

Роль вспомогательного хетчинга в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий: обзор литературы

Э.О.Ибрагимова^{✉1}, Н.В.Долгушина¹, А.Г.Сыркашева¹, А.Ю.Романов², О.И.Языкова³, Н.П.Макарова¹
¹ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4;
²ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова. 119192, Россия, Москва, Ломоносовский пр., д. 31, корп. 5;
³ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова Минздрава России. 127473, Россия, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Цель исследования – провести систематический анализ данных, имеющихся в современной литературе, о роли и эффективности вспомогательного хетчинга в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Материалы и методы. В обзор включены данные зарубежных и отечественных статей, найденных в PubMed по данной теме, опубликованных за последние 10 лет.

Результаты. Описаны возможные механизмы действия и эффективность вспомогательного хетчинга в процессе имплантации эмбриона, а также возможные факторы, влияющие на эффективность самостоятельного хетчинга.

Заключение. Необходимо проведение дальнейших исследований по изучению влияния разных видов вспомогательного хетчинга на наступление клинической беременности, рождение здорового ребенка и развитие многоплодных беременностей в программах ВРТ.

Ключевые слова: бесплодие, вспомогательный хетчинг, экстракорпоральное оплодотворение, зона пеллюцида, имплантация эмбриона.

✉espet2007@yandex.ru

Для цитирования: Ибрагимова Э.О., Долгушина Н.В., Сыркашева А.Г. и др. Роль вспомогательного хетчинга в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий: обзор литературы. Гинекология. 2016; 18 (3): 44–47.

The role of assisted hatching in in vitro fertilization cycles: a literature review

E.O.Ibragimova^{✉1}, N.V.Dolgushina¹, A.G.Syrkasheva¹, A.Yu.Romanov², O.I.Yazikova³, N.P.Makarova¹

¹V.I.Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russian Federation, Moscow, ul. Akademika Oparina, d. 4;

²M.V.Lomonosov Moscow State University. 119192, Russian Federation, Moscow, Lomonosovskii pr., d. 31, korp. 5;

³A.I.Evdokimov Moscow State Medical and Dental University of the Ministry of Health of the Russian Federation. 127473, Russian Federation, Moscow, ul. Delegatskaia, d. 20, str. 1

Objective: systematic review to determine the role of assisted hatching in the IVF cycles.

Materials and methods. We searched the MEDLINE base (2005 to February 2016) and included all articles related to the question.

Results. Possible mechanisms and efficiency of assisted hatching in embryo implantation are described below as well as possible factors that influence the efficiency of spontaneous hatching.

Conclusions. The included trials provided insufficient data to investigate the role of different types of the assisted hatching in clinical pregnancy rate, live birth rate and development of multiple gestations.

Key words: infertility, assisted hatching, in vitro fertilization, zona pellucida, embryo implantation.

✉espet2007@yandex.ru

For citation: Ibragimova E.O., Dolgushina N.V., Syrkasheva A.G. et al. The role of assisted hatching in in vitro fertilization cycles: a literature review. Gynecology. 2016; 18 (3): 44–47.

Введение

В последние годы, несмотря на успешное развитие методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), вопросы повышения эффективности лечения бесплодия в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) остаются по-прежнему актуальными. По данным J.Gunbi и соавт. [1], только 1/3 циклов ВРТ приводит к наступлению беременности и около 1/4 из них – к рождению ребенка. Самым простым подходом к повышению этих показателей является перенос одновременно нескольких эмбрионов, однако это сопряжено с высокой вероятностью развития многоплодной беременности [2].

Повышение результативности ВРТ невозможно без изучения механизмов регуляции имплантации. Наступление беременности во многом зависит от 3 составляющих: рецептивности эндометрия, функционально полноценного эмбриона, способного к имплантации, и доставки эмбриона к зоне имплантации [3].

