

На правах рукописи

КУЛАКОВА
Елена Владимировна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ
БЕСПЛОДИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ
ТЕХНОЛОГИЙ С ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫМ
ГЕНЕТИЧЕСКИМ ТЕСТИРОВАНИЕМ
ЭМБРИОНОВ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва, 2022

Диссертация выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные консультанты:

Калинина Елена Анатольевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова Института репродуктивной медицины ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И.Кулакова» Минздрава России.

Трофимов Дмитрий Юрьевич — доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, директор Института репродуктивной генетики ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И.Кулакова» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Коган Игорь Юрьевич — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Краснопольская Ксения Владиславовна — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отделения репродуктологии ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии».

Калугина Алла Станиславовна — доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии и неонатологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России.

Ведущая организация

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России.

Защита диссертации состоится «22» ноября 2022 г. на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России

<https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Kulakova%20EV-disser.pdf?2132034628>

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета доктор
медицинских наук, профессор

Е.А. Калинина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Среди причин младенческой смертности врожденные аномалии занимают второе место и являются основными заболеваниями в структуре детской инвалидности. В 2019 году в майском Указе Президент Российской Федерации поставил задачу по снижению к 2024 году младенческой смертности до 4,5 случая на 1 тысячу родившихся детей. По данным Росстата, в 2019 году младенческая смертность в России снизилась до 4,9 случая (с 5,1 в 2018 году). В связи с этим профилактика возникновения и распространения врожденных и наследственных заболеваний, ранняя диагностика, своевременно начатое лечение и реабилитация являются основными направлениями деятельности системы здравоохранения.

С развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и преимплантационного генетического тестирования эмбрионов (ПГТ) произошел значительный прогресс не только в лечении различных форм бесплодия, но и в профилактике рождения детей с генетическими нарушениями. Внедрение ПГТ позволило оптимизировать выбор наиболее перспективного эмбриона для переноса в полость матки, с высокой вероятностью гарантировать пациентам положительный исход беременности при проведении ВРТ и в значительной степени повысить эффективность первичной профилактики рождения детей с врожденными пороками развития [О.М. Драпкина и др., 2020; К.В. Краснопольская и др., 2022].

Задачи, стоящие на государственном уровне в области репродуктивной медицины, направлены на повышение эффективности ВРТ, увеличение частоты родов здоровым ребенком после лечения бесплодия, снижение детской инвалидности и повышение качества оказания медицинской помощи. Современные мировые и российские научные данные позволяют говорить о том, что применение ПГТ эмбрионов позволяет повышать эффективность лечения как женского, так и мужского бесплодия [M. Siermann et al., 2022; И.Ю. Коган и др., 2021].

В зависимости от определяемых нарушений выделяют ПГТ-А (тесты, направленные на выявление анеуплоидий), ПГТ-М (тесты, направленные на диагностику моногенных заболеваний) и ПГТ-СП (тесты, направленные на выявление структурных хромосомных перестроек).

Учитывая, что анеуплоидии являются самым распространенным вариантом хромосомных аномалий у эмбриона человека и основной генетической причиной потери беременности, при лечении бесплодия в большинстве случаев проводится ПГТ-А для выявления количественных хромосомных изменений в клетках эмбриона. Количество проводимых циклов ЭКО/ИКСИ с использованием ПГТ-А варьирует в зависимости от возраста и данных анамнеза пациентов, проходящих лечение бесплодия

[Г.В. Савостина и др., 2021; А.С. Калугина и др., 2021]. Согласно прогностической математической модели, проведение ПГТ-А в ВРТ позволяет предотвратить до 45% рождений детей с хромосомными нарушениями [R. Sciorio et al., 2020].

Высокая востребованность ПГТ эмбрионов, а также повышение эффективности ВРТ при использовании данной методики в определенных группах пациентов диктует необходимость более детального клинического и научного анализа статуса пар, проходящих лечение бесплодия методами ВРТ с ПГТ, и разработки алгоритмов оказания более качественной персонифицированной медицинской помощи.

Таким образом, высока актуальность научной оценки необходимости, целесообразности и частоты применения ПГТ эмбрионов при лечении мужского и женского бесплодия методами ВРТ для снижения медицинских, экономических и психологических затрат на рождение одного здорового ребенка. Именно поэтому в настоящее время проведение данного исследования является чрезвычайно актуальным, перспективным и своевременным.

Степень разработанности темы исследования

По данным зарубежных исследователей, проведение ПГТ-А у пациенток старше 35 лет увеличивает частоту наступления беременности и живорождения в 3 раза, при этом наибольшая эффективность, в том числе клинико-экономическая, отмечается в подгруппе женщин 36–39 лет [M. Siermann et al., 2022]. У пациенток с привычным выкидышем в анамнезе ПГТ-А повышает частоту рождения живым плодом в 2,4 раза, а в подгруппе пациенток 30–39 лет с нормальным индексом массы тела — в 5 раз [Н.В. Долгушина и др., 2019]. Аналогичные данные описаны и для пар с мужским бесплодием: при нарушениях сперматогенеза проведение ПГТ методом FISH повышает частоту наступления беременности в 5,7 раза, а частоту живорождения — в 3,8 раза [Н.В. Долгушина и др., 2014].

В утвержденных в России клинических рекомендациях по диагностике и лечению женского бесплодия (2021 г.) проведение ПГТ-М и ПГТ-СП рекомендовано только «пациентке и/или ее партнеру, имеющим заболевания или состояния, ассоциированные с высоким риском передачи наследственной патологии потомству (носители генных мутаций, сцепленных с X-хромосомой и/или с Y-хромосомой; носители генных мутаций, вызывающих моногенные заболевания; носители хромосомных аномалий)». В то время как нет рекомендаций по показаниям к проведению ПГТ-А, что указывает на необходимость выявления групп пациентов, которым его выполнение клинически и экономически целесообразно, то есть важно определить роль и место ПГТ при проведении ВРТ.

Цель исследования

Разработка концепции повышения эффективности вспомогательных репродуктивных технологий и снижения риска рождения детей с генетическими нарушениями при использовании преимплантационного генетического тестирования эмбрионов.

Задачи исследования

1. Определить структуру обращаемости пациентов для проведения преимплантационного генетического тестирования эмбрионов при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.
2. Провести анализ результатов лечения бесплодия у пациенток различных возрастных групп методами вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием.
3. Проанализировать эффективность применения преимплантационного генетического тестирования при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с привычным невынашиванием беременности, синдромом поликистозных яичников, наружным генитальным эндометриозом.
4. Изучить особенности проведения вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием у пар с бесплодием, обусловленным нарушением сперматогенеза.
5. Оценить эффективность применения преимплантационного генетического тестирования и исходов вспомогательных репродуктивных технологий у пар с хромосомными нарушениями и носительством моногенных заболеваний.
6. Определить частоту встречаемости истинного мозаицизма эмбрионов человека при вспомогательных репродуктивных технологиях с преимплантационным генетическим тестированием. Оценить возможность переноса в полость матки эмбрионов с мозаицизмом в программах ВРТ.
7. Оптимизировать эмбриологический этап вспомогательных репродуктивных технологий с помощью использования культуральных сред с гиалуроновой кислотой и оценки копийности митохондриальной ДНК при переносе в полость матки эуплоидного эмбриона.
8. Провести клиничко-экономический анализ эффективности и целесообразности применения преимплантационного генетического тестирования в программах вспомогательных репродуктивных технологий для различных групп пациентов с бесплодием.
9. Разработать алгоритм персонафицированного подхода к ведению пар с риском рождения детей с генетическими нарушениями.

Научная новизна

Впервые на большом материале проведен комплексный научный и клинический анализ роли и места ПГТ эмбрионов при лечении бесплодия методами ВРТ у разных категорий больных. Определено значение ПГТ для повышения эффективности лечения (частота наступления беременности и родов живым здоровым плодом).

Получены уникальные научные данные о частоте встречаемости истинного мозаицизма в преимплантационных эмбрионах человека. Рассмотрены клинические и этические аспекты переноса эмбрионов с мозаицизмом для последующего рождения здоровых детей в программах лечения бесплодия методами ВРТ.

Впервые изучено влияние копийности митохондриальной ДНК, анализируемой методом высокопроизводительного секвенирования, на имплантационный потенциал эмбриона при лечении различных форм бесплодия методами ВРТ с ПГТ.

Расширены и научно обоснованы показания для проведения программ лечения бесплодия с использованием ВРТ с ПГТ эмбрионов.

Практическая значимость

По результатам исследования разработан дифференцированный подход к ведению пар с высоким риском рождения детей с хромосомными и генными нарушениями.

Указаны возможные методы повышения эффективности программ ВРТ путем модификации эмбриологического этапа.

Оценена клинико-экономическая целесообразность применения ПГТ при ВРТ у различных категорий больных с бесплодием.

Разработанный и внедренный в клиническую практику алгоритм ведения пар с бесплодием с использованием ПГТ позволяет снизить частоту осложнений программ ВРТ, в частности риск рождения детей с генетическими нарушениями, и таким образом приблизиться к решению одной из важнейших задач отечественного здравоохранения.

Разработана тактика индивидуализации использования ВРТ с ПГТ у больных с различными нозологиями для эффективного решения проблемы бесплодного брака.

Методология и методы исследования

Методология заключается в системном подходе и комплексном анализе результатов лечения бесплодия пар с высоким риском генетических нарушений потомства методами ВРТ с ПГТ.

В рамках диссертационного исследования проведен критический анализ отечественных и зарубежных работ в области применения ПГТ при лечении бесплодия методами ВРТ. На основании анализа сформулированы цель и задачи исследования. В работе обоснованы новые

подходы к современным наукоемким методам лечения бесплодия и снижению рисков рождения детей с генетическими нарушениями.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота применения преимплантационного генетического тестирования эмбрионов при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий за 6-летний период увеличилась с 6% до 13%. В структуре обращаемости пар для проведения преимплантационного генетического тестирования преобладают: нарушение сперматогенеза (34%), поздний репродуктивный возраст (26%), невынашивание беременности (12%), наружный генитальный эндометриоз (12%), синдром поликистозных яичников (10%), хромосомные нарушения кариотипа и носительство моногенных заболеваний (6%).
2. Высокая частота отмены переноса (57,1%) по причине отсутствия эуплоидных эмбрионов у пациенток позднего репродуктивного возраста (37–42 лет) определяет целесообразность применения преимплантационного генетического тестирования эмбрионов. У пациенток до 35 лет с привычным невынашиванием беременности, синдромом поликистозных яичников и наружным генитальным эндометриозом I и II стадии распространения частота получения эуплоидных эмбрионов сопоставима с таковой у женщин без указанной патологии и составляет 44,5% (невынашивание беременности), 50,8% (наружный генитальный эндометриоз) и 49,1% (синдром поликистозных яичников) против 43,3%, что указывает на нецелесообразность проведения преимплантационного генетического тестирования.
3. При тяжелых формах нарушения сперматогенеза анеуплоидии эмбрионов встречаются в 1,75 раза чаще по сравнению с нормозооспермией. Для снижения риска рождения детей с генетическими нарушениями при использовании сперматозоидов, выделенных из ткани яичка, а также при олигоастенотератозооспермии следует применять преимплантационное генетическое тестирование эмбрионов.
4. При лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий по результатам преимплантационного генетического тестирования эмбрионы с мозаицизмом встречаются в 5,3% случаев. При отсутствии у пары эуплоидных бластоцист перенос в полость матки эмбрионов с мозаицизмом возможен с учетом клинико-анамнестических данных пациентов, хромосом, вовлеченных в мозаицизм, и определением индивидуальных рисков рождения ребенка с генетическими нарушениями при медико-генетическом консультировании.

