

Д.О. Микитенко¹,
О.В. Підгорна²,
О.І. Тимченко³

ЗАСТОСУВАННЯ СУЧАСНИХ МЕТОДІВ ДОІМПЛАНТАЦІЙНОГО ГЕНЕТИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Клініка репродуктивної медицини «Надія»

(директор – к. мед. н., В.Д. Зукін)¹

Медико-генетичне відділення КЗ КОР «Київський обласний центр охорони здоров'я матері і дитини»

(гол. лікар – Л. А. Журавльова)²

ДУ «Інститут гігієни та медичної екології НАМН України»

(директор – д. мед. н., академік АМН України А. М. Сердюк)³

м. Київ

Ключові слова: доімплантаційна генетична діагностика, скринінг, ПЛР, FISH, порівняльна геномна гібридизація

Key words: preimplantation genetic diagnostics, screening, PCR, FISH, comparative genomic hybridization

Резюме. В роботі досліджені основні методическі аспекти предімплантаційної генетическої діагностики ембріонів: проаналізовані особеності законодавельної бази стран Європи, охарактеризовані особеності використання різних об'єктів і методів дослідження. Особене уваження уделено розділенню показаній для дослідження методами FISH і сравнительної геномної гібридизації. Досліджено состояние предімплантаційної генетическої діагностики в Україні і оцены перспективи і условия дальнєшого розвитку данного напрямлення.

Summary. In present article main methodical aspects of preimplantation genetic diagnostics of the embryos are investigated: the national regulation features of the European countries are analyzed, the properties of the different testing objects and methods are characterized. Particular attention is paid to the differentiation of the indications for testing by FISH and comparative genomic hybridization methods. Modern status of the preimplantation genetic diagnostics in Ukraine is investigated, perspectives and conditions of the further development of this medical field are estimated.

Відомо, що феномен зниження фертильності, що спостерігається останніми роками в нашій державі, часто є характерним проявом більшості спадкових хвороб людини. Біологічний сенс цього явища полягає у зменшенні відтворення потомства у сім'ях зі спадковою патологією, що можна розглядати як прояв впливу еволюційно зумовленого природного добору. При зниженні тиску природного добору спостерігаються медико-соціальні наслідки: соціальна дезадаптація (інвалідність) хворих, підвищена потреба у медичному обслуговуванні та зниження тривалості життя [1].

На фоні усталених тенденцій погіршення стану репродуктивного здоров'я населення все ширшого розвитку набувають технології штучного запліднення.

Але відсутність реєстрів сімей зі спадковою патологією, незадовільна орієнтація пацієнтів і донорів сперми та яйцеклітин у своїх родах зумовлює розширення спектру методик, що застосовуються для їх обстеження при використанні таких технологій. З огляду на вищевикладене, надзвичайної актуальності набуває розвиток методів доімплантаційної діагностики (eng. PGD – preimplantation genetic diagnosis) як

єдиного методу селекції ембріонів з генетичним апаратом, що не містить патологічних змін. Він є комплексом заходів, спрямованих на дослідження генетичних структур статевих клітин чи ембріона на етапі до імплантації останнього в порожнину матки.

Використання такого підходу видається одним із дієвих механізмів боротьби з генетичною патологією.

З огляду на брак інформації у вітчизняних лікарів-генетиків щодо можливостей та алгоритмів доімплантаційної генетичної діагностики метою цієї роботи став аналіз сучасних тенденцій їх розвитку задля ширшого їх застосування в Україні.

Основи доімплантаційної генетичної діагностики були закладені ще у 1967 році, коли у науковій літературі з'явилося перше повідомлення щодо визначення статі ембріонів кролика на стадії бластоцист [11]. Однак широкі клінічні дослідження та впровадження розробок у клінічну практику були тривалий час утруднені через відсутність високочутливих та надійних молекулярних методів діагностики. І лише у 1990 р. народилась перша дитина у подружжя з Х-зчепленою патологією в анамнезі [23]. Подаль-

ший розвиток діагностичних технологій сприяв широкому впровадженню методів доїмплантаційної діагностики та зробив її невід'ємною частиною проведення циклів допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Пізніше, у 1997 році, з метою централізації даних та стандартизації проведення доїмплантаційних досліджень була сформована ініціативна група, яка в подальшому отримала назву PGD Consortium¹.

Показання до діагностики. Доїмплантаційну генетичну діагностику умовно можна поділити на власне діагностику та скринінг.

Власне діагностика проводиться у подружніх пар, що є носіями встановленого генного чи хромосомного дефекту.

Використання скринінгового підходу зумовлено тим, що навіть у фертильних подружніх пар близько половини випадків становлять анеуплоїдні чи мозаїчні ембріони [20] (залежно від кількості досліджених хромосом). І хоча більшість з них не імплантується або не доношується до пізніх строків вагітності, все ж існує ризик народження дитини з хромосомними аномаліями. Тому, зважаючи на зусилля, докладені пацієнтами та лікарями до досягнення вагітності, доцільно мінімізувати ризик переносу анеуплоїдного ембріона. Саме тому скринінг проводиться за умов, коли подружня пара не має встановлених порушень генетичного апарату, однак ймовірність отримання ембріона з генетичним дефектом є підвищеною.

