

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ У ЖЕНЩИН ПОЗДНЕГО РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

EFFECTIVENESS AND SAFETY OF PREIMPLANTATION GENETIC TESTING IN WOMEN IN THE ADVANCED MATERNAL AGE GROUP

**A. Zhuikov
K. Boyarsky
A. Semenenko
S. Zhuikova**

Summary. This review includes recent data on the need for and feasibility of preimplantation genetic testing (PGT) in women in the advanced maternal age group (35+). An increase in maternal age is associated with an increase in the incidence of aneuploidy in the embryo. PGT allows the selection of euploid embryos for transfer. According to some reports this leads to better embryo implantation rates, lower early miscarriage rates and consequently higher live birth rates, and also reduces the risk of multiple pregnancies. But conclusive evidence is still not yet sufficient. The lack of well-designed randomised trials does not allow issues about the potential obstetric, neonatal or long-term effects of embryo biopsy to be fully addressed. Therefore, to overcome the potential risks of complications after embryo biopsy, some authors suggest the use of a non-invasive PGT method based on extracellular DNA analysis of the embryo, but this has not yet been fully developed. Additional limiting factors for the use of PGT are its high cost, the use of different genome reading methods that can lead to different interpretations of the test results, the presence of mosaicism in the embryo. Therefore, the question of the effectiveness and safety of PGT in general and in women of advanced maternal age in particular requires further development.

Keywords: assisted reproductive technologies, preimplantation genetic testing, aneuploidy.

Жуйков Андрей Андреевич

Эмбриолог, Медицинский центр персонального здоровья
и репродукции «Генезис», Санкт-Петербург
homkabrut@gmail.com

Боярский Константин Юрьевич

кандидат медицинских наук, заведующий отделением
репродукции и планирования семьи,
Медицинский центр персонального здоровья
и репродукции «Генезис», Санкт-Петербург
konstantinboyarsky@icloud.com

Семененко Анастасия Евгеньевна

генеральный директор, главный врач, врач акушер-
гинеколог, Медицинский центр персонального здоровья
и репродукции «Генезис», Санкт-Петербург
ana-semenenko@mail.ru

Жуйкова Светлана Евгеньевна

доктор биологических наук, доцент,
Санкт-Петербургский государственный институт
психологии и социальной работы
sveta-zh2005@yandex.ru

Аннотация. Обзор включает последние данные о необходимости и возможности применения преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) у женщин позднего репродуктивного возраста (35+). Увеличение возраста матери связано с увеличением частоты возникновения анеуплоидий у эмбриона. ПГТ позволяет провести отбор эуплоидных эмбрионов для переноса. По некоторым данным это приводит к улучшению показателей имплантации эмбрионов, меньшей частоте ранних выкидышей и, как следствие, более высокой частоте живорождений, а также исключает риски многоплодной беременности. С другой стороны, нехватка хорошо спланированных рандомизированных исследований не позволяет полностью решить вопросы о потенциальных акушерских, неонатальных или долгосрочных последствиях биопсии эмбриона. В связи с этим для преодоления потенциальных рисков осложнений после биопсии эмбриона некоторые авторы предлагают использовать неинвазивный метод ПГТ, основанный на анализе внеклеточной ДНК эмбриона, но он еще до конца не разработан. Дополнительными ограничивающими применение ПГТ факторами является его дороговизна, применение разных методов прочтения генома, которые могут привести к разночтениям в интерпретации результатов анализов, наличие мозаицизма у эмбриона. Так что вопрос об эффективности и безопасности применения ПГТ до сих пор остается открытым.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии, преимплантационное генетическое тестирование, анеуплоидия.

Введение

В современном мире социальные и культурные условия, а также повышение качества жизни приводят к тому, что появляется тенденция к увеличению среднего возраста родителей на момент рождения первого ребенка в семье. По мере роста родительского возраста растёт и бесплодие. Средняя распространенность бесплодия оценивается примерно в 9 %, причем этот процент выше в более развитых странах [1]. Увеличение возраста родителей, особенно женщин, приводит к тому, что повышается частота выкидышей и невынашиваний [2], при этом до 70 % ранних выкидышей происходит из-за хромосомных аномалий плода [3].

Лечение бесплодия включает в себя консультирование, фармакотерапию, хирургию и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) [4]. В последнее десятилетие произошел сдвиг в сторону переноса в матку только одного эмбриона. Это сводит к минимуму осложнения, возникающие при многоплодной беременности. Для переноса в матку отбирается эмбрион с наибольшими шансами на выживание. Лучший эмбрион часто выбирают на основе морфологической оценки, так как это экономичный, быстрый и неинвазивный метод. Хотя этот метод широко используется, он не учитывает возможность генетических аномалий, поскольку нет корреляции между морфологическими признаками эмбриона и его генетическим материалом [5]. Поэтому появилась потребность в отборе для переноса эмбрионов без генетических аномалий, в надежде добиться лучших показателей их имплантации и рождения здоровых детей. Техника, позволяющая проводить такое тестирование, называется преимплантационным генетическим тестированием (ПГТ).

История развития ПГТ, как метода исследования эмбриона, его разновидности

ПГТ — актуальный инструмент искусственных репродуктивных технологий. В XX веке развитие генетики привело к тому, что человечество научилось производить анализ последовательности ДНК в клетках животных и растений. Развитие клинической эмбриологии в конце XX начале XXI века позволило культивировать эмбрионы человека до 5–6 суток, до стадии бластоцисты, а также проводить биопсию клеток, которые пригодны для генетического анализа будущего плода. Это привело к возможности проведения ПГТ — исследования эмбриона на наличие хромосомных аномалий и моногенных генетических заболеваний на раннем этапе развития, до переноса в полость матки. Считается, что разработку ПГТ начал в 1890 году W. Неаре, методика впервые была успешно реализована в 1989 году A. Handyside [6].

Существует три основных типа биопсии в зависимости от типа собранного образца: биопсия полярного

тельца ооцита или эмбриона первого дня, биопсия бластомера на стадии дробления и биопсия трофэктодермы на стадии бластоцисты [7].