5. У женщин позднего репродуктивного возраста (37–42 лет) применение культуральных сред с гиалуриновой кислотой при переносе зуплоидного эмбриона позволяет снизить частоту ранних репродуктивных потерь (до 12 недель гестации) в 1,73 раза. Количественная оценка митохондриальной ДНК в клетках трофобласта эмбриона является маркером репродуктивных исходов при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием: частота ранних репродуктивных потерь (до 12 недель гестации) выше в 3,4 раза при уровне копийности мтДНК $\geq 21,17$ у.е.

Личный вклад автора

Автор лично принимал участие в разработке темы диссертационного исследования, постановке цели, определении задач, формировании дизайна исследования. Проводил отбор пациентов, все этапы лечения бесплодия методами ВРТ, участвовал в проведении генетического тестирования эмбрионов, обследовании и подготовке пациентов к циклу ВРТ. Автор самостоятельно интерпретировал полученные данные, проводил статистическую обработку, выявлял клиническую и научную значимость результатов диссертационного исследования. Лично автором проведена разработка алгоритма ведения пациентов с бесплодием и риском рождения детей с генетическими аномалиями. Представил научные публикации по изучаемой проблеме.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты диссертационной работы соответствуют направлениям исследований специальности, конкретно пунктам 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность полученных результатов обеспечивается последовательным и логичным изложением задач исследования и их решением, использованием современных молекулярных, генетических и клинических методов, достаточным объемом выборки пациентов, корректной статистической обработкой, критической оценкой полученных результатов при сравнении их с данными научной литературы.

Апробация работы

Материалы диссертационной работы доложены на межклинической конференции института репродуктивной медицины (25.04.2022) и апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (20.06.2022), а также представлены в виде устных и постерных докладов и обсуждены на российских и зарубежных

конференциях: Международная конференция РАРЧ (2014, 2016, 2020, 2021), Всероссийский форум «Мать и дитя» (2020, 2021, 2022), Региональный форум «Мать и дитя» (2021, 2022), Всероссийский конгресс с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь: от менархе до менопаузы» (2016, 2020, 2021), The International Symposium systems biology and biomedicine (2016).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и используются в практической работе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова Института репродуктивной медицины ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, а также в учебном процессе на базе Научно-образовательного центра ВРТ имени Фредерика Паулсена ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Публикация результатов работы

По теме диссертации опубликовано 19 работ в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, и 5 — тезисы российских и зарубежных конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена в традиционной академической форме. Состоит из оглавления, списка принятых сокращений, введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы. Работа представлена на 254 страницах, иллюстрирована 39 рисунками, 37 таблицами. Библиографический указатель включает 282 научные работы, из них 26 — отечественные публикации и 256 — зарубежные.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Диссертационная работа представляет собой одноцентровое исследование, проведенное с 2016 по 2021 г. на базе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова (руководитель — профессор, д.м.н. Е.А. Калинина) института репродуктивной медицины (директор — профессор, д.м.н. Т.А. Назаренко) и лаборатории молекулярно-генетических методов (руководитель — к.м.н. А.Е. Донников) института репродуктивной генетики (руководитель — член-корр. РАН, д.б.н. Д.Ю. Трофимов) ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России (директор — академик РАН, профессор, д.м.н. Г.Т. Сухих).

На первом этапе проанализированы клинико-анамнестические данные 13 595 пар, которые проходили лечение бесплодия методами ВРТ, на последующих — 3 321 пары.

Для каждой поставленной задачи был сформирован собственный дизайн согласно критериям включения/исключения. Конечная точка: относительный риск наступления беременности, относительный риск ранних репродуктивных потерь беременности (до 12 недель гестации), относительный риск живорождения (в зависимости от назначения ПГТ-А).

Этап I. Ретроспективное исследование «случай–контроль». Проанализированы клинико-анамнестические данные 13 595 пар с бесплодием с 2016 по 2020 г., которые разделены на группы: группа 1 — ВРТ с ПГТ; группа 2 — ВРТ без ПГТ.

Критерии включения

- Отсутствие противопоказаний к лечению бесплодия методами ВРТ.

Критерии исключения

- Наличие противопоказаний к лечению бесплодия методами ВРТ.
- Отсутствие гамет для оплодотворения.
- Суррогатное материнство.

Этап II. Проспективное наблюдательное исследование «случай–контроль» с выделением групп пациентов с различным паритетом бесплодия. Дизайн представлен на рисунке 1.



Рис. 1. Дизайн исследования на этапе II для оценки эффективности ВРТ с ПГТ у разных категорий больных с бесплодием

Этап III. Проспективное исследование «случай-контроль».

Критерии включения

- Отсутствие противопоказаний к лечению бесплодия методами ВРТ.
- Перенос одной генетически нормальной бластоцисты в полость матки.
- Криоконсервация методом витрификации.
- Нормальный кариотип обоих партнеров.
- Отсутствие маточного фактора бесплодия.
- Возраст женщины до 43 лет.

Критерии исключения

- Наличие противопоказаний к лечению бесплодия методами ВРТ.
- Использование донорских гамет в программе ВРТ.
- Суррогатное материнство.

Дизайн исследования для оценки влияния модификации эмбриологического этапа на исходы ВРТ с ПГТ-А представлен на рисунке 2.

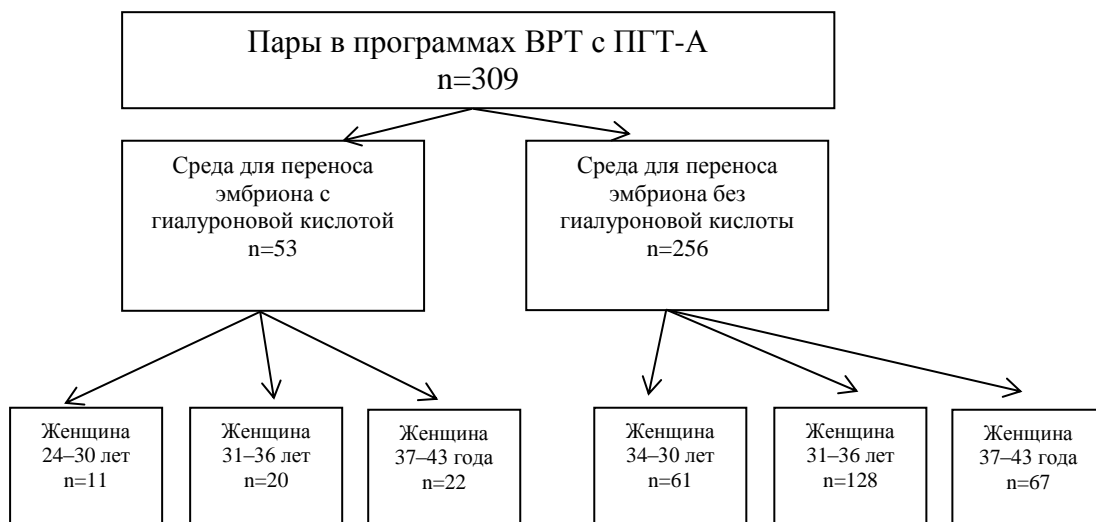


Рис. 2. Дизайн исследования для оценки влияния культуральной среды с гиалуроновой кислотой на эффективность лечения бесплодия методами ВРТ с ПГТ-А

Для оценки влияния уровня копийности митохондриальной ДНК на исходы программ лечения бесплодия проведено ретроспективное когортное исследование, в которое были включены 244 эуплоидные бластоцисты (из них 218 перенесены в полость матки) и проанализирована частота имплантации и родов живым плодом.

Диссертационное исследование было поддержано на заседании комиссии по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России. Все пациенты, участвующие в исследовании, подписали информированное добровольное согласие на участие в программе ВРТ и на обработку персональных данных.

Пациенты были обследованы согласно действующим нормативным документам:

- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30 августа 2012 г. №107н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению»;

- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31 июля 2020 г. №803н «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению»;

- Клинические рекомендации «Женское бесплодие», утвержденные Министерством здравоохранения Российской Федерации (2021 г.).

Стимуляцию функции яичников выполняли по стандартному протоколу с препаратами антагониста гонадотропинрилизинг гормона (анГнРГ) со 2–4-го дня менструального цикла и с использованием препаратов агониста гонадотропинрилизинг гормона (аГнРГ) для десенситизации гипоталамо-гипофизарной системы с применением рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и/или человеческого менопаузального гонадотропина (ЧМГ) в течение 8–12 дней. В качестве триггера использован хорионический гонадотропин (ХГ) в дозе 5 000–10 000 МЕ. В случае риска гиперстимуляции яичников производилась замена триггера на аГнРГ в дозе 0,2 мг п/к. Через 35–36 часов после введения триггера под общей анестезией проводили трансвагинальную пункцию фолликулов (ТВП). Использовали стандартные иглы (VitroLife, Швеция). Фолликулярную жидкость собирали в стерильные круглодонные пробирки и передавали эмбриологу для оценки ооцит-кумулюсных комплексов.

Весь эмбриологический этап проводили на культуральных средах согласно инструкции производителя (VitroLife, Швеция). Образцы эякулята, полученные в стерильный контейнер после 3–5 дней полового воздержания путем мастурбации в день трансвагинальной пункции, оценивали на основе критериев 5-го издания ВОЗ «Руководство по оценке и криоконсервации эякулята» (2010 г.). Денудирование ооцитов проводили в растворе гиалуронидазы в течение 20 секунд (Irvine Sc., США). Зрелые ооциты оплодотворяли методом ИКСИ на микроманипуляторе боросиликатными иглами (ORIGIO, США). Эмбрионы классифицировали согласно Рекомендациям РАРЧ по оценке морфологии ооцитов и эмбрионов (2021 г.).

На 5–6-е сутки после оплодотворения выполняли биопсию трофэктодермы у эмбрионов, соответствующих хорошему/отличному качеству согласно морфологическим критериям оценки (3–6AB, 3–6BA, 1–2AA, 3–6AA). Полученные клетки трофэктодермы переносили в пробирки типа Эппендорф, содержащие лизирующий буфер, и передавали их в лабораторию для проведения молекулярно-генетической диагностики.

Эмбрионы после биопсии выдерживали 1–2 часа и в случае отсутствия выраженной дегенерации подвергали криоконсервации методом витрификации (Kitazato, Япония) согласно инструкции производителя.

ПГТ-А проводили в Институте репродуктивной генетики (директор — член-корр. РАН, д.б.н. Д.Ю. Трофимов) методом высокопроизводительного секвенирования нового поколения. ПГТ-М выполняли методом количественной флюоресцентной полимеразно-цепной реакции (КФ-ПЦР). Перед ПГТ-М разрабатывали индивидуальную тест-систему для каждой пары, показывающую ассоциацию мутации с индивидуальными STR-маркерами пациента (short tandem repeats — короткие tandemные повторы). Эмбрионы тестировали прямым и косвенным методами.

