

УДК 618.5.006.36 – 089-053 (0433)

©І.Л. Захаренко, А.І. Сейлова

## ВИБІР МЕТОДИКИ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРИ СЕЛЕКТИВНОМУ ПЕРЕНЕСЕННІ ОДНОГО ЕМБРІОНА

*Центр реконструктивної та відновної медицини (клініка OHMedU)*

**ВИБІР МЕТОДИКИ КУЛЬТИВУВАННЯ ПРИ СЕЛЕКТИВНОМУ ПЕРЕНЕСЕННІ ОДНОГО ЕМБРІОНА.** В даний час актуальною проблемою є профілактика багатоплідної вагітності у жінок, що проходили програму екстракорпорального запліднення (ЕКЗ). Знизити наступ даного ускладнення допомагає методика селективного переносу одного ембріона. Нами був проведений ретроспективний аналіз амбулаторних карт пацієнток, що проходили лікування методом ЕКЗ і інтрацитоплазматичної ін'єкції сперматозоїда в ооцит (ІКСІ) з приводу трубно-перитонеального фактору безпліддя у відділенні репродукції центру реконструктивної та відновної медицини(клініка OHMedU) за період березень 2011 року – серпень 2012 року. У дослідження були включені дві групи пацієнток. У першій групі було проведено перенесення бластоцисти на 5 добу (n = 170), у другій – ембріон культивувався до третьої доби з використанням ембріоскопії (n = 123). Контрольну групу склали пацієнтки, яким переносили 2 бластоцисти на п'яту добу культивування (n = 96). Результати дослідження. Частота настання одноплідної клінічної вагітності у першій групі пацієнток при перенесенні однієї бластоцисти на п'яту добу, склала 35 %. Частота настання багатоплідної вагітності (двійня) дорівнювала 2 %. У другій групі при перенесенні одного ембріона на третю добу з використанням ембріоскопії показник настання вагітності дорівнював 41 %, частота двійнят – 1,5 %, відповідно. У контрольній групі при перенесенні двох бластоцист після використання пролонгованого культивування клінічна одноплідна вагітність наступила у 49 % випадків, багатоплідна вагітність (двійнята) склала 28 % від загального числа наступили вагітностей. Спираючись на результати нашої роботи можна зробити висновок, що селективне перенесення одного ембріона не знижує ефективності програми ЕКЗ + ІКСІ. Наше дослідження показує, що найбільш ефективним методом перенесення одного ембріона є ембріоскопія.

**ВЫБОР МЕТОДИКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРИ СЕЛЕКТИВНОМ ПЕРЕНОСЕ ОДНОГО ЭМБРИОНА.** В настоящее время актуальной проблемой является профилактика многоглодной беременности у женщин, проходивших программу экстракорпорального оплодотворения(ЭКО). Снизить наступление данного осложнения помогает методика селективного переноса одного эмбриона. Нами был проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт пациенток, проходивших лечение методом ЭКО и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ) по поводу трубно-перитонеального фактора бесплодия в отделении репродукции центра реконструктивной и восстановительной медицины(клиника OHMedU) за период март 2011 года – август 2012 года. В исследование были включены две группы пациенток. В первой группе был проведен перенос бластоцисты на 5 сутки (n=170), во второй – эмбрион культивировался до третьих суток с использованием эмбрископии(n=123). Контрольную группу составили пациентки, которым переносили 2 бластоцисти на пятые сутки культивирования(n=96). Частота наступления одноплодной клинической беременности в первой группе пациенток при переносе одной бластоцисты на пятые сутки, составила 35 %. Частота наступления многоглодной беременности (двойня) была равна 2 %. Во второй группе при переносе одного эмбриона на третьи сутки с использованием эмбрископии показатель наступления беременности был равен 41 %, частота двоен – 1,5 %, соответственно. В контрольной группе при переносе двух бластоцист после использования пролонгированного культивирования клиническая одноплодная беременность наступила в 49 % случаев, многоглодная беременность (двойня) составила 28 % от общего числа наступивших беременностей. Опираясь на результаты нашей работы можно сделать вывод, что селективный перенос одного эмбриона не снижает эффективности программы ЭКО+ИКСИ. Наше исследование показывает, что наиболее эффективным методом переноса одного эмбриона является эмбрископия.

