנו בעזרת פיתוח של קטטר ארוך ודק במיוחד המאפשר החזרת הביציות לחצוצרה דרך הרחם. פעולה זו פשוטה ביותר, אינה כואבת ולכן אין צורך בהרדמה. מילוי שלפוחית השתן עוזר לישר את הרחם ומקל על הנחיית הפעולה בעזרת האולטרהסאונד. כך ניתן לעקוב אחר הקטטר במעברו בחלל הרחם והחדרתו לפתח החצוצרה ולצפות בזרימת נוזל המצע

עם הביציות לתוך החצוצרה. במטרה להרחיב את חלון ההשרשה אנו משלבים שתי גישות להחזרה באותו מחזור טיפול ומבצעים GIFT במועד שאיבת הביציות או ZIFT למחרת בשלוב עם החזרת עוברים יומיים לאחר השאיבה, דבר שהביא להשגת הריונות במספר מקרים עם כשלונות חוזרים בעבר.

4. הכנת הרחם לתרומת ביציות

ההכנה מתבססת על בנית רירית הרחם ע"י אסטרדיול ופרוגסטרון הניתנים למטופלת באופן מחזורי בהעדר פעילות שחלתית עצמית ברוב הנתרמות. מאחר ומועד התרומה אינו ידוע מראש אנו בונים "חלון" של כשבועיים שבמהלכם ניתן לקבל את תרומת הביציות. בנית החלון מתבססת על מחקרים קודמים שהראו כי אחרי 7 ימים של תמיכה אסטרוגנית מגיעה רירית הרחם ליכולת להגיב לטיפול בפרוגסטרון ולעבור הבשלה מתאימה לקראת קליטת העובר. פוטנציאל זה של הרירית נשמר כשבועיים שבמהלכם ניתן להתחיל טיפול בפרוגסטרון עם קבלת התרומה. במקביל הביציות שנתרמו מופרות בזרע בעלה של הנתרמת ומוחזרות לרחם כעבור 48-72 שעות מקבלת התרומה. ההחזרה נעשית באותה שיטה שתוארה לעיל. ניתן גם לקבל תרומת ביציות עבור אשה שרירית רחמה אינה מוכנה עדיין להחזרה. במקרה כזה הביציות מופרות ע"י זרע בעלה והעוברים הנוצרים מההפריה מוקפאים ויופשרו במועד המתאים. שעור ההריונות בתרומת ביציות דומה לממוצע ההתווריות האחרות להפריה חוץ-גופית.

יא. הקפאת עוברים וביציות

השראת הביוץ באמצעות גונדוטרופינים הגורמת להתפתחות זקיקים רבים בשחלות מהם נשאבות ביציות רבות, והשיפור בשיטות ההפריה וגידול העוברים הביאו לכך שבמחזורים רבים עומדים לרשותנו עודפי עוברים. עקב הסיכון המוגבר להריונות מרובי עוברים, ביחוד הריונות של רביעיה ומעלה הכרוכים בסיכונים מוגברים גם לעוברים וגם לאם, מוגבל מספר העוברים המוחזרים לרחם לשניים עד ארבעה עוברים. את עודפי העוברים ניתן לשמור בהקפאה עמוקה (-196°C) לזמן רב ולהחזירם לרחם האשה במחזור אחר. סיבות נוספות להקפאה כוללות חשש מגירוי יתר שחלתי קשה בו הריון יכול להתמיר את הבעיה, התפתחות רירית רחם לא מספקת, הכנת מלאי עוברים להחזרה במועד אחר לפני כריתת השחלות, כימותראפיה או הקרנות עקב גידול, תרומת ביציות והפרייתן בזרע הבעל במועד לא מתאים להחזרתן לרחם מבחינת הכנת רירית הרחם או מחלה פתאומית של האשה.