Перенос эмбриона в полость матки осуществляли под контролем УЗ катетерами (СООК, Ирландия). Среды с гиалуроновой кислотой использовали согласно рекомендациям производителя (VitroLife, Швеция). Пациентам переносили строго 1 эмбрион в полость матки. Все используемые изделия медицинского назначения, тест-системы, лекарственные препараты и культуральные среды зарегистрированы в установленном порядке в Российской Федерации и разрешены к применению в ВРТ.

Статистическую обработку данных проводили с помощью «Microsoft Excel» и статистической программы SPSS Statistics 22 (США). Применяли χ^2 -тест для анализа категориальных данных и тест Манна–Уитни при попарном сравнении данных, отличных от нормального распределения. При распределении признаков, отличающихся от нормальных, их описывали в виде медианы (Me) и квартилей Q1 и Q3 в формате Me (Q1; Q3). При множественных сравнениях использовали поправку Бонферрони. Величину порогового уровня значимости (p) во всех исследованиях принимали равной 0,05.

Клинико-экономический анализ осуществляли на базе ФГБУ «Центр экспертизы и контроля качества медицинской помощи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (руководитель — д.м.н., профессор В.В. Омеляновский). Были построены 20 марковских моделей, представляющих собой марковские процессы с дискретным временем. Всего в рамках построения моделей было рассмотрено 10 возможных попарных сценариев для пар с разными факторами бесплодия. В каждой модели сравнивали два сценария: базовый и моделируемый (без использования и с использованием ПГТ соответственно).

Для сравнения сценариев использовали метод «затраты–эффективность», критерием эффективности служило число живорождений на 1000 пар. Затраты рассчитывали с позиции системы обязательного медицинского страхования (ОМС). Все пары, включенные в модель, имели установленный фактор бесплодия и в течение периода моделирования могли находиться в одном из трех состояний: бесплодие, ранние

репродуктивные потери, роды (живорождение). Временной горизонт моделирования составлял 5 лет, длительность цикла в модели (период времени между переходами из состояния в состояние) принята равной 1 году. В течение каждого цикла пара, находящаяся в одном из состояний, за исключением родов (живорождения), может либо остаться в данном состоянии, либо перейти в другое состояние, либо могут произойти роды. Состояние «роды (живорождение)» считали абсорбирующим (конечным).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы проведен ретроспективный анализ структуры обращаемости пациентов с бесплодием для проведения преимплантационного генетического тестирования эмбрионов в программах ВРТ. За период с 2016 по 2021 г. было проведено 13 595 циклов лечения бесплодия методами ВРТ. Из них выполнено 1 108 (8%) циклов с применением ПГТ с биопсией клеток эмбриона на 5-е и 6-е сутки культивирования (трофэктодерма), всего 3 092 бластоцисты хорошего/отличного качества. В процентном соотношении число программ ВРТ с проведением ПГТ в 2016–2021 гг. составляет 6%, 8%, 8%, 14%, 13% и 13% соответственно, что отражает значительное увеличение числа циклов ВРТ с определением хромосомного статуса эмбриона. Динамика роста количества программ ВРТ с ПГТ эмбрионов показана на рисунке 3.

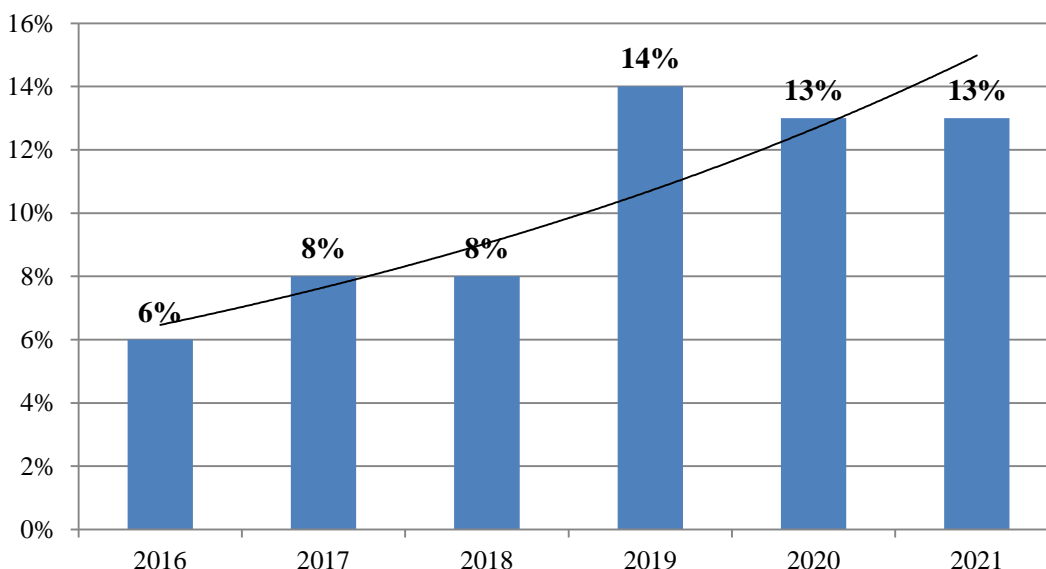


Рис. 3. Динамика роста числа программ ВРТ с применением ПГТ эмбрионов в 2016–2021 гг. в общем количестве циклов

Согласно полученным данным, показаниями к использованию ПГТ были: фактор мужского бесплодия (нарушения сперматогенеза) (34%), поздний репродуктивный возраст женщины (26%), невынашивание беременности (12%), СПКЯ (10%), наружный генитальный эндометриоз I и II стадии распространения (12%), нарушение кариотипа и носительство

моногенных заболеваний (6%). Выявленная структура обращаемости пациентов с различными нозологиями для проведения ПГТ при лечении бесплодия методами ВРТ представлена на рисунке 4. Полученные данные позволили детально проанализировать клинические ситуации с точки зрения целесообразности и клинико-экономической эффективности применения ПГТ эмбрионов для указанных групп пациентов.



Рис. 4. Структура обращаемости пациентов, проходящих лечение бесплодия методами ВРТ, для проведения ПГТ эмбрионов

При научном и клиническом анализе полученного материала обратила на себя внимание устойчивая тенденция к увеличению среднего возраста пациенток, обращающихся для лечения бесплодия с ПГТ. Возраст пациенток увеличился с $33,7 \pm 2,1$ года до $36,1 \pm 1,5$ года. Динамика роста числа пациенток позднего репродуктивного возраста (37–42 года) ставит вопрос о необходимости снижения рисков рождения детей с хромосомными патологиями. Основным методом профилактики рождения детей с хромосомными нарушениями является использование ПГТ-А. Поэтому на следующем этапе исследования проспективно проанализирована эффективность лечения бесплодия у женщин различных возрастных групп с применением ПГТ-А. Все пациентки, проходившие лечение методами ВРТ с ПГТ-А, разделены на три группы в зависимости от возраста: 22–30 лет — группа 1 ($n=190$), 31–36 лет — группа 2 ($n=387$), 37–42 года — группа 3 ($n=531$). Частота отмены переноса по причине отсутствия генетически нормальных эмбрионов по результатам ПГТ-А в каждой возрастной группе представлена на рисунке 5. У женщин в возрасте 37–42 лет более чем в половине циклов ВРТ (57,1%) отсутствуют эмбрионы, пригодные для переноса в полость матки (генетически нормальные).

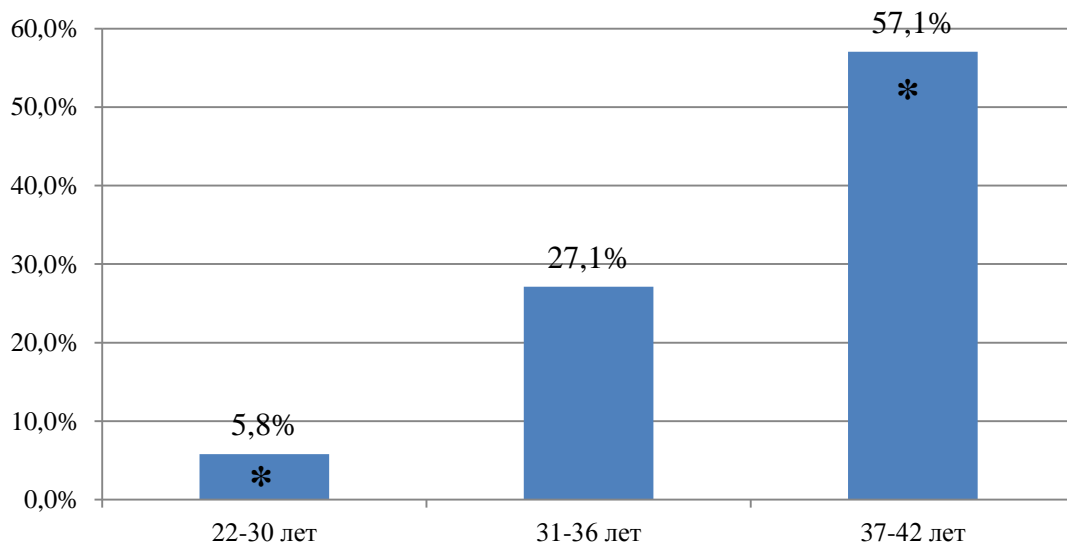


Рис. 5. Отмена переноса эмбриона по причине отсутствия генетически нормальных бластоцист при ВРТ с ПГТ-А у женщин разного возраста (* $p < 0,05$)

При анализе эффективности ВРТ с ПГТ-А определена частота наступления беременности и живорождений у пациенток в разных возрастных группах. За период с 2016 по 2021 г. выполнено 627 криопротocolов с переносом размороженного euploidного эмбриона у этих пациенток. Женщинам 22–30 лет проведено 117 переносов размороженного эмбриона с ПГТ-А, пациенткам 31–36 лет — 282 цикла и женщинам позднего репродуктивного возраста — 228 переносов. Эффективность лечения у женщин разных возрастных групп показана в таблице 1.

Таблица 1. Эффективность программ ВРТ с ПГТ-А у пациенток разного возраста в расчете на перенос эмбриона ($p > 0,05$)

Возраст	Положительный результат имплантации	Количество биохимических беременностей	Количество неразвивающихся беременностей	Роды, расчет на перенос
22–30 лет n=117	46 (39%)	4 (8%)	8 (17%)	33 (28,2%)
31–36 лет n=282	126 (41%)	12 (10%)	8 (7%)	94 (33,3%)
37–42 года n=228	84 (39%)	7 (8%)	13 (14%)	64 (28,0%)

Согласно полученным данным, эффективность программ ВРТ с ПГТ-А сопоставима у пациенток различного возраста в связи с возможностью переноса в полость матки генетически здорового эмбриона (при отсутствии конфаундеров). Различия в частоте неразвивающихся беременностей, как и в остальных параметрах эффективности, статистически не значимы. Это указывает на целесообразность проведения

ПГТ-А для повышения эффективности программ ВРТ у женщин позднего репродуктивного возраста.