**CHOICE OF METHODS OF CULTIVATION WITH ELECTIVE SINGLE-EMBRYO TRANSFER.** Currently, the actual problem is the prevention of multiple pregnancies in women undergoing in vitro fertilization program (IVF). Reduce the onset of complications helps technique of selective embryo transfer. The purpose of this study is the choice of the optimal method of embryo selection to compare the two techniques. We carried out a retrospective analysis of patients treated with IVF and intracytoplasmic sperm injection into the oocyte (ICSI) with the tubal-peritoneal factor infertility in center in the department of reconstructive and restorative medicine (clinic ONMedU) for the period March 2011 – August 2012 . The study included two groups of patients. The first group was held blastocyst transfer on the 5th day (n = 170), the second – embryos were cultured to the third day with embryoscopy (n = 123). The control group consisted of patients who were transferred two blastocysts on 5 day culture (n = 96). The frequency of occurrence of singleton clinical pregnancy in the first group of patients with a blastocyst transfer on 5 day was 35 %. The occurrence of multiple pregnancies (twins) was 2 %. In the second group when transferring one embryo on the third day with embryoscopy ongoing pregnancy was equal to 41 %, the incidence of twins – 1.5 %, respectively. In the control group, in the transfer of two blastocysts after prolonged culturing of clinical singleton pregnancy occurred in 49 % of cases, multiple pregnancy (twins) accounted for 28 % of total pregnancy. Based on our findings, we can conclude that the elective single-embryo transfer does not reduce the effectiveness of IVF + ICSI. Our research shows that the most effective way to transfer one embryo is embryoscopy.

**Ключові слова:** безпліддя, селекція, ембріоскопія.

**Ключевые слова:** бесплодие, селекция, эмбриоскопия.

**Key words:** infertility, breeding, embryoscopy.

**ВСТУП.** З часу появи екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) у всіх країнах ставилося питання про досягнення вагітності будь-якою ціною, тому проводилося перенесення всіх отриманих ембріонів. Мето-

дики кріоконсервації «зайвих» ембріонів були впроваджені декілька пізніше, у зв'язку з чим на перших етапах становлення допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) відзначалося значне збільшення ба-

тотлідних вагітностей. Подальший розвиток методів ДРТ, що включає використання більш сучасних схем стимуляції суперовуляції із застосуванням аналогів гонадотропін-рилізинг-гормону (ГнРГ) і рекомбінантного фолікулостимулюючого гормону (рФСГ), способів культивування ембріонів і ін. зіграло в цьому збільшенні важливу роль [1].

Разом з тим є дані про те, що багатоплідна вагітність асоційована з високим рівнем ускладнень як з боку матері, так і з боку плода, у порівнянні з одноплідною вагітністю [2].

Відомо, що ризик перинатальних ускладнень, особливо неврологічних, у новонароджених з двійнят і трійнят в кілька разів вище, ніж при одноплідній вагітності, що може бути пов'язано з високим рівнем не-доношеності при багатоплідній вагітності [3].

Клініко-соціальна значимість багатоплідної вагітності розглядається з позиції впливу на здоров'я матері, перебіг вагітності, стан плода та новонародженого [4].

Способ зниження кількості багатоплідних вагітностей шляхом селективного переносу одного ембріона (elective Single Embryo Transfer, eSET) в програмах ЕКЗ знайшов підтримку у зв'язку з численними даними про ускладнений перебіг таких вагітностей [5].

Стратегія eSET зменшує ризики, асоційовані з багатоплідністю. Однак дана стратегія важко впроваджується в політику регулювання в галузі репродукції різних країн у зв'язку з неоднозначним ставленням як лікарів, так і пацієнтів до можливого очікуваного зниження результативності ЕКО при перенесенні тільки одного ембріона. За даними Кохрейновського огляду по eSET, проведеного в 2005 р., відмічено достовірне зниження частоти багатопліддя [6].

При цьому кумулятивна частота настання вагітності, яка враховує дані про сумарну ефективність переносів одного ембріону, в тому числі отриманих після кріоконсервації, не відрізняється від даних при перенесенні двох ембріонів [7].

В огляді європейського товариства з репродукції людини і ембріології (ESHRE) за 2008 р. відзначено позитивний тренд у бік зниження кількості переносимих ембріонів в порожнину матки, що в свою чергу знайшло своє зображення на зниженні частоти багатоплідних вагітностей, отриманих в результаті застосування ДРТ, з 30 до 15–20 % у більшості європейських країн [8].