Підсумувавши, можна звести показання до проведення доїмплантаційного генетичного дослідження до такого переліку:

- звичне невиношування вагітності;
- множинні невдалі спроби ДРТ (>2);
- непліддя невизначеного генезу;
- вік матері понад 37 років;
- чоловічий фактор непліддя;
- наявність в анамнезі вагітності чи народження дитини з хромосомною аномалією;
- носійство структурних хромосомних пербудов;
- носійство спадкової генної патології.

Об'єкт доїмплантаційного генетичного дослідження. На сьогодні існує три різні підходи до аналізу генетичного матеріалу на доїмплантаційному етапі: аналіз полярних тілець яйце-

клітини, бластомера ембріона та клітин троєктодермальної оболонки, порівняння яких наведено у таблиці 1.

З наведених у таблиці даних випливає, що вибір будь-якого об'єкта дослідження для доїмплантаційної діагностики пов'язаний з певними обмеженнями, які обов'язково мають бути взяті до уваги. Відтак, вибір має враховувати:

- особливості правового простору діяльності клініки;
- можливості ембріологічної лабораторії;
- предмет доїмплантаційної діагностики (на що саме проводиться дослідження);
- метод доїмплантаційної діагностики;
- віддаленість та технічна оснащеність цитогенетичної/молекулярно-діагностичної лабораторії;
- індивідуальні особливості ДРТ-циклу.

Особливості правового простору функціонування клініки ДРТ є, мабуть, найвагомим чинником, під який підводяться усі інші. Законодавчі обмеження, що базуються, в першу чергу, на усталених релігійних поглядах в окремому регіоні, здатні суттєво обмежити свободу прийняття рішення.

Кожна країна має власні національні особливості регулювання сфери ДРТ, однак існують і окремі міжнародні норми. Найбільш вагомим законодавчим актом, що стосується зазначеної сфери, є Директива стосовно людських тканин та клітин (Human Tissue and Cells Directive 2004/23/EC). Вона прямо стосується людських гамет, ембріонів та ліній стовбурових клітин ембріологічного походження, висуваючи низку вимог щодо якості й безпеки процедури, питань контролю, застосування, зберігання, консервування, поширення та переміщення біологічного матеріалу між кордонами (ст. 8, 9, 25), особливо якщо такі дії пов'язані з законодавчими обмеженнями, що існують у країнах-учасниках.

Питань регулювання сфери ДРТ також опосередковано стосуються Хартія фундаментальних прав Європейського союзу та Конвенція про захист прав людини та фундаментальних свобод, Конвенція про захист прав людини та людської гідності у зв'язку з застосуванням біології та медицини (Конвенція про права людини та біомедицину) та Заключна декларація восьмого зібрання Конференції національних етичних комітетів.

Однак, відповідно до зазначених норм, кожна країна є вільною у встановленні більш жорстких законодавчих норм. Порівняльна характеристика законодавчого регулювання репродуктивних технологій в окремих європейських країнах наведена у таблиці 2.

¹ PGD Consortium – структурний підрозділ European Society of Human Reproduction and Embryology, в завдання якого входить збір, аналіз результатів доїмплантаційних досліджень в циклах ДРТ, а також уніфікація досліджень шляхом формулювання вимог, правил та протоколів.

Порівняльна характеристика об'єктів дослідження при застосуванні методів доїмплантаційної генетичної діагностики*

Об'єкт дослідження	Опис	Переваги	Обмеження
Полярні тільця (перше та друге)	Редукційні клітинні утворення, що утворюються на різних стадіях дозрівання яйцеклітини.	Полярні тільця не відіграють ролі у заплідненні та можуть бути вилучені без пошкодження яйцеклітини.	- Дослідження дає побічне уявлення про генетичний апарат яйцеклітини і не є гарантією його нормальності. - Аналіз не враховує чоловічий фактор запліднення та, отже, не є повною характеристикою майбутнього ембріона.
Бластомери	Клітини ембріона на 3 день розвитку (6-8 клітинна стадія, 3 доба). Клітини є недиференційованими та одна-дві з них можуть бути вилучені з мінімальним впливом на життєздатність ембріона.	Дослідження бластомерів дає безпосереднє уявлення про стан генетичного апарату ембріона.	- Дослідження не виключає наявності мозаїцизму у ембріона. Біопсія бластомера є потенційно негативним чинником впливу на подальший розвиток ембріона. - Не виключена можливість подальшої самокорекції ембріонів з трисомією.
Клітини трофекто-дермальної оболонки	Клітини ембріонального походження, що складають зовнішню оболонку на стадії бластоцисти (5-6 доба)	- Тестування дає безпосереднє уявлення про стан генетичного апарату ембріона, враховується можливість мозаїцизму. - Більша частина ембріонів з хромосомними аномаліями не доживають до стадії бластоцисти (природній добір), що зумовлює економічну ефективність дослідження трофектодерми.	- Дослідження трофектодерми вимагає можливості ембріологічної лабораторії вести бластоцистну культуру. - Проведення ДРТ-циклів з PGD-дослідженнями, за якими через технічні особливості результат не може бути отриманий протягом доби, вимагає консервування ембріонів та їх використання у подальших кріоциклах.

