

# Досвід проведення циклів допоміжних репродуктивних технологій з розморожуванням, біопсією, генетичним обстеженням та рефризінгом ембріонів у пацієнток з багаторазовими невдалими імплантаціями

Ю.В. Маслій<sup>1</sup>, І.О. Судома<sup>1,2</sup>, П.С. Мазур<sup>1</sup>, Д.О. Микитенко<sup>1</sup>, С.В. Осадчук<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Клініка репродуктивної медицини «НАДІЯ», м. Київ

<sup>2</sup>Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

<sup>3</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

**Мета дослідження:** вивчення можливості використання попередньо заморожених бластоцист для біопсії та генетичного тестування та визначення результативності перенесення еуплоїдних 5–7-добових зародків після розморожування, біопсії, повторного заморожування і розморожування пацієнткам із невдалими імплантаціями.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження були групи пацієнток із багаторазовими невдачами імплантації ( $\geq 4$ ) у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) за умови перенесення у порожнину матки сумарно (тобто в усіх проведених програмах) щонайменше 6 ембріонів доброї якості (за морфологічними ознаками). Усі жінки мали достатній резерв яєчників. Пацієнтки проходили лікування безплідності у рамках програм ДРТ клініки репродуктивної медицини «Надія» у період з 2006 до 2016 р. У вибірці було включено пари, що не були носіями хромосомних перебудов, без аномалій матки (вроджених і набутих: подвоєння матки, однорога матка, внутрішньоматкова перетинка, сінехії, субмукозна міома матки). Усі жінки мали позитивну відповідь яєчників на контрольовану стимуляцію гонадотропінами (щонайменше 7 ооцитів) та достатню кількість кріоконсервованих ембріонів. У першу групу (Г1) увійшли 64 жінки, у яких трофктодермальну біопсію проводили на свіжих бластоцистах (у циклі із контрольованою гіперстимуляцією яєчників). У другу групу (Г2) було включено 31 жінку, у яких проводили розморожування попередньо кріоконсервованих бластоцист, трофктодермальну біопсію та повторну вітрифікацію бластоцист.

**Результати.** Було виявлено, що результативність перенесення еуплоїдних ембріонів, які були вітрифіковані, біоптовані і ревітрифіковані, є дещо гіршою, ніж таких, що були біоптовані свіжими і вітрифіковані лише раз. Водночас, передімплантаційна генетична діагностика попередньо вітрифікованих бластоцист із застосуванням порівняльної гібридизації геномів у пацієнток із повторними невдачами імплантації дозволяє отримати прийнятну частоту настання вагітності (58%), частоту імплантації (33,3%) та народження живих дітей (45,1%).

**Заключення.** Рефризінг біоптованих ембріонів не спричиняє суттєвого руйнівного впливу та дозволяє досягнути настання вагітності та народження живої дитини.

**Ключові слова:** екстракорпоральне запліднення, багаторазові невдалі імплантації, метод порівняльної гібридизації геномів, рефризінг.

Багаторазові невдалі програми допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) – це одна з найактуальніших проблем у репродуктології.

Вважають, що у структурі невдач імплантації у програмах ДРТ ембріональний чинник складає найбільшу частку. Серед факторів, що можуть завадити розвитку ембріона та його імплантації, генетичний чинник вважають одним із найбільш суттєвих. Під час дослідження методом fluorescence in situ hybridization (FISH) трьохдобових ембріонів хромосомні аномалії ембріонів у пацієнток із безплідністю невизначеного генезу склали 36%, а у пар із багаторазовими невдалими імплантаціями – 67% [15]. Приблизно така сама частота анеуплоїдій (60%) у зародках у пацієнток з повторними невдачами імплантації була виявлена під час дослідження бластомерів методом порівняльної гібридизації геномів (comparative genomic hybridization – CGH).