Далее были обследованы 290 пар для оценки эффективности программ ВРТ при невынашивании беременности (НБ) в анамнезе (исследования были начаты под руководством профессора Н.В. Долгушиной в 2019 г.). В настоящее исследование входили пациентки моложе 35 лет. Группу с НБ в анамнезе составила 161 пациентка с 2 и более прерываниями беременности на сроке до 12 недель гестации, из ни 81 женщине проводили ПГТ-А. Группу сравнения составляли пациентки с трубно-перитонеальным фактором (ТПФ) (n=129), из которых 62 женщинам проводили ПГТ-А, 67 — не проводили. Все пациентки были сопоставимы по клинико-анамнестическим данным. В таблице 2 представлены результаты ПГТ-А.

Таблица 2. Результаты ПГТ-А у пациенток с невынашиванием беременности и в группе сравнения

	Женщины с НБ с ПГТ-А n=81	Женщины без НБ с ПГТ-А n=62	p (критерий Хи-квадрат)
Общее число эмбрионов для ПГТ-А	164	189	
Кол-во эуплоидных эмбрионов, n (%)	73 (44,5%)	82 (43,3%)	p=0,895
Кол-во анеуплоидных эмбрионов, n (%)	84 (51,2%)	98 (51,8%)	p=0,947
Кол-во эмбрионов с мозаицизмом, n (%)	7 (4,2%)	9 (4,7%)	p=0,832

Клинические исходы программ лечения бесплодия методами ВРТ с ПГТ-А и без в исследуемых группах проиллюстрированы в таблице 3.

Таблица 3. Клинические результаты лечения бесплодия методами ВРТ у пациенток в исследуемых группах (p>0,05)

	Женщины с НБ с ПГТ-А n=81	Женщины с НБ без ПГТ-А n=129	Женщины без НБ с ПГТ-А n=62	Женщины без НБ без ПГТ-А n=67
Частота клинической беременности, n (%)	34/81 (41,9%)	46/129 (35,6%)	24/62 (38,7%)	20/67 (29,8%)
Ранние репродуктивные потери, n (%)	10/34 (29,4%)	19/46 (41,3%)	4/24 (16,6%)	4/20 (20,0%)
Частота живорождения в расчете на перенос эмбриона, n (%)	24/81 (29,6%)	27/129 (20,9%)	20/62 (32,2%)	16/67 (23,8%)

Полученные данные указывают на отсутствие клинического эффекта от проведения ПГТ-А пациенткам моложе 35 лет с НБ (p=0,285). Частота генетически нормальных бластоцист в программах ВРТ с ПГТ-А достоверно не различается в исследуемых группах. Следовательно, при невынашивании беременности в анамнезе генетическое качество эмбриона

не является основной причиной бесплодия. Патологические механизмы невынашивания беременности в сроке до 12 недель гестации могут быть сопряжены с иммунологическими особенностями, рецептивностью эндометрия, микробиотой матки и др.

Далее проанализировано 115 циклов ВРТ пациенток с СПКЯ. Группу сравнения составили 129 женщин без СПКЯ с ТПФ. Все пациентки в анализируемых протоколах ВРТ с ПГТ и без моложе 35 лет. Клинико-анамнестические данные сопоставимы в обеих группах пациенток. В таблице 4 представлены результаты ПГТ-А у женщин с СПКЯ и без СПКЯ.

Таблица 4. Результаты ПГТ-А у пациенток с СПКЯ и в группе сравнения

	Женщины с СПКЯ с ПГТ-А n=59	Женщины без СПКЯ с ПГТ-А n=62	p (критерий Хи-квадрат)
Общее число эмбрионов для ПГТ-А	112	189	
Кол-во эуплоидных эмбрионов, n (%)	45 (40,1%)	82 (43,3%)	p=0,728
Кол-во анеуплоидных эмбрионов, n (%)	63 (56,2%)	98 (51,8%)	p=0,686
Кол-во эмбрионов с мозаицизмом, n (%)	4 (3,5%)	9 (4,7%)	p=0,638

Эффективность проведенного лечения бесплодия у пациенток с СПКЯ продемонстрирована в таблице 5. Полученные результаты показывают, что частота наступления клинической беременности у пациенток моложе 35 лет с СПКЯ и без СПКЯ при использовании ПГТ-А эмбрионов статистически не различалась (p=0,984). Частота выявления генетически аномальных эмбрионов также статистически значимо не различалась в анализируемых группах (p=0,638). Частота наступления беременности с ПГТ-А у пациенток с СПКЯ выше, но данные не являются статистически значимыми (p=0,499). Таким образом, результаты демонстрируют отсутствие необходимости проведения ПГТ-А для повышения эффективности лечения бесплодия методами ВРТ у молодых пациенток с СПКЯ.

Таблица 5. Клинические результаты у пациенток с СПКЯ и в группе сравнения (p>0,05)

	Женщины с СПКЯ с ПГТ-А n=59	Женщины с СПКЯ без ПГТ-А n=56	Женщины без СПКЯ с ПГТ-А n=62	Женщины без СПКЯ без ПГТ-А n=67
Частота клинической беременности, n (%)	23/59 (38,9%)	17/56 (30,3%)	24/62 (38,7%)	20/67 (29,8%)
Ранние репродуктивные потери, n (%)	3/23 (13,0%)	2/17 (11,7%)	4/24 (16,6%)	4/20 (20,0%)
Частота живорождения в расчете на перенос эмбриона, n (%)	20/59 (33,8%)	15/56 (26,7%)	20/62 (32,2%)	16/67 (23,8%)

Функциональные изменения яичников и эндометрия, а также метаболический синдром в результате эндокринных нарушений у женщин с СПКЯ, по-видимому, являются основными неблагоприятными факторами для успешного исхода беременности, и применение преимплантационного генетического тестирования эмбрионов у таких пациенток нецелесообразно.

В дальнейшем в ходе исследования проанализированы данные 113 пациенток с наружным генитальным эндометриозом (НГЭ) I и II стадии распространения. Группу сравнения составили 211 женщин без НГЭ (ТПФ, фактор мужского бесплодия в виде незначительных нарушений сперматогенеза, нормальная морфология сперматозоидов >2%). Каждая группа была разделена на три подгруппы в зависимости от возраста женщины (<35 лет, 35–37 лет, >37 лет) для минимизации влияния возраста на исходы ВРТ. Сравнение одновозрастных групп пациенток позволило получить наиболее объективную оценку влияния НГЭ I и II стадии на частоту анеуплоидий и эмбриологические показатели программ ВРТ.

Проведено попарное сравнение клинико-anamнестических характеристик одновозрастных групп женщин с НГЭ I и II стадии распространения и без него. Результаты показаны в таблице 6. Статистически значимые различия клинико-anamнестических и эмбриологических параметров указаны в виде величины уровня значимости рядом со сравниваемыми группами.

Таблица 6. Клинико-anamнестические характеристики и эмбриологические исходы у женщин с НГЭ I и II стадии распространения и в группе сравнения

	Женщины с НГЭ I и II стадии распространения n=113			Женщины без НГЭ n=211		
	<35	35–37	>37	<35	35–37	>37
Возраст, лет	<35	35–37	>37	<35	35–37	>37
Количество пациенток	79	23	11	62	46	103
Возраст Ж, лет	31 (29; 33)	35 (35; 36)	39 (38,0; 42,0) p=0,009	31 (30,0; 33,0)	36 (35,0; 37,0)	41 (40; 42) p=0,009
Возраст М, лет	33 (31, 37)	38 (34; 41)	43 (41,0; 54,0)	34 (32,0; 37,0)	37 (34,8; 41,3)	43 (38, 47)
Число попыток ВРТ	1 (1, 2) p=0,025	2 (2; 3)	2 (1, 3)	2 (1; 3) p=0,025	2 (1; 3)	2 (1, 3)
Общая концентрация сперматозоидов, млн/мл	60 (33; 85)	66,5 (38,8; 79,0)	63 (46; 81)	56 (26,3; 82,0)	56,5 (29,0; 78,0)	51 (24,0; 85,0)
Прогрессивно подвижные сперматозоиды,	51 (41, 61)	46 (36,5, 57,5)	52 (46, 57)	48,5 (37,3, 64,0)	55,5 (37,5, 63,5)	47 (34,0, 61,0)

	Женщины с НГЭ I и II стадии распространения n=113			Женщины без НГЭ n=211		
	<35	35–37	>37	<35	35–37	>37
Возраст, лет						
%						
Морфологически нормальные сперматозоиды, %	3 (2, 3)	2 (1,8, 3,0)	2 (1, 3)	2 (1, 2)	2 (2, 3)	2 (1, 3)
Количество ОКК	12 (7, 17)	7 (6, 10)	4 (3, 8)	10,5 (7,8, 16,0)	7 (4,8, 12,0)	5 (2,0, 9,0)
Частота зрелости ооцитов, %	82,35 (71,4, 100)	77,78 (65,8, 85,71)	100 (100, 100)	77,78 (70,24, 96,25)	80 (74,1, 100)	90,91 (75, 100)
Частота оплодотворения, %	87,5 (80,0, 100)	100 (80, 100)	100 (72,6, 100)	90,0 (77,56, 100)	100 (83,33, 100)	100 (83,33, 100)

Частота анеуплоидных эмбрионов в анализируемых группах пациенток показана в таблице 7. Статистически значимых различий при попарном сравнении одновозрастных групп по всем параметрам выявлено не было.

Таблица 7. Частота анеуплоидий в эмбрионах у женщин с НГЭ I и II стадии распространения и в группе сравнения ($p>0,05$)

	Женщины с НГЭ I и II стадии распространения с ПГТ-А, n=113			Женщины без НГЭ I и II стадии распространения с ПГТ-А, n=211		
	<35	35–37	>37	<35	35–37	>37
Возраст Ж, лет						
Общее число эмбрионов для ПГТ-А	250	59	26	192	125	218
Кол-во эуплоидных эмбрионов, n (%)	127 (50,8%)	20 (33,9%)	8 (30,8%)	113 (58,9%)	59 (47,2%)	48 (22,0%)
Кол-во анеуплоидных эмбрионов, n (%)	106 (42,4%)	36 (61,0%)	18 (69,2%)	61 (31,8%)	59 (47,2%)	163 (74,8%)
Кол-во эмбрионов с мозаицизмом, n (%)	17 (6,8%)	3 (5,1%)	0 (0%)	18 (9,4%)	7 (5,6%)	7 (3,2%)

Клинические исходы программ ВРТ с ПГТ-А у женщин с НГЭ I и II стадии распространения указаны в таблице 8.

Таблица 8. Клинические исходы программ ВРТ с применением ПГТ-А у женщин с НГЭ I и II стадии распространения и в группе сравнения (p>0,05)

Возраст Ж, лет	Женщины с НГЭ I и II стадии распространения с ПГТ-А			Женщины без НГЭ I и II стадии распространения с ПГТ-А		
	<35	35–37	>37	<35	35–37	>37
Число перенесенных эмбрионов, n	54	10	5	38	28	30
Частота клинической беременности, %	28 (51,9%)	6 (60%)	0	19 (50%)	13 (46,4%)	13 (43,3%)
Частота живорождения, %	25 (46,3%)	7 (70%)	0	18 (47,4%)	13 (46,4%)	12 (40%)

Показано, что частота имплантации в группе с НГЭ I и II стадии распространения составила 49,3%, что сопоставимо с аналогичным показателем в группе без НГЭ — 46,9%. В группе с НГЭ I и II стадии было два случая неразвивающейся беременности и один — внематочной локализации. Частота живорождения в группе женщин с НГЭ I и II стадии распространения составила 46,4%, в том числе одна двойня, а в группе без НГЭ — 44,8%, что не имело статистической значимости. Таким образом, проведенное исследование указывает на отсутствие необходимости проведения ПГТ-А у пар с наличием НГЭ I и II стадии распространения, который не увеличивает частоту анеуплоидных эмбрионов и не влияет на параметры эмбриологического этапа ВРТ.