ישנם גם מצבים בהם נדרשת הקפאת ביציות:

(1) לשמירת ביציות במקרים שיש חשש לאבדן היכולת ליצר ביציות בשחלות כמו לפני הקרנה, כימותראפיה, נתוח לכריתת השחלות. (2) לשמירת ביציות הנתרמות עבור נשים ללא פעילות שחלתית. (3) לסינכרוניזציה בין התורמת והנתרמת במקרי תרומת ביציות. (4) כגיבוי לטכניקת GIFT (החזרת ביציות לחצוצרה). (5) במקרים בהם בוצעה שאיבת ביציות להפריה חוץ-גופית אך זרע הבעל באיכות שאינה מאפשרת הפריה או שאינו מצליח לתת זרע. הקפאת ביציות אינה מוצלחת כמו הקפאת עוברים ושעור הביציות השורדות את תהליך ההקפאה נמוך יותר.

קיים מכשול ביופיסיקלי שיש להתגבר עליו כדי למנוע פגיעה בעוברים במהלך הקפאתם והפשרתם. היווצרות קרח בתוך התאים במהלך הורדת הטמפרטורה עלולה לגרום לשבירת ממברנות התאים ובכך לנזק בלתי הפיך לשלמות התאים. במהלך הורדת הטמפרטורה מופיעים בשלב ראשון גבישי קרח במצע בו שרויים העוברים. עליית ריכוז המומסים במצע כתוצאה מקפיאת המים גורמת ליציאת מים מן התאים (דהידרציה). הופעת גבישי קרח בתוך התאים תחל בטמפרטורה נמוכה יותר, ואם קצב הורדת הטמפרטורה איטי, יאבדו התאים אחוז ניכר מנפח המים ובכך תמנע הופעת גבישי קרח בתוכם. הורדה איטית של הטמפרטורה מבוצעת באמצעות מכשיר הקפאה ממוחשב שביכולתו לווסת את הורדת הטמפרטורה בקצב שיקבע מראש. בקביעת הקצב ילקחו בחשבון נתונים כמו סוג התא להקפאה, גודלו ותכונות חדירות הממברנה וזאת כדי להשיג את מירב איבוד המים מן התאים לפני שיחל להיווצר קרח תוך-תאי. כדי להגן על התאים במהלך תהליך ההקפאה מוספים לתמיסת ההקפאה חומרים מגיני קפיאה (Cryoprotectants). חומרים אלה גורמים להורדת טמפרטורת הקפאון בתאים ומאפשרים סלוק מים מירבי לפני תחילת הקפאון. עם זאת, החומרים המגינים הינם גם רעילים לתאים ולפיכך יש להרחיקם במהלך תהליך ההפשרה. בעת ההפשרה עלולים גבישי קרח מעטים ששרדו בתא בעת הקפאתו לגרום להרס. הפשרה מהירה מפחיתה סכון זה. בנוסף, כדי למנוע שוק אוסמוטי בעת חדירת מים מהירה אל התאים נחשף העובר בעת הפשרתו למצע נוזלי המכיל רכוזים יורדים של החומר מגן הקפיאה. כמו כן מוסף סוכרוז להשגת שווי משקל אוסמוטי במהלך ההפשרה וההקפאה.

1. שיטות הקפאה והפשרה

(א) הקפאה איטית והפשרה מהירה עם 1,2 Propanediol (PROH)