Теоретично генетична перевірка всіх ембріонів до перенесення їх у порожнину матки, або передімплантаційна генетична діагностика (ПГД), дозволила б суттєво підвищити ефективність програм ДРТ [12]. Цікавості до ПГД сприяла поява так званого зрозумілого хромосомного скринінгу (comprehensive chromosome screening – CCS) [2], тобто технологій порівняльної геномної гібридизації та секвенування наступного покоління (Next Generation Sequencing – NGS) [5, 16, 19]. В огляді E. Lee проаналізовано 19 досліджень, присвячених використанню CCS, у яких було залучено в цілому 2983 пацієнтів [10]. Дослідження різняться за кількістю пацієнтів (від 20 до 320), наявністю групи порівняння, характеристикою пацієнтів. У більшості опублікованих робіт представлені результати проведення ПГД анеуплоїдій сучасними методами у пацієнток з негативним прогнозом (старший вік, повторні невдалі імплантації, повторні втрати вагітності). Автори огляду роблять висновок, що у цілому досліджен-

Характеристика пацієнток та програм ДРТ у досліджуваних групах

Показник	Г1, N=64	Г2, N=31	P
Вік	32,6±4,73	34,1±3,8	NS
Кількість невдалих програм ДРТ	4,71±0,99	4,8±1,05	NS
Кількість перенесених ембріонів	1,6±0,55	1,47±0,52	NS
Кількість 5-добових бластоцист (перенесених)	50% (51/102)	18,3% (11/60)	<0,05
Кількість 6- та 7-добових бластоцист (перенесених)	50% (51/102)	81,7% (49/60)	<0,05

Таблиця 2

Результативність лікувальних циклів у пацієнток досліджуваних груп

Показник	Г1, N=64	Г2, N=31	P
Частота настання вагітності після перенесення	45 (75%)	18 (58%)	<0,05
Частота імплантації	46,1%	33,3%	<0,05
Частота народження живих дітей	40 (62,5%)	14 (45,1%)	<0,05

ня ембріонів на доімплантаційному етапі на наявність анеуплоїдії покращує результативність програм, збільшує частоту вагітності, частоту імплантації та частоту настання народження живих дітей. Водночас, практично у всіх дослідженнях, які аналізують в огляді, біопсію бластоцист для подальшої ПГД проводять на так званих свіжих, тобто отриманих після контрольованої стимуляції яєчників і запліднення ооцитів, зародках. Але серед пацієнток із невдалими імплантаціями нерідко зустрічаються такі, що мають кріоконсервовані зародки. Ембріони (бластоцисти) цих пацієнток для проведення ПГД потрібно розморозити, провести біопсію трофектодерми, потім отриманий матеріал направити для генетичного дослідження, а ембріони знову заморозити (рефрізинг). Результативність таких програм ДРТ практично не вивчена. У доступній літературі було виявлено лише одне дослідження, присвячене біопсії та генетичному дослідженню раніше заморожених зародків. Так, Т.Н. Taylor та співавтори нещодавно встановили, що рівень виживання бластоцист після розморожування, біопсії, ревітрифікації і повторного розморожування становить 87,5% [20]. Автори також зазначають, що всі ці процедури суттєво не впливають на здатність бластоцисти імплантуватися.

**Мета дослідження:** вивчення можливості використання попередньо заморожених бластоцист для біопсії та генетичного тестування та визначення результативності перенесення еуплоїдних 5–7-добових зародків після розморожування, біопсії, повторного заморожування і заморожування пацієнткам із невдалими імплантаціями.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були групи пацієнток із багаторазовими невдачами імплантації ( $\geq 4$ ) у програмах ДРТ за умови перенесення у порожнину матки сумарно (тобто в усіх проведених програмах) щонайменше 6 ембріонів доброї якості (за морфологічними ознаками). Усі жінки мали достатній резерв яєчників.