Так как в настоящем исследовании частота обращаемости пар с мужским бесплодием для проведения ПГТ-А составила 34%, на следующем этапе работы проведен анализ необходимости и эффективности ВРТ с ПГТ-А у мужчин различного возраста с нарушениями сперматогенеза. Результаты сравнения характеристик эмбриологического этапа не выявили значимых различий в группах мужчин разного возраста. Частота оплодотворения и частота бластуляции были сравнимы в группах мужчин до 40 лет и старше и не имели статистически значимых различий. Анализ частоты эуплоидных, анеуплоидных и эмбрионов с мозаицизмом в группах мужчин до 40 лет и старше показал отсутствие влияния возрастного фактора на генетический статус эмбриона: частота эуплоидных эмбрионов в группе мужчин до 40 лет составила 50,9%, старше 40 лет — 47,2% (в настоящем исследовании участвовали мужчины не старше 48 лет).

Принимая во внимание отсутствие статистически значимых различий параметров эмбриологического этапа лечения у мужчин разного возраста, решено оценить влияние параметров сперматогенеза на исходы ВРТ. В зависимости от типа нарушений сперматогенеза мужчины были разделены

на группы (женщины в данных парах были моложе 35 лет): группа «олигоастенотератозооспермия (ОАТ)» — 214 пар; группа «биопсия яичка» (оплодотворение сперматозоидами, полученными при биопсии яичка) — 105 пар; группа «тератозооспермия 0–2% (0–2%Т)» — 1061 пара; группа «тератозооспермия 3%» (3%Т) — 588 пар; группа «нормозооспермия» — 257 пар. Клинико-анамнестические параметры женского здоровья (критерий Крускала–Уоллиса, $p > 0,05$ для всех значений) были сопоставимы в набранных группах. Согласно полученным результатам, показатели эмбриологического этапа зависят от тяжести нарушений сперматогенеза у мужчины (таблица 9). Так, частота оплодотворения и частота бластуляции оказалась статистически значимо ниже в группах ОАТ и при оплодотворении сперматозоидами, полученными при биопсии яичка по сравнению с нормозооспермией.

Таблица 9. Характеристика показателей эмбриологического этапа в группах с разными нарушениями сперматогенеза

	ОАТ n=214	Биопсия яичка n=105	0–2%Т n=1061	3%Т n=588	Нормозоо спермия n=257	Р, критерий Крускала– Уоллиса
ОКК	9,0 (4,8; 13,0)	8,0 (4,0; 13,0)	8,0 (4,0; 12,0)	7,0 (4,0; 12,0)	8,0 (4,0; 13,5)	$p > 0,05$
Зрелые ооциты	7,0 (4,0; 10,0)	6,0 (3,5; 11,0)	6,0 (4,0; 10,0)	6,0 (4,0; 9,0)	6,0 (4,0; 11,0)	$p > 0,05$
Частота оплодотворе ния, %	90,0 (76,9; 100,0)	88,9* (66,7; 100,0)	100,0 (80,0; 100,0)	100,0 (80,0; 100,0)	92,3* (75,0; 100,0)	*$p=0,030$
Частота бластуляции, %	50,0%** (33,3; 66,7)	50,0%** (33,3; 81,7)	50,0% (33,3; 71,4)	50,0% (33,3; 75,0)	60,0%** (36,0; 77,8)	**$p=0,043$
Отмена переноса (неуд.кач-во эмбриона),%	22 (10,2%)	13 (11,4%***)	73 (6,9%)	42 (7,1%)	15 (5,8%***)	***χ^2-тест $p=0,037$

Также получены статистически значимые различия по числу отмен переноса эмбриона в полость матки по причине отсутствия бластоцист на 5–6-е сутки культивирования (рисунок 6). При тяжелых формах нарушения сперматогенеза (биопсия яичка) в 11,4% случаев можно ожидать прекращения цикла лечения на эмбриологическом этапе по причине остановки развития эмбрионов, что следует учитывать при консультировании пациентов с мужским бесплодием, обращающихся для лечения методами ВРТ.

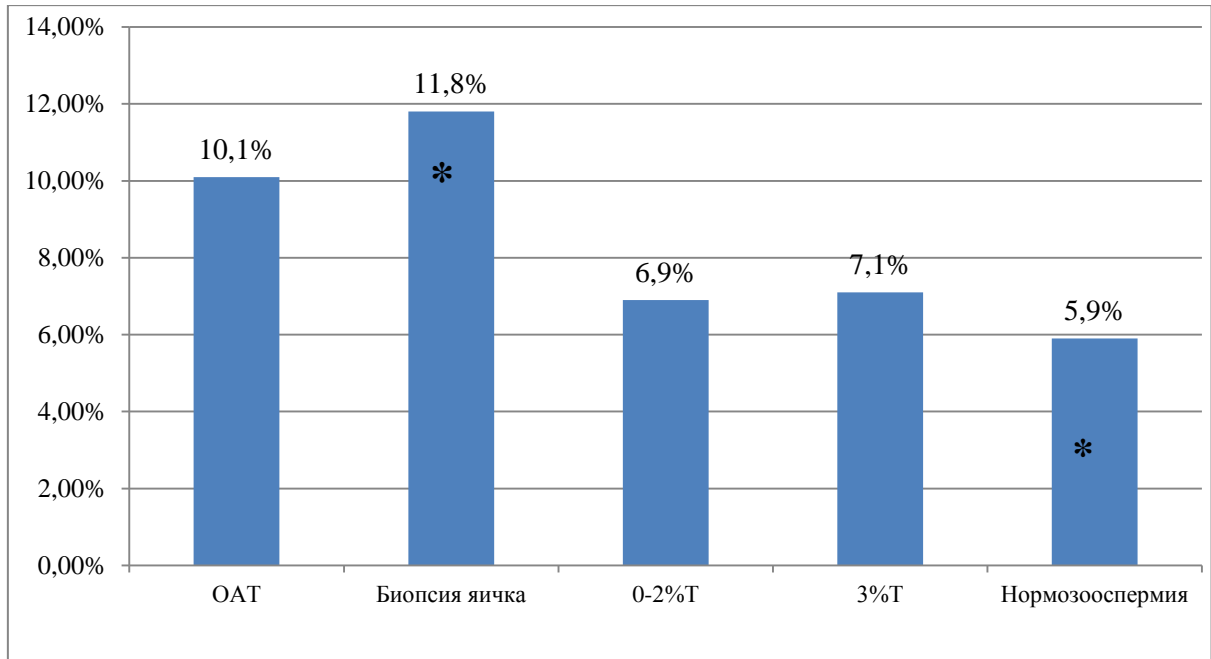


Рис. 6. Частота отмены переноса и завершения цикла лечения бесплодия методами ВРТ в связи с неудовлетворительным качеством полученных эмбрионов (остановка на стадии дробления) (* $p < 0,05$)

Для изучения взаимосвязи между нарушениями сперматогенеза и генетическим статусом эмбрионов в программах ВРТ с ПГТ-А были проанализированы 1022 бластоцисты у мужчин с различными нарушениями сперматогенеза (таблица 10). Выявлено достоверное увеличение числа анеуплоидных эмбрионов при оплодотворении сперматозоидами, полученными при биопсии яичка, а также при единичных мужских половых клетках в эякуляте (OAT) по сравнению с нормозооспермией. Частота эмбрионов с мозаицизмом также значительно отличалась в сравниваемых группах.

Таблица 10. Частота эуплоидных, анеуплоидных и эмбрионов с мозаицизмом у мужчин с различными нарушениями сперматогенеза

	OAT+ биопсия яичка n=155	0–2%Т n=517	3%Т n=277	Нормо- зооспермия n=73	p (критерий Хи- квадрат)
Анеуплоидные эмбрионы, n (%)	81/155 (52,3% *)	215/517 (41,6%)	129/277 (46,6%)	27/73 (37,0% *)	* $p=0,032$
Эуплоидные эмбрионы, n (%)	68/155 (43,9%)	273/517 (52,8%)	122/277 (44,0%)	37/73 (50,7%)	$p > 0,05$
Эмбрионы с мозаицизмом, n (%)	6/155 (3,9% **)	29/517 (5,6%)	26/277 (9,4%)	9/73 (12,3% **)	** $p=0,022$

Далее были оценены клинические исходы лечения с учетом тяжести нарушений сперматогенеза (таблица 11). Как показали результаты, частота наступления беременности при переносе размороженного эуплоидного эмбриона в программах ВРТ с ПГТ-А сопоставима во всех анализируемых группах. Выявлена тенденция к увеличению частоты ранних репродуктивных потерь и снижению числа родов живым плодом при оплодотворении сперматозоидами, выделенными из ткани яичка (данные статистически не достоверны).

Таблица 11. Исходы программ ВРТ с ПГТ-А у мужчин с различными нарушениями сперматогенеза

	ОАТ, n=29	Биопсия яичка, n=17	0–2%Т, n=116	3%Т, n=55	Нормо- зооспермия, n=23	Р, (критерий Хи- квадрат)
Клиническая беременность, n (%)	13/29 (44,8%)	6/17 (30,7%)	33/116 (28,9%)	14/55 (25,8%)	11/23 (48,5%)	p=0,921
Ранние репродуктивные потери, n (%)	4/13 (31,3%)	2/6 (50,0%)	6/33 (24,6%)	3/14 (23,5%)	2/11 (15,1%)	p=0,482
Частота живорождения, n (%)	7/29 (25,5%)	3/17 (17,0%)	25/116 (21,8%)	11/55 (19,6%)	9/23 (39,7%)	p=0,688

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии показаний к проведению ПГТ-А в программах лечения бесплодия методами ВРТ у мужчин с олигоастенотератозооспермией и при азооспермии (оплодотворение сперматозоидами, полученными при биопсии яичка). При тяжелых формах нарушения сперматогенеза анеуплоидии эмбрионов встречаются в 1,75 раза чаще по сравнению с нормозооспермией. Для снижения риска рождения детей с генетическими нарушениями таким парам целесообразно проведение ПГТ-А эмбрионов.

На следующем этапе проанализирована эффективность лечения бесплодия методами ВРТ с применением ПГТ-А и ПГТ-СП у пациентов с хромосомными аномалиями в кариотипе. Обследованы 54 пары, в которых у одного из пациентов по данным цитогенетического кариотипирования обнаружены структурные перестройки хромосом. В зависимости от вида транслокации пары были разделены на группы с робертсоновской и реципрокной хромосомной аномалией. Проведена биопсия клеток трофобласта 236 бластоцист. Анализ результата секвенирования показал, что 51 эмбрион имел нормальный молекулярный кариотип, 153 — хромосомную патологию (рисунок 7).