בשיטה זו המיושמת במעבדתנו נעשה שמוש בתרכובת של 1,2 Propanediol (PROH) בריכוז 1.5M בנוכחות 0.1M סוכרוז. לצורך ההקפאה נדרשות שתי תמיסות, האחת המכילה 1.5M PROH בתוך תמיסת בופר פוספט (PBS) המכילה 20% נסיוב אדם ו- 0.4% אלבומין. התמיסה השנייה זהה לראשונה אך מכילה בנוסף 0.1M סוכרוז. העוברים מועברים לצלחת פטרי ובה תמיסת החומר המגן 1.5M PROH ושוהים בה 15 דקות בטמפרטורת החדר. בשלב זה מועברים העוברים למבחנת ההקפאה המכילה 0.25 מיליליטר של חומר המגן (1.5M) בנוכחות סוכרוז (0.1M). המבחנה מועברת למכשיר ההקפאה המקרר מטמפרטורת החדר עד -8°C בקצב של 2°C לדקה. הקפאון בתמיסה בה שוהים העוברים מושרה ע"י נגיעה במלקחיים מקוררים במבחנת ההקפאה משני צידיה (Seeding). משלב זה מקוררת המערכת בקצב איטי של 0.3°C לדקה עד -30°C . בסיומו של תהליך זה מועברת מבחנת ההקפאה לאחסון במיכלים המכילים חנקן נוזלי בטמפרטורה של -196°C . שיטת הקפאה זו נמצאה מתאימה ביותר לעוברים בני 2-4 תאים.

הפשרת העוברים שהוקפאו בחומר המגן PROH הינה מהירה. המבחנה המכילה את העוברים מוחזקת לאחר הוצאתה ממיכל החנקן הנוזלי בטמפרטורת החדר למשך דקה אחת. אחר-כך מושרית המבחנה למשך דקה וחצי באמבט מים של 30°C עד להפשרה מלאה של הנוזל במבחנה וזה מועבר לסדרת תמיסות המכילות רכוזים יורדים של חומר המגן PROH: 0.0M, 0.5M, 1.0M, 1.5M בנוכחות 0.2M סוכרוז בכל תמיסה. ההדגרה הינה של 5 דקות בכל תמיסה ולאחר-מכן נשטפים העוברים 3 פעמים בתמיסת בופר פוספט (PBS) ללא חומר מגן, והם מוכנים להחזרה אל הרחם. שיעורי ההריון המתקבלים הם 12%-17%.

(ב) הקפאה והפשרה איטית עם Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

העוברים שוהים בתמיסה המכילה DMSO בריכוז של 0.75M בטמפרטורת החדר למשך 10 דקות. העוברים מועברים למבחנת הקפאה מיוחדת המוכנסת למכשיר ההקפאה. בשלב זה יחל תהליך הקרור בקצב של 2°C לדקה עד -6°C . תהליך ה-Seeding מושרה כמתואר קודם. משלב זה מקוררים העוברים בקצב של 0.3°C לדקה עד -30°C . מכאן מועברת המבחנה המכילה את העוברים למיכל של חנקן נוזלי (-196°C). הקפאת עוברים תוך שמוש ב-DMSO נמצאה מתאימה יותר לעוברים בני 4-8 תאים.

שיטת ההפשרה שנמצאה מתאימה לתהליך הקפאה זה הינה איטית ובה מועלית הטמפרטורה בקצב של 8°C לדקה עד 20°C בקרוב.

ג) שיטת הקפאה על-מהירה - Ultrarapid Freezing

שיטה זו הינה מהירה וזולה משתי השיטות שתוארו ואינה מצריכה ציוד מעבדתי מורכב להקפאה. העוברים מוכנסים למצע גידול המכיל DMSO 3.5M ו-0.25M סוכרוז. הנוזל מועבר לקשיות הקפאה המוכנסות ישירות לחנקן נוזלי. ההפשרה מבוצעת ע"י השריית הקשיות באמבט של 37°C למשך 40 שניות, הרחקת חומר המגן נעשית ע"י הדגרת העוברים במצע המכיל 1.0M סוכרוז למשך 10 דקות ואח"כ במצע ללא סוכרוז למשך 10 דקות נוספות.