Пацієнтки проходили лікування безплідності у рамках програм ДРТ клініки репродуктивної медицини «Надія» у період з 2006 до 2016 р. У вибірку було включено пари, що не були носіями хромосомних перебудов, без аномалій матки (вроджених і набутих: подвоєння матки, однорога матка, внутрішньоматкова перетинка, сінехії, субмукозна міома матки). Усі жінки мали позитивну відповідь яєчників на контрольовану стимуляцію гонадотропінами (щонайменше 7 ооцитів) та достатню кількість кріоконсервованих ембріонів.

У першу групу (Г1) увійшли 64 жінки, у яких трофектодермальну біопсію проводили на свіжих бластоцистах (у циклі із контрольованою гіперстимуляцією яєчників).

У другу групу (Г2) було включено 31 жінку, у яких проводили розморожування попередньо кріоконсервованих бластоцист, трофектодермальну біопсію та повторну вітрифікацію бластоцист.

За результатами проведеного генетичного дослідження еуплоїдні зародки було перенесено пацієнткам обох груп у штучних циклах із використанням препарату а-ГнРГ 3,75 мг для пригнічення гіпофізу та препаратів, що містять естрадіол, для імітації проліферативної фази циклу, а також прогестероноподібних препаратів (ін'єкційний прогестерон та вагінальний мікронізований прогестерон) для формування секреторного рецептивного ендометрія. У Г1 зародки були заморожені і розморожені лише один раз, у Г2 – двічі.

ПГД проводили у лабораторії молекулярної діагностики клініки репродуктивної медицини «Надія» методом тотального геномного скринінгу – реї-порівняльної геномної гібридизації (ПГГ) [1].

Розмороження, трофектодермальну біопсію ембріонів, вітрифікацію бластоцист для подальшого використання у кріопрограмах ДРТ проводили на базі ембріологічної лабораторії клініки репродуктивної медицини «Надія».

Методика проведення:

1. Відігрівання ембріонів (будь-якої доби культивування) проводили згідно з протоколом та із середовищами Cryotech (Японія). Результатом використання протоколу є набування клітинами ембріону нормального стану після вилучення їх з рідкого азоту. Суть методики полягає у проведенні ембріонів по краплинах (~50 мкл) спеціальних розчинів через регламентовані проміжки часу з поступовим зниженням концентрації кріопротекторів. Проводять при кімнатній температурі (окрім першої краплі, яка має бути ~37 °C) у ламінарній шафі другого класу під стереомікроскопом. Після відігрівання zona pellucida ембріонів частково руйнують за допомогою інфрачервоного лазера (так званий допоміжний хетчинг). Усі ембріони з частково зруйнованою zona pellucida переносять у культуральне середовище (LifeGlobal® global® total®) під мінеральною олією та вміщують у тригазовий «сухий» інкубатор для подальшого культивування.

2. Культивування ембріонів до стадії бластоцисти (5–7-а доба розвитку) відбувається у настільному «сухому» тригазовому інкубаторі при 5,3% CO<sub>2</sub> та 5,0% O<sub>2</sub>. У разі досягнення ембріонами стадії бластоцисти на п'яту, шосту або сьому добу розвитку їх описують; ембріони на-

лежної якості (ЗВВ та вище за системою оцінювання Гарднера), клітини трофктодерми яких пройшли кріз отвір частково зруйнованої zona pellucida, відбирають для проведення біопсії трофктодерми (або трофктодермальної біопсії).

3. Біопсія трофктодерми – механічна маніпуляція з бластоцистою, яка дозволяє відокремити від неї кілька клітин (зазвичай 5–10) трофктодерми для проведення подальшого генетичного дослідження. Біопсію проводять у межах ембріологічної лабораторії на інвертованому мікроскопі зі столиком, який підтримує температуру культурального середовища для біопсії ~37 °С, за допомогою мікроманіпулятора зі спеціальними «голками» та інфрачервоного лазера.

