

лечение значительно снизило процент случаев инфекций, специфичных для перинатального периода. Вышеуказанное позволяет рекомендовать создать Национальный протокол по профилактике раннего неонатального сепсиса, вызванного СГВ.

Ключевые слова: стрептококки группы В, инфекции, специфичные для перинатального периода, ранний и поздний неонатальный сепсис, антибиотикопрофилактика, антибактериальная терапия.

MODERN STRATEGY FOR THE PREVENTION OF SEPTIC COMPLICATIONS IN OBSTETRICS AND PERINATOLOGY

O. B. Malanchuk², T. T. Naritnik¹, V. P. Lakatos¹, A. V. Aksonova¹, L. V. Sazonenko² (Kiev, Ukraine)

¹A. A. Bogomolets National Medical University; ²Perinatal Center

Today, the significant role in the development of infectious-inflammatory diseases in practical obstetrics occupy opportunistic pathogens, including group B streptococcus, the share of which, according to some authors, is from 15 to 40 %. Examination of pregnant women for the presence of GBS in the two groups revealed a high inoculation GBS in a high-risk group, which confirms the accuracy of the formation of high-risk groups. Antibiotic prophylaxis for pregnant women at a high-risk groups significantly reducing the percentage of cases of postpartum septic complications and infections specific to the perinatal period. Using of antibacterial therapy for treatment the newborns who were born from women at a high-risk groups, early detection of signs of infection and treatment at time significantly reduced the percentage of infections specific to the perinatal period. All above mentioned can be recommended to create a national protocol for the prevention of early neonatal sepsis caused by GBS.

Key words: group B streptococci, infections specific to the perinatal period, early and late neonatal sepsis, antibiotic prophylaxis, antibacterial therapy.

УДК 618.177-089.888.11:618.32]-07:612.014.24

Надійшла 04.08.2015

Ю. В. МАСЛІЙ¹, І. О. СУДОМА^{1,2}, П. С. МАЗУР¹, Д. О. МИКИТЕНКО¹, С. В. ОСАДЧУК² (Київ)

ПЕРЕДІМПЛАНТАЦІЙНИЙ ГЕНЕТИЧНИЙ СКРИНІНГ ЕМБРІОНІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОРІВНЯЛЬНОЇ ГІБРИДИЗАЦІЇ ГЕНОМІВ У ЖІНОК З БАГАТОРАЗОВОЮ НЕВДАЧЕЮ ІМПЛАНТАЦІЇ В ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

¹Клініка репродуктивної медицини «Надія»;

²Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика;

³Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця <y.masliy@ivf.com.ua>

Результативність циклів допоміжних репродуктивних технологій у пацієнтів з множинною невдалою імплантацією покращується у випадку використання методу порівняльної гібридизації геномів для доімплантаційного дослідження ембріонів. Ця методика дозволяє підвищити частоту настання вагітності, імплантації та народження живих дітей.

Ключові слова: допоміжні репродуктивні технології, багаторазова невдала імплантація, метод порівняльної гібридизації геномів

За роки існування метод запліднення in vitro і пов'язані з ним технології зазнали багато вдосконалень, що значно підвищило їх ефективність та доступність [1]. Завдяки цим технологіям народилося понад 5 млн дітей, що можна порівняти з усім населенням Норвегії! Однак, на жаль, ефективність допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) не досягає 100 %. Так, в найкращих лікарнях світу, в яких впроваджено ДРТ, частота настання вагітності не перевищує 50–55 %. Частка пацієнтів, у яких вагітність не настає навіть після чотирьох повторних

перенесень зародків, залишається незмінною вже десятки років і становить близько 15–30 %. Багаторазові невдалі програми ДРТ – одна з найбільшійших проблем репродуктології.

Існують два основних чинники невдач лікування методами ДРТ: ембріональний та імплантаційний.