Примітка: * - складено з використанням даних, представлених у [5, 9, 10, 24, 26]

Так, у Германії функціонує закон про охорону ембріона, що забороняє дослідження як ембріона в цілому, так і окремих його клітин. Тому скринінг може проводитися лише при використанні першого та другого полярних тілець. Аналогічні обмеження встановлені і у Нідерландах.

Ірландія не має специфічного закону щодо PGD, але ембріони підпадають під захист Конституції Ірландії у розділі права ненароджених на життя. Відтак, ембріон навіть з генетичною патологією не може бути знищений. Тому PGD у цій країні не застосовується, а клініки не мають права забезпечувати доїмплантаційну діагностику для місцевих пацієнтів навіть за кордоном.

У Греції, наприклад, законом не визначена різниця між доїмплантаційною та пренатальною діагностикою.

Сполучені Штати Америки не мають федеральних законів, що безпосередньо регулюють використання методів доїмплантаційної діаг-

ностики, однак окремими штатами встановлені власні обмеження.

Не має законодавчих обмежень і Україна. Наша держава характеризується незрілістю законодавчої бази, темпи формування якої суттєво відстають від сучасних тенденцій розвитку медичної науки. Зауваживши на те, що рівень медичних послуг та оснащеність більшості вітчизняних репродуктивних клінік не поступається міжнародному при більш низькій вартості послуг, це забезпечує Україні гідне місце на міжнародному ринку «медичного туризму» та відкриває додаткові можливості для розвитку технологій доїмплантаційної діагностики й удосконалення показань до їх застосування.

Застосування методів доїмплантаційної генетичної діагностики. Сучасні можливості молекулярної діагностики зумовили використання високочутливих методів доїмплантаційного генетичного дослідження, в основу яких покладене явище гібридизації нуклеїнових

кислот. Їх можна розділити на три основні групи: методи, засновані на явищі ампліфікації (ПЛР-методи), флуорисцентній гібридизації *in situ*

(FISH) та геномній гібридизації. Особливості їх призначення можна розглянути за даними таблиці 3.

Таблиця 2

Порівняльна характеристика національного регулювання репродуктивних технологій*

Країна	Пренатальна діагностика	Доїмплантаційна діагностика
Бельгія	Дозволена	Дозволена, без специфічних обмежень
Велика Британія	Дозволена, законодавчо не врегульована	Дозволена лише при визначених станах та за умови отримання дозволу Комітету з запліднення та ембріології. Вимагає ліцензування. Є предметом контролю відповідних служб.
Германія	Дозволена, законодавчо не врегульована	Заборонена, за винятком дослідження полярних тілець
Греція	Дозволена	Дозволена, законодавчо врегульована
Ірландія	Дозволена, законодавчо не врегульована	Заборонена
Іспанія	Дозволена, законодавчо не врегульована	Дозволена лише при визначених станах за умови високо ризику генетичної патології
Італія	Дозволена, законодавчо не врегульована	Заборонена, за винятком дослідження полярних тілець
Нідерланди	Дозволена, законодавчо врегульована	Дозволена, законодавчо врегульована
Російська федерація	Дозволена, законодавчо не врегульована	Законодавчо не врегульована
Словакія	Дозволена, не врегульована (існують лише рекомендації)	Дозволена, законодавчо не врегульована
Україна	Дозволена, законодавчо не врегульована	Законодавчо не врегульована
Франція	Дозволена, законодавчо врегульована	Дозволена лише при визначених станах, врегульована, потребує ліцензування
Чехія	Дозволена, законодавчо не врегульована	Дозволена лише при визначених станах за умови високо ризику генетичної патології
Швейцарія	Дозволена, законодавчо врегульована. Можливе визначення характеристик плоду, які безпосередньо не впливають на його стан. Визначення статі заборонене	Заборонена, за винятком дослідження полярних тілець

Примітка: * - складено з використанням даних [19, 25]

Кожен з наведених методів заснований на детекції унікальних послідовностей ДНК, однак низка методичних особливостей зумовлює певну унікальність застосування кожного з них.

Так, доїмплантаційна ПЛР-діагностика хоч і має широкі діагностичні можливості, однак, як впливає з даних наведеної таблиці, коло показань до її застосування досить вузьке – дослідження окремих генів. Це пов'язано з обмеженою

кількістю регіонів, що можуть бути досліджені, неможливістю виключення хромосомних анеуплоїдій, поліплоїдій, а також явища «випадіння алелю». Зазначене обмежує її застосування, наприклад, для селекції ембріонів за статтю, оскільки на анеуплоїдію за статевими хромосомами припадає близько половини випадків.

Відповідно до звітів PGD Consortium, за період 1997 – 2008 рр. акредитованими членами

було проведено 4763 цикли з використанням ПЛР-діагностики, що становить близько 18% усіх доїмплантаційних досліджень. З них 4578 – власне доїмплантаційна діагностика, лише 182 – селекція ембріонів за статтю та 3 – доїмплантаційний хромосомний скринінг [14].