4. Кріоконсервацію проводили методом вітрифікації згідно з протоколом та із середовищами Cryotech (Японія). Принцип вітрифікації полягає у надшвидкому охолодженні клітин ембріона (при миттєвому зануренні у рідкий азот температура змінюється зі швидкістю 23 000 °С за хвилину). За наявності кріопротектора вміст клітин за такого охолодження стає аморфним, склоподібним (від лат. vitro – скло) та не утворює кристаліків льоду, які могли б порушити цілісність клітин. Суть методики полягає у проведенні ембріонів по краплинах (~50 мкл) спеціальних розчинів через регламентовані проміжки часу з поступовим підвищенням концентрації кріопротекторів. Проводять при кімнатній температурі у ламінарній шафі другого класу під стереомікроскопом. З останньої краплі ембріон перекладається на спеціальний кріоносій – соломинку з поліпропілену, яку після того миттєво занурюють у рідкий азот.

Дослідження ембріонів проводили у рамках програм ДРТ з інформованої згоди пацієнтів. Дозвіл на використання даних циклів для наукового аналізу також було отримано від всіх пацієнтів перед початком лікування.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед пацієнок із добрим яєчниковим резервом, що мали множинні невдалі імплантації у програмах ДРТ, близько половини мали кріоконсервовані ембріони.

Пацієнтки обох груп не відрізнялися за віком, кількістю невдалих програм в анамнезі та середньою кількістю перенесених ембріонів (табл. 1). Усього було перенесено в обох групах 162 еуплоїдних зародка, з них у Г1 – 102, а у Г2 – 60. Суттєво відрізнялась частка 5-добових і 6–7-добових бластоцист.

Як видно з представлених у табл. 2 даних, у Г2 вдалося отримати достатньо високу частоту настання вагітності (58%) та народження живих дітей (45,1%). Хоча і частота настання вагітності, і частота імплантації, і частота народження живих дітей у Г1 (біопсія свіжих бластоцист, одноразові вітрифікація та розморожування) суттєво вищі, ніж у Г2 (біопсія попередньо вітрифікованих бластоцист, двічі виконані розморожування і заморожування).

Отримані дані свідчать про те, що раніше кріоконсервовані бластоцисти можуть бути успішно розморожені, біоптовані, знову вітрифіковані, досліджені методом ПГГ та повторно розморожені перед перенесенням у разі їхньої еуплоїдності. Але результативність цих програм у порівнянні із групою, де біопсію проводили на свіжих ембріонах з подальшою одноразовою їхньою вітрифікацією і розморожуванням, була значно нижчою. Це могло бути зумовлено тим, що у Г2 досліджували і перенесли зародки, які залишилися після декількох попередніх переносів. Зрозуміло, що спочатку для переносу відбирають найкращі зародки, а ті, що залишаються, можуть бути дещо гіршої якості. І хоча у даному дослідженні

суттєвої різниці в оцінці бластоцист двох груп не спостерігалось, повністю виключити фактор відбору кращих ембріонів на попередні переноси неможливо. Так, у Г2 було більше 6- та 7-добових бластоцист. Чи могло це погіршити результативність перенесення, достеменно не відомо. У дослідженні Е. Elgindy (2012) [4] було встановлено, що частота настання вагітності при перенесенні 5- і 6-добових бластоцист суттєво не відрізнялася. К. Hiraoka та співавтори показали аналогічні результати перенесень 5-, 6- та 7-добових бластоцист [6, 7]. Разом з тим, за даними G. Kovalivsky та співавторів, частота настання вагітності при перенесенні 7-добових бластоцист достовірно зменшується у порівнянні із 5–6-добовими [8].