Биопсия полярного тела была одним из первых видов ПГТ. Во время мейоза ооцита образуются два полярных тела: одно во время овуляции, другое — после оплодотворения ооцита. Основным недостатком этого метода является то, что он предоставляет информацию только о материнском генетическом материале [6], [7]. Поскольку полярное тело не является неотъемлемой частью эмбриона, этот метод считается меньше всего влияющим на его развитие [8]. Тем не менее существуют единичные исследования, в которых сообщается о более высоком проценте фрагментации ДНК эмбриона и меньшем количестве бластомерных клеток на второй и третий день развития [9].

Другой метод связан с биопсией бластомера. Биопсию 1–2 бластомеров проводят на третий день после оплодотворения, когда эмбрион обычно имеет 6–10 клеток [6], [7]. Основным недостатком этого метода считается большая вероятность ошибок в интерпретации результатов из-за хромосомного мозаицизма (явления, при котором в одном эмбрионе присутствует несколько клеточных линий), который на этой стадии развития эмбриона самый высокий [10].

Что касается безопасности этого метода, то эксперименты на животных показали, что биопсия бластомеров может приводить к нарушениям постэмбрионального развития. В экспериментах на мышах были обнаружены ухудшение функций памяти и гипомиелинизация у животных, которым была проведена биопсия бластомеров во время эмбриологического развития [11]. В другом исследовании у мышей наблюдались изменения в структуре и функции надпочечников и более слабая реакция глюкокортикоидов на холод [12].

Исследования на людях единичны и противоречивы. Имеются сообщения об изменении морфокинетических свойств эмбриона при биопсии бластомеров, что может снизить потенциал эмбриона к имплантации [13]. Единичные исследования предполагают возможную связь биопсии эмбриона на стадии дробления с повышенным риском рождения новорожденных с низкой массой тела и малыми размерами по сравнению с детьми, полученными из эмбрионов, не подвергавшихся биопсии [14], [15]. С другой стороны, есть исследования, показывающие, что этот метод биопсии не влияет на здоровье детей в долгосрочной перспективе [14], [16].

В настоящее время чаще всего для проведения ПГТ проводится биопсия клеток трофэктодермы. От трофэктодермы эмбриона на 5, 6 или даже 7-е сутки забирается 5–10 клеток. Оставшиеся клетки трофэктодермы про-

должают интенсивно делиться, что позволяет быстро восполнить потерю [7]. Основным преимуществом биопсии трофэктодермы, по сравнению с другими методами биопсии, является сбор большего количества генетического материала для анализа, что повышает вероятность выявления потенциальных мозаицизмов и снижает вероятность постановки ошибочных диагнозов, а также позволяет проводить несколько анализов по разным показаниям на одном и том же образце [6], [15].

Считается также, что этот метод менее инвазивный, поскольку собираются клетки трофэктодермы, а не клетки эмбриона. Показано, что правильно проведенная биопсия не причиняет эмбриону вреда, не влияет на его имплантационные способности и не сказывается на здоровье будущего ребёнка. Не было показано значимых различий в физических параметрах, моторном и умственном развитии и общем уровне здоровья между детьми 5–8 лет, рожденных после биопсии трофэктодермы, по сравнению с детьми, рожденными после ЭКО/ИКСИ без ПГТ [17], [18], [19].

При этом надо отметить, что в части исследований было высказано предположение об увеличении числа преждевременных родов и врожденных дефектов в случаях биопсии трофэктодермы. Был также обнаружен повышенный риск гипертензивных расстройств беременности. Однако эти результаты могут быть связаны и с другими процедурами манипуляции с эмбрионами или личными особенностями пациентов [14], [20].

Исследование ДНК эмбриона в большинстве современных лабораторий проводится методом высокопроизводительного секвенирования (Next Generation Sequencing, NGS). На данный момент метод NGS является широко доступным, прогрессивным, надежным и информативным методом секвенирования [6], [15], [21], [22]. Кроме NGS существуют другие методы исследования последовательности ДНК, которые могут использоваться для проведения ПГТ: флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), метод однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), сравнительная геномная гибридизация (CGH), количественная полимеразная цепная реакция (qPCR) [6], [15].

Биопсия на стадии дробления ранее являлась наиболее широко используемым подходом для обнаружения моногенных дефектов (ПГТ-М) и хромосомных структурных перестроек (ПГТ-СТ), сейчас эти виды ПГТ все чаще используют биопсию клеток трофэктодермы. Напротив, в случае ПГТ для обнаружения анеуплоидий (ПГТ-А) большинство биопсий и раньше, и теперь выполняется на стадии бластоцисты [23].

ПГТ-М — это генетическое исследование биоптата эмбриона на наличие определенной генетической мутации (патогенного варианта) или нескольких вариан-

тов, ассоциированных с наследственным заболеванием. Проведение ПГТ-М в семье с установленным моногенным наследственным заболеванием или высоким риском заболевания при гетерозиготном носительстве у супругов позволяет прервать дальнейшую передачу семейного генетического дефекта в ряду поколений, избежать сложных психологических решений по прерыванию беременности и предотвратить рождение больного ребенка в семьях высокого риска [6], [15], [24].

ПГТ-А — исследование генома на анеуплоидии. Анеуплоидии — это численные хромосомные аномалии, не кратные гаплоидному набору хромосом клетки или организма. В настоящее время это наиболее часто используемый метод, так как анеуплоидии являются достаточно частой причиной нарушений эмбрионального развития, особенно у женщин позднего репродуктивного возраста, вследствие чего возникают самопроизвольные потери беременности, мертворождение или развитие клинических проявлений ряда хромосомных синдромов [3], [25]. Хромосомная анеуплоидия может встречаться у 20–80 % эмбрионов человека [25], [26]. Считается, что ранняя диагностика анеуплоидий в клетках трофэктодермы эмбриона позволяет предотвратить невынашивание, мертворождение или рождение детей с аномалиями, хотя некоторые авторы оспаривают универсальность ПГТ-А для улучшения репродуктивного потенциала у пациентов ЭКО/ИКСИ [6], [15], [27], [28].

