

Успешный опыт проведения преимплантационного генетического тестирования за 24 ч без повторной криоконсервации эмбрионов (клинический случай)

© Т.А. КОДЫЛЕВА, А.А. АКСЕНЕНКО, д.м.н. Н.Г. МИШИЕВА, А.Н. ЕКИМОВ, Б.А. МАРТАЗАНОВА, М.А. ВЕЮКОВА, к.м.н. А.Н. АБУБАКИРОВ

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

РЕЗЮМЕ

Представлен клинический случай проведения в течение 24 ч преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии ранее криоконсервированных эмбрионов без повторной витрификации. Случай интересен новым подходом к планированию переноса ранее замороженных эмбрионов без генетического тестирования на анеуплоидии.

Ключевые слова: преимплантационное генетическое тестирование, анеуплоидии, криоконсервация эмбрионов, перенос эмбрионов.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кодылева Татьяна Александровна — эмбриолог 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва, ул. Академика Опарина, дом 4; тел.: +7 (925) 373-8314; e-mail: t.kodyleva@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1198-6587>

Аксененко Артем Анатольевич — врач акушер-гинеколог 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва, ул. Академика Опарина, дом 4; тел.: +7 (495) 531-4444; e-mail: a_axenko@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0003-12808691>

Мишиева Нона Годовна — д.м.н., ведущий научный сотрудник 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва, ул. Академика Опарина, дом 4; тел.: +7 (495) 438-26-22; e-mail: nondoc555@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5790-456X>

Екимов Алексей Николаевич — врач лабораторный генетик лаборатории молекулярно-генетических методов ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва, ул. Академика Опарина, дом 4; тел.: +7 (495) 531-4444; e-mail: a_ekimov@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5029-0462>

Мартазанова Белла Арсамаковна — младший научный сотрудник 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва ул. Академика Опарина, дом 4; тел.: +7 (967)123-88-24; e-mail: bellamart88@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2364-906X>

Веюкова Мария Александровна — эмбриолог 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва, ул. Академика Опарина, дом 4; тел.: +7 (495) 531-4444; e-mail: m_veukova@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9003-9096>

Абубакиров Айдар Назимович — к.м.н., руководитель 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Адрес: 117997 Москва, улица Академика Опарина, дом 4; тел. 8 (495)438-26-22; e-mail: nondoc555@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-4875-5309>

КАК ЦИТИРОВАТЬ

Кодылева Т.А., Аксененко А.А., Мишиева Н.Г., Екимов А.Н., Мартазанова Б.А., Веюкова М.А., Абубакиров А.Н. Успешный опыт проведения преимплантационного генетического тестирования за 24 ч без повторной криоконсервации эмбрионов (клинический случай). *Проблемы репродукции*. 2019;25(1):78-82. <https://doi.org/10.17116/repro20192502178>

Successful experience of preimplantation genetic testing without repeated cryopreservation of embryos within 24 hours (clinical case)

© Т.А. KODYLEVA, А.А. AKSENENKO, N.G. MISHIEVA, А.Н. EKIMOV, В.А. MARTAZANOVA, М.А. VEYUKOVA, А.Н. ABUBAKIROV

National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia, Department of Preservation and Restoration of Reproductive Function, Moscow, Russia

Автор, ответственный за переписку: Кодылева Татьяна Александровна — эмбриолог 1-го гинекологического отделения ФГБУ «Медицинский исследовательский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: 8(925)373-8314; e-mail: t.kodyleva@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1198-6587>

Corresponding author: Tatyana A. Kodyleva — embryologist of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia. Phone: 8(925)373-83-14, e-mail: t.kodyleva@gmail.com; e-mail: t_kodyleva@oparina4.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1198-6587>

ABSTRACT

The clinical case of preimplantation genetic testing for aneuploidy within 24 hours of earlier cryopreserved embryos without repeated vitrification is presented. The case is interesting by new approach to planning of transfer of earlier frozen embryos without preimplantation genetic testing for aneuploidy.