Окрім того, зменшення результативності кріоперенесень у Г2 може бути зумовлено негативним впливом повторних маніпуляцій на зародку. У ряді досліджень було проаналізовано наслідки програм ДРТ при перенесенні ембріонів після повторного заморожування/розморожування. Але у більшості цих досліджень йдеться про те, що один зародок заморожують /розморожують на різних стадіях розвитку [3]. Так, Y. Kumasako та співавтори виявили, що частота імплантації ембріонів, які були вітрифіковані двічі на стадії пронуклеуса та бластоцисти, була із зародками, які кріоконсервовані лише раз [9]. У дослідженні М. Murakami та співавторів було встановлено, що кріоконсервовані на стадії ділення та вітрифіковані потім на 5–7-у добу зародки (бластоцисти) залишаються життєздатними і можуть у разі перенесення привести до народження живої дитини [14]. М. Montag та співавтори описали настання вагітності і народження живих дітей унаслідок перенесення зародків, заморожених і розморожених на стадії пронуклеуса, що були отримані внаслідок запліднення заморожених/розморожених ооцитів [11]. Про декілька випадків повторного заморожування бластоцист також було повідомлено у публікаціях. Так, було зафіксовано, що перенесення двічі кріоконсервованої (повільне заморожування) бластоцисти завершилося настанням вагітності і народженням живої дитини [18].

В обох групах дослідження забір клітин для генетичного дослідження зародка проводили методом трофктодермальної біопсії. Наразі невідомо, чи може попереднє заморожування погіршувати вплив цієї маніпуляції на зародок. Відомо, що сама по собі процедура трофктодермальної біопсії не має вираженого негативного впливу на ембріон [17]. А дослідження Т.Н. Taylor та співавторів встановило, що двічі проведена процедура трофктодермальної біопсії у комбінації з ревітрифікацією і повторним розморожуванням не завдає суттєвої шкоди ембріону та не зменшує відсоток імплантації та народження живої дитини [20]. З іншого боку, будь-які додаткові маніпуляції на зародках можуть потенційно погіршити їхню якість і тим самим зменшити вірогідність імплантації.

### ВИСНОВКИ

Рефризінг біоптованих ембріонів не спричиняє суттєвого руйнівного впливу та дозволяє досягнути настання вагітності та народження живої дитини.

Результативність перенесення еуплоїдних ембріонів, що були вітрифіковані, біоптовані і ревітрифіковані, є гіршою, ніж таких, що були біоптовані свіжими і вітрифіковані лише раз.

Доімплантаційна діагностика попередньо кріоконсервованих бластоцист із застосуванням порівняльної гібридизації геномів у пацієнок із повторними невдачами імплантації дозволяє отримати прийнятну частоту настання вагітності, частоту імплантації та народження живих дітей.

**Опыт проведения циклов вспомогательных репродуктивных технологий с размораживанием, биопсией, генетическим исследованием и рефрижингом эмбрионов у пациенток с многократными неудачными имплантациями**  
**Ю.В. Маслий, И.О. Судома, П.С. Мазур, Д.А. Микитенко, С.В. Осадчук**

**The experience of holding the cycles of assisted reproductive technology with defrost, a biopsy, genetic study and refreezing of embryos in patients with multiple unsuccessful implantations.**  
**Y.V. Maslov, I.O. Sudoma, P.S. Mazur, D.A. Mykytenko, S.V. Osadchuk**

**Цель исследования:** изучение возможности использования замороженных бластоцист для биопсии и генетического тестирования и определение результативности переноса еуплоидных 5–7-суточных зародышей после размораживания, биопсии, повторного замораживания и размораживания пациенткам с неудачными имплантациями.

**The objective:** to study the possibility of using frozen blastocysts for biopsy and genetic testing and performance measurement transfer euploided 5–7-day-old embryos after thawing, biopsy, refreezing and thawing in patients with unsuccessful implantation.