2. הערכת תוצאות ההקפאה/הפשרה

עוברים נחשבים ראויים להחזרה לרחם אם בתום תהליך ההקפאה וההפשרה מספר התאים התקינים עולה על מחצית מספר התאים שהכיל העובר לפני הקפאתו. לא הוגדר השלב העוברי המתאים ביותר להקפאה והריונות דווחו מהחזרת עוברים שהוקפאו החל משלב הקדם-גרעינים ועד לשלב של 8 תאים ויותר. ניתן באופן שתואר לגבי עוברים להקפיא גם ביציות בלתי מופרות. אך כמו שנאמר לעיל, הנסיון להקפיא ביציות בלתי מופרות אינו מוצלח כמו הקפאת עוברים ונמצאה השפעה מזיקה על כושר החלוקה של הביציות, על חיותן ועל כושר הפרייתן בשל נזק למעטפת השקופה ולכישור החלוקה. יישום הקפאת ביציות לפיכך אינו נפוץ עדיין.

3. החזרת מוקפאים

ההכנה להחזרת מוקפאים יכולה התבסס על מחזור הביוץ הטבעי, על השראת ביוץ או על מחזור מלאכותי. במחזור הטבעי או במחזור בו ניתנות תרופות לגרימת ביוץ כמו קלומיפן או פרגונל, נקבע מועד הביוץ לפי הקריטריונים של התפתחות הזקיק המוביל ופקיעתו, ובמקביל עלית רמת האסטרוגנים, עלית רמת LH לקראת הביוץ (או מתן כוריוגון) ועלית רמת הפרוגסטרון בעקבות הביוץ. לאחר אבחון הביוץ נקבע מועד להפשרת העוברים המוקפאים והחזרתם כך שגילם בעת ההחזרה יחפוף את לוח הזמנים של מחזור הקפאתם. שיטת ההחזרה זהה לשיטת החזרת העוברים שתוארה לעיל. ההחזרה במחזור מלאכותי מיועדת בעיקר לנשים ללא ביוץ סדיר ומתבססת על בניה של רירית הרחם באופן מחזורי עם אסטרוגנים בתחילה ובהמשך אסטרוגנים ופרוגסטרון כחיקוי לפעילות ההורמונלית של השחלות במחזור הביוץ. הפשרת העוברים והחזרתם לרחם מתוכננת ליום השלישי מתחילת התמיכה בפרוגסטרון. לשיטה זו יתרון לוגיסטי בכך

שניתן להאריך או לקצר את חלקו הראשון של מחזור הטיפול, השלב האסטרטגי, ולמנוע צורך בהחזרה בשבת או חג.