Світові тенденції використання ПЛР у доїмплантаційній діагностиці характеризуються поступовим зростанням її застосування і за 2008 рік це становило 25,3% усіх доїмплантаційних досліджень [12, 13, 14, 15, 18].

Таблиця 3

Застосування методів генетичного дослідження для доїмплантаційної генетичної діагностики

Група методів	Приклади	Показання
Засновані на явищі ампліфікації (ПЛР-діагностика)	класична ПЛР ПЛР в режимі реального часу Секвенування Фрагментарний аналіз Мінісеквенування та мас-спектрометрія	Діагностика моногенної патології Селекція ембріона за HLA-генотипом Селекція ембріона за резус-чинником
FISH-методи	FISH-аналіз	Обмежений хромосомний скринінг Збалансовані хромосомні перебудови у батьків Певні випадки незбалансованих хромосомних перебудов Селекція ембріона за статтю
Геномна гібридизація	Порівняльна геномна гібридизація	Скринінг всього генома Хромосомні перебудови у батьків Багаторазові невдалі спроби ДРТ Звичне невиношування вагітності при ембріонах, нормальних за каріотипом

FISH-діагностика є найпоширенішим методом доїмплантаційної діагностики. Оптимізуючи набір FISH-зондів, можна візуалізувати як конкретний регіон хромосоми, так і всю хромосому, або навіть весь геном. Однак обмежене коло флуорохромів не дозволяє зробити цей метод універсальним – кожен рівень візуалізації має специфічні для нього обмеження: неможливість детекції внутрішньохромосомних порушень у межах одного кольорового бенду та в немічених ділянках.

На сьогодні оптимум технічних можливостей методу дозволяє проведення доїмплантаційного скринінгу ембріонів за обмеженою кількістю хромосом (до 12). Як правило, до цього переліку обов'язково входять 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22 пари хромосом, а також X та Y, що дозволяє виявляти близько 70-72% усіх випадків анеуплоїдії [21].

Станом на кінець 2008 року членами PGD Consortium було проведено 21829 ДРТ циклів із застосуванням доїмплантаційної FISH-діагностики [14], що становило близько 82% випадків доїмплантаційних досліджень.

Новою сходинкою розвитку доїмплантаційної діагностики стала імплантација у практику

наукових доробок з порівняльної геномної гібридизації. Метод дозволяє проводити одноментний скринінг всього генома на предмет анеуплоїдії, а також надавати кількісну характеристику окремих ділянок хромосом [4]. Зазначені можливості сприяли розширенню діагностичних можливостей, підвищенню точності висновків та швидкому прийняттю методу на озброєння ДРТ-клініками. Через його відносну молодість світова статистика ще відсутня. Але окремі результати вже представлені у міжнародній науковій літературі [8, 16, 17, 22, 27].

Переваги та недоліки кожного з методів зведено у таблиці 4.

Як впливає з аналізу даних, наведених у таблицях 3 та 4, FISH-метод та порівняльна геномна гібридизація мають багато спільних рис, а отже, й показань. З певного погляду, геномну гібридизацію можна представити у вигляді множинної FISH-діагностики, з чим, власне, і пов'язані її обмеження. Відтак, вважається за необхідне розвести показання для доїмплантаційного генетичного дослідження за допомогою FISH-методу та порівняльної геномної гібридизації, що і представлено у таблиці 5.

Порівняльна характеристика методів доїмплантаційної діагностики

Метод	Переваги	Технічні обмеження
Методи, засновані на явищі ампліфікації (ПЛР-діагностика)	Детекція унікальних послідовностей ДНК	Можливість «випадіння алелю». Обмеження діагностики певним регіоном. Неможливість детекції анеуплоїдій, поліплоїдій. Використання технологій ампліфікації всього геному вносить додаткові помилки.
FISH-методи	Детекція унікальних послідовностей ДНК Можливість візуалізації окремих хромосом чи всього генома	Обмежена кількість флуорохромів. Неможливість детекції внутрішньохромосомних дефектів в межах одного кольорового бенду чи в немічених ділянках. Накладання сигналів. Розщеплення сигналів. Низька ефективність гібридизації. Порушення процесу фіксації клітин. Необхідність використання індивідуальних зондів (у носіїв хромосомних перебудов).
Геномна гібридизація	Детекція унікальних послідовностей ДНК (кількісна) Скринінг всього генома	Роздільна здатність від 0,7 млн. пар основ. Неможливість детекції збалансованих хромосомних перебудов. Обмежена здатність детекції поліплоїдій, мозаїцизму. Висока чутливість до якості вихідного матеріалу. Неоднорідність ампліфікації фрагментів при використанні технологій ампліфікації всього генома. Зниження величини встановлених відхилень (= достовірності порушень).