Ембріону, його якості, стратегіям вибору найкращих зародків для перенесення дослідники приділяють значну увагу. Серед факторів, що можуть перешкодити розвитку ембріона та його імплантації, генетичний чинник вважають одним з найсуттєвіших. Збалансовані хромосомні поломки у пацієнтів з багаторазовою невдачею ДРТ відмічають частіше, ніж у популяції, – 2,5 % за даними A. Razile [16].

При дослідженні методом fluorescence in situ hybridization (FISH) тридобових ембріонів хромосомні аномалії ембріонів у пацієнтів з неплідністю невизначеного генезу становили 36 %, а у пар з багаторазовою невдалою імплантацією – 67 % [15]. Приблизно така сама частота анеуплоїдій (60 %) в зародках у пацієнтів з повторною невдачею імплантації виявлена при дослідженні бластомерів методом порівняльної геномної гібридизації (comparative genomic hybridization – CGH).

Теоретично генетична перевірка всіх ембріонів до перенесення їх в порожнину матки, або передімплантаційний генетичний скринінг (ПГС), дозволила б суттєво підвищити ефективність програм ДРТ [13]. Перше повідомлення про проведення ПГС зародків людини належить S. Munne та співавт. [13], які досліджували один бластомер від 6–8 клітинних ембріонів, використовували методику FISH, досліджували X, Y, 21 хромосоми. Поступово ПГС набував більшого поширення. Так, за даними консорціуму передімплантаційної генетичної діагностики Європейської спільноти репродукції і ембріології людини (European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) preimplantation genetic diagnosis (PGD) Consortium), починаючи з 1990 по 1997 р. було проведено 1990 ПГС-циклів, а за 2002 р. – 1211 таких програм. Однак використання цієї технології не дало очікуваного покращання результативності ДРТ, частота настання клінічної вагітності в циклах з ПГС становила в середньому 16 % (12–33 %) [5]. Імовірною причиною таких незадовільних результатів вважали недосконалість методики, зокрема можливість дослідження обмеженої кількості хромосом (6–12) та мозаїцизм бластомерів зародка [14]. Протягом останнього десятиріччя з'явилися деякі новачі в технології ДРТ, в тому числі і в ПГД. Для дослідження ембріонів почали використовувати порівняльну геномну гібридизацію (ПГГ, comparative genomic hybridisation – CGH) – сучасний метод молекулярної генетики, що дозволяє діагностувати анеуплоїдії та мікроструктурні хромосомні перебудови одночасно за всіма хромосомами. Цей метод передімплантаційної генетичної діагностики має безсумнівні переваги перед використанням до цього FISH методом [13, 14].

Застосування стратегії CGH у поєднанні з трофектодермальною біопсією п'ятидобового ембріона дозволило ряду дослідників отримати ефективні результати [4]. Перші проведені рандомізовані дослідження лише підтвердили безсумнівні переваги саме цієї стратегії [4]. За даними цих досліджень, частота мимовільного абортів у пацієнток після проведення PGS-CGH знизилась від 15–20 % (контрольна група) до 5–6 % (експериментальна група).

Мета дослідження – встановити ефективність використання передімплантаційної генетичної діагностики ембріонів із застосуванням трофектодермальної біопсії п'ятидобового ембріона та порівняльної геномної гібридизації у жінок з багаторазовою невдалою імплантацією.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були групи пацієнток з багаторазовою невдачею імплантації (≥ 4) у програмах ДРТ за умови перенесення в порожнину матки сумарно (тобто в усіх проведених програмах) не менше шести ембріонів доброї якості (за морфологічними ознаками). В усіх жінок був достатній резерв яєчників. При аналізі каріотипів подружніх пар, які брали участь у дослідженні, не виявлено хромосомних аберацій.

До основної групи (ОГ) увійшло 64 жінки, на їх ембріонах проводили порівняльну гібридизацію геномів.

Групу порівняння (ГП) становили 37 жінок з багаторазовою невдалою імплантацією, яким не проводили додаткових обстежень зародків.