ПГТ-СТ направлено на выявление хромосомных перестроек у эмбрионов, включая все типы делеций, дупликаций, инверсий и транслокаций. Оно отличается от ПГТ-А тем, что используется в случаях, когда хромосомные аномалии являются наследственными из-за того, что у одного или обоих родителей имеется сбалансированная структурная перестройка хромосом. ПГТ-СТ снижает риск рождения ребенка с несбалансированной структурной аномалией [6], [15], [27].

Влияние материнского возраста на частоту генетических аномалий ооцита и эмбриона

Данные, полученные при анализе полиморфизмов ДНК в материале спонтанных аборт и при прямом анализе ооцитов человека показали, что большинство мейотически обусловленных аномалий возникают во время оогенеза [29], [30]. Обнаружено, что в большинстве случаев лишняя хромосома имеет материнское происхождение. Анализ более чем 1200 беременностей с трисомией показал, что в 84 % случаев лишняя хромосома материнская, в 11% случаев — отцовская и только 5 % — это постзиготические ошибки деления. Трисомия по 16 хромосоме (несовместимая с жизнью) в 100 % случаев вызвана нарушением расхождения хромосом в I делении мейоза ооцита [25].

Исследования ооцитов продемонстрировали прямую связь между увеличением возраста женщины и увеличением частоты возникновения анеуплоидий. По данным разных авторов от 50 % до 80 % ооцитов, полученных у женщин старше 40 лет, имеют анеуплоидии [29], [31]. Все хромосомы поражаются примерно в равной степени. Наибольшую частоту анеуплоидий показывают хромосомы 15, 16 и 21 (9,2 %, 11,8 %, 7,1 % соответственно). Хромосома 1 имеет самый высокий уровень сегментарных анеуплоидий, что, возможно связано с тем, что она является наиболее крупной хромосомой [31]. Вероятность трисомии ооцитов по 21 хромосоме (синдром Дауна) возрастает с 3 % у женщин в возрасте 20 лет до 40 % у женщин старше 40 лет [25].

Изучение влияния возраста матери на частоту анеуплоидий, в большинстве работ проводилось на эмбрионах, а не ооцитах. При анализе подобных работ следует учитывать, что ошибки расхождения хромосом могут возникнуть не только во время мейотического деления клеток, но и на других стадиях развития ооцита: в зародышевом яичнике во время митотического размножения примордиальных половых клеток, а также во время митотического деления клеток на ранних стадиях развития эмбриона.

Очевидна корреляция между возрастом матери и плоидностью эмбриона. Критическим возрастом, после которого начинает резко возрастать частота анеуплоидий считается возраст 35 лет [32]. По мере увеличения материнского возраста увеличивается процент анеуплоидных эмбрионов с 18,6 % в группе младше 35 лет до 35,6 % у женщин 38–40 лет и 57,6 % у женщин старше 42 лет [33]. В другой работе у пациентов 5-ти возрастных групп: <35, 35–37, 38–40, 40–41, >42 лет, процент анеуплоидных бластоцист составил 31,7 %, 44,2 %, 43,1 %, 76,3 %, 84,8 % соответственно [3]. Есть и другие подтверждения того, что в возрастной группе 41–46 лет только 10 %–20 % эмбрионов эуплоидны [32], [34], [35]. Вероятность получения эуплоидных бластоцист в группе женщин 47 лет и старше приближается к нулю [34]. В дополнение к этому, только 6 % пациентов в возрастной группе 38–40 лет имели шанс получить 75–100 % нормальных эмбрионов по сравнению с 40 % пациентов в возрастной группе до 35 лет [35].

Аномальный тип сегрегации хромосом на стадии дробления эмбриона приводит к возникновению явления, называемого мозаицизмом, который определяется как наличие двух или более кариотипически различных линий клеток в одном и том же эмбрионе [25], [29]. Он довольно распространен на ранней доимплантационной стадии развития зародыша. Постмейотические аномалии, которые приводят к мозаицизму эмбриона, в отличие от мейотических, независимы от возраста и по данным разных авторов сохраняются на уровне

10 %–30 % во всех возрастных группах [33], [36]. В каждой возрастной группе можно найти пациентов, у которых все эмбрионы в их когорте будут либо нормальными, либо аномальными [35].

Таким образом, результаты исследований однозначно указывают на прямую связь между материнским возрастом и вероятностью возникновения анеуплоидий, большинство которых связано с процессами оогенеза. Но их этиология все еще до конца не изучена. На сегодняшний день основными причинами анеуплоидии ооцитов, связанной с возрастом женщины, считаются нарушение рекомбинации хромосом, разрушение когезина, нарушение контрольной точки сборки веретена деления (SAC), аномалии в посттрансляционной модификации гистонов и тубулина, митохондриальная дисфункция, увеличение активных форм кислорода, чрезмерное ацетилирование белков и повреждение ДНК [25], [30], [37], [38].

Митохондрии — главный поставщик энергии для биохимических процессов в созревающем ооците. Такие процессы как формирование веретена деления, схождение и расхождение хромосом требуют энергетического субстрата, вырабатываемого митохондриями. Обнаружено, что мембранный потенциал в митохондриях ооцитов снижается с возрастом, а это значит, что выработка АТФ снижается по мере старения ооцита. Только материнские митохондрии сохраняются в эмбрионе (отцовские митохондрии деградируют после оплодотворения), поэтому снижение функциональности митохондрий потенциально влияет не только на процессы в ооците, но и в зиготе-эмбрионе. Кроме снижения уровня АТФ в возрастных ооцитах снижается также и количество митохондрий, что определяется по уменьшению копий митохондриальной ДНК. Обнаружено уменьшение частоты оплодотворения ооцитов со сниженным количеством митохондриальной ДНК, а также ухудшение развития эмбрионов, полученных из этих ооцитов [37].