На тлі зазначеного вище доцільним є акцентувати увагу на доцільності проведення доїмплантаційного дослідження парам-носіям хромосомних перебудов методом порівняльної геномної гібридизації як єдиним на сьогодні методом, що дозволяє скринувати одночасно весь геном на предмет незбалансованих хромосомних аберацій. Зазначений факт є надзвичайно важливим, оскільки носії хромосомних перебудов явно мають

підвищений рівень хромосомної нестабільності, що зумовлює підвищену частоту виникнення анеуплоїдій ембріонів за хромосомами, що не залучені до батьківської хромосомної перебудови. Так, за даними [16], які досліджували ембріони у носіїв хромосомних аберацій, сумарно у 56,2% ембріонів були встановлені аберації хромосом, не пов'язані з батьківською перебудовою (рис. 1).

Таблиця 5

Показання до застосування окремих методів доїмплантаційного генетичного дослідження

FISH-діагностика	Порівняльна геномна гібридизація
ДОІМПЛАНТАЦІЙНИЙ СКРИНІНГ Скринінг анеуплоїдій	
Обмежений скринінг анеуплоїдій (за 9-12 хромосомами)	Скринінг всього генома у випадку: множинних невдалих спроб ДРТ, звичного невиношування вагітності, при нормальних за каріотипом ембріонах, чоловічого фактора непліддя, наявності в анамнезі дитини з вродженою аномалією.
ДОІМПЛАНТАЦІЙНА ДІАГНОСТИКА у випадку хромосомних перебудов у батьків	
очікуваний мінімальний розмір незбалансованого порушення(в залежності від локалізації)	
до 2-5 млн. пар нукл. основ (залежно від локалізації)	понад 2-5 млн. пар нукл. основ (залежно від локалізації)

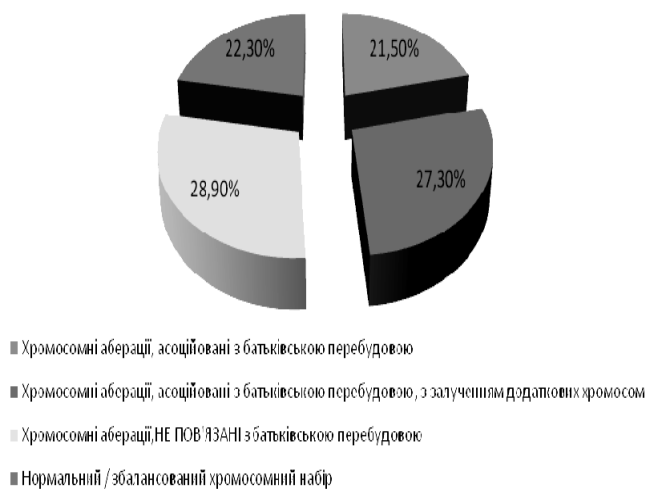


Рис. 1. Розподіл ембріонів у носіїв хромосомних аберацій (наведено за [16])

Таким чином, при проведенні доїмплантаційної діагностики FISH-методом у таких пацієнтів принаймні 28,9% ембріонів з анеуплоїдією за хромосомами, не пов'язаними з батьківською перебудовою, можуть бути пропущені як «нормальні». Наведене є переконливим аргументом на користь аналізу ембріонів в аналогічних випадках методом порівняльної геномної гібридизації, що вже було нами попередньо висвітлено [4].

Сучасний стан доїмплантаційної генетичної діагностики в Україні

Світові реалії доїмплантаційної діагностики характеризуються невпинним розвитком технологічних та діагностичних можливостей, що дозволяє невпинно підвищувати якість, точність діагностики та підвищує частку успішного запліднення й виношування вагітності в циклах ДРТ.

FISH-діагностика (рис. 2) традиційно є найуживанішою і використовується в абсолютній більшості обстежень пацієнтів в Україні. Однак проводиться вона лише у кількох медичних центрах ДРТ. Через це вузькому колу спеціалістів, що працюють у цій галузі, успішно вдається дотримуватись існуючих світових рекомендацій і вимог щодо проведення такого аналізу, забезпечуючи результативність ДРТ циклів у межах загальноєвропейських показників.

При цьому офіційна статистика щодо частоти та результатів застосування доїмплантаційної FISH-діагностики в Україні на сьогодні відсутня.

Складнішою є ситуація з іншими видами досліджень, що дозволяють діагностувати моногенну патологію та проводити скринінг всього генома ембріона.

У переліку моногенної патології, щодо якої у світі проводяться доїмплантаційні дослідження методом ПЛР, перші місця посідають муковісцидоз, бета-таласемія, серповидно-клітинна анемія, мідистрофія Дюшена та Беккера, гемофілія, синдром Мартіна-Белла (синдром ламкої Х-хромосоми) та селекція ембріонів за HLA-сумісністю.

На жаль, доїмплантаційна ПЛР-діагностика в Україні не є широкоживаною, навіть з огляду на широкодоступні дані щодо поширеності наведених вище патологічних станів. Діагностика на сьогодні проводиться в одному медичному центрі – Клініці репродуктивної медицини «Надія» у кількості лише декілька (!) циклів на рік у зв'язку з відсутністю направлення пацієнтів лікарями-генетиками на такий вид дослідження як один з методів народження здорового потомства у носіїв генної патології.