**Материалы и методы.** Объектом исследования были группы пациенток с многократными неудачами имплантации ( $\geq 4$ ) в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) при условии переноса в полость матки суммарно (то есть во всех проведенных программах) не менее 6 эмбрионов хорошего качества (по морфологическим признакам). Все женщины имели достаточный резерв яичников. Пациентки проходили лечение бесплодия в рамках программ ВРТ клиники репродуктивной медицины «Надия» в период с 2006 по 2016 г. В выборку были включены пары, которые не были носителями хромосомных перестроек, без аномалий матки (врожденных и приобретенных: удвоение матки, однорогая матка, внутриматочная перепонка, синехии, субмукозная миома матки). Все женщины имели положительный ответ яичников на контролируруемую стимуляцию гонадотропинами (не менее 7 ооцитов) и достаточное количество криоконсервированных эмбрионов. В первую группу (Г1) вошли 64 женщины, которым трофобластическую биопсию проводили на свежих бластоцистах (в цикле с контролируемой гиперстимуляцией яичников). Во вторую группу (Г2) была включена 31 женщина, которым проводили размораживание предварительно криоконсервированных бластоцист, трофобластическую биопсию и повторную витрификацию бластоцист.

**Patients and methods.** The object of the study was the group of patients with repeated failure of implantation (4) in programs of auxiliary reproductive technologies (ART), subject to transfer to the uterus in total (i.e. in all the programs) for at least 6 good quality embryos based on morphological characteristics). All women had sufficient ovarian reserve. The patient was treated for infertility within the ART programs of the clinic of reproductive medicine "Nadiya" in the period from 2006 to 2016. The sample included couples who were not carriers of chromosomal rearrangements, without anomalies of the uterus (congenital and acquired: a doubling of the uterus, one-horned uterus, intrauterine membrane, synechia, submucous myoma of the uterus). All women had a positive ovarian response to controlled stimulation with gonadotropins (at least 7 oocytes) and a sufficient number of cryopreserved embryos. The first group (G1) included 64 women who trophoblastic biopsy was performed on fresh blastocysts (in a cycle controlled ovarian hyperstimulation). The second group (G2) were included 31 women who underwent thawing previously cryopreserved blastocysts trophoblastic re-biopsy and vitrification of blastocysts.

**Результаты.** Было выявлено, что результативность переносов еуплоидных эмбрионов, которые были витрифицированы, биоптированы и ревитрифицированы, немного ниже, чем у тех, которые были биоптированы свежими и витрифицированы всего раз. В то же время доимплантационная генетическая диагностика ранее витрифицированных бластоцист с использованием сравнительной гибридизации геномов у пациентов с повторными неудачными имплантациями позволяет получить приемлемую частоту наступления беременности (58%), частоту имплантации (33,3%) и рождение живых детей (45,1%).

**Results.** It was found that the performance of transfers euploid embryos that were vitrified, bioptrone and revitripted, a little lower than those that were bioptrone fresh and vitrified only once. At the same time computationa genetic diagnosis previously vitrified blastocysts using comparative genome hybridization in patients with recurrent failed implantation allows to obtain a reasonable pregnancy rate (58%), implantation rate (33.3 %) and the birth of living children (45.1 %).

**Заключение.** Рефрижинг биоптированных эмбрионов не вызывает существенного разрушительного воздействия и позволяет достичь наступления беременности и рождения живого ребенка.

**Conclusion.** Reprising biopropane embryos does not cause significant destructive impact and allows you to achieve pregnancy and birth of the alive child.

**Ключевые слова:** экстракорпоральное оплодотворение, многократные неудачные имплантации, метод сравнительной гибридизации геномов, рефрижинг.

**Key words:** in vitro fertilization, reusable unsuccessful implantation, a method of comparative genome hybridization, refreezing.