К повышению уровня анеуплоидии в ооцитах могут приводить такие заболевания, как ожирение, диабет, туберкулез, нарушение метаболизма гомоцистеина, а также внешние факторы: ионизирующее излучение, сезонность беременности, а также некоторые химические соединения, например, бисфенол А (химическое вещество, широко применяемое в производстве поликарбоната, который, в свою очередь, используется для изготовления, например, бутылок для воды). Чем больше проходит времени от стадии диглотены до овуляции, тем больше вероятность повреждений ооцита в результате заболеваний и внешних факторов [37].

Применения ПГТ-А у пациенток старшего репродуктивного возраста (35+)

Как указывалось выше, критическим возрастом, после которого начинает резко возрастать частота анеу-

плоидий считается возраст 35 лет [32]. Женщин, старше этого возраста, принято относить к категории старшего репродуктивного возраста.

Хорошо известна обратная тенденция между увеличением частоты анеуплоидий, снижением овариального резерва, компетентностью ооцитов и возрастом матери [32], [38], [39]. У возрастных пациенток, производящих меньше ооцитов, требуется гораздо больше яйцеклеток, чем у молодых пациенток, чтобы получить хотя бы один хромосомно-нормальный (т.е. эуплоидный) эмбрион во время цикла ЭКО. Анализ, проведенный В. Ата с соавторами на 1218 бластоцистах от 203 женщин разного возраста показал, что среднее количество эуплоидных бластоцист снижается с увеличением возраста на 2,9 % ежегодно. Также с возрастом снижается шанс на получение хотя бы одной эуплоидной бластоцисты. Однако, авторы отмечают, что при увеличении количества эмбрионов шанс на получение одной эуплоидной бластоцисты возрастает независимо от возраста женщины. Так, например, 61 % женщин в возрасте 40–42 лет с четырьмя бластоцистами будут иметь как минимум один эуплоидный эмбрион [40]. У женщин в возрасте 35–37 лет, 38–40 лет, 41–42 года и >42 лет обычно требуется собрать примерно 5, 7, 10 и 20 ооцитов соответственно, чтобы получить хотя бы один эуплоидный эмбрион [38].

С возрастом увеличивается количество полиморфизмов в эндо- и экзоплазматических структурах ооцитов, что может оказывать влияние на их выживаемость во время криоконсервации. В группе женщин до 30 лет выживаемость ооцитов после цикла заморозки-разморозки составила 98,1 %, а в группе женщин старше 40 лет — 47,4 %. Сравнивая эмбрионы, полученные из криоконсервированных и свежих ооцитов, в этой возрастной группе авторы не обнаружили различий в процентном соотношении эуплоидных эмбрионов (31,2 % и 24,4 % соответственно), но при этом среднее количество эуплоидных бластоцист на пациентку получилось меньше единицы: $0,8 \pm 0,1$ [39].

Частота имплантации эуплоидных эмбрионов постоянна и не зависит от возраста матери. Результаты были статистически значимыми для пациентов в возрасте от 20 до 42 лет [3]. Отсутствие возрастной тенденции к снижению частоты имплантации, когда переносы ограничены использованием эуплоидных эмбрионов, еще раз подтверждает, что анеуплоидия является основной причиной снижения частоты имплантации с увеличением возраста матери.

Сравнение пациентов возрастной группы 38–41 год с ПГТ-А и без ПГТ-А в циклах ВРТ показало, что применение ПГТ-А приводит к увеличению частоты имплантации (с 27,6 % до 52,8 %), а также значительно снижает вероятность выкидыша (с 39,0 % до 2,7 %) [31]. Польза исполь-

зования ПГТ-А у женщин позднего репродуктивного возраста становится не так очевидна, если использовать показатель наступления беременности на один цикл. Количество циклов, завершившихся переносом эмбрионов в этом исследовании составила 90,5 % в группе без ПГТ-А и 68,0 % в группе с ПГТ-А [31]. Использование ПГТ-А у женщин в возрасте от 44 до 47 лет привело к тому, что в результате произведенных 21 переносов одного эмбриона, 13 из них закончились беременностями, из которых 12 закончились родами. При пересчете на цикл частота наступления беременности составила всего 8 % [34].

Показано, что у женщин в возрасте от 20 до 37 лет традиционное ЭКО не отличается по совокупному показателю живорождения от ЭКО с ПГТ-А [41] или даже снижает этот показатель в пересчете на один ооцит [42]. Частота акушерских или неонатальных осложнений и других нежелательных явлений в этой возрастной группе также схожа в группах ЭКО и ЭКО с ПГТ-А [41]. Увеличение частоты живорождения на один использованный ооцит наблюдалось только у пациенток старше 38 лет [31], [42]. В этой возрастной категории этот показатель отличался почти в 2 раза в группе с ПГТ-А и без него и составил 44 % и 24,8 % соответственно [31].

В дополнение к достижению беременности после ЭКО жизненно важно сохранить беременность до родов. Сообщается, что частота невынашивания у пациенток старше 35 лет находится в диапазоне 20–25 %, что означает, что в этой группе от одной четвертой до одной пятой всех выявленных беременностей прерывается до родов. В общей популяции ЭКО, зарегистрированной в Соединенных Штатах, частота невынашивания беременности увеличивалась с возрастом с 13 % у пациенток <35 лет до 38,1–52,7 % у пациенток старше 40 лет. Проведение ПГТ-А приводило к тому, что частота невынашивания беременности переставала быть связана с возрастом пациентки и в среднем составляла 7,7 % [3].

Таким образом, большинство исследований подтверждают эффективность использования ПГТ-А у женщин старшего репродуктивного возраста. Отбор эуплоидных эмбрионов по сравнению со слепым переносом эмбрионов в большинстве случаев позволяет увеличить частоту имплантаций и живорождения, снизить частоту невынашивания беременности в старшем материнском возрасте. Особенно значимы отличия между группами женщин с ПГТ-А и без него, начиная с 38 лет. В то же время, отсутствие достаточного количества хорошо спланированных рандомизированных исследований и долгосрочных данных не позволяет полностью решить вопросы о потенциальных акушерских, неонатальных или долгосрочных последствиях биопсии эмбриона как для ПГТ вообще, так и для ПГТ у женщин старшего репродуктивного возраста, в частности.

