

Рождение здорового ребенка у супружеской пары с множественными неудачными попытками ВРТ в анамнезе путем селекции сперматозоидов на ооцит-кумулюсных комплексах

А.В. Чистякова, А.А. Бабаян, А.А. Довгань✉, Н.П. Макарова, Н.Н. Лобанова, В.Ю. Смольникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

При мужском бесплодии пары вынуждены прибегнуть к вспомогательным репродуктивным технологиям с методикой интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ). Существенным недостатком ИКСИ является обход барьеров естественного отбора, поскольку селективные процессы в женском репродуктивном тракте заменяются выбором эмбриолога, основанным на подвижности и морфологических критериях сперматозоидов. В настоящее время активно изучаются различные методики селекции, которые позволяют приблизить оплодотворение методом ИКСИ к физиологическому, обеспечив отбор сперматозоидов с высоким качеством ДНК и хорошим потенциалом к фертилизации. В статье описан клинический случай рождения здорового ребенка у супружеской пары с выраженным мужским бесплодием и множеством неэффективных попыток вспомогательных репродуктивных технологий с помощью методики селекции сперматозоидов на ооцит-кумулюсных комплексах. Ребенок физически здоров и развивается соответственно возрасту.

Ключевые слова: интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов в ооцит, селекция сперматозоидов, ооцит-кумулюсный комплекс, вспомогательные репродуктивные технологии

Для цитирования: Чистякова А.В., Бабаян А.А., Довгань А.А., Макарова Н.П., Лобанова Н.Н., Смольникова В.Ю. Рождение здорового ребенка у супружеской пары с множественными неудачными попытками ВРТ в анамнезе путем селекции сперматозоидов на ооцит-кумулюсных комплексах. Гинекология. 2023;25(3):364–367. DOI: 10.26442/20795696.2023.3.202115

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2023 г.

CASE REPORT

The birth of a healthy child in a married couple with a history of multiple unsuccessful attempts at ART by selecting sperm on oocyte-cumulus complexes. Case report

Alina V. Chistyakova, Alina A. Babayan, Alina A. Dovgan✉, Natalia P. Makarova, Natalia N. Lobanova, Veronika Yu. Smolnikova

Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Abstract

In male infertility, couples must use assisted reproductive technologies with the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) technique. A significant disadvantage of ICSI is bypassing natural selection barriers since selective processes in the female reproductive tract are replaced by the choice of an embryologist based on sperm motility and morphological criteria. Various selection methods are being actively studied, bringing fertilization by ICSI closer to physiological, ensuring the selection of sperm with high DNA quality and good potential for fertilization. The article presents a clinical case of the birth of a healthy child in a married couple with severe male infertility and many ineffective attempts at assisted reproductive technologies using the method of sperm selection on oocyte-cumulus complexes. The child is physically healthy and develops according to age.

Keywords: intracytoplasmic sperm injection into the oocyte, sperm selection, oocyte-cumulus complex, assisted reproductive technologies

For citation: Dovgan AA, Chistyakova AV, Babayan AA, Makarova NP, Lobanova NN, Smolnikova VYu. The birth of a healthy child in a married couple with a history of multiple unsuccessful attempts at ART by selecting sperm on oocyte-cumulus complexes. Case report. Gynecology. 2023;25(3):364–367. DOI: 10.26442/20795696.2023.3.202115

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Довгань Алина Анатольевна** – врач – акушер-гинеколог, науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: lina.dovgan@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4927-3590

Чистякова Алина Викторовна – аспирант отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: alinadubinina_07@mail.ru

Бабаян Алина Анатольевна – канд. мед. наук, врач – акушер-гинеколог, науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: a_babayan@oparina4.ru; ORCID: 0000-0003-0963-6382

✉ **Alina A. Dovgan** – Obstetrician-Gynecologist, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: lina.dovgan@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4927-3590

Alina V. Chistyakova – Graduate Student, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: alinadubinina_07@mail.ru

Alina A. Babayan – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: a_babayan@oparina4.ru; ORCID: 0000-0003-0963-6382

Введение

При оплодотворении в естественных условиях из миллионов сперматозоидов, оказавшихся во влагалище в результате полового акта, до ооцита доходят тысячи, и только один сперматозоид получает возможность оплодотворения и зарождения новой жизни [1]. Высокоэффективные методы селекции сперматозоидов в женском репродуктивном тракте, включающие рН влагалища, вязкость цервикальной слизи, клетки иммунной системы полости матки и сложные молекулярные механизмы хемо-, термо- и реотаксиса, обеспечивают отбор наилучших сперматозоидов, способных дать здоровое потомство.