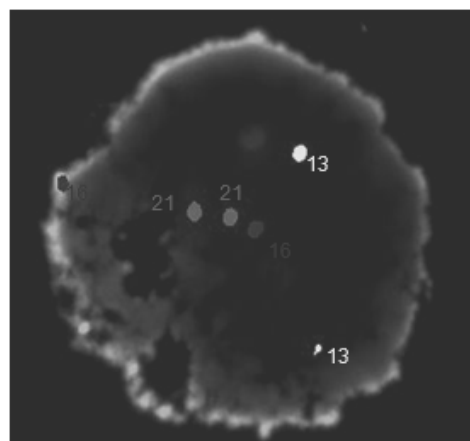


Рис. 2. Доїмплантаційна генетична діагностика FISH-методом. Бластомер (3 доба)

Порівняльна геномна гібридизація є новим методом діагностики та знаходиться лише на початкових етапах свого впровадження, тож і достовірної світової статистики свого застосування ще не має. При цьому ціла низка відомих центрів, що спеціалізуються на застосуванні методів доїмплантаційної діагностики, вже застосовує його у клінічній практиці. А в науковій літературі вже з'явилися перші повідомлення про народження дітей при використанні зазначеного методу [6, 16, 22]. В Україні доїмплантаційні обстеження пацієнтів з використанням методу порівняльної геномної гібридизації наразі проводяться також виключно на базі Клініки репродуктивної медицини «Надія», власні результати проведення яких наведені на рис. 3.

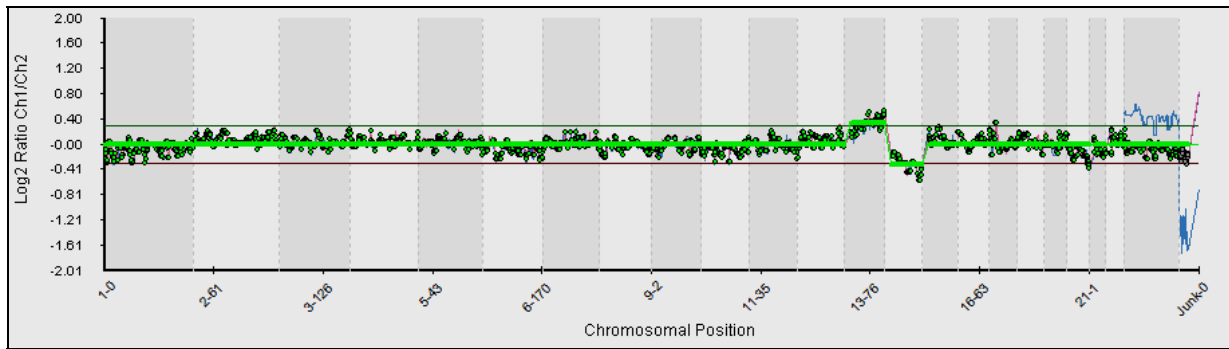


Рис. 3. Доімплантаційна генетична діагностика методом порівняльної геномної гібридації. Клітини трофектодерми ембріону (5 доба). Анеуплідний ембріон з трисомією за 13 хромосомою та моносомією за 14 хромосомою

Підсумовуючи викладене, можна дійти висновку, що цей метод селекції ембріонів у нашій державі робить лише перші кроки до свого становлення. Доімплантаційна діагностика наразі зосереджена у кількох медичних центрах ДРТ та є переважно діагностикою статі ембріону та обмеженим хромосомним скринінгом на наявність анеуплоїдій.

Варто зазначити, що перспективи подальшого розвитку діагностичних технологій на доімплантаційному етапі є достатньо ґрунтовними. Це пояснюється поширенням генетично зумовленої патології та зростанням неплідності населення, з іншої – недоступністю такого виду спеціалізованої медичної допомоги через фінансовий чинник та нерозвиненість інфраструктури центрів ДРТ. Так, за орієнтовними розрахунками (виходячи з обґрунтованої кількості 1500 циклів на 1 млн населення на рік [7]), сучасні потреби населення України в ДРТ становлять близько 70 тисяч циклів на рік [2], при тому, що фактичний ринок є значно вужчим. Зокрема, за доступними даними офіційної статистики, у 2008 було розпочато всього 10982 цикли з застосуванням ДРТ [3].

При цьому, як вже було зазначено, відсутність офіційних статистичних даних щодо застосування доімплантаційної FISH-діагностики зумовлює недоступність даних щодо затребуваності цих досліджень у нашій державі. А слабка структурованість існуючих статистичних звітностей унеможливує проведення таких розрахунків. Спроба ж проведення такої оцінки шляхом порівняння національного ринку послуг ДРТ зі світовим є недоцільною через те, що, по-перше, кожна країна має власні обмеження та стандарти проведення цих досліджень, а, по-друге, світовий ринок послуг ДРТ характеризується суттєво більшою структурованістю, порівняно з українським, тому, як правило, доімплантаційні генетичні до-

слідження там проводяться спеціалізованими центрами чи лабораторіями, до яких направляють біологічний матеріал репродуктивні клініки.