Факторы, которые могут ограничивать применение ПГТ-А

Как уже указывалось выше, некоторые данные, хоть и ограниченные, и противоречивые, предполагают возможную связь биопсии эмбриона с увеличением числа преждевременных родов и врожденных дефектов в случаях биопсии трофэктодермы, а также с повышенным риском рождения новорожденных с низкой массой тела и малых размеров по сравнению с детьми, полученными из эмбрионов без биопсии [14].

Предполагаемые негативные последствия для будущего ребенка после ПГТ-А привели к разработке новейшего метода ПГТ — неинвазивного ПГТ, суть которого состоит в исследовании ДНК эмбриона из образцов жидкости полости бластоцисты или образцов отработанной культуральной среды. Бесклеточный генетический материал легко доступен в отработанных средах для культивирования эмбрионов, что обеспечивает более простое, экономичное и безопасное извлечение генетического материала для анализа [1], [43], [44]. Этот метод пока не внедрен в широкую практику, но некоторые исследования показывают, что неинвазивное ПГТ дает результат, который в высокой степени согласуется с инвазивным ПГТ-А [44], [45], [46].

Наиболее привлекательной чертой использования неинвазивного ПГТ является, в первую очередь, сохранение целостности эмбриона, что уменьшает риск нарушения развития плода в результате проведения анализа [1], [6], [43], [44]. При выполнении неинвазивного ПГТ не требуется ни лазер, ни высококвалифицированная рабочая сила, что делает метод более рентабельным. В то время как для инвазивного ПГТ, кроме дорогостоящего оборудования, требуется команда высококвалифицированных эмбриологов, поскольку процедура биопсии клеток эмбриона достаточно сложная [45], [47].

Хотя большая часть научного сообщества согласна с тем, что следует развивать методику неинвазивного ПГТ для внедрения в клиническую практику, существует много сомнений и опасений, которые необходимо разрешить. Одной из самых больших проблем неинвазивного ПГТ является меньшее количество и худшее качество бесклеточного генетического материала. Отсутствие амплификации в образцах в некоторых исследованиях доходит до 37 % [48]. Еще одна проблема — неустановленное происхождение ДНК: невозможно понять какую часть эмбриона (трофэктодермы или собственно эмбриона) представляет полученный материал. Возможно, что это ДНК клеток эмбриона, уничтоженных путем апоптоза из-за анеуплоидии. Кроме того, исследуемый материал может быть загрязнен материнской и бактериальной ДНК [1], [6], [26], [49]. Также, как и при обычном ПГТ, при неинвазивном ПГТ остается проблемой мозаицизм [1], [26], [45].

В последнее время внимание ученых привлекает проблема возможности использования для переноса мозаичных эмбрионов, которая наиболее актуальна для женщин старшего репродуктивного возраста. С одной стороны, как указывалось выше, анеуплоидные зачатия составляют большинство неудач беременности у этих женщин. С другой — с возрастом снижается шанс на получение хотя бы одной эуплоидной бластоцисты [40]. В связи с этим некоторые авторы считают, что пациентам без эуплоидных эмбрионов следует после генетического консультирования предоставить возможность переноса мозаичных эмбрионов [50], [51].

Мозаичные эмбрионы имеют пониженную жизнеспособность по сравнению с эуплоидными эмбрионами при переносе, но некоторые мозаичные эмбрионы приводят к нормальному живорождению. Это может быть связано с неправильной постановкой диагноза мозаицизм. Есть также предположение, что некоторые мозаичные эмбрионы могут самокорректироваться до эуплоидных после имплантации. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы охарактеризовать, какие мозаичные эмбрионы могут быть жизнеспособными [36], [50], [51]. Но уже сейчас показано, что мозаичные переносы эмбрионов являются превосходной альтернативой дополнительному циклу ЭКО с ПГТ-А для пациенток старше 42 лет, у которых единственные оставшиеся эмбрионы неэуплоидны. У них мозаичный перенос эмбрионов привел к более высокому показателю живорождения (в среднем на 4 %), чем дополнительный цикл ЭКО с ПГТ-А, имея при этом более низкую стоимость. Для пациенток моложе 43 лет, наоборот, дополнительный цикл ЭКО с ПГТ-А привел к более высокому относительному показателю живорождения, чем перенос мозаичных эмбрионов. Но и для этой группы пациенток возможность мозаичных переносов эмбрионов также следует рассматривать в ситуации, когда проведение дополнительных циклов ЭКО для них по каким-то причинам становится невозможным [50].

Многие исследователи считают, что одним из ограничивающих факторов применения ПГТ-А, является его высокая стоимость. Mersereau J.E. и соавторы сравнили экономическую составляющую процедуры ЭКО и ЭКО/ПГТ-А у женщин старшего репродуктивного возраста. Авторы сравнивали стоимость процедур, необходимых для получения хотя бы одного здорового (эуплоидного) младенца. Работа проводилась в 2008 году в США на двух возрастных группах женщин — 38–40 лет и > 40 лет. Для группы женщин 38–40 лет шанс наступления беременности после 2 свежих переносов составил 37,8 %, после 2 криопереносов в сочетании с ПГТ-А — 21,7 %, а стоимость необходимых процедур в расчете на одного здорового ребенка составила \$68'026 и \$118'713 соответственно. Однако для группы женщин 40+ стоимость процедур оказалась одинакова в обеих группах: \$122'000 без ПГТ-А и \$118'713 с ПГТ-А [52].

С развитием методики проведения ПГТ процедура его проведения в целом дешевле, но тенденция к тому, что ПГТ увеличивает стоимость процедуры примерно в 2 раза по сравнению с ЭКО без ПГТ остается неизменной [53], [54], [55]. Но некоторые авторы считают, что так как ПГТ-А сокращает продолжительность лечения и снижает вероятность неудачного переноса эмбриона, инвестирование в ПГТ может дать улучшенные результаты, потенциально сокращая общие расходы, связанные с ЭКО, особенно у женщин после 40 лет [55].