При мужском бесплодии для достижения беременности пары вынуждены прибегнуть к лечению методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с обязательным использованием интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) в качестве основной методики оплодотворения ооцитов [2]. В отличие от классического экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), при котором к ооциту в чашку Петри добавляют сперматозоиды и оплодотворение происходит без участия эмбриолога, в случае ИКСИ каждый отдельный сперматозоид эмбриолог вводит в ооцит механически, используя микроиглу.

Существенным недостатком ИКСИ является обход барьеров естественного отбора сперматозоидов, поскольку сложные и многоступенчатые процессы селекции в женском репродуктивном тракте заменяются выбором эмбриолога, основанным преимущественно на подвижности и морфологических критериях сперматозоидов, которых оценивают в день трансвагинальной пункции (ТВП) с помощью световой микроскопии [3]. В настоящее время с целью повышения частоты наступления беременности и частоты живорождения в программах ВРТ ученые активно изучают методики селекции сперматозоидов, которые позволяют максимально приблизить оплодотворение методом ИКСИ к оплодотворению, происходящему в физиологических условиях женского репродуктивного тракта.

Основной целью всех методов селекции является отбор морфологически нормальных подвижных сперматозоидов с высоким качеством ДНК и хорошим потенциалом к фертилизации. Среди методов селекции выделяют центрифугирование в градиенте плотности, в результате которого подвижные и морфологически нормальные сперматозоиды отделяются от измененных сперматозоидов, продуктов деградации и лейкоцитов [4]; физиологическая ИКСИ, основанная на способности сперматозоидов связываться с гиалуроновой кислотой [5]; ИКСИ после селекции по морфологическим критериям, основанная на оценке морфологических структур сперматозоида, таких как шейка и хвост, акросома и постакросомная пластинка, митохондрии и ядро под сверхвысоким увеличением микроскопа [6]; селекция сперматозоидов на основании их способности двигаться по химическому градиенту (хемотаксис) [7], термическому градиенту (термотаксис) [8] или их ответу на направление

потока жидкости (реотаксис) [9]; селекция сперматозоидов с помощью ооцит-кумуляного комплекса (ОКК) [10] и др. И если одни методы селекции в настоящее время активно используются в рутинной практике эмбриологических лабораторий отделений ВРТ, другие находятся на стадии изучения и апробации.

ОКК, высвобождаемый из фолликула в процессе овуляции, представляет собой сложную структуру из ооцита, кумулюсных клеток и их внеклеточного матрикса. Наибольшую часть внеклеточного матрикса занимает гиалуроновая кислота [11], рецепторы которой обнаружены на поверхности головки зрелых сперматозоидов [12]. Клетки кумулюса секретируют хемоаттрактанты, в том числе прогестерон, обеспечивающие передвижение сперматозоидов по фаллопиевым путям к ооциту [13]. Во время естественного оплодотворения только сперматозоиды, проникающие через кумулюсные клетки ОКК, получают шанс проникнуть в зону пеллюцида и оплодотворить яйцеклетку. Прохождение через кумулюсные клетки индуцирует в сперматозоидах акросомальную реакцию [14]. Если в процессе овуляции яйцеклетка полностью лишена клеток кумулюса, она остается неоплодотворенной.

Согласно результатам ряда исследований прошедшие через кумулюсные клетки сперматозоиды отличаются лучшими морфологическими характеристиками, более высокой способностью связываться с блестящей оболочкой ооцита, более высокой целостностью хроматина [15] и менее выраженной фрагментацией ДНК [16]. Селекция сперматозоидов на ОКК достоверно увеличивает частоту оплодотворения и количество полученных blastocyst в программах ВРТ, имея тенденцию к повышению частоты имплантации [10]. Таким образом, сперматозоиды, выделенные с помощью данной методики, могут иметь более высокий потенциал к оплодотворению ооцита и формированию эмбриона.