Во время преимплантационного развития млекопитающих эмбрион находится внутри гликопротеиновой оболочки, которая носит название «зона пеллюцида» (блестящая оболочка) [4]. Выход бластоцисты из зоны пеллюцида –

важный и завершающий этап преимплантационного развития. Неспособность эмбриона к выходу из зоны пеллюцида может быть одним из факторов, приводящих к нарушению имплантации, что может приводить к отсутствию самостоятельной беременности или к неудачам ЭКО. Выход эмбриона из блестящей оболочки обозначают термином «хетчинг», а искусственное разрушение этой оболочки в программах ВРТ – «вспомогательный хетчинг». Вспомогательный хетчинг является методикой, разработанной с целью повышения частоты имплантации эмбриона [4].

В условиях in vitro хетчинг происходит на 5–6-й день развития путем разрыва оболочки и выхода бластоцисты через образовавшуюся щель. Разрыв оболочки связан с двумя факторами:

- 1) клетки трофобласта выделяют протеолитический фермент катепсин, растворяющий участок зоны пеллюцида;
- 2) бластоциста увеличивается в размерах и механически разрывает зону пеллюцида. В условиях in vivo могут действовать дополнительные факторы, приводящие к растворению блестящей оболочки, что способствует более быстрому и эффективному хетчингу.

Причины неудач хетчинга

Далеко не все blastocysts способны осуществить хетчинг, даже если зона пеллюцида надорвана. Blastocyst затрачивает определенное время (от нескольких часов до суток), чтобы освободиться из надорванной оболочки. Длительный или неудачный хетчинг может быть фактором, снижающим частоту наступления беременности в программах ЭКО.

На неэффективность хетчинга оказывают влияние такие факторы, как толщина блестящей оболочки, изменение ее структуры и отсутствие дифференцировки клеток трофобласта [5, 6]. В циклах ВРТ часто можно наблюдать появление ооцитов и эмбрионов с нарушенной зоной пеллюцида – уплотнением, деформацией и изменением ее строения. Было показано, что утолщение или затвердевание зоны пеллюцида провоцируется средой культивирования [7] или криоконсервацией эмбрионов [8]. В настоящее время большое внимание уделяется генетическим причинам неудач хетчинга.

У человека зона пеллюцида состоит из 4 гликопротеинов, носящих название ZP1–ZP4 [9, 10]. Аномальная продукция или секреция этих гликопротеинов может приводить к изменению структуры зоны пеллюцида и неспособности связывания с ней сперматозоидов, что приводит к нарушению оплодотворения. Гликопротеины ZP2, ZP3 и ZP4 могут связываться с капацирующими сперматозоидами и/или сперматозоидами, вступающими в акросомную реакцию [11]. Гликопротеины ZP3 и ZP4 могут вызывать акросомную реакцию [12]. Роль человеческого ZP1 в связывании со сперматозоидами и в провоцировании акросомной реакции до конца не изучена [13]. По результатам опытов на мышах, нокаутированных по генам блестящей оболочки, все три мышиных гликопротеина (ZP1–ZP3), вероятно, необходимы для сохранения структуры зоны пеллюцида, поскольку исключение хотя бы одного из этих гликопротеинов влечет за собой нарушение структуры оболочки [14] или даже ее полное разрушение [15, 16]. В работе R.Pokkyla и соавт. было выявлено, что полиморфизм генов ZP1–ZP4 у женщин в программах ВРТ часто сочетается с разными аномалиями блестящей оболочки (тонкая, толстая, овальная, удвоенная), а полная потеря ZP2 может привести к истончению блестящей оболочки так же, как это наблюдается у мышей, нокаутированных по гену ZP2.

Участие катепсинов в хетчинге было показано на модели сирийского хомячка. Продемонстрировано, что экзогенное добавление катепсинов L, P или B ведет к полному растворению блестящей оболочки. Также было продемонстрировано, что в период, предшествующий хетчингу, наблюдаются повышенная экспрессия и синтез катепсинов L и P [17]. В человеческом геноме присутствуют гены катепсинов L (CTSL) и B (CTSB). Экспрессия катепсина L была отмечена в клетках трофобласта и внутренней клеточной массы [18], однако роль катепсинов в хетчинге у человека требует дальнейшего изучения.