Але, не дивлячись на всі проведені дослідження, проблема вибору методики для отримання максимальної ефективності при селективному перенесенні ембріона залишається актуальною.

Мета дослідження: Метою цього дослідження є вибір оптимального методу селекції ембріонів шляхом порівняння двох методик: пролонговане культивування до п'ятої доби з наступним перенесенням бластиоцити в порожнину матки і культивування ембріонів до третьої доби із застосуванням ембріоскопії.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.** Нами був проведений ретроспективний аналіз амбулаторних карт пацієнтів, що проходили лікування методом ЕКЗ і інтрацито-плазматичної ін'єкції сперматозоїда в ооцит (IKCI) з приводу трубно-перитонеального фактору безпліддя

у відділенні репродукції центру реконструктивної та відновної медицини за період березень 2011 року – серпень 2012 року. У дослідження були включені пари, що проходили програми ЕКЗ, у яких був виконаний перенос ембріонів на 5 добу та пари, яким проводилося перенесення одного ембріона на третю добу, відібраного за допомогою ембріоскопії. Контрольну групу склали пацієнтки, яким переносили 2 бластиоцити на п'яту добу культивування. Для пацієнток, що мають в анамнезі кілька спроб, враховувалися результати першої з них.

Всього в наше дослідження було включено 293 пацієнтки. Всі пацієнтки були розділені на дві основні групи. У першу групу були включені 170 (n = 170) пацієнток, які проходили програму ЕКО + IKCI, що склало 58 %, яким проводили перенесення однієї бластиоцити на п'яту добу. Другу групу склали 123 (n = 123) пацієнтки, що склало 42 %, яким було проведено ЕКЗ + IKCI з використанням ембріоскопії (Primo vision) та культивування ембріонів до 3 доби. Контрольну групу склали 96 пацієнток з трубно-перитонеальним фактором безпліддя, яким було проведено ЕКЗ + IKCI, з подальшим перенесенням двох бластиоцитів на п'яту добу.

Пацієнтки у всіх групах достовірно не відрізнялися за віком, тривалістю стимуляції суперовуляції, станом оваріального резерву. Для стимуляції суперовуляції у всіх пацієнток включених у дослідження, нами був використаний стандартний довгий протокол з агоністами ГнРГ і рФСГ. Середня тривалість стимуляції овуляції склала  $11 \pm 1$  день. Сумарна доза уведеного рФСГ склала  $2025 \pm 150$  МО. Стимуляція суперовуляції проводилася до дня досягнення лідируючим фолікулом діаметром 18–20 мм і товщини ендометрію 9–10 мм, після чого призначали ін'єкцію «овулярної» дози хоріонічного гонадотропіну (ХГ), яка підбиралася індивідуально, в залежності від кількості, розміру фолікулів. У всіх випадках через 35–36 год після ін'єкції ХГ проводилась трансвагінальна пункция (ТВП) яєчників з метою аспірації преовуляторних ооцитів.

Підтримка другої фази циклу проводилася з дня ТВП та здійснювалася препаратами 2,5 % масляного розчину прогестерону і мікронізірованим прогестероном.

У день трансвагінальної пункциї проводилася підготовка сіменної рідини шляхом центрифугування в градієнті перколла, а потім методом відмивки «swim-up». Перенесення ембріонів здійснювалося типово під контролем трансабдомінального УЗ-дослідження за допомогою м'якого маточного катетера. Отримані ооцити стадії MII запліднювали методом IKCI. Запліднення оцінювали через 16–19 годин після проведення процедури IKCI. Ембріони, отримані у всіх групах, культивували в стандартних умовах при  $37^{\circ}\text{C}$  і 6 % CO<sub>2</sub>. Оцінку розвитку ембріонів першої і другої груп проводили кожну добу, у ранкові години. Якість ембріонів оцінювали відповідно до критеріїв Гарднера і Скулкрафта, при цьому враховували: число бластиомерів, їх розміри та симетричність, наявність багатоядерності бластиомерів, появу і зникнення фрагментації і вакуолізації, початок компактизації, початок кавітації, якість трофобласта і внутрішньоклітинної маси

