

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МЕТОДЫ, УЛУЧШАЮЩИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКО

ADDITIONAL METHODS THAT IMPROVE IVF RESULTS

**L. Belikova
E. Gorokhov
O. Konstantinova
N. Vorontsova
Z. Sennikova**

Summary. Despite the fact that in vitro fertilization is a fairly effective reproductive technology used in infertility, in some cases there is an objective need to use additional methods that improve the results of the procedure. The article provides a brief analysis of such methods, as well as justifies the need for the use of a method depending on the overall clinical picture. The overall effectiveness of the application of additional methods is estimated, including on the basis of a brief analysis of statistical data.

Keywords: diagnosis, embryo, pregnancy, shiny shell, implantation, method, endometrium.

В настоящее время, развитие репродуктивной биологии и репродуктивных технологий позволили улучшить результаты применения вспомогательной репродуктивной технологии, и открыл новые возможности диагностики. Однако эффективность новых методов лечения и диагностики изучена не полностью. В связи с этим, существует объективная необходимость в применении дополнительных методов, которые существенно улучшают результаты лечения бесплодия, показания к ним и их эффективность.

Первым дополнительным методом, который стоит рассмотреть в рамках представленного исследования, является метод культивирования бластоцист. Так, в рамках данного метода, через 2–3 дня после оплодотворения ооцит содержит 2–8 клеток, через 3–4 дня он достигает стадии морулы, через 5–6 дней — стадии бластоцисты, и к этому времени блестящая оболочка разрывается и происходит хэтчинг. В естественном цикле бластоциста достигает полости матки на 4–5-й день

Беликова Любовь Вадимовна
Оренбургский государственный медицинский университет
nice.lyubanka@inbox.ru

Горохов Евгений Александрович
Оренбургский государственный медицинский университет

Константинова Ольга Дмитриевна
Д.м.н., профессор, Оренбургский государственный медицинский университет
const55@mail.ru

Воронцова Наталья Александровна
Ассистент, Оренбургский государственный медицинский университет
vna11@bk.ru

Сенникова Жанна Владимировна
К.м.н., ассистент, Оренбургский государственный медицинский университет

Аннотация. Несмотря на то, что экстракорпоральное оплодотворение является достаточно эффективной репродуктивной технологией, применяемой при бесплодии, в ряде случаев возникает объективная необходимость в использовании дополнительных методов, улучшающих результаты процедуры. В статье дается краткий анализ таких методов, а также обосновывается необходимость применения того или иного метода в зависимости от общей клинической картины. Оценивается общая эффективность применения дополнительных методов, в том числе, на основе краткого анализа статистических данных.

Ключевые слова: диагностика, эмбрион, беременность, блестящая оболочка, имплантация, метод, эндометрий.

после овуляции. Через 1–2 дня после этого происходит имплантация эмбриона. При продленном культивировании до стадии бластоцисты эмбрион переносят тогда, когда он, будучи в естественном цикле, достиг бы матки.

Скорость деления эмбрионов с сохранением способности к дальнейшей дифференцировке при продленном культивировании все лучше поддается контролю. Соответственно, появляется возможность лучше оценить потенциал развития эмбриона на стадии бластоцисты и лучше распознать нарушение раннего эмбрионального развития как причины повторных неудач экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Но роль культивирования эмбрионов до стадии бластоцисты, как правило, состоит в том, что оно повышает шансы на успешную имплантацию за счет селекции эмбрионов с наиболее высоким потенциалом развития.

Селекция эмбрионов: наибольшее клиническое значение культивирования бластоцист состоит в том, что

оно дает возможность селекции эмбрионов с наиболее высоким потенциалом развития, что в свою очередь повышает шансы наступления беременности. Однако точно оценить количественную сторону такого повышения трудно. Во-первых, данные национальных регистров сопоставимы лишь условно, во-вторых, преимущество селекции эмбрионов существенно зависит от количества получаемых, а, следовательно, и отбираемых эмбрионов. Наконец, следовало бы корректно рассчитать кумулятивные шансы наступления беременности после пункции фолликула, так как без селекции эмбрионов при криоконсервировании оплодотворенные ооциты с очень высоким потенциалом развития не теряются, а используются позднее в цикле с переносом размороженных эмбрионов.

Если, несмотря на указанные ограничения, попытаться оценить частоту наступления беременности, сравнивая национальные регистры различных стран, то этот показатель в Германии и Швейцарии оказывается сопоставимым с показателем в Австрии. В Германии в 2007 г. шансы наступления беременности в пересчете на одну аспирацию без селекции эмбрионов на 4% ниже, чем в Австрии, где селекция эмбрионов разрешена. Однако в Австрии чаще выполняют также перенос одного эмбриона. Поэтому трудно рассчитать, тем не менее оно, по-видимому, составляет несколько процентов. Однако с селекцией эмбрионов повышается также частота выполнения овариального дриллинга.