Эффективность вспомогательного хетчинга

Считается, что процедура вспомогательного хетчинга улучшает результативность программ ВРТ, что объясняется 3 причинами [19]. Во-первых, вспомогательный хетчинг показан в случае невозможности естественного хетчинга, например, при утолщении или затвердевании зоны пеллюцида. Во-вторых, вспомогательный хетчинг ведет к более раннему выходу blastocysts из зоны пеллюцида, что соответствует сдвигу окна имплантации, часто наблюдаемому в циклах ВРТ. В-третьих, открытие или истончение зоны пеллюцида может приводить к улучшению взаимодействия между blastocyst и эндометрием посредством метаболитов, факторов роста и других мессенджеров [20].

Согласно данным Кохрановского метаанализа, проведенного S.Carney и соавт. [4], проведение вспомогательного хетчинга способствовало увеличению частоты наступления беременности у женщин в циклах ВРТ (отношение шансов – ОШ 1,13, 95% доверительный интервал – ДИ 1,01–1,27). При этом стоит обратить внимание на ограничения данного исследования. Во-первых, только в 9

из 31 включенных в анализ исследований конечной точкой была частота живорождения (255 наблюдений), поэтому нельзя сделать вывод о влиянии проведения процедуры вспомогательного хетчинга на данный показатель (ОШ 1,03, 95% ДИ 0,85–1,25). Во-вторых, авторы отмечают высокую гетерогенность включенных в анализ исследований.

При проведении стратификационного анализа было отмечено более значительное увеличение частоты наступления беременности при сравнении пациенток с плохим и нормальным прогнозом наступления беременности (ОШ 1,49, 95% ДИ 1,19–1,85) и при сравнении пациенток с наличием и отсутствием неудачных попыток ЭКО/ИКСИ (англ. ICSI – IntraCytoplasmic Sperm Injection, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида) в анамнезе (ОШ 1,42, 95% ДИ 1,11–1,81) по сравнению с эффективностью вспомогательного хетчинга в общей когорте пациентов программ ВРТ (ОШ 1,13, 95% ДИ 1,01–1,27) [4]. Аналогичное повышение частоты наступления беременности только для пациенток с плохим прогнозом наступления беременности было продемонстрировано в метаанализе W.Martins и соавт. [19]. В литературе получены данные об эффективности вспомогательного хетчинга у женщин старшего репродуктивного возраста (более 38 лет), при получении эмбрионов плохого качества, при высоком уровне фолликулостимулирующего гормона в крови, переносе эмбрионов после криоконсервации и толщине зоны пеллюцида более 15 мкм [4, 21, 22].

При этом четких доказательств эффективности вспомогательного хетчинга у пациентов без наличия показаний к проведению данной методики получено не было. Рандомизированные исследования по изучению эффективности вспомогательного хетчинга в общей когорте пациентов программ ВРТ показали отсутствие разницы в частоте наступления беременности [4, 23]. Таким образом, выделение групп пациентов, нуждающихся в проведении вспомогательного хетчинга, остается актуальной задачей.

Методы выполнения вспомогательного хетчинга

Первым методом вспомогательного хетчинга стал механический вспомогательный хетчинг, который был проведен J.Cohen и соавт. в 1990 г. [24]. Этот метод представляет собой механическое воздействие для создания отверстия в прозрачной оболочке эмбриона и также носит название частичного рассечения блестящей оболочки [24].

Химический вспомогательный хетчинг также был описан и предложен J.Cohen и соавт. в 1990 г. [24] и включает использование кислого раствора Тироде, который наносится микроиглой для создания отверстия в блестящей оболочке. При этом кислый раствор Тироде является эмбриотоксичным и при нарушении методики может повлиять на жизнеспособность эмбрионов.