Контрольовану гіперстимуляцію яєчників проводили за довгим лютеїновим протоколом з використанням а-ГнРГ (диферелін) та рекомбінантного гонадотропіну (Гонал-Ф) і за протоколом з використанням антагоніст-ГнРГ (цетротид) та рекомбінантного гонадотропіну (Гонал-Ф).

Біопсію проводили за наявності не менше трьох ембріонів, які після біопсії вітрифікували та використовували у подальших кріоциклах. Клітини трофодерми ембріонів лізували з подальшим проведенням повногеномної ампліфікації (SurePlex DNA Amplification system, Blue Gnome, ltd., UK), мічення (Fluorescent Labelling System [dCTP], Blue Gnome, ltd., UK), гібридизацією на чіпах 24sure V3 (Blue Gnome, ltd., UK).

Після відмивання чіпи висушували та сканували за допомогою Innoscan 710 (Innopsys, France). Отримані зображення обробляли за програмним забезпеченням BlueFuseMulti v. 3.1 (BlueGnome, ltd., UK) відповідно до рекомендованих критеріїв [6].

Результати та їх обговорення. Основні показники, що характеризували жінок і лікувальні програми, наведено в табл. 1 та 2.

Таблиця 1. Характеристика пацієнтів та програм допоміжних репродуктивних технологій ($M \pm m$)

Показник	Група		P
	порівняння ($n = 37$)	основна ($n = 64$)	
Вік, роки	$32,7 \pm 3,8$	$32,60 \pm 4,73$	$< 0,05$
Кількість невдалих програм ДРТ	$4,47 \pm 1,05$	$4,71 \pm 0,99$	$< 0,05$
Кількість отриманих ооцитів	$17,60 \pm 8,35$	$19,2 \pm 7,9$	$< 0,05$
Кількість перенесених ембріонів	$1,94 \pm 0,57$	$1,60 \pm 0,55$	$< 0,05$

З табл. 1 видно, що групи практично не різнилися за ознаками, які могли б суттєво вплинути на результативність циклів ДРТ.

Таблиця 2. Результативність лікувальних циклів у пацієнтів

Показник	Група		P
	порівняння ($n = 37$)	основна ($n = 64$)	
Частота вагітностей не перенесення	11 (29,7 %)	45 (75 %)	$< 0,05$
Частота імплантації	19,1 %	46,1 %	$< 0,05$
Частота народження живих дітей	8 (21,6 %)	40 (62,5 %)	$< 0,05$

Вважають, що анеуплоїдія є домінуючою причиною невдач імплантації та раннього переривання вагітності у жінок [10, 12, 19]. Однак анеуплоїдії не завжди перешкоджають розвитку зародка до стадії бластоцисти [2]. Слаба кореляція між морфологічними ознаками ембріона та його хромосомним набором зумовила впровадження в практику ДРТ передімплантаційного генетичного скринінгу з метою уникнення перенесення в порожнину матки анеуплоїдних ембріонів та підвищення частоти народження живих дітей. Але аналіз проведених досліджень [11] показав, що передімплантаційна діагностика ембріонів методом FISH на бластомерах в програмах ДРТ не привела до покращання їх результативності. Більше того, у жінок старшого віку спостерігали навіть зниження частоти народження живих дітей, а у жінок із сприятливим прогнозом та множинною невдачею імплантації частота живонародженості залишалася на тому самому рівні [11]. Підвищенню інтересу до ПГС сприяла поява так званого зрозумілого хромосомного скринінгу (comprehensive chromosome screening – CCS) [3], тобто технологій порівняльної геномної гібридизації та секвенування наступного покоління (Next Generation Sequencing – NGS) [8, 17, 20]. Так, в трьох дослідженнях [7, 18, 21] було показано, що у пацієток молодого віку з достатнім резервом яєчників (пацієнтки із