Отбор эуплоидных эмбрионов, обеспечиваемый ПГТ-А, может увеличить частоту имплантации у многих женщин в старших возрастных группах, но он часто не может улучшить частоту наступления беременности у пациенток с многократными случаями потери беременности [56]. Проблема репродуктивного старения за пределами хромосомных аномалий включает в себя изучение множества факторов, таких как возрастное изменение гормонального статуса женщин, состояние эндометрия матки, ожирение, образ жизни, питание, особенности психического состояния и др. и требует индивидуального подхода к каждой женщине с привычным невынашиванием беременности [57].

Существуют также проблема этических, правовых и социальных последствий ПГТ [27], [58], [59], [60], но она требует отдельного обсуждения.

Заключение

Одна из главных проблем, с которой сталкиваются женщины позднего репродуктивного возраста (35+) — анеуплоидии эмбрионов, частота которых увеличивается с возрастом. Они приводят не только к остановке развития эмбриона на ранних стадиях (в том числе при культивировании в клинике ЭКО), но и к таким тяжелым

последствиям, как выкидыши и рождение детей с генетическими аномалиями.

Важнейшим инструментом в попытках избежать нежелательных последствий анеуплоидии стал метод ПГТ-А, который позволяет минимизировать риски осложнений во время беременности. Отбор эуплоидных эмбрионов по сравнению со слепым переносом эмбрионов в большинстве случаев позволяет увеличить частоту имплантаций и живорождений, снизить частоту невынашивания беременности в позднем репродуктивном возрасте. Особенно значимы отличия между группами женщин с ПГТ-А и без него, начиная с 38 лет. Перенос одного эуплоидного эмбриона также практически полностью исключает риски, связанные с многоплодной беременностью.

Однако, следует помнить, что ПГТ-А — метод относительно новый и активно развивающийся. Спорна эффективность применения этого метода у женщин младше 38 лет. Дополнительным ограничивающим применением ПГТ фактором является дороговизна процедуры. Нехватка хорошо спланированных рандомизированных исследований не позволяет полностью решить вопросы о потенциальных акушерских, неонатальных или долгосрочных последствиях биопсии эмбриона. Так что вопрос о эффективности и безопасности применения ПГТ-А вообще и у женщин позднего репродуктивного возраста, в частности, требует дальнейшей разработки.

Сторонники метода неинвазивного ПГТ утверждают, что этот метод должен сменить ПГТ-А, так как менее инвазивный, менее требовательный к оборудованию и квалификации персонала, а, значит, может сделать процедуру более безопасной для будущего ребенка и более рентабельной для родителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tomic M. Non-Invasive Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy and the Mystery of Genetic Material: A Review Article / M. Tomic, E. V. Bokal, M. Stimpfel // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — V. 23(7). — P. 3568.
2. Quenby S. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss / S. Quenby, I. D. Gallos, R. K. Dhillon-Smith et al. // *The Lancet* — 2021. — V. 397(10285). — P. 1658–1667.
3. Harton G.L. Diminished Effect of Maternal Age on Implantation after Preimplantation Genetic Diagnosis with Array Comparative Genomic Hybridization/ G.L. Harton, S. Munné, M. Surrey et al. // *Fertil. Steril.* — 2013. — V. 100(6). — P. 1695–1703.
4. Doody K.J. Infertility Treatment Now and in the Future/ K.J. Doody // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* — 2021. — V. 48(4). — P. 801–812.
5. Wong K.M. Limitations of embryo selection methods / K.M. Wong, S. Repping, S. Mastenbroek // *Semin. Reprod. Med.* — 2014. — V. 32(2). — P. 127–133.
6. Fernandes S.L.E, de Carvalho F.A.G. Preimplantation genetic testing: A narrative review / S.L.E Fernandes, F.A.G. de Carvalho // *Porto Biomed J.* — 2024. — V. 9(4). — P. 262.
7. Xu C.M. Preimplantation genetic testing guidelines of international society of reproductive genetics / C.M. Xu, S.J. Lu, S.C. Chen et al // *Reprod. Develop. Med.* — 2023. — V. 7(1). — P. 3–11.
8. Schenk M. Impact of polar body biopsy on embryo morphokinetics—back to the roots in preimplantation genetic testing? / M. Schenk, A. Groselj-Strele, K. Eberhard et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2018. — V. 35(8). — P.1521–1528.
9. Levin I. Effects of Laser Polar-Body Biopsy on Embryo Quality/ I. Levin, B. Almog, T. Shwartz et al. // *Fertil. Steril.* — 2012. — V. 97(5). — P. 1085–1088.
10. Fragouli E. The Cytogenetic Constitution of Human Blastocysts: Insights From Comprehensive Chromosome Screening Strategies / E. Fragouli, S. Munne, D. Wells // *Hum. Reprod. Update.* — 2019. — V. 25(1). — P. 15–33.