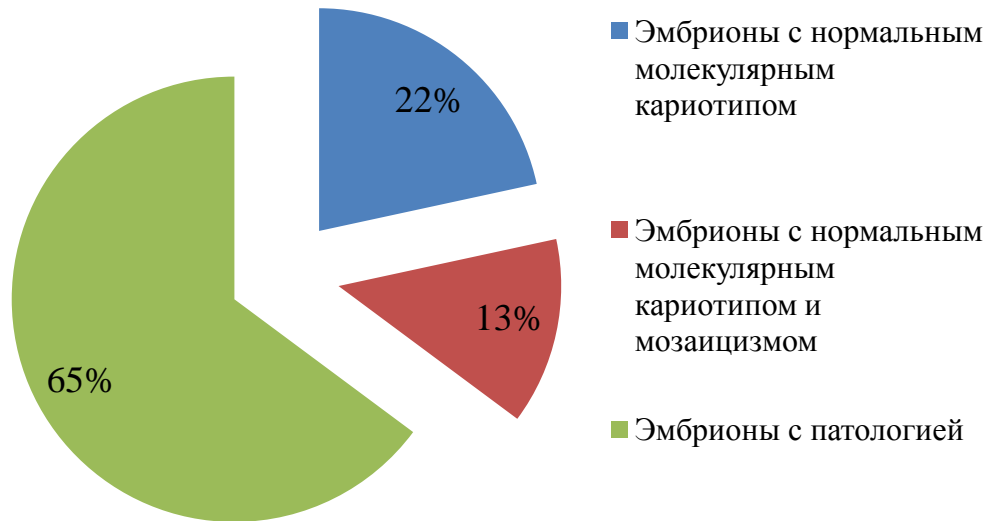


Рис. 7. Структура хромосомных нарушений в преимплантационных эмбрионах у пар с аномалиями кариотипа

Частота и структура хромосомной патологии, выявленная у эмбрионов, представлена в таблице 12. Частота эмбрионов с патологией статистически выше у пациентов с реципрокными транслокациями в кариотипе. Следует отметить, что процент эмбрионов с анеуплоидией хромосом, не вовлеченных в транслокацию, также статистически выше у пациентов с реципрокными транслокациями в кариотипе. В группе пациентов с реципрокными транслокациями, где носителем транслокации являлся мужчина, количество эмбрионов с несбалансированным кариотипом и мозаицизмом статистически выше, что не отмечалось в группе с робертсоновскими транслокациями. Этот результат необходимо учитывать при консультировании пациентов до начала проведения ВРТ.

Таблица 12. Результаты ПГТ-А и ПГТ-СП у пар, в которых один из партнеров является носителем хромосомной транслокации

Вид транслокации	Носитель транслокации	Возраст женщины, лет	Кол-во циклов ВРТ	Эмбрионы с нормальным молекулярным кариотипом	Эмбрионы с нормальным молекулярным кариотипом и мозаицизмом	Эмбрионы с патологией
Реципрокная (n=28)	М(17)	32,00±0,8	20	11	5	56
	Ж (11)	33,69±1,1	13	8	5	37
Робертсоновская (n=26)	М (16)	35,06±1,1	68	19	13	34
	Ж (10)	34,31±1,1	50	13	9	26

Выполнено 44 переноса в полость матки генетически нормальных эмбрионов у пар с аномалиями кариотипа. Беременность наступила в 18 случаях, что составило 40,9%, родилось 16 здоровых детей (36,3%), в 2 случаях произошел самопроизвольный выкидыш до 12 недель гестации.

Частота наступления беременности сравнима с частотой в группе пациентов с нормальным кариотипом при использовании ПГТ-А и ПГТ-СП. Таким образом, доказана высокая эффективность лечения бесплодия у пар с нарушениями кариотипа в программах ВРТ с использованием ПГТ-А и ПГТ-СП. Результаты убедительно указывают на возможность использования собственных, а не донорских гамет у мужчин и женщин с нарушениями кариотипа для снижения репродуктивных потерь и рождения здоровых детей.

В настоящее время актуальным с клинической и этической точек зрения представляется вопрос изучения частоты встречаемости и возможности переноса в полость матки эмбрионов с мозаицизмом. В связи с этим проведена оценка частоты истинного мозаицизма эмбрионов человека в программах лечения бесплодия методами ВРТ. Ретроспективный анализ ВРТ с ПГТ показал, что частота встречаемости эмбрионов с мозаицизмом по разным типам хромосом составляет 5,3% (161/3092 бластоцист).

В клинической практике встречаются пары, у которых по результатам ПГТ-А нет эуплоидных бластоцист, но есть эмбрионы с мозаицизмом. Это диктует необходимость изучения возможности и условий переноса эмбрионов с мозаицизмом. В данном исследовании выполнено 12 переносов в полость матки размороженных эмбрионов с мозаицизмом. Предварительно пациенты получили консультацию клинического генетика, для них были рассчитаны и объяснены все риски рождения детей с генетическими нарушениями, подписаны информированные добровольные согласия, обсужден вопрос обязательного проведения пренатальной диагностики. После переноса эмбрионов с мозаицизмом беременность наступила у шести женщин (50%), рождено пятеро здоровых детей, одна беременность была прервана по медицинским показаниям. В настоящий момент дети развиваются согласно возрасту. Кариотипирование новорожденных не проводили.

Таким образом, при отсутствии эуплоидных бластоцист перенос эмбрионов с мозаицизмом возможен с учетом клинико-анамнестических данных пары, хромосом, вовлеченных в мозаицизм и расчетом индивидуальных рисков рождения детей с генетическими нарушениями при обязательном медико-генетическом консультировании.

Чрезвычайно важным является вопрос профилактики рождения детей с генетическими нарушениями у фертильных пар с носительством моногенных заболеваний, имеющих больных детей или планирующих беременность. В связи с этим проанализированы особенности проведения программ ВРТ у 24 фертильных пар с носительством моногенных заболеваний. Спектр наследственной патологии показан в таблице 13.

Таблица 13. Спектр наследственной патологии у пациентов в программах ВРТ с ПГТ-А и ПГТ-М

Спектр наследственной патологии	Число случаев	Количество эмбрионов	Число генетически нормальных эмбрионов (ПГТ-А и ПГТ-М)	Исходы
Наследственный муковисцидоз	4	17	10	Роды, трое детей
Болезнь Гентингтона	3	10	4	
Синдром Альпорта	3	11	7	Роды здоровым ребенком
Адрено-генитальный синдром	2	2	0	
Синдром Кальмана	1	9	2	Роды здоровым ребенком
Болезнь Гиппеля-Линдау	1	4	0	
Гемофилия А	1	6	2	Беременность не наступила
Наследственная кардиоэнцефаломиопатия	1	5	3	Роды здоровым ребенком
Наследственный мукополисахаридоз тип I	1	5	1	Беременность не наступила
Синдром Марфана	1	8	0	
Мышечная дистрофия Беккера	1	2	1	Беременность не наступила
Наследственный поликистоз почек	1	3	1	Роды здоровым ребенком
Наследственная ретинобластома	1	2	0	
Мутация Tugb3Cys в гене STAMBP/microcephaly-capillary malformation syndrome	1	4	1	Беременность не наступила
Врожденная мерозин-негативная мышечная дистрофия	1	3	1	Беременность не наступила
Мутации в гене DARS2	1	6	4	Роды здоровым ребенком

Всем парам выполнено предварительное консультирование клиническим и лабораторным генетиком на предмет риска передачи наследственного заболевания потомству. По результатам ПГТ-М и ПГТ-А, у пациентов получены эмбрионы, пригодные для переноса в полость матки. Суммарно родилось 8 здоровых детей. В одной семье женщина родила двух здоровых детей.

Таким образом, проведение ВРТ с ПГТ-А и ПГТ-М абсолютно показано фертильным супружеским парам с носительством моногенных заболеваний для снижения риска рождения детей с генетическими заболеваниями. Данную информацию акушеры-гинекологи и генетики должны широко освещать в медико-генетических центрах и женских консультациях с обязательным прекоцепционным консультированием пар до лечения бесплодия методами ВРТ, что имеет важное клиническое и социальное значение.

На следующем этапе работы для определения возможностей повышения эффективности ВРТ с ПГТ для пациентов различного возраста при переносе в полость матки зуплоидного эмбриона оценивали эффективность применения эмбриологических культуральных сред с гиалуроновой кислотой (ГК). Как показали научные данные, ГК

положительно влияет на развитие эмбриона, на процессы децидуализации эндометрия, а также может выступать как источник эмбрионального фактора роста, поскольку небольшие концентрации ГК проникают через блестящую оболочку. В данной работе было выполнено 309 переносов эуплоидных эмбрионов, из них 53 переноса с использованием среды с ГК (группа 1), 256 — с использованием обычной культуральной среды (группа 2).

Для минимизации влияния возраста на исходы программ ВРТ и интерпретацию полученных результатов все пациентки, включенные в исследование, были разделены на три группы: 24–30 лет (n=72), 31–36 лет (n=148) и 37–43 года (n=89). Эффективность ВРТ с ПГТ-А при использовании культуральной среды с ГК отражена на рисунке 8.

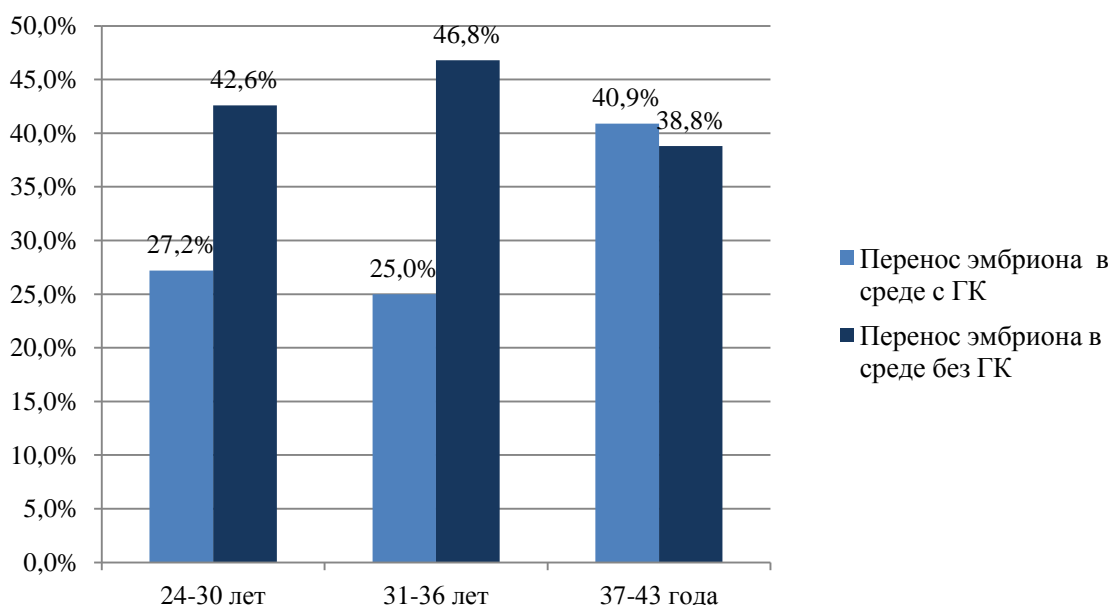


Рис. 8. Частота наступления беременности при переносе эуплоидного эмбриона с использованием разных культуральных сред в зависимости от возраста женщины ($p > 0,05$)

Согласно результатам, применение сред, обогащенных ГК, в общей когорте пациенток не приносит клинических результатов и статистически значимо не влияет на частоту наступления беременности. При анализе ранних репродуктивных потерь выявлена достоверная разница в группе пациенток позднего репродуктивного возраста при сравнении использования разных культуральных сред (рисунок 9). Следовательно, можно рекомендовать данной категории пациенток использование эмбриологической среды с ГК в программах ВРТ с ПГТ-А для снижения риска неразвивающейся беременности на ранних сроках гестации.

