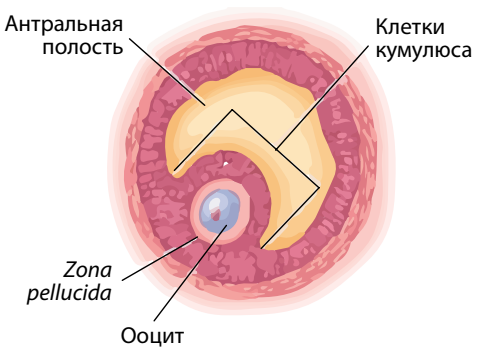
ВРТ: новые технологии и вдохновляющие результаты

Ведущая причина неэффективности лечения бесплодия в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) – нарушения имплантации эмбриона.

Известно, что имплантация эмбриона контролируется сигнальными цитокинами, факторами роста и молекулами адгезии. В синтез этих соединений вовлечены клетки эндометрия, трофобласта и эмбриобласта эмбриона, а также окружающие ооцит клетки кумулюса, формирующие непосредственное окружение ооцита и постоянно реагирующие на изменения в интрафолликулярной среде.

Результаты проведенных исследований показали, что сокультивирование эмбриона с аутологичными клетками кумулюса может быть особенно эффективно у пациенток с множественными неудачными попытками ВРТ в анамнезе. Перенос эмбриона в таких программах ВРТ рекомендовано осуществлять с помощью технологии CAT (Cumulus-Aided embryo Transfer), включающей в себя культивирование эмбриона на слое кумулюсных клеток и проведение переноса эмбриона с некоторым количеством разреженных клеток кумулюса.

Основная функция клеток кумулюса – регуляция транспорта энергетических субстратов в ооцит за счет оптимизации соотношения лактата/пирувата и регуляции концентрации уровня глюкозы и глутамина. Нарушения молекулярно-биологического профиля в клетках кумулюса могут выступать одной из причин субоптимального ответа яичников на стимуляцию в программах ВРТ.



Несмотря на то что факторы, регулирующие имплантацию бластоцисты, до конца не изучены, результаты исследований дают основание предполагать, что сокультивирование аутологичных клеток кумулюса с эмбрионами человека не только позволяет увеличить частоту наступления беременности и рождения здоровых детей, но и улучшает системы культивирования эмбрионов человека *in vitro*.

Представляем вниманию коллег и читателей газеты клинический случай аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса и новой технологии переноса CAT у пациентки с несколькими неудачными попытками ВРТ в анамнезе.

Описание клинического наблюдения

Пациентка Г., 38 лет, обратилась в отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России с жалобами на отсутствие наступления беременности в течение 15 лет регулярной половой жизни без контрацепции.

Из анамнеза: менструации с 15 лет, цикл регулярный, по 5 дней через 28 дней, без особенностей. Половая жизнь – с 15 лет, брак один. Супруг Г., 38 лет, соматически здоров, по данным спермограммы диагностирована тератозооспермия.

В анамнезе – две самопроизвольные беременности, прерванные на малом сроке по социальным показаниям, без осложнений. В 2003 г. пациентке проведены лапароскопия, коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза, по данным хромосальпингоскопии – левая маточная труба непроходима, выполнена гистероскопия с раздельным диагностическим выскабливанием.

По данным гистологического исследования обнаружена простая гиперплазия эндометрия, назначен курс агониста (ГнРГ) в течение 6 мес. В 2007 г. были проведены повторная лапароскопия, сальпингооариолизис, сальпингостомия с обеих сторон, коагуляция очагов наружного генитального эндометриоза, выполнены гистероскопия и раздельное диагностическое выскабливание, удален железисто-фиброзный полип эндометрия. В 2010 г. по данным гистеросальпингографии диагностирован двусторонний гидросальпинкс, проведены двусторонняя тубэктомия, а также удаление серозной цистаденомы правого яичника, послеоперационный период протекал без особенностей.

В 2011 г. пациентке по месту жительства была проведена первая программа ВРТ по протоколу с антагонистом ГнРГ (антГнРГ). Стимуляция функции яичников выполнялась препаратами рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (р-ФСГ), начиная с 3-го дня менструального цикла. На 14-й день менструального цикла выполнена трансвагинальная пункция яичников (ТВП), получено 5 ооцитов, оплодотворение проведено методом ИКСИ. На 5-е сутки после оплодотворения выполнен перенос одного эмбриона в полость матки, без эффекта.

В 2013 и 2015 гг. проведены повторные программы ВРТ по месту жительства по протоколу с антГнРГ, стимуляция функции яичников осуществлялась человеческим менопаузальным гормоном в суммарной дозе 1150 и 1350 МЕ соответственно. При проведении ТВП аспирировано 8 и 6 ооцитов, в обеих программах ВРТ оплодотворение полученных ооцитов выполнено методом ИКСИ, перенос одного эмбриона в полость матки проведен на 5-е сутки культивирования, беременность не наступила ни в одной программе ВРТ.