Keywords: preimplantation genetic testing, aneuploidy, cryopreservation of embryos, transfer of embryos, clinical case.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Kodyleva T.A. — embryologist of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia. Address: 117997 Moscow, Academic Oparin street, 4; phone: +7 (925) 373-83-14; e-mail: t.kodyleva@gmail.com, e-mail: t_kodyleva@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1198-6587>

Aksenenko A.A. — gynecologist of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia. Address: 117997 Moscow, Academic Oparin street, 4; phone: +7 (495) 531-4444; e-mail: a_axenko@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0003-12808691>

Mishieva N.G. — MD, Senior researcher of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia, Address: 117997 Moscow, Academic Oparin street, 4; phone: +7 (495) 438-26-22; e-mail: nondoc555@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5790-456X>

Ekimov A.N. — clinical geneticist of molecular genetics laboratory, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia. Address: 4, Acad. Oparin St., Moscow, Russia 117997; Phone: +7 (495) 531-4444; e-mail: a_ekimov@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5029-0462>

Martazanova B.A. — Junior Researcher of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Address: 117997 Moscow, Academic Oparin street; 4, phone: +7 (495) 531-4444; e-mail: bellamart88@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2364-906X>

Veyukova M.A. — embryologist of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia. Address: 117997 Moscow, Academic Oparin street, 4; phone: +7 (495) 531-4444; e-mail: m_veukova@oparina4.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9003-9096>

Abubakirov A.N. — PhD, Head of 1-st gynecology department National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russia. Address: 117997 Moscow, Academic Oparin street, 4; phone: +7 (495) 438-26-22; e-mail: nondoc555@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0003-4875-5309>

TO CITE THIS ARTICLE

Kodyleva TA, Aksenenko AA, Mishieva NG, Ekimov AN, Martazanova BA, Veyukova MA, Abubakirov AN. Successful experience of preimplantation genetic testing without repeated cryopreservation of embryos within 24 hours (a clinical case). *Russian Journal of Human Reproduction = Problemy Reproduktivnoy Meditsiny*. 2019;25(1):78-82. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro20192502178>

Поиск механизмов, приводящих к ранним репродуктивным потерям при переносе эмбрионов хорошего качества, является актуальным направлением в лечении бесплодия путем применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Основной причиной неудач имплантации и остановки развития морфологически нормальных эмбрионов являются количественные хромосомные аномалии — анеуплоидии [1, 2]. Установлено, что около 25% ооцитов, полученных от женщин в возрасте 30 лет, содержат хромосомные аномалии, при этом частота анеуплоидии в ооцитах напрямую зависит от возраста и может достигать 80% у женщин старше 40 лет [3]. Таким образом, необходимость отбора эмбрионов с нормальным набором хромосом способствовала развитию нового диагностического направления — преимплантационного генетического тестирования (ПГТ). Селекция эмбрионов с использованием ПГТ позволяет повысить результативность ВРТ за счет увеличения частоты имплантации и снижения частоты потери беременности. С развитием молекулярно-генетических технологий совершенствуются методы, применяемые для ПГТ.

В качестве альтернативной методики забора материала для ПГТ исследователи предложили биопсию клеток трофэктодермы [4, 5]. Данный метод позволяет взять несколько клеток для анализа, что делает

скрининг более надежным, сохраняя при этом целостность внутриклеточной массы [6, 7]. В настоящее время для скрининга анеуплоидий используются новые технологии, которые позволяют полностью проанализировать хромосомный набор эмбриона. Разработано несколько методик для анализа 24 хромосом, в том числе сравнительная геномная гибридизация на «биологических чипах» — *micriarray comparative genomic hybridization (array-CGH)* [8].

Криоконсервация эмбрионов — важный этап ВРТ, который способствует снижению частоты таких осложнений экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), как синдром гиперстимуляции яичников за счет отмены переноса в лечебном цикле и многоплодной беременности за счет возможности проведения преимплантационного генетического скрининга с последующим селективным переносом одного диагностированного эмбриона. Это позволяет увеличить кумулятивную частоту наступления беременности. Однако данных об успешных результатах проведения ПГТ на размороженных и ранее генетически не диагностированных эмбрионах немного.