י"ב. הריון

הריון ניתן לאבחון בחלק מהמקרים אחרי תריסר ימים, אך הבדיקה עלולה להיות שלילית עד 17 יום אחרי ההחזרה גם בנוכחות הריון מתפתח. לכן כדי למנוע מתח מיותר והפסקת טיפול תומך לפני הזמן עם אבדן ההריון אנו ממליצים להמשיך את הטיפול התומך 20 יום ורק אז לבצע תבחין הריון. כאשר תשובת תבחין ההריון שלילית המטופלת מפסיקה את הטיפול התומך ותקבל וסת כעבור ימים ספורים. כאשר התשובה חיובית (β -hCG מעל 10 יחידות למ"ל) נמשיך את הטיפול התומך בגופיפים הצהובים עקב הסיכון המוגבר להפלה (20%-30%). התמיכה תמשך כל השליש הראשון של ההריון עד להשלמת התמיכה ההורמונלית ע"י השליה. לאחר תרומת ביציות תימשך התמיכה בד"כ זמן רב יותר עקב העדר פעילות שחלתית, ועשויה להמשך עד כדי מחצית ההריון. את שק ההריון ניתן לראות באולטרהסאונד החל מ- 20 יום אחרי ההחזרה, כך שבמועד בדיקת ההריון הראשונה אנו יכולים במקרים רבים כבר להוכיח נוכחות ההריון ברחם. הוכחה זו חשובה ביותר עקב שכיחות מוגברת של הריונות מחוץ לרחם (בעיקר בחצוצרה) בהריונות אחרי הפריה חוץ-גופית, ויש המדווחים על שעור גבוה עד כדי 5% מההריונות. אבחנת הריון מחוץ לרחם נעשית באופן ישיר ע"י הדגמת שק ההריון עם העובר במיקום כלשהו מחוץ לחלל הרחם (מיקומים אפשריים כוללים את החצוצרות, השחלות, צואר הרחם ואברי חלל הבטן), או בעקיפין ע"י מדידת רמה הורמונלית גבוהה (β -hCG מעל 1000-2000 יח') ללא נוכחות שק הריון ברחם. במקרים נדירים (1:200) ניתן למצוא נוכחות סימולטנית של הריון תוך-רחמי והריון חוץ-רחמי. לעיתים תבחין ההריון חיובי ואין הופעת שק הריון אך רמת β -hCG יורדת. האבחנה המבדלת במקרה כזה היא בין הריון כימי, להבדילו מהריון קליני בו נראה שק הריון באולטרהסאונד, לבין הריון מחוץ לרחם שעבר הפלה נרחית. התפתחות הריונות מהפריה חוץ גופית אינה שונה מהריונות טבעיים פרט לתיעוד המדויק של מועד התחלת ההריון. החל משלושה וחצי שבועות אחרי ההחזרה (חמישה שבועות ושלושה ימים מהוסת האחרון), ניתן לעיתים להבחין בפעימות לב העובר בתוך שק ההריון. המשך המעקב בדרך כלל תכוף יותר מהריונות טבעיים (אחת לשבועיים בשליש הראשון) עקב הסיכון המוגבר להפלה ולהריון מחוץ לרחם. קיימת גם שכיחות גבוהה של הריונות מרובי עוברים (20%-30%) המעלה את סכוני ההריון. במקרים של הריונות עם 3 עוברים ויותר נשקלת האפשרות לבצע הפחתת עוברים

כדי להפחית את הסיכון ליתר העוברים, עקב שיעור תמותה ותחלואה מוגבר, ואת הסיכון לאם עקב שיעור מוגבר של סיבוכי הריון כמו יתר לחץ-דם, סכרת ועוד.

י"ג. סיכום

הפריה חוץ-גופית נהוגה היום בכל העולם. על תוצאות הטיפול, גם כיום, יכול להעיד סיכום תוצאות הרישומים הלאומיים השונים הכוללים כ- 54,000 נשים שטופלו בשנים 1985-1989. ברבע מיליון מחזורי טיפול ובעקבותיהם 160,000 החזרות עוברים, נולדו יותר מ- 34,000 ילדים. שליש ממהריונות אבדו עקב הפלות (26%) או הריונות מחוץ לרחם (6%). שיעור ההריונות מרובי העוברים (22%) היה גבוה משמעותית מהשיעור הטבעי, והעלה את שיעור הלידות המוקדמות והתמותה הסב-לידתית. לא נצפתה עליה בשיעור המומים המולדים (2.25%). במשך השנים לא חל שפור משמעותי בשיעור ההצלחה העולמי, אך ההתוויות לטיפול התרחבו מאד, וחלקה היחסי של העקרות המכנית שהיתה ההתוויה העיקרית בעבר, הצטמצם למדי בעוד חלקם היחסי של העקרות הבלתי מוסברת ושל עקרות הגבר גדל. אין ספק שיעילות הטיפול הוכחה בהתוויות השונות, וכך גם בטיחותו מבחינת הנסיון בהשראת התפתחות הזיקים כהכנה לשאיבת ביציות, בטכניקות שאיבת ביציות, בטכניקות החזרת ביציות ועוברים וגם מבחינת התוצאות. יש עדיין מקום לשיפור התוצאות, וכאן אנו תולים תקוות בשיפורים המעבדתיים שהוכנסו בשנים האחרונות, כמו מצעי תרבית תאים משופרים ושיטות הזרקת זרע לביציות. כמו כן, התהליך פתח צוהר, באמצעות ביופסיה של עוברים וטכניקות של הנדסה גנטית, לאבחון וריפוי טרם-ההשרשה של מחלות תורשתיות ומומים מולדים ולהבנה מעמיקה יותר של תהליכי החיים.