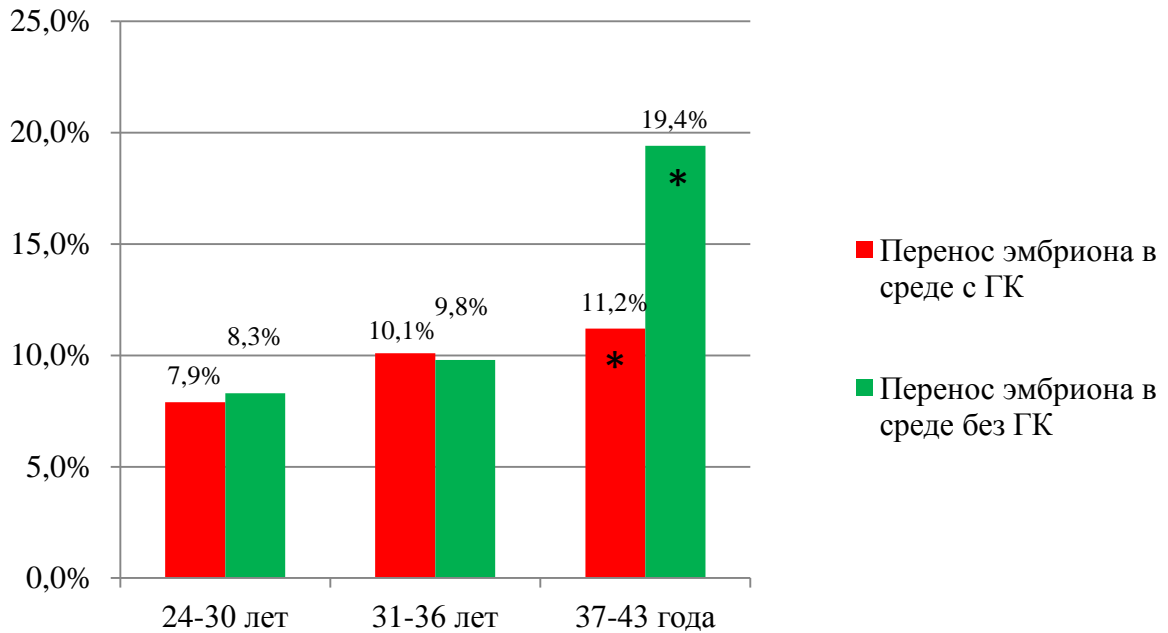


Рис. 9. Частота ранних репродуктивных потерь при переносе эуплоидного эмбриона в различных культуральных средах в зависимости от возраста пациенток (* $p < 0,05$)

Далее была проведена оценка уровня копийности митохондриальной ДНК (мтДНК) эмбриона в качестве предиктора эффективности программы ВРТ с ПГТ-А для селекции эмбриона с максимальным имплантационным потенциалом. Количественная оценка мтДНК была выполнена на 244 образцах. Распределение количества копий мтДНК в клетках трофобласта эуплоидных эмбрионов показано на рисунке 10.

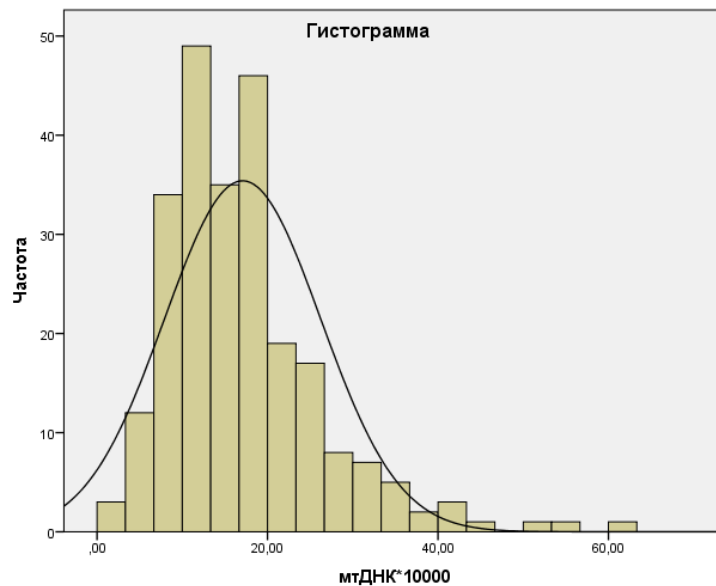


Рис. 10. Количественная оценка мтДНК в клетках трофобласта эуплоидных бластоцист человека

Статистически значимой разницы в уровне мтДНК у пациенток с положительным и отрицательным результатом имплантации выявлено не было: 15,15 у.е. против 14,47 у.е. соответственно ($p=0,56$, рисунок 11). Вместе с тем при анализе исходов беременности и живорождения отмечено, что ранние репродуктивные потери до 12 недель гестации статистически значимо коррелировали с повышенным уровнем экспрессии мтДНК в клетках трофобласта, составив 21,17 у.е. против 13,17 у.е. ($p=0,048$). При этом частота невынашивания беременности до 12 недель гестации в 3,4 раза выше при уровне копийности мтДНК равной или превышающей 21,17 у.е. Таким образом, полученные результаты показывают, что для снижения ранних репродуктивных потерь (до 12 недель гестации) уровень копийности мтДНК в клетках трофобласта может быть использован в качестве дополнительного критерия при отборе эуплоидного эмбриона на перенос.

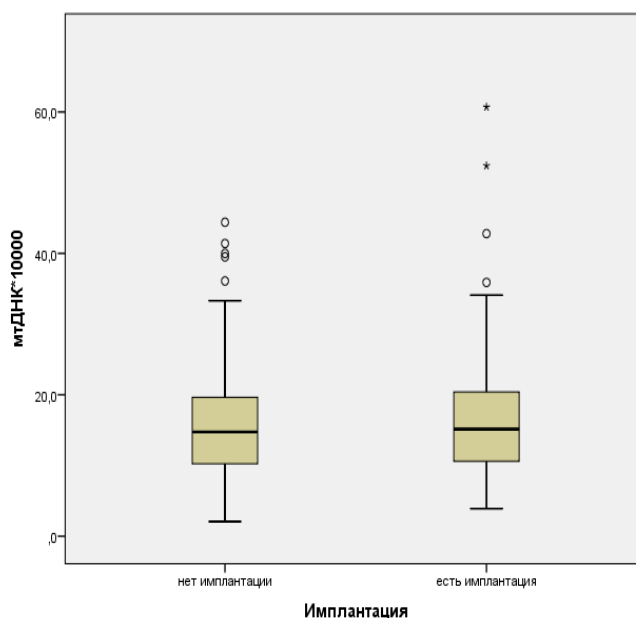


Рис. 11. Бокс-плотты кратности изменения уровня мтДНК в зависимости от наличия/отсутствия имплантации при переносе эуплоидного эмбриона в полость матки

На заключительном этапе работы выполнен клинико-экономический анализ пациентов, для которых при лечении бесплодия методами ВРТ проведение ПГТ-А является правильной стратегией. В рамках построения моделей было рассмотрено 10 возможных попарных сценариев. В таблице 14 представлены результаты расчета кумулятивной стоимости 1 добавленного живорождения при моделируемом сценарии относительно базового сценария за пятилетний цикл при моделировании на 1000 пар.

Таблица 14. Результаты расчета кумулятивной стоимости 1 добавленного живорождения при моделируемом сценарии относительно базового сценария за 5-летний цикл при моделировании на 1000 пар

	Модель программы ВРТ с ПГТ-А	Стоимость 1 добавленного живорождения (ICER), руб.	Количество добавленных живорождений за 5 лет
1	Женщины 22-30 лет	3 786,21	105,89
2	Женщины 31-36 лет	5 917,04	73,56
3	Женщины 37-42 лет	-3 544,51	285,28
4	Женщины до 35 лет с НГЭ	2 574,72	115,58
5	Женщины до 35 лет с СПКЯ	6 130,92	80,72
6	Женщины до 35 лет с НБ	-77,88	180,35
7	Мужчины с ОАТ	5 722,15	87,82
8	Мужчины с биопсией яичка	5 772,03	79,35
9	Мужчины с тератозооспермией	25 486,76	51,76
10	Мужчины с нормозооспермией	1 844,80	130,94

В качестве наиболее затратоэффективных сценариев по результатам моделирования выделяется применение ПГТ-А в группе женщин в возрасте 37–42 лет и в группе женщин до 35 лет с НБ. Важно, что наряду со значимой клинической эффективностью эти сценарии являются ресурсосберегающими с точки зрения возможности оплачивать лечение и сохраняют средства государственного обязательного медицинского страхования. Экономические расчеты показали, что у женщин позднего репродуктивного возраста в расчете на 5-летний период ВРТ с ПГТ-А приведет к живорождению 582 детей, ВРТ без ПГТ-А — 297 детей (в 1,95 раза меньше), при этом стоимость 1 добавленного живорождения снижается. Остальные сценарии также характеризуются выраженной клинической эффективностью за исключением мужчин с тератозооспермией, где при минимальном количестве добавленных живорождений стоимость одного добавленного живорождения максимальна.

Таким образом, полученные за многолетний период клинические данные позволили провести комплексный анализ и определить роль и место ПГТ эмбрионов при лечении бесплодия методами ВРТ у различных категорий больных с учетом научных, медицинских, этических и экономических аспектов. Все рассмотренные и проанализированные клинические ситуации дают возможность оптимизировать и индивидуализировать лечение методами ВРТ с ПГТ, снижая клинические, экономические и психологические затраты пациентов и государства, а

также разработать концепцию профилактики рождения детей с генетическими нарушениями.

Разработанный алгоритм ведения пациентов с бесплодием представлен в приложении. Он отражает персонифицированное применение ВРТ и новейших молекулярно-генетических методов, что позволяет повысить эффективность и безопасность лечения бесплодия, а также увеличивает число рождений живых здоровых детей.

ВЫВОДЫ

1. При лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий потребность в проведении преимплантационного генетического тестирования составляет 8%.

2. Выявленная устойчивая тенденция к увеличению среднего возраста пациенток при проведении вспомогательных репродуктивных технологий (с $33,7 \pm 2,1$ до $36,1 \pm 1,5$ года) диктует необходимость проведения прекоцепционной профилактики рождения детей с генетическими нарушениями у женщин позднего репродуктивного возраста. Согласно проведенному клинико-экономическому анализу применение ПГТ-А снижает кумулятивные затраты на 1 живорождение у женщин 37–42 лет на 29,0% по сравнению с ВРТ без генетического тестирования эмбрионов. В расчете на 5-летний использование ПГТ-А увеличивает число живорождений (нарастающим итогом) в 1,95 раза.

3. У женщин до 35 лет с невынашиванием беременности, синдромом поликистозных яичников и наружным генитальным эндометриозом I и II стадий распространения проведение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии не является клинически целесообразной и экономически выгодной стратегией, так как частота наступления беременности и живорождения статистически значимо не отличается от таковой при вспомогательных репродуктивных технологиях без преимплантационного генетического тестирования. Так, кумулятивные затраты на 1 живорождение при синдроме поликистозных яичников увеличиваются на 26,5%, при наружном генитальном эндометриозе — на 16,8%, а в случае невынашивания беременности не изменяются.