В клиническом случае представлен процесс размораживания ранее криоконсервированных эмбрионов, последующего проведения в течение 24 ч преимплантационного генетического тестирования на

анеуплоидии (ПГТ-А) с использованием метода aggrau-CGH и переноса в полость матки одного генетически нормального эмбриона.

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

Пациентка Р., 1972 года рождения, в 2016 г. обратилась в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России с жалобами на отсутствие беременности в течение 8 лет регулярной половой жизни. Из анамнеза: менструации с 14 лет, умеренные, безболезненные, цикл регулярный по 4—5 дней через 28—29 дней. Половая жизнь с 18 лет, брак второй. В 2001 г. у пациентки при проведении лапароскопии установлены хронический сальпингоофорит, наружный генитальный эндометриоз; произведены сальпингоовариолизис, коагуляция очагов наружно-го генитального эндометриоза.

С 2009 г. пациентка наблюдалась в одной из частных клиник Москвы, проведено 3 попытки ЭКО в протоколе с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), без эффекта. В июле 2012 г. в результате четвертой программы ЭКО и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) наступила беременность, замершая на сроке 9—10 нед. С 2013 г. наблюдалась в отделении сохранения и восстановления репродуктивной функции ФГБУ «НМИЦ АГП» Минздрава РФ, в этом же году проведена 5-я программа ЭКО/ИКСИ, перенесено 2 эмбриона, без эффекта, произведена криоконсервация 2 эмбрионов.

В 2014 г. в результате 6-й программы ЭКО/ИКСИ с последующим переносом одного генетически здорового эмбриона в криопротоколе произошли оперативные роды на 38-й неделе гестации; родился здоровый доношенный мальчик.

Супруг 1973 года рождения, соматически здоров, по данным спермограммы — астенозооспермия (концентрация сперматозоидов — 32 млн/мл; прогрессивно подвижных — 17%; морфологически нормальных сперматозоидов — 4%).

Пациентка в мае 2016 г. обратилась для планирования беременности с использованием полученных ранее эмбрионов. Учитывая возраст пациентки и данные анамнеза, для достижения беременности рекомендовано проведение размораживания криоконсервированных ранее эмбрионов с последующим генетическим тестированием на анеуплоидии.

Оплодотворение и культивирование эмбрионов

При трансвагинальной пункции яичников в 2012 г. аспирировано 6 ооцит-кумулосных комплексов (ОКК) на стадии метафаза 2. Образец эякулята обрабатывали путем центрифугирования с использованием градиентов плотности *SupraSperm* («Origio», Дания). Эмбриологический этап проводили при пониженном содержании кислорода (мультигазовая смесь: 6% углекисло-

го газа (CO₂), 5% кислорода (O₂); 89% азота (N₂) в инкубаторах типа Planer («Origio», Дания).

После получения ОКК культивировали в течение 2 ч в культуральной среде *Universal IVF* («Origio», Дания) при 37 °С в CO₂-инкубаторе («Origio», Дания). Через 2 ч ОКК обработали ферментом *Hyadase* («Origio», Дания) с последующим механическим пипетированием при последовательном использовании пипеток размером 170 и 140 мкм («COOK», Австралия) с целью очищения от клеток кумулюса. Метод оплодотворения (ИКСИ в ооцит) проводили в каплях 10 мкл среды *Flushing Medium* («Origio», Дания), покрытых *Mineral Oil* («Origio», Дания).

Оценку оплодотворения проводили через 16—18 ч после ИКСИ с использованием инвертированного микроскопа *Nikon Ti-U* при увеличении 40× («Nikon», Япония). Зиготы, имеющие 2 пронуклеуса, считали нормально оплодотворенными. Последующая оценка качества эмбрионов проводилась на 2, 3 и 5-е сутки культивирования. Эмбрион считался отличным качества, если на 2-е сутки культивирования у него при оценке визуализировались 4 равных blastomeres без фрагментации и многоядерности; на 3-е сутки культивирования при оценке визуализировалось 8 равных blastomeres без фрагментации и многоядерности. На 5-е сутки культивирования эмбрионы оценивали по предложенной группой эмбриологов европейской ассоциацией репродукции и эмбриологии человека (ESHRE) системе оценки blastocysts [9].

