

ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ НЕУДАЧАХ ИМПЛАНТАЦИИ В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Жуковская С. В. (мл.)¹, Зверко Н. Л.¹, Жуковская С. В.²

1 – УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2 – МЧУП «Центр репродуктивной медицины»
Минск, Беларусь

ВВЕДЕНИЕ ИЛИ РЕЗЮМЕ

- В настоящее время не существует общепринятого единого подхода к определению понятия рецидивирующих неудач имплантации (РНИ). По мнению группы исследователей Coughlan et al. (2014), рецидивирующими неудачами имплантации следует считать отсутствие наступления клинической беременности при переносе хотя бы четырех эмбрионов хорошего качества минимум в трех циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) (с криоконсервацией или без таковой) у женщин в возрасте до 40 лет. Существуют дефиниции и без уточнения количества перенесенных эмбрионов и возраста матери. Так, в публикации Bashiri et al. (2018) отмечено, что **РНИ можно считать 3 и более попыток ЭКО в анамнезе с переносом бластоцист хорошего качества, не завершившихся наступлением клинической беременности**. Отбор бластоцист хорошего качества осуществляется на 5-е сутки по трем критериям: уровень расширения бластоцеле по мере роста, качество эмбриобласта, качество трофобласта. Клинической называют беременность, визуализированную с помощью ультразвукового исследования. По некоторым оценкам с РНИ сталкивается вплоть до 10% женщин, преодолевающих бесплодие при помощи программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), что делает эту проблему крайне актуальной в сфере вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Известно, что вероятность успешной имплантации эмбриона в программах ЭКО составляет лишь до 15% (из расчета на 1 эмбрион). Существует ряд факторов, напрямую и косвенно влияющих на исходы ЭКО. Известно, что на неудачи имплантации оказывают существенное воздействие возраст матери (35 лет и старше), индекс массы тела более 25 кг/м², курение, стресс, различные иммунные механизмы (в том числе антифосфолипидный синдром и наследственные тромбофилии), инфекции, анатомические и функциональные аномалии матки и эндометрия, а также аномалии кариотипа.
- При исключении **вышеназванных факторов рецидивирующие неудачи имплантации можно считать идиопатическими, то есть имеющими неустановленную этиологию.**

ЦЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель.

- Изучить вклад генетических факторов в структуру причин рецидивирующих неудач имплантации у женщин в программах экстракорпорального оплодотворения.

Задачи:

- Оценить частоту развития эмбрионов до стадии бластоцисты у женщин разных возрастных групп.
- Выявить долю хромосомных аномалий эмбрионов при идиопатических РНИ у женщин при исключении иных причин, способных оказывать неблагоприятное влияние на исходы имплантации.
- Изучить наиболее часто встречающиеся хромосомные аномалии эмбрионов и их связь с возрастом женщин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

- Проведено проспективное исследование на базе МЧУП «Центр репродуктивной медицины» (г. Минск, Беларусь) в 2019-2020 гг. Выборку составили 83 женщины с рецидивирующими неудачами ЭКО. У всех исследуемых пациенток были исключены факторы, влияющие на неудачи имплантации.
- Выделены 2 группы: группа №1 (n=15) – женщины до 35 лет (медиана возраста 30 [29;32] лет); группа №2 (n=68) – женщины 35 лет и старше (медиана возраста 39,5 [38;42] лет).
- У всех исследуемых методом полимеразной цепной реакции были исключены инфекции, передаваемые половым путем (ИППП). Эндокринные нарушения, способные повлиять на исходы имплантации, были исключены путем определения концентрации в сыворотке крови фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона, антимюллера гормона, тиреотропного гормона, пролактина, свободного тироксина, антител к тиреопероксидазе, общего и свободного тестостерона, инсулина и лептина, эстрадиола и прогестерона, кортизола. Исследования проводились на основании хемилюминесцентного метода, использован анализатор иммунохимический Cobas e411 (Япония); реагенты – Roche Diagnostics (Германия).
- С целью исключения хронического эндометрита всем пациенткам проводилась аспирационная биопсия эндометрия с последующим иммуногистохимическим исследованием для поиска маркеров плазматических клеток – CD138.
- Также всем женщинам исследуемой группы и их супругам проводилось кариотипирование лимфоцитов периферической крови – результаты в пределах нормы.
- Затем всем пациенткам была выполнена процедура ЭКО, которая включала в себя проведение контролируемой овариальной стимуляции, трансвагинальную пункцию фолликулярной жидкости под УЗ-контролем, оплодотворение яйцеклеток методом ICSI (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов), культивацию эмбрионов. Преинкубация, оплодотворение ооцитов, а также культивирование эмбрионов осуществлялись в средах для культивирования фирмы «ORIGIO» (Дания).
- Проводился предимплантационный генетический скрининг методом NGS (секвенирование нового поколения) с использованием полногеномного секвенатора MiSeq (Illumina Inc., США). Материал для исследования был получен путем биопсии трофэктодермы эмбрионов. Эмбрионы подвергались криоконсервации с последующим хранением в сосудах с жидким азотом.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первой группе женщин получено 85 эмбрионов: среднее количество эмбрионов в расчете на одну пациентку составило 5,7. Из них развились до стадии бластоцисты 33 эмбриона. Таким образом, процент развития эмбрионов до стадии бластоцисты в группе женщин до 35 лет составил 38,8%.