В некоторых европейских странах возможность повышения шансов наступления беременности после селекции эмбрионов учитывается в политике в области здравоохранения, чтобы уменьшить число случаев многоплодной беременности. Так, в Бельгии количество эмбрионов на один перенос ограничено. Например, женщине моложе 35 лет переносят только один эмбрион, если перенос выполняется впервые. В результате перечисленных мер частота рождения двоен в Бельгии снизилась с 25 до 10%.

Поляризационная микроскопия ооцита: с помощью поляризационного микроскопа удастся рассмотреть блестящую оболочку, наружную оболочку яйцеклетки с ее тремя гликопротеиновыми слоями. По состоянию блестящей оболочки можно судить о потенциале развития яйцеклетки. Кроме того, поляризационный микроскоп позволяет также увидеть веретено деления клетки. Яйцеклетку можно считать зрелой только в том случае, если наряду с первым полярным тельцем видно веретено деления. Яйцеклетки без видимого веретена деления берутся для инъекции сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки (ИКСИ) только в том случае, если в них позднее удастся увидеть веретено деления.

При поляризационной микроскопии ооцит помещают в стеклянную чашечку, через которую пропускают различные типы поляризованного света. Благодаря двойному лучепреломлению удастся рассмотреть блестящую оболочку и веретено деления и оценить полученные данные с помощью компьютерной обработки. Уплотнение блестящей оболочки, часто отмечаемое у пациенток в позднем репродуктивном периоде и после созревания яйцеклетки *in vitro*, и отсутствие видимого веретена деления коррелируют со снижением показателя успешных результатов ЭКО.

Интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов с морфологическим отбором: при ИКСИ отбор сперматозоидов осуществляется при увеличении микроскопа в 400 раз. Такое увеличение дает возможность только ориентировочной оценки морфологических особенностей сперматозоидов. Увеличение в 6000 раз позволяет различить более тонкие детали строения и выявить или исключить вакуоли в ядре. Исследования показали, что отклонения в морфологии сперматозоидов, с одной стороны, снижают шансы наступления беременности после ИКСИ, с другой, повышают частоту анеуплоидии, т.е. отклонений количества хромосом эмбрионов от нормального. В отдельных работах показано, что селекция сперматозоидов с лучшими морфологическими признаками повышает вероятность успешной имплантации эмбриона и снижает частоту абортос как при повторных неудачных имплантациях после ИКСИ, так и при тяжелых формах олигоастенозооспермии.

Вспомогательный хэтчинг: с помощью электронной микроскопии было показано, что перед имплантацией в эндометрий эмбрион выходит из блестящей оболочки. У женщин в позднем репродуктивном периоде и при повторных неудачных имплантациях блестящая оболочка эмбрионов часто бывает уплотнена. Для искусственного надсечения блестящей оболочки (вспомогательный хэтчинг) с целью облегчения выхода из нее эмбриона применяются различные методы: механический, химический (обработка кислотой) и наиболее совершенный — лазерный.

Генетическое исследование полярных тельц: незадолго до овуляции диплоидный набор хромосом переходит в гаплоидный и образуется первое полярное тельце. После проникновения сперматозоида в яйцеклетку происходит второе деление созревания, при котором хромосомы делятся на хроматиды, и выводится набор хроматид с образованием второго полярного тельца. Количество хромосом или хроматид в полярных тельцах и яйцеклетке идентично, так сто исследование полярного тельца позволяет судить о наборе хромосом.

Поскольку анеуплоидия, т.е. отклонение количества хромосом от нормального, имеет преимущественно материнское происхождение и с возрастом учащается, обнаруживаясь по меньшей мере у 50% женщин, достигших 40 лет, анализ полярных телец дает возможность отобрать ооциты с эуплоидным набором хромосом и исключить транслокации материнских хромосом. Анализ полярных телец позволяет также диагностировать отдельные, особенно аутосомные моногенные, заболевания, если женщина является носителем дефекта. Однако значение метода ограничено, так как, с одной стороны, методические погрешности при анализе полярных телец снижают точность диагностики, с другой стороны, женщина с тяжелым генетическим заболеванием часто не вынашивает беременность, что снижает ценность метода.

Преимплантационная диагностика и преимплантационный скрининг: преимплантационная диагностика проводится на стадии 4–8 клеточного эмбриона, т.е. когда ему примерно 3 дня, или на стадии бластоцисты (примерно на 5-й день). Для исследования перед переносом берут соответственно 1–2 бластомера или 1–2 клетки трофэктодермы.