В настоящей работе представлен клинический случай рождения здорового ребенка у супружеской пары с множественными неудачными попытками ВРТ в анамнезе в программе ЭКО/ИКСИ с применением селекции сперматозоидов на ОКК. Данная работа одобрена внутренним этическим комитетом НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова, материалы публикуются с согласия супружеской пары.

Клинический случай

Пациентка Ж., 38 лет, в 2021 г. впервые обратилась за консультацией в отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова Института репродуктивной медицины НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова с жалобами на отсутствие наступления самостоятельной беременности в течение 5 лет регулярной половой жизни без предохранения. Из анамнеза известно: менструации начались в 11 лет, менструальный цикл регулярный, по 5 дней, через 28 дней, особенностей не отмечает. Половую жизнь ведет с 18 лет, брак первый. Индекс массы тела составляет

Макарова Наталья Петровна – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: np_makarova@oparina4.ru

Лобанова Наталья Николаевна – мл. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: n_lobanova@oparina4.ru

Смольникова Вероника Юрьевна – д-р мед. наук, врач – акушер-гинеколог, вед. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: v_smolnikova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0003-4866-8002

Natalia P. Makarova – D. Sci. (Biol.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: np_makarova@oparina4.ru

Natalia N. Lobanova – Res. Assist., Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: n_lobanova@oparina4.ru

Veronika Yu. Smolnikova – D. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: v_smolnikova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0003-4866-8002

26 кг/м² (при росте 165 см и массе тела 70 кг). Соматический анамнез не отягощен.

По результатам гистеросальпингографии от 2015 г. – маточная труба слева не проходима. Из гинекологических заболеваний отмечается наличие наружного генитального эндометриоза I стадии распространения, в 2017 г. проведена лапароскопия, коагуляция очагов эндометриоза, резекция правого яичника по поводу кисты желтого тела. В анамнезе – одна самопроизвольная беременность в 2016 г., осложнившаяся апоплексией правого яичника на сроке 8–9 нед беременности, проведена лапароскопия, коагуляция правого яичника. На сроке 15 нед произошел самопроизвольный выкидыш. В 2018 г. по результатам ультразвукового исследования органов малого таза диагностирован полип эндометрия, проведена гистероскопия, раздельное диагностическое выскабливание. Согласно результатам гормонального обследования уровень антимюллерова гормона – 1,2 нг/мл, фолликулостимулирующего гормона – 4,4 МЕ/л. Супругу 35 лет, соматически здоров, детей нет, по результатам спермограммы – олиготератозооспермия (жизнеспособные сперматозоиды – 9 млн/мл, прогрессивно-подвижные сперматозоиды – 39%, морфологически нормальные формы – 2%).

В анамнезе у супружеской пары 3 неэффективных программы ВРТ с переносами эмбрионов в полость матки на стадии морулы на 5-е сутки культивирования (бластоцисты не получены ни в одной предыдущей программе ВРТ), в результате которых беременность не наступила. Патологии со стороны эндометрия не отмечалось. В последней программе ЭКО/ИКСИ наблюдалось аномальное оплодотворение ооцитов.

В условиях отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова проведено полное обследование супружеской пары согласно действующим нормативно-правовым актам. Учитывая длительный анамнез бесплодия, множественные неудачные попытки ВРТ и выраженное мужское бесплодие, паре рекомендовано лечение в программе ЭКО/ИКСИ, с селекцией сперматозоидов на ОКК. С 3-го дня менструального цикла проводили стимуляцию яичников по стандартному протоколу препаратом менопаузальных гонадотропинов в суммарной дозировке 1050 МЕ, длительность стимуляции составила 6 дней. Для профилактики преждевременного пика лютеинизирующего гормона при достижении фолликулами диаметра 14 мм назначали препарат антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона. При достижении фолликулами диаметра 18 мм с целью финального дозревания ооцитов в качестве триггера назначен препарат хорионического гонадотропина человека в дозировке 10 тыс. МЕ.