Відтак, вважали доцільним частково заповнити вакуум вітчизняного інформаційного простору. Bazуючись на тому, що носійство структурних хромосомних перебудов є абсолютним показанням до проведення доімплантаційного генетичного дослідження, можна провести орієнтовні розрахунки. Так, за власними даними медико-генетичного відділення КЗ КОР «Київського обласного центру охорони здоров'я матері і дитини», за період 2008-2010 рр. з питань подальшого дітонародження було проконсультовано 748 подружніх пар з репродуктивними розладами різних типів та 47 подружніх пар, в анамнезі яких є діти з вродженими вадами розвитку та з хромосомною патологією, що загалом становило 795 пар. При цьому виявлено 21 випадок хромосомних аномалій (19 та 2 відповідно), що становило приблизно 2,6% і є обґрунтованою нижньою межею необхідної частки застосування доімплантаційних досліджень. При апроксимації на фактичну кількість ДРТ-циклів та розрахункові потреби населення України в ДРТ (див. вище), матимемо таке: в Україні наразі має проводитись близько 290 доімплантаційних досліджень на рік. Однак, оскільки доімплантаційна діагностика в Україні зосереджена лише у кількох медичних центрах ДРТ, можна стверджувати, що фактична кількість проведених обстежень є меншою. Між тим, потреба у таких обстеженнях дорівнює близько 1850 випадків.

ПІДСУМОК

Доімплантаційна генетична діагностика на сьогодні є єдиним способом виявлення генетичної патології ембріона. Використання такого

підходу дозволяє підвищити результативність циклів допоміжних репродуктивних технологій, знизити рівень репродуктивних втрат під час вагітності та ймовірність народження дитини з порушеннями генетичного апарату. Особливості її застосування в окремих країнах пов'язані зі встановленими рамками конкретного соціального простору, щодо доцільності якого можуть дискутувати лише його громадяни. Україна, володіючи технічним оснащенням світового рівня та поки не є обмеженою законодавчим регулюванням, має низку переваг щодо подальшого розвитку діагностичних технологій. Використавши таку перевагу, вона має усі шанси стати потужним центром «репродуктивного туризму».

Разом тим, кожен метод, що використовується з цією метою, має свої показання. Надання сліпої переваги котромусь із них призводить до поляризації діагностичної технології та обмеженого доступу до медичної допомоги подружніх пар, що її потребують, зокрема, носіїв моногенної патології, хромосомних перебудов чи при нез'ясованих причинах непліддя.

Можливо, корінь таких недоліків криється у відсутності системного розвитку теоретичних і практичних проблем медичної генетики в країні, що зумовлено відсутністю спеціальної державної програми. Звідси витікає: а) необізнаність генетиків з сучасними принципами ведення пацієнтів з генетичною патологією й методами селекції ембріонів; б) нерозвиненість закладів молекулярної діагностики в країні; в) недостатня кількість спеціалістів з доїмплантаційної діагностики та брак у них досвіду; г) незатребуваність доїмплантаційної діагностики як медичної послуги.

Саме тому, задля реалізації своїх основних функцій, ефективного функціонування репродуктивних технологій вимагає: створення державної цільової програми, мета якої полягала б у розвитку фундаментальних і прикладних проблем медичної генетики. У межах такої програми доцільні: а) запровадження загальнодержавних реєстрів репродуктивних втрат і неплідних подружніх пар, б) розширення спектру обстежень донорів статевих клітин; в) структуризація ринку доїмплантаційної діагностики як медичної послуги з відкриттям відповідного центру, що спеціалізувався б на такому виді досліджень. Існуюча на сьогодні роз'єднаність клінік унеможливило запровадження окремих видів досліджень через обмежений потік пацієнтів, що породжує брак досвіду спеціалістів й економічну недоцільність таких обстежень внаслідок високої вартості обладнання та витратних матеріалів.

Уявляється також, що прийняття законопроектів щодо загальнодержавного медичного страхування (які вже не перший рік знаходяться на розгляді Верховної Ради) і подальше впровадження страхової медицини будуть сприяти розвитку допоміжних репродуктивних технологій, оскільки покриватимуться пов'язані з ними витрати.

Реалізація зазначених пропозицій забезпечить більшу доступність такого виду медичної допомоги, а, відтак, сприятиме зниженню рівня непліддя та зумовить покращення діагностики вроджених та спадкових хвороб і призведе до зниження народження дітей з генетично зумовленою патологією.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бочков Н. П. Клиническая генетика: учебник / Н.П. Бочков. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Геотар-Мед, 2006. – 480с.
2. Жуматий А. Репродуктивное гостеприимство [Електронний ресурс] / А. Жуматий // Публикации IRTSA. – 2010. – Режим доступу: <http://www.irtsa.com.ua/ru/publications>.
3. Інформаційно-статистичний довідник про допоміжні репродуктивні технології в Україні. – К.: МОЗ України, 2011. – 23 с.
4. Микитенко Д.О. Порівняльна геномна гібридизація: новий стандарт діагностики в репродуктивній медицині / Д.О. Микитенко, В. Д. Зукін // Здоровье женщины. – 2010. – №9 (55). – С. 183-187.
5. Aberrant behavior of mouse embryo development after blastomere biopsy as observed through time-lapse cinematography / T. Ugajin, Y. Terada, H. Hasegawa [et al.] // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 93, N 8. – P. 2723-2728.
6. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage / W. B. Schoolcraft, E. Fragouli, J. Stevens [et al.] // Fertil Steril. – 2010. – Vol. 94, N 5. – P. 1700-1706.
7. Collins J.A. An international survey of the health economics of IVF and ICSI / J.A. Collins // Hum. Reprod. Update. – 2002. – Vol.8, N. 3. – P. 265-277.
8. Comprehensive chromosome screening of polar bodies and blastocysts from couples experiencing repeated implantation failure / E. Fragouli, M. Katz-Jaffe, S. Alfarawati [et al.] // Fertil Steril. – 2010. – Vol. 94, N 3. – P. 875-887.