4. Частота получения эуплоидных эмбрионов у мужчин моложе 40 лет составляет 50,9%, 40–48 лет — 47,2%. На результативность лечения бесплодия влияет не возраст мужчин (32–48 лет), а тяжесть нарушений сперматогенеза. Клинико-экономический анализ указывает на целесообразность выполнения преимплантационного генетического тестирования эмбрионов у пар при оплодотворении сперматозоидами, полученными из биоптата яичка (встречаемость генетически аномальных эмбрионов при данной патологии сперматогенеза увеличивается в 1,75 раза по сравнению с нормозооспермией).

5. Частота наступления беременности и живорождений у пар с нарушениями кариотипа при использовании аутологичных половых клеток в программах вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием эмбрионов на структурные перестройки и анеуплоидии составила 40,9% и 36,3% соответственно в расчете на перенос.

6. Уровень истинного мозаицизма при использовании высокопроизводительного секвенирования следующего поколения у пациентов в программах ВРТ с ПГТ составляет 5,3%. В случае отсутствия генетически нормальных бластоцист по результатам преимплантационного генетического тестирования перенос эмбрионов с мозаицизмом возможен с учетом оценки индивидуальных рисков рождения детей с генетическими нарушениями, типа хромосом, вовлеченных в мозаицизм, и при обязательном проведении пренатальной диагностики на этапе вынашивания беременности.

7. Преимплантационное генетическое тестирование на моногенные заболевания и анеуплоидии у фертильных пар с носительством моногенных заболеваний является эффективным по числу рожденных здоровых детей (родилось 8 здоровых детей у пациентов-носителей 16 различных моногенных заболеваний).

8. У женщин позднего репродуктивного возраста (37–43 года) использование культуральных сред с гиалуроновой кислотой статистически значимо снижает частоту ранних репродуктивных потерь в сроке до 12 недель гестации — в 1,73 раза. В общей когорте пациенток использование на эмбриологическом этапе культуральных сред, содержащих гиалуроновую кислоту, при переносе эуплоидного эмбриона не повышает частоту имплантации.

9. Оценка уровня копийности мтДНК в программах вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием является маркером выбора эуплоидного эмбриона с максимальным имплантационным потенциалом для переноса в полость матки. Частота невынашивания беременности до 12 недель гестации в 3,4 раза выше при уровне копийности мтДНК эмбриона $\geq 21,17$ у.е.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Преконцепционная подготовка пары к вспомогательным репродуктивным технологиям должна включать сбор клинико-анамнестических данных, при необходимости консультацию медицинского генетика и выявление групп пациентов для проведения преимплантационного генетического тестирования эмбрионов в целях максимального снижения риска рождения детей с генетическими нарушениями.
2. При тяжелых формах нарушений сперматогенеза (олигозооспермия) и при использовании для оплодотворения сперматозоидов, выделенных из ткани яичка, в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий применение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии клинически целесообразно и экономически выгодно. Данной группе пациентов следует проводить медико-генетическое консультирование для оценки риска рождения детей с хромосомными нарушениями и информированности по поводу высокой частоты получения анеуплоидных эмбрионов.
3. Перенос эмбрионов с мозаицизмом в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием эмбрионов возможен при консультировании пары акушером-гинекологом, клиническим генетиком, с тщательной оценкой индивидуальных рисков рождения больного ребенка, типа и уровня хромосомного мозаицизма, подписании информированного добровольного согласия и при обязательном последующем проведении пренатальной диагностики.
4. Фертильным парам с носительством моногенных заболеваний и аномалиями кариотипа рекомендовано проведение вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием эмбрионов. Данную информацию следует широко освещать в медико-генетических центрах и женских консультациях с проведением преконцепционного консультирования пациентов до лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.
5. Женщинам старше 37 лет для снижения рисков невынашивания беременности на ранних сроках рекомендовано применение на эмбриологическом этапе культуральных сред с гиалуроновой кислотой.
6. Определение уровня копийности мтДНК служит дополнительным информативным маркером выбора эуплоидного эмбриона для переноса, что позволяет снизить частоту неразвивающихся

беременностей и самопроизвольных выкидышей при уровне копийности $<21,17$ у.е. Целесообразно включить параметр копийности мтДНК в результаты преимплантационного генетического тестирования для оптимизации выбора эмбриона в случае наличия нескольких эуплоидных бластоцист для повышения эффективности лечения бесплодия методами ВРТ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Efficiency of pre-implantation genetic screening, using with array comparative genomic hybridization, in women of advanced reproductive age / **E. Kulakova**, A. Ekimov, N. Makarova, [and etc.] // Materials XXI FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics. – 4-9.10.2015.
2. Comparison of the results of preimplantation genetic screening obtained by a-CGH and NGS methods from the same embryos / N. Aleksandrova, E. Shubina, A. Ekimov, E. Kulakova [and etc.] // Gynecological Endocrinology. – 2016. – №S2. – с. 1–4.
3. **Сравнение результатов преимплантационного генетического скрининга, проведенного методами CGH и NGS / Н.В. Александрова, Е.С. Шубина, А.Н. Екимов, Е.В. Кулакова [и др.] // Молекулярная биология. – 2017. – Том 51, №2. – с. 308-313.**
4. **Клинико-экономический анализ эффективности преимплантационного генетического тестирования у пациенток позднего репродуктивного возраста / Н.В. Долгушина, О.Е. Коротченко, Е.П. Бейк, Е.В. Кулакова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – №11. – с. 56–61.**
5. **Роль преимплантационного генетического скрининга в эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с привычным невынашиванием беременности (обзор литературы) / О.Е. Коротченко, Н.В. Долгушина, А.Г. Сыркашева, Е.В. Кулакова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2017. – №2. – с. 50–55.**
6. **Вспомогательные репродуктивные технологии супружеских пар с высоким риском генетических нарушений. Преимплантационный генетический скрининг / Е.В. Кулакова, Е.А. Калинина, Д.Ю. Трофимов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2017. – №8. – с. 21–27.**
7. **Влияние избыточной массы тела и ожирения на развитие анеуплоидии эмбрионов и исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий / Н.В. Долгушина, Н.В. Десяткова, О. Е. Коротченко, Е.В. Кулакова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2017. – Том 23, №1. – с. 48-53.**

8. Эффективность ЭКО с применением преимплантационного генетического скрининга а-CGH у пациенток с привычным невынашиванием беременности в анамнезе / О.Е. Коротченко, **Е.В. Кулакова**, А.Г. Сыркашева [и др.] // XXVIII международная конференция РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». Тезисы. – Уфа, 5-8 сентября 2018. – с. 67.
9. Эффективность преимплантационного генетического скрининга у пациенток с привычным невынашиванием беременности и бесплодием / О.Е. Коротченко, А.Г. Сыркашева, Н.В. Долгушина, **Е.В. Кулакова** [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2018. – №3. – с. 64–69.
10. Preimplantation genetic screening in patients with recurrent pregnancy loss / O. Korotchenko, E. Beik, A. Syrkasheva, **E. Kulakova** [and etc.] // *EBCOG*. – 2018.
11. Качество эякулята и результаты ПГТ-А у пациентов с хромосомными полиморфизмами и структурными хромосомными мутациями / А.Г. Бурдули, О.К. Ступко, А.Н. Екимов, **Е.В. Кулакова** [и др.] // *Материалы XXV юбилейного всероссийского конгресса с международным участием и специализированной выставочной экспозицией «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы»*. – 2019. – Москва. – с. 29–30.
12. Pre-implantation embryo testing using next generation sequencing in couples with karyotype translocation / J. Glinkina, **E. Kulakova**, E. Chistyakova // *SARG Summit*. – May 24-26 2020. – virtually congress, Israel.
13. Преимплантационное тестирование эмбрионов методом высокопроизводительного секвенирования у супружеских пар с транслокациями в кариотипе. / Ж.И. Глинкина, **Е.В. Кулакова**, Н.В. Дмитриева [и др.] // *Доктор.Ру*. – 2020. – Том 19, №1. – с. 25–29.
14. Рождение двух здоровых детей у супружеской пары с гетерозиготным носительством мутации F508DEL в гене CFTR в программе вспомогательных репродуктивных технологий / **Е.В. Кулакова**, А.А. Довгань, Ю.С. Драпкина [и др.] // *Профилактическая медицина*. – 2021. – Том 24, №6. – с. 89–92.
15. Использование митохондриальной ДНК эмбрионов в качестве предиктора эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий / О.С. Непша, **Е.В. Кулакова**, А.Н. Екимов [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2021. – №11. – с. 125–134.
16. Лечение бесплодия методами экстракорпорального оплодотворения и преимплантационного генетического тестирования у женщины с

- кариотипом 46,XX,ins(13;4)(q34;p14p15.3),inv(4)(p14q12).
Клинический случай / Ж.И. Глинкина, Е.В. Кулакова, Е.Г. Лебедева [и др.] // Гинекология. – 2021. – Том 23, №5. – с. 441–444.
17. Оптимизация эмбриологического этапа в программах лечения бесплодия методами ВРТ с применением культуральных сред с гиалуроновой кислотой у супружеских пар с ПГТ-А / Ю.С. Драпкина, Е.В. Кулакова, О.С. Непша [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – №11. – с.154–164.
18. Особенности мозаицизма у эмбрионов человека в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий / Н.П. Макарова, А.Н. Екимов, Е.В. Кулакова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – №7. – с. 166–174.
19. Влияние преимплантационного генетического тестирования на результаты программ вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с мужским фактором бесплодия / Н.П. Макарова, Н.Н. Лобанова, Е.В. Кулакова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 11. – с. 154–164.
20. Преимплантационное генетическое тестирование эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с наружным генитальным эндометриозом / Е.В. Кулакова, О.С. Непша, А.Н. Екимов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 11. – с. 104–112.
21. Рождение здорового ребенка после переноса мозаичного эмбриона в программе экстракорпорального оплодотворения (клинические и этические аспекты) / Е.В. Кулакова, Ю.С. Драпкина, К.У. Алиева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – №7. – с. 210-214.
22. Роль метода высокопроизводительного секвенирования при преимплантационном генетическом тестировании в выявлении генетических изменений у пациентов программы ЭКО / Ж.И. Глинкина, Е.В. Кулакова, И.И. Витязева [и др.] // Доктор.Ру. – 2021. – Том 20, № 1. – с. 21–27.
23. Клинико-экономический анализ эффективности преимплантационного генетического тестирования у пациентов с различными формами бесплодия в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Е.В. Кулакова, И.А. Михайлов, Н.П. Макарова [и др.] // Гинекология. – 2022. – Т. 24. – №3. – с. 181–185.
24. Значение преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии в программах вспомогательных репродуктивных технологий / Е.В. Кулакова, Ю.С. Драпкина, Н.П. Макарова [и др.] // Профилактическая медицина. – 2022. – Том 25, №2. – с. 7–12.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Алгоритм персонифицированного ведения пар в программах вспомогательных репродуктивных технологий с преимплантационным генетическим тестированием эмбрионов