11. Yu Y. Evaluation of Blastomere Biopsy Using a Mouse Model Indicates the Potential High Risk of Neurodegenerative Disorders in the Offspring / Y. Yu, J. Wu, Y. Fan et al. // *Mol. Cell. Proteom.* — 2009. — V. 8(7). — P. 1490–1500.
12. Zeng Y. Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) Influences Adrenal Development and Response to Cold Stress in Resulting Mice / Y. Zeng, Z. Lv, L. Gu et al. // *Cell Tissue Res.* — 2013. — V. 354(3). — P. 729–741.
13. Bar-El L. Blastomere Biopsy for PGD Delays Embryo Compaction and Blastulation: A Time-Lapse Microscopic Analysis / L. Bar-El, Y. Kalma, M. Malcov et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2016. — № 33. — P. 1449–1457.
14. Alteri A. Obstetric, neonatal, and child health outcomes following embryo biopsy for preimplantation genetic testing / A. Alteri, G.C. Cermisoni, M. Pozzoni et al. // *Hum. Reprod. Update.* — 2023. — V. 29(3). — P. 291–306.
15. Gudapati S. Advancements and Applications of Preimplantation Genetic Testing in In Vitro Fertilization: A Comprehensive Review / S. Gudapati, K. Chaudhari, D. Shrivastava, S. Yelne // *Cureus.* — 2024. — V. 16(3). — P. e57357.
16. Liebaers I. Report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis / I. Liebaers, S. Desmyttere, W. Verpoest et al. // *Hum. Reprod.* — 2010. — V. 25(1). — P. 275–282.
17. Heijligers M. The cognitive and socio-emotional development of 5-year-old children born after PGD / M. Heijligers, L. M. M. Verheijden, L. M. Jonkman et al. // *Hum. Reprod.* — 2018. — V. 33(11). — P. 2150–2157.
18. Heijligers M. Growth, health, and motor development of 5-year-old children born after preimplantation genetic diagnosis / M. Heijligers, A. Peeters, A. van Montfoort et al. // *Fertil. Steril.* — 2019. — V. 111(6). — P. 1151–1158.
19. Lewis S. Child health after preimplantation genetic testing / S. Lewis, D. J. Amor, A. Glynn et al. // *Reprod Biomed Online.* — 2021. — V. 42(3). — P. 609–619.
20. Makhijani R. Impact of trophectoderm biopsy on obstetric and perinatal outcomes following frozen–thawed embryo transfer cycles / R. Makhijani, C. B. Bartels, P. Godiwala et al. // *Human Reproduction.* — 2021. — V. 36(2). — P. 340–348.
21. Fiorentino F. Application of Next-Generation Sequencing Technology for Comprehensive Aneuploidy Screening of Blastocysts in Clinical Preimplantation Genetic Screening Cycles / F. Fiorentino, S. Bono, A. Biricik et al. // *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* — 2014. — V. 29(12). — P. 2802–2813.
22. Xu C. Pre-Implantation Genetic Testing for Aneuploidy on a Semiconductor Based Next-Generation Sequencing Platform / C. Xu, R. Wei, H. Lin et al. // *J. Vis. Exp.* — 2022. — № 186. — P. e63493.
23. Van Montfoort A. ESHRE PGT Consortium data collection XIX-XX: PGT analyses from 2016 to 2017 / A. van Montfoort, F. Carvalho, E. Coonen et al. // *Hum. Reprod. Open.* — 2021. — V. 2021(3). — P. hoab024.
24. De Rycke M, Berckmoes V. Preimplantation Genetic Testing for Monogenic Disorders / M. De Rycke, V. Berckmoes // *Genes (Basel).* — 2020. — V. 11(8). — P. 871.
25. Mikwar M. Mechanisms of oocyte aneuploidy associated with advanced maternal age / M. Mikwar, A. J. MacFarlane, F. Marchetti // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* — 2020. — № 785. — P. 108320.
26. Vera-Rodriguez M. Origin and Composition of Cell-Free DNA in Spent Medium from Human Embryo Culture during Preimplantation Development / M. Vera-Rodriguez, A. Diez-Juan, J. Jimenez-Almazan et al. // *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* — 2018. — V. 33(4). — P. 745–756.
27. Madero J. I. Preimplantation genetic testing in assisted reproduction / J. I. Madero, M. C. Manotas, M. Garcia-Acero et al. // *Minerva Obstetrics and Gynecology.* — 2021. — V. 75(3). — P. 260–272.
28. Morales C. Current Applications and Controversies in Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidies (PGT-A) in In Vitro Fertilization / C. Morales // *Reprod. Sci.* — 2024. — V. 31(1). — P. 66–80.
29. Fragouli E. Human Embryonic Aneuploidy / E. Fragouli, D. Wells // *In eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.).* — 2014. — doi: 10.1002/9780470015902.a0025706.
30. Verdyck P. Aneuploidy in oocytes from women of advanced maternal age: analysis of the causal meiotic errors and impact on embryo development / P. Verdyck, G. Altarescu, S. Santos-Ribeiro et al. // *Hum. Reprod.* — 2023. — V. 38(12). — P. 2526–2535.
31. Rubio C. In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study / C. Rubio, J. Bellver, L. Rodrigo et al. // *Fertil. Steril.* — 2017. — V. 107(5). — P. 1122–1129.
32. Ubaldi F. M. Advanced Maternal Age in IVF: Still a Challenge? The Present and the Future of Its Treatment / F. M. Ubaldi, D. Cimadomo, A. Vaiarelli et al. // *Front Endocrinol (Lausanne).* — 2019. — № 10. — P. 94.
33. Munné S. Mosaicism: «survival of the fittest» versus «no embryo left behind» / S. Munné, J. Grifo, D. Wells // *Fertil. Steril.* — 2016. — V. 105(5). — P. 1146–1149.
34. Ubaldi F. M. Preimplantation Genetic Diagnosis for Aneuploidy Testing in Women Older than 44 Years: A Multicenter Experience / F. M. Ubaldi, D. Cimadomo, A. Capalbo et al. // *Fertil. Steril.* — 2017. — V. 107(5). — P. 1173–1180.
35. Sawarkar S. Large Intra-Age Group Variation in Chromosome Abnormalities in Human Blastocysts / S. Sawarkar, D.K. Griffin, L. Ribustello, S. Munné // *DNA.* — 2021. — V. 1(2). — P. 91–104.
36. Orvieto R. Do Human Embryos Have the Ability of Self-Correction? / R. Orvieto, C. Shimon, S. Rienstein et al. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* — 2020. — V. 18(1). — P. 98.
37. Ma J. Y. Why is oocyte aneuploidy increased with maternal aging? / J. Y. Ma, S. Li, L. Chen et al. // *J. Genet. Genomics.* — 2020. — V. 47(11). — P. 659–671.
38. Vaiarelli A. What is new in the management of poor ovarian response in IVF? / A. Vaiarelli, D. Cimadomo, N. Ubaldi et al. // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* — 2018. — V. 30(3). — P. 155–162.
39. Buderatska N. Embryological Characteristics and Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy of Embryos Derived from Cryopreserved Oocytes of Women of Different Reproductive Ages / N. Buderatska, J. Gontar, M. Petrushko et al. // *Biopreserv Biobank.* — 2022. — V. 21(6). — P. 576–582.
40. Ata B. Array CGH analysis shows that aneuploidy is not related to the number of embryos generated / B. Ata, B. Kaplan, H. Danzer et al. // *Reproductive BioMedicine Online.* — 2012. — V. 24(6). — P. 614–620.
41. Yan J. Live Birth with or without Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy / J. Yan, Y. Qin, H. Zhao et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2021. — V. 385(22). P. 2047–2058.
42. Sabbagh R. From oocytes to a live birth: Are we improving the biological efficiency? / R. Sabbagh, S. Mulligan, J. Shah et al. // *Fertil. Steril.* — 2023. — V. 120(6). P. 1210–1219.