(ВКМ). Селекцію ембріонів третьої групи проводили шляхом ембріоскопії за допомогою використання технології серійної зйомки (time-lapse video), розробленої компанією Cryo Innovation. При цьому оцінювали такі динамічні параметри, як початок і закінчення першого поділу, початок другого поділу (поява третього бластомера), синхронність другого поділу (час між появою третього і четвертого бластомера), початок третього поділу (поява п'ятого бластомера), закінчення третього поділу (поява восьми бластомерів), наявність оборотної фрагментації, вакуолізації, багатоядерність бластомерів. Діагностика вагітності проводилася на 14 день після перенесення ембріонів, з використанням біохімічного тесту ( $\beta$ -лХГ). Ультразвукова діагностика вагітності здійснювалася на 28-й день після перенесення ембріонів. При цьому в порожнині матки візуалізували одне або більше (при багатоплідній вагітності) плідне яйце, а в яєчниках жовті тіла.

#### **РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.**

Середня кількість ооцитів, отримана у всіх групах склала  $10 \pm 2$  ооцитів. Кількість запліднених яйцеклітин склала  $7 \pm 2$ . Відсоток бластоцістного зростання склав 35 %. У результаті нашого дослідження було виявлено, що частота настання одноплідної клінічної вагітності у першій групі пацієнток при перенесенні однієї бластоцисти на п'яту добу, склала 35 %. Частота настання багатоплідної вагітності (двійня) дорівнювала 2 %. У другій групі при перенесенні одного ембріона на третю добу з використанням ембріоскопії показник настання вагітності дорівнював 41 %, частота

двійнят – 1,5 %, відповідно. У контрольній групі при перенесенні двох бластоцист після використання пролонгованого культивування клінічна одноплідна вагітність наступила у 49 % випадків, багатоплідна вагітність (двійнята) склала 28 % від загального числа вагітностей.

У ході даного дослідження нами було встановлено, що частота настання клінічної вагітності у другій групі склала 41 %, що на 6 % більше ніж у першій групі (частота настання клінічної вагітності – 35 %). Однак даний показник виявився нижчим на 8 % у другій групі, порівняно з контрольною групою (частота настання клінічної вагітності – 49 %). При порівнянні настання багатоплідної вагітності в трьох групах нами було виявлено, що найбільше число двійнят, виходило при перенесенні двох бластоцист на п'яту добу – 28 %. Нижче показники були в першій групі – 2 %. Найменше двійнят було отримано при перенесенні одного ембріона на третю добу, відібраного за допомогою ембріоскопії – 1,5 %.

**ВИСНОВКИ.** Спираючись на результати нашої роботи можна зробити висновок, що селективне перенесення одного ембріона не знижує ефективності програм ЕКЗ + IKCI.

#### **ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.**

Ембріоскопія – метод передімплантаційної, неінвазивної діагностики, який дозволяє вибрати ембріони для селективного переносу, що істотно знижує ризик настання багатоплідної вагітності і дозволяє розраховувати на досить високу частоту настання вагітності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Кулаков В.И. Лечение женского и мужского бесплодия / В.И. Кулаков, Б.В. Леонов, Л.Н. Кузьмичев. М., 2005. – 784 с.
2. Elective single blastocyst transfer reduces twin rates without compromising pregnancy rates/ A. Criniti, A. Thyer, G. Chow // Fertility and Sterility. – 2005. – Vol.84. – P. 1613–1619.
- 3) Сидельникова В.М. Эндокринология беременности в норме и патологии / В.М. Сидельникова. М., 2007. – 352 с.
4. Evidence-Based Management of Infertile Couples with Repeated Implantation Failure Following IVF / D. Kim, A. Nabil, S. Joelle // Current Women's Health Reviews. – 2010. – Vol. 6. – P. 200–218.
5. In favor of blastocyst stage single embryo transfer / F. Guerif // Gynecologie Obstetrique Fertilite. – 2010. – Vol. 38, № 5. – P. 359–360.
6. Against systematic blastocyst stage single embryo transfer / C. Sifer, R. Levy // Gynecologie Obstetrique Fertilite. – 2010. – Vol. 38, № 5. – P. 361–363.
7. Human blastocyst culture in IVF: current laboratory applications in reproductive medicine practice/ E. Sills, G. Palermo // RGME. – 2010. – Vol.3. – P.441–445.
8. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality and embryogender / S. Alfarawati, E. Fragouli, P. Colls // Fertility and Sterility. – 2010. – Vol.6. – P. 1184–1190.

Отримано 15.02.2013