Исследуют хромосомный набор методом флуоресцентной гибридизации *in situ*, подвергают мутационному анализу отдельные гены с помощью полимеразной цепной реакции или секвенирования либо исследуют относительно крупные части генома методом матричной сравнительной геномной гибридизации.

Показаниями к преимплантационной диагностике являются хромосомные аномалии, такие как транслокации, инверсии и инсерции у родителей. Наиболее часто преимплантационную диагностику проводят в тех случаях, когда у родителей имеются наследственные заболевания, передающиеся по аутосомно-рецессивному (муковисцидоз, серповидно-клеточная анемия, спинальная мышечная атрофия) или аутосомно-доминантному (миотоническая дистрофия I типа, хорея Гентингтона, нейрофиброматоз) типу, а также заболевания, ассоциированные с X-хромосомой (синдром fragile X-хромосомы, мышечная дистрофия Дюшенна и гемофилия).

Преимплантационный скрининг технически проводится так же, как и преимплантационная диагностика. Однако его цель состоит не в поиске отдельных хромосомных aberrаций или генетических мутаций, а в том, чтобы проверить, нет ли анеуплоидии у полученных эмбрионов, и выбрать генетически здоровый эмбрион. Полагают, что с помощью преимплантационного скрининга удастся повысить шансы наступления беременности при переносе эмбриона. Однако, в крупных исследованиях было показано, что такого повышения при применении

преимплантационного скрининга не происходит, что, по-видимому, объясняется часто получаемыми ложноположительными и ложноотрицательными результатами и повреждением эмбриона при взятии бластомеров для исследования. Вопрос о том, повышает ли преимплантационный скрининг, проводимый на основании результатов биопсии трофэктодермы, шансы наступления беременности, пока остается открытым.

Улучшение функции эндометрия: многочисленные исследования показали, что нарушение функции эндометрия может быть причиной повторных неудачных имплантаций эмбрионов в программах ЭКО. В связи с этим были предложены различные методы и средства для улучшения функции эндометрия.

Один из подходов основывается на выявленном у пациентов с идиопатическим бесплодием нарушении регуляции экспрессии цитокинов и на том факте, что функция этих цитокинов регулируется другими цитокинами. Удалось также показать, что стимуляция яичников высокими дозами препаратов в программах ЭКО может привести к дисфункции эндометрия.

В эксперименте *in vitro* было показано, что как цитокины, так и простагландины, содержащиеся в семенной плазме, могут оказать благоприятное действие на экспрессию медиаторов в эпителиальных клетках эндометрия. Проспективное рандомизированное двойное слепое контролируемое исследование выявило повышение шансов наступления беременности у женщин, которым при пункции фолликула интрацервикально и интравагинально вводили семенную плазму. Однако данное исследование является экспериментальным, и его результаты требуют подтверждения.

Положительный эффект терапии гепарином и аспирином у пациенток с привычным невынашиванием и антифосфолипидным синдромом позволил предположить, что антикоагулянтное действие такой терапии, возможно, может помочь и при нарушении имплантации у пациенток с тромбофилией или без нее.

В программах ЭКО для повышения частоты успешной имплантации применялись также кортикостероиды. Патогенетическая концепция такой терапии основывается на предположении, что иммунологические нарушения функции эндометрия вызывают повышение активности медиаторов воспаления.

Основываясь на нарушении иммунологического баланса на уровне фетоплацентарного барьера, ряд исследователей при лечении бесплодия систематически вводят пациентам внутривенно Ig G. Такая терапия основывается также на наблюдении, что у пациенток с по-

вторной неудачной имплантацией в крови повышено количество клеток-киллеров. Исходя из этого, имплантация эмбриона, должно быть, снижена из-за антитро-

фобластной иммунной реакции и эту патологическую иммунную реакцию, возможно, удастся подавить инъекциями Ig G.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михель фон Вольфф, Петра Штуте. Гинекологическая эндокринология и репродуктивная медицина. — 2-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2018. — 511 с.
2. Карр Б., Блэкуэлл Р., Азиз Р. Руководство по репродуктивной медицине. — М.: Практика, 2015. — 832 с.
3. Радзинский В. Е., Фукс А. М. Гинекология. — М.: ГЭОТАР-медиа, 2014. — 1000 с.
4. Березовская Е. П. 1000 вопросов и ответов по гинекологии. — 2-е изд. — М.: «Э», 2017. — 432 с.

© Беликова Любовь Вадимовна (nice.lyubanka@inbox.ru), Горохов Евгений Александрович,
 Константинова Ольга Дмитриевна (const55@mail.ru), Воронцова Наталья Александровна (vna11@bk.ru), Сенникова Жанна Владимировна.
 Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Г. Оренбург