Учитывая наличие трех неэффективных программ ВРТ, у пациентки старшего репродуктивного возраста после подписания информированного добровольного согласия было решено провести лечение бесплодия методом ВРТ с использованием аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса и новой технологии переноса CAT по протоколу с антГнРГ.

У пациентки по данным ультразвукового исследования органов малого таза и гормонального обследования имелся сохраненный овариальный резерв (антимюллеров гормон – 1,15 нг/мл, ФСГ – 6,9 нг/мл, число антральных фолликулов в обоих яичниках – 8–9). Стимуляция функции яичников проводилась с 4-го дня менструального цикла с помощью препарата человеческого менопаузального гормона и р-ФСГ в суммарной дозе 1650 МЕ. За 36 ч до ТВП назначен хорионический гонадотропин в дозе 8000 ЕД для финального созревания ооцитов.

На 13-й день менструального цикла проведена ТВП, аспирировано 4 ооцита. Эмбриологический этап проводили на одноступенчатых культуральных средах CSCM (США).

Подготовка клеток кумулюса к сокультивированию проходила согласно методике, описанной в литературе, с модификациями, разработанными в ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России.

После проведения оплодотворения методом ИКСИ ооциты были перенесены в культуральную среду CSCM. Спустя 14–16 ч в условиях эмбриологической лаборатории производилась оценка оплодотворения, которое считалось случившимся при появлении двух пронуклеусов и двух полярных телец. После 24 ч культивирования в среде клетки кумулюса превратились в фибробластоподобные клетки. Все этапы культивирования проводили в мультигазовых инкубаторах COOK (Австралия) в индивидуальных каплях по 25 мкл. В каждую каплю были добавлены клетки

кумулюса, расчет их количества не проводился. Кумулюсные клетки занимали не более 1/4 капли. На 5-е сутки культивирования 2 эмбриона достигли стадии бластоцисты и соответствовали качеству 3AA и 3BB согласно классификации Gardner и соавт. Эмбрион отличного качества (3AA) был перенесен на 5-е сутки после оплодотворения с использованием новой технологии переноса CAT с небольшим количеством разреженных клеток кумулюса. Эмбрион среднего качества (3BB) был криоконсервирован на 5-е сутки культивирования. Поддержка посттрансферного периода осуществлялась с помощью микронизированного прогестерона в дозе 300 мг в сутки.

В результате проведенной программы ВРТ в стимулированном цикле наступила беременность. На 14-й день после переноса эмбриона уровень β-субъединицы хорионического гонадотропина человека составил 978 мМЕ/мл. В I триместре пациентка была госпитализирована на сроке 12–13 нед с угрозой прерывания беременности, проводилась спазмолитическая, гемостатическая и гормональная терапия. Во II триместре на сроке 19–20 нед проведена хирургическая коррекция истмико-цервикальной недостаточности путем наложения двух циркулярных швов на шейку матки.

III триместр беременности протекал без особенностей, на сроке 38–39 нед пациентка была родоразрешена путем операции кесарева сечения в связи с оболочечным прикреплением пуповины в области нижнего края плаценты и ухудшением состояния плода по данным допплерометрии. Родилась живая доношенная девочка, с оценкой по шкале Апгар 8/9 баллов, массой тела 3070 кг, ростом 51 см; кровопотеря в родах составила 700 мл.

Ребенок соматически здоров, развивается соответственно возрасту.

Заключение

Результаты многих исследований показали, что сокультивирование эмбриона с аутологичными клетками кумулюса повышает результативность программ ВРТ за счет положительного влияния кумулюсных клеток на процессы раннего эмбриогенеза и имплантацию эмбриона. Методика исключает использование гетерогенных клеток, не подразумевает избыточные финансово-экономические затраты, не занимает у эмбриолога много времени.

Представленный клинический случай подтверждает актуальность использования аутологичного сокультивирования эмбрионов с клетками кумулюса в программах ВРТ у пациенток с несколькими неудачными попытками в анамнезе. Эта методика не только позволяет повысить способность оплодотворенных ооцитов к дальнейшему развитию в условиях *in vitro*, но и может стать достойной альтернативой для оптимизации системы культивирования эмбрионов человека в программах ВРТ.

По материалам статьи «Рождение здорового ребенка в программе вспомогательных репродуктивных технологий после аутологичного сокультивирования эмбриона с клетками кумулюса и новой технологии переноса CAT. Клинический случай», опубликованной в журнале «Гинекология». Полная версия – на сайте цифрового издательства OmniDoctor

OMNIDOCTOR.RU