43. Leaver M., Wells D. Non-Invasive Preimplantation Genetic Testing (NiPGT): The next Revolution in Reproductive Genetics? / M. Leaver, D. Wells // *Hum. Reprod. Update.* — 2020. — V. 26(1) — P. 16–42.
44. Kuznyetsov V. Minimally Invasive Cell-Free Human Embryo Aneuploidy Testing (MiPGT-A) Utilizing Combined Spent Embryo Culture Medium and Blastocoel Fluid—Towards Development of a Clinical Assay / V. Kuznyetsov, S. Madjunkova, R. Abramov et al. // *Sci. Rep.* — 2020. — V. 10(1). — P.7244.
45. Lledo B. Consistent Results of Non-Invasive PGT-A of Human Embryos Using Two Different Techniques for Chromosomal Analysis / B. Lledo, R. Morales, J. A. Ortiz et al. // *Reprod. Biomed. Online.* — 2021. — V. 42(3). — P. 555–563.
46. Chow J.F.C. Optimizing non-invasive preimplantation genetic testing: investigating culture conditions, sample collection, and IVF treatment for improved non-invasive PGT-A results / J.F.C. Chow, K.K.W. Lam, H.H.Y. Cheng et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2024. — V. 41(2). — P. 465–472.
47. Bellver J. Second-Generation Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy in Assisted Reproduction: A SWOT Analysis / J. Bellver, E. Bosch, J. J. Espinós et al. // *Reprod. Biomed. Online.* — 2019. — V. 39(6) — P. 905–915.
48. Hanson B.M. Noninvasive Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy Exhibits High Rates of Deoxyribonucleic Acid Amplification Failure and Poor Correlation with Results Obtained Using Trophectoderm Biopsy / B.M. Hanson, X. Tao, K.H. Hong et al. // *Fertil. Steril.* — 2021. — V. 115(6). — P.1461–1470.
49. Karami N. Comparing the advantages, disadvantages and diagnostic power of different non-invasive pre-implantation genetic testing: A literature review / Karami N, Irvani F, Bakhshandeh Bavarsad S, et al. // *Int. J. Reprod. Biomed.* — 2024. — V. 22(3). — P. 177–190.
50. Khorshid A. Mosaic embryo transfer versus additional IVF with PGT-A Cycle: a decision model comparing live birth rate and cost / A/ Khorshid, B. Bavan, E.H. Chung, R.B. Lathi // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2024. — V. 41(3). — P. 635–641.
51. Maxwell S. M. Should Every Embryo Undergo Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy? A Review of the Modern Approach to in Vitro Fertilization / S.M. Maxwell, J. A. Grifo // *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* — 2018. — № 53. — P. 38–47.
52. Mersereau J.E. Preimplantation genetic screening in older women: a cost-effectiveness analysis / J.E. Mersereau, B.A. Plunkett, M.I. Cedars // *Fertil. Steril.* — 2008. — V. 90(3). — P.592–598.
53. Bakkensen J.B. A SART data cost-effectiveness analysis of planned oocyte cryopreservation versus in vitro fertilization with preimplantation genetic testing for aneuploidy considering ideal family size / J.B. Bakkensen, K.S.J. Flannagan, S.L. Mumford // *Fertility and Sterility.* — 2022. — V. 118(5). — P. 875–884.
54. He X. Cost-effectiveness of preimplantation genetic testing for aneuploidy for women with subfertility in China: an economic evaluation using evidence from the CESE-PGS trial / X. He, X. Wang, J. Shen et al. // *BMC Pregnancy Childbirth.* — 2023 — V. 23(1). — P. 254.
55. Nadgauda A. Cost-effectiveness analyses of preimplantation genetic testing / A. Nadgauda, T. Ganti, J.R. Walter // *Fertil. Steril.* — 2024. — V. 121(4). — P. 693–702.
56. Mei Y. Preimplantation genetic testing for aneuploidy optimizes reproductive outcomes in recurrent reproductive failure: a systematic review / Y. Mei, Y. Lin, Y. Chen, et al. // *Front. Med. (Lausanne).* 2024. — № 11. — P. 1233962.
57. Cimadomo D. Opening the black box: why do euploid blastocysts fail to implant? A systematic review and meta-analysis / D. Cimadomo, L. Rienzi, A. Conforti et al. // *Hum. Reprod. Update.* — 2023. — V. 29(5). — P. 570–633.
58. Соловьёва Е.В. Преимплантационная генетическая диагностика (тестирование) моногенных болезней: показания и этические вопросы / Е.В. Соловьёва, Л.П. Назаренко, Л.И. Минайчева, А.В. Светлаков // *Медицинская генетика.* — 2019. — Т.18, № 3. — С. 13–25.
59. Лапаева В.В. Преимплантационная и пренатальная генетическая диагностика в Российской Федерации: этико-правовые проблемы / В.В. Лапаева // *Вестник РУДН. Серия: Юридические науки.* 2021. — Т. 25, № 1. — С. 179–197.
60. Alon I. Mapping ethical, legal, and social implications (ELSI) of preimplantation genetic testing (PGT) / I. Alon, I. Bussod, V. Ravitsky // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2024. — V. 41(5). — P. 1153–1171.

© Жуйков Андрей Андреевич (homkabrut@gmail.com); Боярский Константин Юрьевич (konstantinboyersky@icloud.com); Семеновна Анастасия Евгеньевна (ana-semenenko@mail.ru); Жуйкова Светлана Евгеньевна (sveta-zh2005@yandex.ru)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»