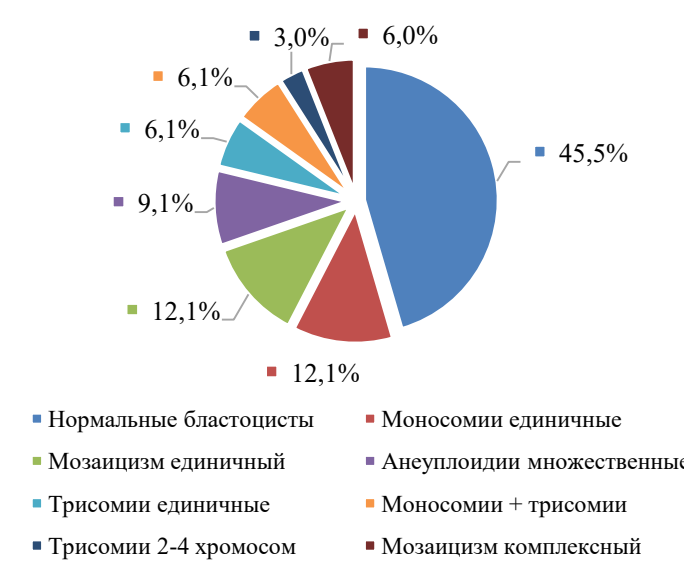
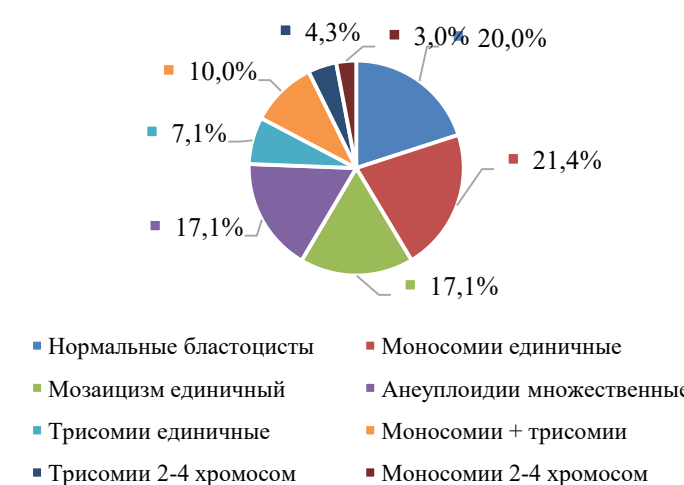


Рисунок 1 – Результаты предимплантационного генетического скрининга бластоцист в 1-ой исследуемой группе (женщины до 35 лет)

Доля нормальных бластоцист в первой исследуемой группе составила 45,5%, на долю аномальных пришлось 54,5%. Наиболее часто встречающимися аномалиями в группе женщин до 35 лет оказались единичные моносомии (12,1%), единичный мозаицизм (12,1%), а также множественные анеуплоидии (9,1%).

Во 2-ой исследуемой группе получено 272 эмбриона (в среднем, 4 эмбриона на одну женщину), из них развились до стадии бластоцисты 70 эмбрионов, что составило 25,7% – то есть в 1,5 раза меньше, чем в группе пациенток до 35 лет (χ^2 3,98; p=0,04).



Доля нормальных бластоцист в группе пациенток 35 лет и старше составила всего 20%, что в 2,3 раза меньше, чем в группе женщин до 35 лет (χ^2 5,98; p=0,01). Наиболее часто встречающимися аномалиями в группе женщин старше 35 лет оказались единичные моносомии (21,4%), единичный мозаицизм (17,1%), а также множественные анеуплоидии (17,1%).

ВЫВОДЫ

1. Предимплантационный генетический скрининг эмбрионов является ценным методом выявления причин РНИ в программах ЭКО.
2. Процент развития эмбрионов до стадии бластоцисты в программах ЭКО значительно снижается с увеличением возраста пациенток и составляет 38,8% в группе до 35 лет в сравнении с 25,7% в группе старше 35 лет (χ^2 3,98; p=0,04).
3. Генетический фактор вносит значительный вклад в исходы ЭКО у женщин с идиопатическими рецидивирующими неудачами имплантации, составляя 54,5% у пациенток до 35 лет и 80% – у женщин старше 35 лет (χ^2 5,98; p=0,01).
4. Наиболее часто встречающимися генетическими аномалиями бластоцист в обеих возрастных группах являются единичные моносомии (12-21%), единичный мозаицизм (12-17%), а также множественные анеуплоидии (9-17%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Coughlan, C. Recurrent implantation failure: definition and management / C. Coughlan [et al.] // Reproductive BioMedicine Online. – 2014. – Vol. 28. – № 1. – P. 14 – 38.
2. Bashiri, A. Recurrent Implantation Failure – update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions / A. Bashiri [et al.] // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2018. – Vol. 16. – P. 1 – 18.
3. Hossain, A. A review of the society for assisted reproductive technology embryo grading system and proposed modification / A. Hossain [et al.] // International journal of fertility & sterility. – 2016. – Vol. 10, iss. 2. – P. 141–147. – <https://doi.org/10.22074/ijfs.2016.4956>
4. Orvieto, R. A novel approach to normal responder patient with repeated implantation failures – a case report / R. Orvieto [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2015. – Vol. 31, iss. 6. – P. 435–437. – doi: 10.3109/09513590.2015.1005595
5. Fox, C. Local and systemic factors and implantation: what is the evidence? / C. Fox [et al.] // Fertility and sterility. – 2016. – Vol. 105, iss. 4. – P. 873–884. – <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.02.018>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Автор: Жуковская Светлана Викторовна.
Контактный телефон: +375 29 6839899
E-mail: dr.zhukovskaya@gmail.com