В последнее время применяется лазерный хетчинг, предложенный Y.Tadir и соавт. в 1991 г. [25]. Инфракрасный бесконтактный лазерный диод позволяет выполнить быстрый, точный и легко контролируемый лизис зоны пеллюцида. Размер отверстия можно регулировать за счет изменения времени воздействия лазерного луча: чем дольше время воздействия, тем больше будет отверстие.

Еще одним методом вспомогательного хетчинга является истончение зоны пеллюцида при помощи пьезоэлектрического микроманипулятора. Пьезоманипулятор создает высокочастотную микровибрацию, что ведет к появлению конических углублений на ограниченном участке зоны пеллюцида. Метод показал свою эффективность в группе пациенток с плохим прогнозом наступления беременности при условии высокого качества эмбрионов, но не у пациенток с эмбрионами низкого качества [26, 27]. Однако в дальнейшем метод вспомогательного хетчинга с использованием пьезоэлектронного манипулятора не получил широкого распространения по причине упомянутого ограничения возможностей применения метода.

При сравнении эффективности перечисленных методов выполнения вспомогательного хетчинга (механического, лазерного и химического) значимых различий в частоте имплантации и живорождения выявлено не было [28, 29].

Новым подходом к вспомогательному хетчингу является полное растворение блестящей оболочки ферментативным способом при помощи проназы. При этом происходит непродолжительное (около 60 с) воздействие фермента на блестящую оболочку с последующим полным ее растворением. В результате бластоциста оказывается полностью свободной от блестящей оболочки, что исключает возможность неудачи имплантации по причине нарушения хетчинга. При недостаточном истончении зоны пеллюцида допускается повторное воздействие проназы в течение 30–60 с [29]. Безопасность проназного хетчинга продемонстрировали C.Fong и соавт. в 2001 г. [30]: бластоцисты подвергались воздействию стандартной концентрации проназы в течение разного времени, после чего проводилась их морфологическая оценка при помощи световой и трансмиссионной электронной микроскопии. При этом не было выявлено видимых различий между бластоцистами, на которые воздействовали проназой, и бластоцистами, совершившими естественный хетчинг. При увеличении времени экспозиции раствора проназы до 2 мин были выявлены изменения морфологии бластоцист, визуализируемые при электронной микроскопии (клетки трофобласты приобретали кубическую форму). Увеличение времени экспозиции до 5 мин привело к коллапсу бластоцист и грубым морфологическим нарушениям трофобласты, видимым при световой микроскопии [30]. Таким образом, в отличие от всех перечисленных методов вспомогательного хетчинга проназный хетчинг имеет 100% эффективность, однако требует от эмбриолога высокой скорости работы и точности соблюдения методики.

Осложнения вспомогательного хетчинга

Вспомогательный хетчинг может быть связан со специфическими осложнениями, не зависящими от самой процедуры ЭКО, в том числе с необратимым повреждением всего эмбриона или его отдельных бластомеров. Кроме того, манипуляции на зоне пеллюцида могут быть связаны с повышенным риском развития монозиготной беременности [31, 32].

Размер создаваемого во время частичного вспомогательного хетчинга отверстия в зоне пеллюцида влияет на развитие тех или иных осложнений. При образовании маленького отверстия бластомер может ущемиться и не завершить хетчинг [33]. И, наоборот, бластомеры могут быть потеряны через большое отверстие до установления между ними плотных связей. Это способствует развитию монозиготной беременности или гибели эмбриона [24].

Монозиготная беременность в программах ВРТ

Монозиготная беременность является предметом повышенного интереса врачей и исследователей. Риск перинатальной смертности при монозиготной беременности в 2–3 раза выше, чем при dizиготной беременности [32]. По данным метаанализа [34], риск монозиготной беременности при применении методов ВРТ возрастает в 2,25 раза в сравнении с общепопуляционным риском (0,8–0,9% по сравнению с 0,4%). Перенос эмбриона на стадии бластоцисты повышает риск монозиготной двойни в 4,2 раза, оплодотворение методом ИКСИ – в 2,2 раза. Одной из причин повышения риска монозиготной беременности в программах ВРТ считают повреждение зоны пеллюцида, поддерживающей структурную целостность эмбриона [35].