#### Сведения об авторах

**Маслий Юлия Владимировна** – Клиника репродуктивной медицины «Надия», 03037, г. Киев, ул. Максима Кривоноса, 19-а; тел.: (044) 537-75-97. E-mail: Y.masliy@ivf.com.ua

**Судома Ирина Александровна** – Кафедра акушерства, гинекологии и репродуктологии № 2 Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Г. Сталинграда, 16; Клиника репродуктивной медицины «Надия», 03037, г. Киев, ул. Максима Кривоноса, 19-а; тел.: (044) 537-75-97. E-mail: I.Sudoma@ivf.com.ua

**Мазур Павел Сергеевич** – Клиника репродуктивной медицины «Надия», 03037, г. Киев, ул. Максима Кривоноса, 19-а; тел.: (044) 537-75-97. E-mail: P.Mazur@ivf.com.ua

**Микитенко Дмитрий Александрович** – Клиника репродуктивной медицины «Надия», 03037, г. Киев, ул. Максима Кривоноса, 19-а; тел.: (044) 592-21-78. E-mail: d.mykytenko@genetics.kiev.ua

**Осадчук Сергей Валентинович** – Кафедра акушерства и гинекологии № 1 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, 03150, г. Киев, ул. Предславинская, 9; тел.: (044) 522-87-69. E-mail: osmed@ukr.net

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Микитенко Д.А. Клиническая апробация алгоритма лечения бесплодия методами ВРТ с применением АСГН-ПГС / Д.А. Микитенко, В.Д. Зукун // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – № 3 (45). – С. 5–15.
2. Capalbo A. FISH reanalysis of inner cell mass and trophoctoderm samples of previously array-CGH screened blastocysts shows high accuracy of diagnosis and no major diagnostic impact of mosaicism at the blastocyst stage / A. Capalbo, G. Wright, T. Elliott [et al.] // Hum.Reprod. – 2013. – Vol. 28, № 8. – P. 2290–2307.
3. Cobo A. Outcome of cryotransfer of embryos developed from vitrified oocytes: double vitrification has no impact on delivery rates / A. Cobo,