При ТВП фолликулов, проведенной под ультразвуковым контролем спустя 36 ч от момента введения триггера, аспирировано 3 ОКК. Получено 3 зрелых ооцита. Эмбриологический этап проводили на одноступенчатых культуральных средах. Условия культивирования: мультигазовая смесь с пониженным содержанием кислорода (5,5% CO₂, 5% O₂, остаточный N₂). Оплодотворение осуществляли методом ИКСИ с селекцией сперматозоидов на кумулюсных клетках. Образцы кумулюсных клеток получали путем механического отделения от ОКК пациентки с использованием стерильных инсулиновых шприцов сразу после ТВП фолликулов.

В чашку для ИКСИ с повышенной теплопроводностью наносили 3 капли культуральной среды, которые соединялись между собой тонкими перемычками из культуральной среды. В 1-ю каплю помещались сперматозоиды пациента, в среднюю – аутологичные клетки кумулюса пациентки. За счет хемоаттрактантных свойств ОКК сперматозоиды двигались из 1-й капли во 2-ю, проходили через клетки ку-

мулюса и накапливались в 3-й капле, откуда их брали для оплодотворения методом ИКСИ.

На 1-е сутки после оплодотворения получено 3 зиготы 2PN2PB. На 5-е сутки культивирования после оценки морфологических характеристик эмбрионов согласно классификации Гарднера [17] и рекомендациям Российской ассоциации репродукции человека в полость матки произведен перенос 1-го эмбриона на стадии бластоцисты (3AB), 1 эмбрион криоконсервирован (бластоциста 4AB) методом витрификации. На 14-е сутки после переноса эмбриона определяли уровень β-субъединицы хорионического гонадотропина человека в крови: 868 мМЕ/мл.

Через 21 сут после переноса эмбриона проводили ультразвуковое исследование, по результатам которого в полости матки визуализировалось 1 плодное яйцо. Беременность протекала без особенностей, по результатам пренатального скрининга I и II триместров отклонений не выявлено. Самопроизвольные своевременные роды произошли на 41-й неделе беременности. Родился живой доношенный мальчик массой 3438 г, длиной 53 см, с оценкой по шкале Апгар 8/9 баллов. В настоящее время ребенок здоров и развивается соответственно возрасту.

Заключение

Учитывая данные литературы и собственный опыт отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова, селекция сперматозоидов на ОКК может улучшить существующую технику ИКСИ, особенно в группе пациентов с выраженным мужским бесплодием. Преимуществом настоящей методики является приближенность к естественным процессам селекции сперматозоидов в женском репродуктивном тракте, а также снижение влияния субъективного мнения клинического эмбриолога, основанного преимущественно на оценке морфологических параметров и подвижности сперматозоидов. Селекция мужских половых клеток на ОКК является перспективной методикой, в результате которой оплодотворение с помощью ИКСИ станет более эффективным, что позволит повысить частоту наступления беременностей и частоту живорождений после лечения бесплодия методами ВРТ. Ограничением селекции сперматозоидов на ОКК является невозможность использовать методику в случаях 100% астенозооспермии и криптозооспермии.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Клиническое наблюдение подготовлено при финансовой поддержке государственно-го задания МЗ РФ №121040600410-7 «Решение проблемы

бесплодия в современных условиях путем разработки клинико-диагностической модели бесплодного брака и использования инновационных технологий в программах вспомогательной репродукции».

Funding source. The clinical case was presented with the financial support of the State Assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation №121040600410-7 "Solving the problem of infertility in current settings by developing a clinical diagnostic model of infertile marriage and using innovative technologies in assisted reproduction programs".