Вспомогательный хетчинг рассматривается как одна из возможных причин развития монозиготной беременности в программах ВРТ. Предположительный механизм связан с повреждением зоны пеллюцида, вследствие чего создается высокий риск потери межклеточных соединений между клетками внутриклеточной массы [28].

Если большое отверстие создается на ранней стадии эмбриогенеза, то причиной монозиготной беременности является преждевременный хетчинг бластомеров. При этом возможно образование другого идентичного эмбриона. Бластомеры соединяются между собой плотными связями,

которые становятся очевидными только после стадии 6 бластомеров, а неплотные связи дают возможность «потерять» бластомер [36].

В исследовании L.Schieve и соавт. [32], которое включало данные 35 503 циклов ЭКО, было выявлено, что вспомогательный хетчинг является фактором риска формирования монозиготной беременности (ОШ 3,8, 95% ДИ 1,8–9,8), в то время как другие исследователи не наблюдали такой ассоциации [4, 37–39].

Таким образом, согласно имеющимся на сегодняшний день данным, роль вспомогательного хетчинга в развитии монозиготной беременности в программах ВРТ является недоказанной и требует дальнейшего изучения.

Заключение

В настоящее время не до конца изучены необходимость и показания для проведения вспомогательного хетчинга. Данный обзор подчеркивает необходимость изучения клинико-anamnestических и молекулярно-генетических предикторов, влияющих на эффективность хетчинга и исходы программ ВРТ, а также риски формирования монозиготной беременности в зависимости от методики выполнения вспомогательного хетчинга.

Литература/References

1. Gunby J, Daya S. Assisted reproductive technologies (ART) in Canada: 2002 results from the Canadian ART Register. *Fertil Steril* 2006; 86 (5): 1356–64. doi:10.1016/j.fertnstert.2006.04.030.
2. Bissonnette F, Coben J, Collins J et al. Incidence and complications of multiple gestation in Canada: proceedings of an expert meeting. *Reprod Biomed Online* 2007; 14 (6): 773–90. doi:10.1016/S1472-6483(10)60681-5.
3. Кузьмичев ЛН, Смольникова ВЮ, Калинина ЕА, Дюжева ЕВ. Принципы комплексной оценки и подготовки эндометрия у пациенток программ вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология*. 2010; 5: 32–6. /Kuz'michev LN, Smol'nikova VYu, Kalinina EA, Duzheva EV. Printsipy kompleksnoi otsenki i podgotovki endometriia u patsientok programm vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologii. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2010; 5: 32–6. [in Russian]
4. Carney SK, Das S, Blake D et al. Assisted hatching on assisted conception (in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI)). *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12. doi:10.1002/14651858.CD001894.pub5.
5. Germond M, Primi MP, Senn A. Hatching: how to select the clinical indications. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034: 145–51. doi:10.1196/annals.1335.017.
6. Satbananiban H, Gunasbeela S, Menezes J. Critical evaluation of human blastocysts for assisted reproduction techniques and embryonic stem cell biotechnology. *Reprod Biomed Online* 2003; 7 (2): 219–27. doi:10.1016/S1472-6483(10)61756-7.
7. DeMeestere I, Barlow P, Leroy F. Hardening of zona pellucida of mouse oocytes and embryos in vivo and in vitro. *Int J Fertil Womens Med* 1997; 42: 219–22.
8. Carroll J, Depypere H, Matthews CD. Freeze-thaw-induced changes of the zona pellucida explains decreased rates of fertilization in frozen-thawed mouse oocytes. *J Reprod Fertil* 1990; 90 (2): 547–53. doi:10.1530/jrf.0.0900547.
9. Lefèvre L, Conner S, Salpekar A et al. Four zona pellucida glycoproteins are expressed in the human. *Hum Reprod* 2004; 19 (7): 1580–6. doi:10.1093/humrep/deh301.
10. Conner SJ, Lefèvre L, Hughes DC, Barratt CLR. Cracking the egg: Increased complexity in the zona pellucida. *Hum Reprod* 2005; 20 (5): 1148–52. doi:10.1093/humrep/deh835.
11. Chakravarty S, Kadunganattil S, Bansal P et al. Relevance of glycosylation of human zona pellucida glycoproteins for their binding to capacitated human spermatozoa and subsequent induction of acrosomal exocytosis. *Mol Reprod Dev* 2008; 75 (1): 75–88. doi:10.1002/mrd.20726.
12. Chiu PC, Wong BS, Chung MK et al. Effects of native human zona pellucida glycoproteins 3 and 4 on acrosome reaction and zona pellucida binding of human spermatozoa. *Biol Reprod* 2008; 79 (5): 869–77. doi:10.1095/biolreprod.108.069344.
13. Gupta SK, Bansal P, Ganguly A et al. Human zona pellucida glycoproteins: functional relevance during fertilization. *J Reprod Immunol* 2009; 83 (1–2): 50–5. doi:10.1016/j.jri.2009.07.008.