Криоконсервация и размораживание эмбрионов

Криоконсервация эмбрионов выполнена методом витрификации. Витрификацию и размораживание эмбрионов проводили с использованием наборов *Kitazato* («Kitazato Corporation», Япония), согласно рекомендациям производителя [10]. После размораживания эмбрионы отмывали 3—4 раза в культуральной среде *Blastocyst Medium* (COOK, Австралия) и переносили в капли 50 мкл под слоем минерального масла для дальнейшего культивирования.

Проведение биопсии клеток трофэктодермы

Для биопсии клеток трофэктодермы использовали комбинацию осторожного всасывания пипеткой для аспирации клеток трофэктодермы (TPC, Австралия) и минимального количества лазерных импульсов (3,7 Вт/см² интенсивности) [4, 5]. Для проведения тестирования взято 5—7 клеток трофэктодермы.

Подготовка и проведение генетического тестирования на анеуплоидии

Биопсированный материал двукратно отмыли от культуральной среды и минерального масла и поместили в пробирки типа Эппендорф 0,2 мл без РНКазы и ДНКазы с общим объемом буфера 0,2 мкл при помощи пипетки 140 мкм (COOK, Австралия) с последующей немедленной передачей для проведения генетического анализа.

Сравнительную геномную гибридизацию генетического материала эмбриона *Aggrau-CGH* про-

водили на оборудовании фирмы «Agilent» (США). Полногеномную амплификацию клеточной ДНК методом WGA-PCR (Whole Genome Amplification-Polymerase Chain Reaction) выполняли с помощью набора PicoPlex SingleCell WGA Kit («Rubicon Genomics», США). Качество и количество полученной ДНК контролировали с помощью электрофореза в 1,2% агарозном геле. Ампликоны метили с использованием набора SureTag DNA Labeling Kit («Agilent», США), согласно инструкции к набору. Меченые ампликоны наносили на биочип Sure Print G3 8×60 array-CGH («Agilent», США), гибридизовали в течение 16 ч, после чего отмывали и сканировали на сканере биологических чипов SureScan Microarray Scanner (США). Интерпретацию результатов проводили с помощью программного продукта Agilent CytoGenomics (США).

Культивирование эмбрионов после биопсии клеток трофэктодермы и перенос эмбрионов

После проведения биопсии эмбрионы культивировали в течение 24 ч в среде Blastocyst (COOK, Австралия) в каплях 50 мкл под слоем минерального масла («Origio», Дания) при пониженном содержании кислорода (мультигазовая смесь: 6% CO₂, 5% O₂; 89% N₂) в инкубаторах типа Planer («Origio», Дания).

Перенос выполнили через 24 ч после получения результатов генетического тестирования. На момент переноса эуплоидная бластоциста полностью вышла из оболочки (*zona pellucida*) и по классификации, предложенной группой эмбриологов ESHRE, оценена как 6BB [10]. Еще одна бластоциста, согласно проведенному генетическому тестированию, имела комплекс хромосомных отклонений и поэтому утилизирована. Для переноса использовали катетер COOK JETS 1719 (COOK, Австралия).

Поддержка посттрансферного периода и результат лечения

Перенос размороженных эмбрионов произведен на фоне десенситизации гипоталамо-гипофизарно-яичниковой (ГГЯ) системы агонистами ГнРГ с последующим проведением заместительной гормональной терапии (эстрадиол валерат в дозе 6 мг/сут) со дня подавления ГГЯ системы по результатам ультразвукового исследования (УЗИ) и исследования гормонального фона; при достижении эндометрием 9 мм и четкой трехслойной структуры вводили микронизированный прогестерон в дозе 600 мг/сут. Перенос размороженного эмбриона в полость матки осуществляли в асептических условиях под контролем с применением УЗИ на 6-й день приема микронизированного прогестерона; толщина эндометрия в день переноса составила 9 мм.

В результате переноса размороженного эмбриона наступила беременность, завершившаяся своевременными оперативными родами, родился здоровый доношенный мальчик (масса тела 3088 г, рост 50 см).