сприятливим репродуктивним прогнозом) частота народження живих дітей в групі з генетичним дослідженням ембріонів була суттєво вищою порівняно з контрольною групою, в якій ембріони оцінювали лише за морфологічними критеріями. В огляді літератури [9] проаналізовано 19 досліджень, присвячених цій тематиці (включаючи три зазначені вище), в яких брали участь 2983 пацієнтки. Дослідження різняться за кількістю пацієнток (від 20 до 320), наявністю групи порівняння і її характеристиками, а також характеристиками пацієнток. У більшості опублікованих праць (14) наведено результати проведення доїмплантаційної генетичної діагностики анеупloidії сучасними методами у пацієнток з несприятливим прогнозом (старший вік, повторні невдачі імплантації, повторні втрати вагітності). Автори огляду роблять висновок, що в цілому дослідження ембріонів на доїмплантаційному етапі на наявність анеупloidії покращує результативність програм, збільшує частоту вагітності, імплантації та народження живих дітей. Одночасно рівень проведених досліджень не дозволяє дійти остаточних висновків про доцільність і доїмплантаційний скринінг в програмах ДРТ.

Проведене нами дослідження показало, що використання доїмплантаційної діагностики ембріонів методом порівняльної гібридизації геномів у пацієнток з невдачею імплантації із збереженим резервом та достатньою кількістю зародків достовірно збільшує шанси пари на реалізацію вагітності і народження живої дитини.

Висновки. Застосування порівняльної гібридизації геномів у передімплантаційній діагностиці ембріонів у пацієнток з багаторазовими невдачами програми ДРТ з достатнім резервом яєчників суттєво підвищує частоту настання вагітності, імплантації і народження живих дітей. Подальші проспективні рандомізовані дослідження із залученням різних груп пацієнток, з оцінкою собівартості лікування дозволять дійти висновку про межі і доцільність використання цих методик в програмах ДРТ.

Список літератури

1. Юзько О. М., Юзько Т. А., Руденко Н. Г. Стан та перспективи використання допоміжних репродуктивних технологій при лікуванні безпліддя в Україні // Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. – 2012. – Т. II, № 4. – С. 26–30.
2. Alfarawati S., Fragouli E., Colls P., Wells D. First births after preimplantation genetic diagnosis of structural chromosome abnormalities using comparative genomic hybridization and microarray analysis // Hum.reprod. – 2011. – Vol. 26. – P. 1560–1574.
3. Capalbo A., Wright G., Elliott T. et al. FISH reanalysis of inner cell mass and trophectoderm samples of previously array-CGH screened blastocysts shows high accuracy of diagnosis and no major diagnostic impact of mosaicism at the blastocyst stage // Hum.Reprod. – 2013. – Vol. 28, N 8. – P. 2290–2307.
4. Chung M. K., Jeong H. J., Lee J. H. et al. Comprehensive chromosome analysis of blastocysts before implantation using array CGH // Mol. Cytogenet. – 2013. – Vol. 6. – P. 22.
5. Donoso P., Staessen C., Fauser B. C. J. M., Devroey P. Current value of preimplantation genetic aneuploidy screening in IVF // Human Reproduction Update. – 2007. – Vol. 13, N1. – P. 15–25.
6. Fiorentino F., Spizzichino L., Bono S. et al. PGD for reciprocal and Robertsonian translocation using array comparative genomic hybridization // Hum. Reprod. – 2011. – Vol. 26, N 7. – P. 1925–1935.
7. Forman E. J., Hong K. H., Ferry K. M. et al. In vitro fertilization with single euploid blastocyst transfer: a randomized controlled trial // Fertil. Steril. – 2013. – Vol. 100. – P. 100–107.
8. Harton G., Braude P., Lashwood A. et al. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening // Human Reproduction. – 2011. – Vol. 26, N 1. – P. 14–24.
9. Lee E., Illingworth P., Wilton L., Georgina Mary. Chambers The clinical effectiveness of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in all 24 chromosomes (PGD-A): systematic review // Human Reproduction. – 2015. – Vol. 30, N 2. – P. 473–483.
10. Macklon N. S., Geraedts J. P., Fauser B. C. Conception to ongoing pregnancy: the 'black box' of early pregnancy loss // Hum. Reprod. Update. – 2002. – Vol. 4. – P. 333–343.
11. Mastenbroek S., Twisk M., van der Veen F., Repping S. Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs // Human Reproduction Update. – 2011. – Vol. 17, N 4. – P. 454–466.