9. Different embryonic development after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis, observed by time-lapse imaging / Y. Tereda, T. Ugajin, H. Hasegawa [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92, N 4. – P. 1470-1471.
10. Does blastomere biopsy in preimplantation genetic diagnosis affect early serum β -hCG levels? / Y. J. Cho, J. Y. Kim, I. O. Song [et al.] // *Clin. Exp. Reprod. Med.* – 2011. – Vol. 38, N 1. – P. 31-36.
11. Edwards R.G. Sexing of live rabbit blastocysts / R. G. Edwards, R. L. Gardner // *Nature.* – 1967. – Vol.214. – P.567-577.
12. ESHRE PGD Consortium data collection VI: cycles from January to December 2003 with pregnancy follow-up to October 2004 / K. D. Sermon, A. Michiels, G. Harton [et al.] // *Hum Reprod.* – 2007. – Vol. 22, N 2. – P. 323-336.
13. ESHRE PGD Consortium data collection VIII: cycles from January to December 2005 with pregnancy follow-up to October 2006 / V. Goossens, G. Harton, C. Moutou [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 23, N 12. – P. 2629-2645.
14. ESHRE PGD consortium data collection X: cycles from January to December 2007 with pregnancy followup to October 2008 / J. C. Harper, E. Coonen, M. De Rycke [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol.25, N.11. – P.2685-2707.
15. Goossens V. ESHRE PGD Consortium data collection IX: cycles from January to December 2006 with pregnancy follow-up to October 2007 // V. Goossens, G. Harton, C. Moutou [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2009. – Vol. 24, N 8. – P. 1786-1810.
16. First births after preimplantation genetic diagnosis of structural chromosome abnormalities using comparative genomic hybridization and microarray analysis / S. Alfarawati, E. Fragouli, P. Colls, D. Wells // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26, N 6. – P. 1560-1574.
17. First clinical application of comparative genomic hybridization and polar body testing for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy / D. Wells, T. Escudero, B. Levy [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2002. – Vol. 78, N 3. – P. 543-549.
18. Harper J.C. ESHRE PGD consortium data collection VII: cycles from January to December 2004 with pregnancy follow-up to October 2005 / J.C. Harper, C. de Die-Smulders, V. Goossens // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 23, N 4. – P. 741-755.
19. Legal aspects of PGD Licensing [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.hfea.gov.uk/docs/SCAG_ELC_Annex_A_June05.pdf.
20. Multicolour FISH detects frequent chromosomal mosaicism and chaotic division in normal preimplantation embryos from fertile patients / J. D. Delhanty, J. C. Harper, A. Ao [et al.] // *Hum Genet.* – 1997. – Vol. 99, N 6. – P. 755-760.
21. Munné S. Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes / S. Munné, D. Wells, J. Cohen // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94, N 2. – P. 408-430.
22. PGD for reciprocal and Robertsonian translocations using array comparative genomic hybridization / F. Fiorentino, L. Spizzichino, S. Bono [et al.] // *Hum Reprod.* – 2011. – Vol. 26, N 7. – P. 1925-1935.
23. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification / A.H. Handyside, E.H. Kontogianni, K. Hardy, R. M. L. Winston // *Nature.* – 1990. – Vol. 344. – P. 768-770.
24. Preimplantation aneuploid embryos undergo self-correction in correlation with their developmental potential / S. Barbash-Hazan, T. Frumkin, M. Malcov [et al.] // *Fertility Sterility.* – 2009. – Vol.92, N 3. – P. 890-896.
25. Preimplantation Genetic Diagnosis in Europe / A. Corveleyn, E. Zika, M. Morris [et al.] // *Eur. Communities.* – 2007. – Vol. 114. – P. 57-75.
26. Self-correction of chromosomally abnormal embryos in culture and implications for stem cell production / S. Munné, E. Velilla, P. Colls [et al.] // *Fertil Steril* – 2005. – Vol. 84, N 5. – P. 1328-1334.
27. Validation of microarray comparative genomic hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos / C. Gutiérrez-Mateo, P. Colls, J. Sánchez-García [et al.] // *Fertil Steril.* – 2011. – Vol. 95, N 3. – P. 953-958.