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Литература/References

- Williams M, Barratt CL, Hill CJ, et al. Recovery of artificially inseminated spermatozoa from the Fallopian tubes of a woman undergoing total abdominal hysterectomy. *Hum Reprod.* 1992;7(4):506-9. DOI:10.1093/oxfordjournals.humrep.a137680
- Palermo GD, Neri QV, Takeuchi T, Rosenwaks Z. ICSI: Where We Have Been and Where We Are Going. *Semin Reprod Med.* 2009;27(2):191-201. DOI:10.1055/s-0029-1202309
- Всемирная организация здравоохранения. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека: Пятое издание. М.: КАПИТАЛ ПРИНТ, 2012. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112544>. Ссылка активна на 29.01.2023 [Vsemirnaia organizatsiia zdravookhraneniia. Rukovodstvo VOZ po issledovaniiu i obrabotke eiakuliata cheloveka: Piatoe izdanie. Moscow: KAPITAL PRINT, 2012. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112544>. Accessed: 29.01.2023 (in Russian)].
- Malvezzi H, Sharma R, Agarwal A, et al. Sperm quality after density gradient centrifugation with three commercially available media: a controlled trial. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12:121. DOI:10.1186/1477-7827-12-121
- Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, et al. Physiologic ICSI: Hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertil Steril.* 2010;93(2):598-604. DOI:10.1016/j.fertnstert.2009.03.033
- Luna D, Hilario R, Dueñas-Chacón J, et al. The IMSI Procedure Improves Laboratory and Clinical Outcomes without Compromising the Aneuploidy Rate When Compared to the Classical ICSI Procedure. *Clin Med Insights Reprod Health.* 2015;9:29-37. DOI:10.4137/CMRH.S33032
- Li K, Li R, Ni Y, et al. Novel distance-progesterone-combined selection approach improves human sperm quality. *J Transl Med.* 2018;16(1):203. DOI:10.1186/s12967-018-1575-7
- Pérez-Cereales S, Laguna-Barraza R, de Castro AC, et al. Sperm selection by thermotaxis improves ICSI outcome in mice. *Sci Rep.* 2018;8(1):2902. DOI:10.1038/s41598-018-21335-8
- De Martin H, Cocuzza MS, Tiseo BC, et al. Positive rheotaxis extended drop: a one-step procedure to select and recover sperm with mature chromatin for intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet.* 2017;34(12):1699-708. DOI:10.1007/s10815-017-1024-1
- Wang C, Feng G, Shu J, et al. Cumulus oophorus complexes favor physiologic selection of spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2018;109(5):823-31.
- Zhuo L, Kimata K. Cumulus Oophorus Extracellular Matrix: Its Construction and Regulation. *Cell Struct Funct.* 2001;26(4):189-96. DOI:10.1016/j.fertnstert.2017.12.026
- Huszar G, Ozkavukcu S, Jakab A, et al. Hyaluronic acid binding ability of human sperm reflects cellular maturity and fertilizing potential: selection of sperm for intracytoplasmic sperm injection. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006;18(3):260-7. DOI:10.1097/01.gco.0000193018.98061.2f
- Sun F, Bahat A, Gakamsky A, et al. Human sperm chemotaxis: both the oocyte and its surrounding cumulus cells secrete sperm chemoattractants. *Hum Reprod.* 2005;20(3):761-7. DOI:10.1093/humrep/deh657
- Hong SJ, Chiu PC, Lee KF, et al. Cumulus cells and their extracellular matrix affect the quality of the spermatozoa penetrating the cumulus mass. *Fertil Steril.* 2009;92(3):971-8. DOI:10.1016/j.fertnstert.2008.07.1760
- Franken DR, Bastiaan HS. Can a cumulus cell complex be used to select spermatozoa for assisted reproduction? *Andrologia.* 2009;41(6):369-76. DOI:10.1111/j.1439-0272.2009.00938.x
- Naknam W, Salang L, Sothornwit J, et al. Effect of sperm selection method by cumulus oophorus complexes and conventional sperm preparation method on sperm quality and DNA fragmentation for assisted reproduction technology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;243:46-50. DOI:10.1016/j.ejogrb.2019.10.004
- Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1999;11(3):307-11. DOI:10.1097/00001703-199906000-00013

Статья поступила в редакцию / The article received: 02.02.2023

Статья принята к печати / The article approved for publication: 14.08.2023



OMNIDOCTOR.RU