ОБСУЖДЕНИЕ

В связи с совершенствованием методик криоконсервации эмбрионов во многих центрах ЭКО в последние годы применяется один из наиболее успешных способов снижения многоплодной беременности — селективный перенос одного эмбриона с высоким потенциалом имплантации [11, 12]. Из-за изменения стратегии ведения пациентов в рамках выполнения программы ЭКО доля криоконсервированных эмбрионов растет. Это связано с неуклонным ростом числа циклов ВРТ с последующим проведением ПГТ всех полученных эмбрионов. Так, по данным регистра ВРТ Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ), в 2015 г. проведено 2926 циклов с ПГТ, а в 2016 г. — 4416 циклов. Частота наступления беременности на перенос одного диагностированного эмбриона в 2016 г. составила 43,7%, что выше, чем при переносе недиагностированных эмбрионов в лечебном цикле ЭКО/ИКСИ — 35,2% [13].

Сравнительная геномная гибридизация array-CGH оказалась надежным методом ПГТ и широко используется в клиниках репродукции по всему миру [14–20]. Преимуществом метода array-CGH на биологических чипах является способность выявлять как хромосомные нарушения (анеуплоидии, в том числе и мозаицизм, несбалансированные транслокации и маркерные хромосомы), так и микроделеционные/микродупликационные синдромы, несбалансированные субтеломерные перестройки одномоментно во всем геноме. Данная технология подразумевает криоконсервацию эмбрионов и планирование переноса в следующем менструальном цикле.

Вместе с тем все более востребованным становится применение методов скрининга для диагностики хромосомных аномалий уже криоконсервированных эмбрионов, особенно у пациенток с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом. Описанный случай заслуживает внимания в связи с проведением генетического анализа на хромосомную патологию размороженных эмбрионов в течение 24 ч, что позволило провести селективный перенос диагностированного эмбриона без его повторной витрификации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тактика, которую применили в описанном клиническом примере, открывает новые возможности проведения генетического тестирования в тех случаях, когда перенос недиагностированного размороженного эмбриона сопряжен с высоким риском неудачи имплантации или прерывания беременности на раннем сроке. Мы считаем, что для повышения эффективности лечения бесплодия с применением вспомогательных репродуктивных технологий данная тактика в дальнейшем должна быть исследована более подробно. Кроме того, существует необходимость со-