- D. Castello, B. Vallejo, C. Albert, J.M. de los Santos, J. Remohi // Fertility and Sterility – 2013. 99, 1623–1630.
4. Elgindy E. Day 5 expanded blastocysts transferred on same day have comparable outcome to those left for more extended culture and transferred on day 6 / E. Elgindy, M.S. Elsedek // J. Assist. Reprod. Genet. 2012. 29, 1111–1115.
5. Harton G. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening / G. Harton, P. Braude, A. Lashwood, A. Schmutzler [et al.] // Human Reproduction, Vol. 26, No.1. – P. 14–24, 2011 Advanced Access publication on October 21, 2010 doi:10.1093/humrep/deq229/
6. Hiraoka K. Vitriified human day-7 blastocyst transfer: 11 cases / K. Hiraoka, M. Fuchiwaki, K. Hiraoka, T. Horiuchi, S. Okano, M. Kinutani, K. Kinutani // Reprod. Biomed. Online 2008. 17, 689–694.
7. Hiraoka K. Perinatal outcomes following transfer of human blastocysts vitriified at day 5, 6, and 7. K. Hiraoka, M. Miyazaki, E. Fukunaga, T. Horiuchi, T. Kusuda, S. Okano, M. Kinutani, K. Kinutani // J. Exp. Clin. Assist. Reprod. 2009a. 20, 4–8.
8. Kovalevsky G. Should embryos developing to blastocysts on day 7 be cryopreserved and transferred: an analysis of pregnancy and implantation rates / S.M. Carney, L.S. Morrison, C.F. Boylan, A.B. Neithardt, R.F. Feinberg // Fertil. Steril. 2013.100, 1008–1012.
9. Kumasaco Y. The efficacy of the transfer of twice frozen-thawed embryos with the vitrification method / Y. Kumasako, E. Otsu, T. Utsunomiya, Y. Araki // Fertil. Steril. 2009; 91: 383–6.
10. Lee E. The clinical effectiveness of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in all 24chromosomes (PGD-A):systematic review / E. Lee, P. Illingworth, L. Wilton, G. M. Chambers // Human Reproduction, Vol.30, No.2pp.473–483, 2015.
11. Montag M. Birth after double cryopreservation of human oocytes at metaphase II and pronuclear stages / M. Montag, K. van der Ven, Dorn, C., Isachenko, V., Isachenko, E., van der Ven, H. // Fertility and Sterility, 2006. 85, e5–e7.
12. Munné S. Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos / S. Munné, A. Lee, Z. Rosenwaks, J. Grifo, J. Cohen // Hum. Reprod. 1993;8:2185–2191.
13. Munne S. Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes / S. Munne, D. Wells, J. Cohen // Fertility and Sterility. 2010. – Vol. 94. – P. 408–430.
14. Murakami M. Perinatal outcome of twice-frozen-thawed embryo transfers: a clinical follow-up study /M. Murakami, A. Egashira, K. Murakami, Y. Araki, T. Kuramoto // Fertil. Steril. 2011; 95: 2648–50.
15. Pehlivan D. Loss of heterozygosity at chromosome 14q is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas / D. Pehlivan, E. Gunduz, M. Gunduz, H. Nagatsuka, L.B. Beder [et al.] // J. Cancer Res. Clin. Oncol. (2008). 134: 1267–1276.
16. Schoolcraft W.B. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage / W.B. Schoolcraft, E. Fragouli, J. Stevens, S. Munne, M.G. Katz-Jaffe, D. Wells // Fertil. Steril. 2010; 94: 1700–1706.
17. Scott Jr. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial / Jr. Scott, K.M. Upham, E.J. Forman, T. Zhao, N.R. Treff // Fertility and Sterility. 2013b;100:624–630.
18. Smith L.K. Live birth of a normal healthy baby after a frozen embryo transfer with blastocysts that were frozen and thawed twice / L.K. Smith, E.H. Roots, M.J. Dorsett // Fertil. Steril. 2005;83:198–200.
19. Spandorfer S.D. Relationship between maternal age and aneuploidy in in vitro fertilization pregnancy loss / S.D. Spandorfer, O.K. Davis, L.I. Barmat, P.H. Chung, Z. Rosenwaks // Fertil. Steril. 2004;81:1265–1269.
20. Taylor T.H. Outcomes of blastocysts biopsied and vitriified once versus those cryopreserved twice for euploid blastocyst transfer / H. Taylor, J.L. Patrick, SA. Gitlin, M.J. Wilson, C.L. Jack, G.K. Darren // Reproductive Bio Medicine Online (2014) 29, 59– 64.

Статья поступила в редакцию 31.08.2016

## НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

### ПРИЧИНОЙ БЕСПЛОДИЯ МОЖЕТ БЫТЬ ВИРУС, ОБНАРУЖЕННЫЙ В ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ СЛЮНЕ

Итальянские ученые из Университета Феррары (University of Ferrara), занимающиеся вопросами бесплодия, провели небольшое исследование. Они обследовали 66 женщин, 36 из которых не имели проблем с зачатием, а у 30 было диагностировано бесплодие неясного генеза.

Бесплодием страдают около 6% женщин репродуктивного возраста. Примерно в 25% случаев установить причину бесплодия не удается - в этом случае женщины вынуждены про-

ходить дорогостоящее лечение, которое не всегда оказывается эффективным.

Дарио ДиЛука (Dario DiLuca) и его коллеги обнаружили, что у 43% женщин, страдавших бесплодием, был обнаружен малоизвестный штамм вируса герпеса HHV-6A. У этих женщин был увеличен уровень эстрадиола, а концентрация цитокинов также отличалась от нормы. Впервые вирус HHV-6A был обнаружен в 1986 году.

Вирус размножался в слюнных железах, однако обнару-

жить его присутствие в крови или слюне было не всегда возможно. Исследователи предполагают, что распространенность HHV-6A может быть гораздо выше. Ученые планируют продолжить свои изыскания и подтвердить взаимосвязь между женским бесплодием и этим вирусом. Кроме того, они постараются разработать антивирусную терапию, способную защитить женщин.

Источник:

<http://medportal.ru/>