14. Rankin T, Talbot P, Lee E, Dean J. Abnormal zonae pellucidae in mice lacking ZP1 result in early embryonic loss. *Development* 1999; 126 (17): 3847–55.
15. Rankin TL, O'Brien M, Lee E et al. Defective zonae pellucidae in Zp2-null mice disrupt folliculogenesis, fertility and development. *Development* 2001; 128 (7): 1119–26.
16. Rankin TL, Familiari M, Lee E et al. Mice homozygous for an insertional mutation in the Zp3 gene lack a zona pellucida and are infertile. *Development* 1996; 122 (9): 2903–10.
17. Pokkyla RM, Lakkakorpi JT, Nuojua-Huttunen SH, Tapanainen JS. Sequence variations in human ZP genes as potential modifiers of zona pellucida architecture. *Fertil Steril* 2011; 95 (8): 2669–72. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.01.168.
18. Adjaye J, Huntriss J, Herwig R et al. Primary differentiation in the human blastocyst: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Reprod Update* 2011; 17 (4): 438–53. doi:10.1093/humupd/dmr012.
19. Martins WP, Rocha LA, Ferriani RA, Nastro CO. Assisted hatching of human embryos: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Reprod Update* 2011; 17 (4): 438–53. doi:10.1093/humupd/dmr012.
20. Cohen J, Alikani M, Trowbridge J, Rosenwaks Z. Implantation enhancement by selective assisted hatching using zona drilling of human embryos with poor prognosis. *Hum Reprod* 1992; 7 (5): 685–91.
21. Hammadeh ME, Fischer-Hammadeh C, Ali KR. Assisted hatching in assisted reproduction: a state of the art. *J Assist Reprod Genet.* 2011; 28 (2): 119–28. doi:10.1007/s10815-010-9495-3.
22. Stein A, Rufas O, Amit S et al. Assisted hatching by partial zona dissection of human pre-embryos in patients with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1995; 63 (4): 838–41.
23. Das S, Blake D, Farquhar C, Seif MM. Assisted hatching on assisted conception (IVF and ICSI). *Cochrane Database Syst Rev* 2009; 2. doi:10.1002/14651858.CD001894.pub4.
24. Cohen J, Elsner C, Kort H et al. Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisting hatching using micromanipulation. *Hum Reprod* 1990; 5 (1): 7–13.
25. Tadir Y, Douglas-Hamilton DH. Laser effects in the manipulation of human eggs and embryos for in vitro fertilization. *Methods Cell Biol* 2007; 82 (6): 409–31. doi:10.1016/S0091-679X(06)82014-5.
26. Nakayama T, Fujiwara H, Tsumi K et al. A new assisted hatching technique using a piezo-micromanipulator. *Fertil Steril* 1998; 69 (4): 784–8. doi:10.1016/S0015-0282(98)00017-X.
27. Nakayama T, Fujiwara H, Yamada S et al. Clinical application of a new assisted hatching method using a piezo-micromanipulator for morphologically low-quality embryos in poor-prognosis infertile patients. *Fertil Steril* 1999; 71 (6): 1014–8. doi:10.1016/S0015-0282(99)00131-4.
28. Feng HL, Hershlag A, Scholl GM, Cohen MA. A retrospective study comparing three different assisted hatching techniques. *Fertil Steril* 2009; 91 (4 Suppl): 1323–5. doi:10.1016/j.fertnstert.2008.02.133.
29. Balaban B, Urman B, Alatas C et al. A comparison of four different techniques of assisted hatching. *Hum Reprod* 2002; 17 (5): 1239–43. doi:10.1093/humrep/17.5.1239.