מאמרים לעיון נוסף:

1. Lewin, A., Margalioth, E.J., Rabinowitz, R., Schenker, J.G., "Comparative Study between Ultrasonically Guided Percutaneous Aspiration under Local Anesthesia and Laparoscopic Aspiration of Follicles in an In-Vitro Fertilization Program." *Am. J. Obstet. Gynecol.* 151:621, 1985.
2. Lewin, A., Schenker, J.G., "Evaluation of Male Infertility." *Mada* 29:282, 1985.
3. Navot, D., Laufer, N., Rabinowitz, R., Lewin, A., Birkenfeld, A., Granat, M., Schenker, J.G., "Artificially Induced Endometrial Cycles and Establishment of Pregnancies in the Absence of Ovaries." *N. Eng. J. Med.* 314:806, 1986.

4. Lewin, A., Laufer, N., Rabinowitz, R., Margalioth, E.J., Barr, I., Schenker, J.G., "Ultrasonically Guided Oocyte Collection under Local Anesthesia - The first choice method for In-Vitro Fertilization; A comparative study with Laparoscopy." *Fertil. Steril.* 46:257, 1986.
5. Lewin, A., Laufer, N., Rabinowitz, R., Schenker, J.G., "Ultrasonically Guided Oocyte Recovery for In-Vitro Fertilization: An improved method." *J. IVF Embryo Transfer* 3:370, 1986.
6. Schenker, J.G., Simon, A., Laufer, N., Lewin, A., "Micromanipulation of Gametes - New Aspects in In-Vitro Fertilization." *Harefuah* 116:149, 1989.
7. Lewin, A., Laufer, N., Yanai, N., Simon, A., Zohav, E., Berger M., Schenker, J.G., "Double Transfer of Embryos in In-Vitro Fertilization, or, Is there a delayed receptivity of the Endometrium." *J. IVF Embryo Transfer* 6:139, 1989.
8. Lewin, A., Zohav, E., Schenker, J.G., "The Role of Ultrasonography in In-Vitro Fertilization." In: Kuriak, A. (ed), *Handbook of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. CRC Press, USA, 1990.
9. Lewin, A., Tal, Z., Zohav, E., Schenker, J.G., "Ultrarapid Freezing and Thawing of Hamster Oocytes and the Use of Morphological Parameter, Trypan Blue Staining and Sperm Penetration Assay for Evaluation of Survival." *J. Reprod. Med.* 35:136, 1990.
10. Lewin, A., Simon, A., Rabinowitz, R., Schenker, J.G., "Second Trimester Heterotopic Pregnancy after In-Vitro Fertilization and Embryo Transfer - A Case Report and Review of the Literature." *Int. J. Fert.* 36(1), 1991.
11. Chillik, C., "Ovarian Stimulation for Assisted Reproduction." *Assist. Reprod. Reviews* 2:29-35, 1992.
12. Noda, Y., "Embryo Development In-Vitro." *Assist. Reprod. Reviews* 2:9-15, 1992.
13. Ezra, Y., Peled, Y., Lewin, A., "The Value of Serum Estradiol and Progesterone Levels and their Ratio in Predicting the Outcome of In-Vitro Fertilization Cycles." *It J Gynaec Obstet* 4:156-159, 1992.
14. Ezra, Y., Schenker, J.G., "Appraisal of In-Vitro Fertilization." *Eur. J. Obstet Gynecol* 48:127-133, 1993.
15. Lewin, A., Benshushan, A., Mezker, E., Avrech, O., Schenker, J. G., Goshen, R., "The Role of Estrogen Support during the Luteal Phase of In-Vitro Fertilization Cycles - A Comparative Study between Progesterone Alone and Progesterone + Estrogen Support." *Fertil Steril* 62:121-125, 1994.