12. Menasha J., Levy B., Hirschhorn K., Kardon N. B. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions: new insights from a 12-year study // *Genet. Med.* – 2005. – Vol. 7. – P. 251–263.
13. Munné S., Lee A., Rosenwaks Z. et al. Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos // *Hum. Reprod.* – 1993. – Vol. 8. – P. 2185–2191.
14. Munne S., Wells D., Cohen J. Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes // *Fertility and Sterility.* – 2010. – Vol. 94. – P. 408–430.
15. Pehlivan D., Gunduz E., Gunduz M. et al. Loss of heterozygosity at chromosome 14q is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 134. – P. 1267–1276.
16. Raziel A., Friedler S., Schachter M. et al. Ron-El Increased frequency of female partner chromosomal abnormalities in patients with high-order implantation failure after in vitro fertilization // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 78. – P. 515–519.
17. Schoolcraft W. B., Fragouli E., Stevens J. et al. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 1700–1706.
18. Scott R. T. J., Upham K. M., Forman E. J. et al. Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases in vitro fertilization implantation and delivery rates: a randomized controlled trial // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 100. – P. 697–703.
19. Sermon K. D., Michiels A., Harton G. et al. ESHRE PGD Consortium data collection VI: cycles from January to December 2003 with pregnancy follow-up to October 2004 // *Human Reproduction.* – 2007. – Vol. 22, N 2. – P. 323–336.
20. Spandorfer S. D., Davis O. K., Barmat L. I. et al. Relationship between maternal age and aneuploidy in in vitro fertilization pregnancy loss // *Fertil. Steril.* – 2004. – Vol. 81. – P. 1265–1269.
21. Voullaire L., Slater H., Williamson R., Wilton L. Chromosome analysis of blastomeres from human embryos by using comparative genomic hybridization // *Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 106. – P. 210–217.
22. Yang Z., Liu J., Collins G. S. et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study // *Mol. Cytogenet.* – 2012. – Vol. 5. – P. 1–8.

ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ЭМБРИОНОВ
ПРИ ПОМОЩИ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ГЕНОМОВ У ЖЕНЩИН
С МНОГОКРАТНОЙ НЕУДАЧНОЙ ИМПЛАНТАЦИЕЙ В ПРОГРАММАХ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Ю. В. Маслий, И. О. Судома, П. С. Мазур, Д. А. Микитенко, С. В. Осадчук (Киев)

Результативность циклов вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с многократной неудачной имплантацией улучшается при использовании сравнительной гибридизации геномов для исследования эмбрионов. Эта методика позволяет повысить частоту наступления беременности, имплантации и рождения живых детей.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии, многократные неудачные имплантации, метод сравнительной гибридизации геномов.

PREIMPLANTATION GENETIC SCREENING OF EMBRYOS USING COMPARATIVE
GENOMIC HYBRIDIZATION IN WOMEN WITH REPEATED IMPLANTATION
FAILURES IN PROGRAMS OF ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY

Y. Masliy¹, I. Sudoma^{1,2}, P. Mazur¹, D. Mykytenko¹, S. Osadchuk³ (Kiev, Ukraine)

¹Clinic of reproductive medicine “NADIYA”; ²Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education; ³National medical university by name of O. O. Bogomolets

The effectiveness of assisted reproductive technology cycles in patients with multiple implantation failures is improved when using comparative genomic hybridization method as preimplantation genetic diagnosis of embryos. This technique can increase the pregnancy rate, implantation rate and live birth rate.

Key words: assisted reproductive technology, multiple failures, implantation, method of comparative genomic hybridization.