30. Fong CY, Bongso A, Satbananban H, Ho J, Ng SC. Ultrastructural observations of enzymatically treated human blastocysts: zona-free blastocyst transfer and rescue of blastocysts with hatching difficulties. *Hum Reprod* 2001; 16 (3): 540–6.
31. Hershlag A, Paine T, Cooper GW et al. Monozygotic twinning associated with mechanical assisted hatching. *Fertil Steril* 1999; 71 (1): 144–6. doi:10.1016/S0015-0282(98)00402-6.
32. Schieve LA, Meikle SF, Peterson HB et al. Does assisted hatching pose a risk for monozygotic twinning in pregnancies conceived through in vitro fertilization? *Fertil Steril* 2000; 74 (2): 288–94. doi:10.1016/S0015-0282(00)00602-6.
33. Cohen J. Assisted hatching of human embryos. *J Vitro Fert Embryo Transf* 1991; 8 (4): 179–90. doi:10.1007/bf01130802.
34. Vittbala S, Gelbaya TA, Brison DR et al. The risk of monozygotic twins after assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009; 15 (1): 45–55. doi:10.1093/humupd/dmn045.
35. Alikani M, Noyes N, Cohen J, Rosenwaks Z. Monozygotic twinning in the human is associated with the zona pellucida architecture. *Hum Reprod* 1994; 9 (7): 1318–21.
36. Dale B, Guattieri R, Talevi R et al. Intercellular communication in the early human embryo. *Mol Reprod Dev* 1991; 29 (1): 22–8. doi:10.1002/mrd.1080290105.
37. Yanaibara A, Yorimitsu T, Motoyama H et al. Monozygotic multiple gestation following in vitro fertilization: Analysis of seven cases from Japan. *J Exp Clin Assist Reprod* 2007; 4: 2–5. doi:10.1186/1743-1050-4-4.
38. Eltzur SE, Levron J, Shrim A et al. Monozygotic twinning is not associated with zona pellucida micromanipulation procedures but increases with high-order multiple pregnancies. *Fertil Steril.* 2004; 82 (2): 500–1. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.02.106.
39. Knopman J, Krey LC, Lee J et al. Monozygotic twinning: an eight-year experience at a large IVF center. *Fertil Steril* 2010; 94 (2): 502–10. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.03.064.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ибрагимова Эспет Омарбековна – аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАПИП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: espet2007@yandex.ru
Долгушина Наталья Витальевна – д-р мед. наук, рук. службы научно-организационного обеспечения ФГБУ НЦАПИП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: n_dolgushina@oparina4.ru
Сыркашева Анастасия Григорьевна – канд. мед. наук, науч. сотр. отд. научного планирования и аудита ФГБУ НЦАПИП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: a_syrkasheva@oparina4.ru
Романов Андрей Юрьевич – студент фак-та фундаментальной медицины ФГБОУ ВО МГУ им. М.В.Ломоносова. E-mail: romanov1553@yandex.ru
Языкова Ольга Игоревна – студентка 6-го курса лечебного фак-та ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И.Евдокимова. E-mail: olushka-92@mail.ru
Макарова Наталья Петровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАПИП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: np_makarova@oparina4.ru