вершенствования методики генетического тестирования эмбрионов на стадии бластоцисты, позволяющей делать перенос эмбрионов без последующей криоконсервации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Alfarawati S, Fragoli E, Colls P, Stevens J, Gutierrez-Mateo C, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MC, Wells D. The relationship between blastocyst morphology chromosomal abnormality, and embryo gender. *Fertility and Sterility*. 2011;95(2):520-524. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.003>
- Munne S, Wells D, Cohen J. Technology requirements for preimplantation genetic diagnosis to improve assisted reproduction outcomes. *Fertility and Sterility*. 2010;94(2):408-430. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.02.091>
- Fragouli E, Katz-Jaffe M, Alfarawati S, Stevens J, Colls P, Goodall N, Tormasi S, Gutierrez-Mateo C, Prates R, Schoolcraft WB, Munne S, Wells D. Comprehensive chromosome screening of polar bodies and blastocyst from couples experiencing repeated implantation failure. *Fertility and Sterility*. 2010;94(3):875-887. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.04.053>
- De Boer K, McArthur S, Murray C, Jansen R. First live birth following blastocyst biopsy and PGD analysis. *Reproductive Biomedicine Online*. 2002;4(2):35. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(12\)60073-X](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(12)60073-X)
- McArthur S, Ligh D, Marshal J, De Boer K, Jansen R. Pregnancies and live births after trophectoderm biopsy and preimplantation genetic testing of human blastocyst. *Fertility and Sterility*. 2005;84(6):1628-1636. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.05.063>
- Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M, Colamaria S, Ubaldi FM, Rienzi L, Fiorentino F. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and trophoblast: insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. *Human Reproduction*. 2013;28(2):509-518. <https://doi.org/10.1093/humrep/des394>
- Yin X, Tan K, Vajta G, Jiang H, Tan Y, Zhang C, Chen F, Chen S, Zhang C, Pan X, Gong C, Li X, Lin C, Gao Y, Liang Y, Yi X, Mu F, Zhao L, Peng H, Xiong B, Zhang S, Cheng D, Lu G, Zhang X, Lin G, Wang W. Massively parallel sequencing for chromosomal abnormality testing in trophectoderm cells of human blastocyst. *Biology of Reproduction*. 2013;88(3):69. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.106211>
- Gutiérrez-Mateo C, Colls P, Sánchez-García J, Escudero T, Prates R, Ketterson K, Wells D, Munné S. Validation of microarray comparative genome hybridization for comprehensive chromosome analysis of embryos. *Fertility and Sterility*. 2011;95(3):953-958. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.010>
- Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction*. 2011;26(6):1270-1283. <https://doi.org/10.1093/humrep/der037>
- Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology*. 2007;67(1):73-80. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.014>
- Tiitonen A, Halttunen M, Harkki P, Vuoristo P, Hyden-Granskog C. Elective single embryo transfer: the value of cryopreservation. *Human Reproduction*. 2001;16(6):1140-1144. <https://doi.org/10.1093/humrep/16.6.1140>
- Wennerholm UB, Soderstrom-Anttila V, Bergh C, Aittomaki K, Hazekamp J, Nygren KG, Selbing A, Loft A. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome date. *Human Reproduction*. 2009;24(9):2158-2172. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep125>
- Корсак В.С., Смирнова А.А., Шурыгина О.В. Регистр центров ВРТ в России. Отчет за 2015 год. *Проблемы репродукции*. 2017; 23(5):8-22. Korsak VS, Smirnova OA, Shurygina OV. Register of centers of the Russian Federation. Report for 2015. *Problemy reproduksii*. 2017;23(5):8-22. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/repro20172358-22>
- Geraedts J, Montag M, Magli MC, Repping S, Handyside A, Staessen C, Harper J, Schmutzler A, Collins J, Goossens V, Van der Ven H, Vesela K, Gianaroli L. Polar body array CGH for prediction of the status of the corresponding oocyte. Part I: clinical results. *Human Reproduction*. 2011;26(11):3173-3180. <https://doi.org/10.1093/humrep/der294>
- Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, Liu X, Lyle SS, Peck AC, Sills ES, Salem RD. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Molecular Cytogenetics*. 2012;5:24. <https://doi.org/10.1186/1755-8166-5-24>
- Yang Z, Salem SA, Liu X, Kuang Y, Salem RD, Liu J. Selection of euploid blastocysts for cryopreservation with array comparative genomic hybridization (aCGH) results in increased implantation rates in subsequent frozen and thawed embryo transfer cycles. *Molecular Cytogenetics*. 2013;6:32. <https://doi.org/10.1186/1755-8166-6-32>
- Rubio C, Rodrigo L, Mir P, Mateu E, Peinado V, Milán M, Al-Asmar N, Campos-Galindo I, Garcia S, Simón C. Use of array comparative genomic hybridization (array-CGH) for embryo assessment: clinical results. *Fertility and Sterility*. 2013;99(4):1044-1048. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.01.094>
- Harton GL, Munné S, Surrey M, Grifo J, Kaplan B, McCulloh DH, Griffin DK, Wells D; PGD Practitioners Group. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertility and Sterility*. 2013;100(6):1695-1703. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.07.2002>
- Greco E, Bono S, Ruberti A, Lobascio AM, Greco P, Biricik A, Spizzichino L, Greco A, Tesarik J, Minasi MG, Fiorentino F. Comparative genomic hybridization selection of blastocysts for repeated implantation failure treatment: a pilot study. *BioMed Research International*. 2014;2014:ID457913. <https://doi.org/10.1155/2014/457913>
- Rechitsky S, Pakhalchuk T, Ramos GS, Goodman A, Zlatopolsky Z, Kuliev A. First systematic experience of preimplantation genetic diagnosis for single-gene disorders, and/or preimplantation human leukocyte antigen typing, combined with 24-chromosome aneuploidy testing. *Fertility and Sterility*. 2015;103(2):503-512. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.11.007>

Поступила 12.11.18

Received 12.11.18

Принята 10.12.18

Accepted 10.12.18