На правах рукописи

САМОЙЛОВА

Анастасия Александровна

ИСХОДЫ ПРОГРАММ ЭКО ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОМ ПОДХОДЕ К ЭТАПУ РАННЕГО ЭМБРИОГЕНЕЗА

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2025 г.

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. академика В.И. Краснопольского» Министерства здравоохранения Московской области.

Научный руководитель:
член-корреспондент РАН, профессор,
доктор медицинских наук **Краснопольская К.В.**

Официальные оппоненты:

Калинина Елена Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр Акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Тапильская Наталия Игоревна – доктор медицинских наук, профессор, врач акушер-гинеколог высшей категории, ведущий научный сотрудник, заведующий отделением репродуктологии**.** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта"

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___»_____ 2025 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 72.1.010.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии имени академика В.И. Краснопольского» Министерства здравоохранения Московской области (101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (http://moniiag.ru) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии имени академика В.И. Краснопольского» Министерства здравоохранения Московской области (101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а).

Автореферат разослан «___» _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор Федоров Антон Андреевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) занимают одно из ведущих мест в лечении бесплодия. В настоящее время они широко используются для решения проблем бесплодного брака (Корсак В.С. и др., 2023; Niederberger C. et al., 2018). По данным Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ), ежегодно в России проводят более 165 000 циклов экстракорпорального оплодотворения, в результате которых на свет появляется более 36 000 детей. Частота бесплодных браков в России в целом колеблется в пределах 15 – 20% и не имеет тенденции к снижению (Корсак В.С., 2023). Наиболее эффективным в преодолении бесплодного брака считается рациональное использование ВРТ. Однако, несмотря на богатый опыт применения и оптимизации процедур ВРТ, частота наступления клинической беременности (ЧНБ) в последние годы существенно не меняется (Корсак В.С., 2023; Carson S.A. et al., 2021; Клин. рекомендации РОАГ, 2019).

В последние годы демографическая ситуация претерпела существенные изменения как в мире, так и в Российской Федерации: на сегодняшний день имеется тенденция к откладыванию деторождения на более поздний возрастной период, а возраст первых родов составляет 31-32 года, следовательно, в период деторождения только начинают вступать женщины, родившиеся в период 1991-1992гг, когда отмечался спад рождаемости («Русский крест») (Cedars M.I., 2022). Кроме этого, возрастной фактор вносит свой вклад в снижение рождаемости за счет обратно пропорциональной связи между ЧНБ и наличием сопутствующих гинекологических и экстрагенитальных заболеваний, а также генетическими и акушерскими рисками во время вынашивания беременности (выкидыши, преждевременные роды, эклампсия) (Kucherov A. et al., 2023; Ribeiro S. et al., 2023). В старшем репродуктивном возрасте отмечено снижение овариального резерва, а, следовательно, и эффективность программ ЭКО: у женщин старше 36 лет данный показатель не превышает 20-25%, стремительно снижаясь с каждым годом после 40 лет (Корсак В.С., 2023; Ubaldi F.M. et al., 2019; Kucherov A. et

al., 2023; Ribeiro S. et al., 2023). К снижению овариального резерва также приводят оперативные вмешательства на органах малого таза, а их последствиями при проведении программ ВРТ является «бедный» ответ на стимуляцию, что значительно снижает эффективность программ ЭКО (Choi S.K.Y. et al., 2022). ЧНБ коррелирует с количеством полученных ооцитов. Каждый дополнительный ооцит увеличивает вероятность положительного результата, женщины с «бедным» ответом яичников имеют более низкие шансы на зачатие по сравнению с женщинами с нормальным или высоким овариальным резервом, даже после нескольких циклов ЭКО (Massin N. et al., 2023). К нерешенным вопросам относятся повторные неудачи имплантации при использовании ВРТ, которые могут быть связаны с качеством переносимых эмбрионов. При получении малого количества ооцитов в программах ЭКО повышаются риски отсутствия эмбрионов хорошего качества, пригодных для переноса, что в период раннего эмбриогенеза приводит к повышению частоты «незавершенных циклов». В целом, у этих пациенток наибольшего внимания заслуживает этап раннего эмбриогенеза. К причинам отсутствия клинической беременности после 3-х и более неудачных переносов эмбрионов (ПЭ) в анамнезе относят старший возраст матери, различные болезни органов малого таза, в том числе матки, а также качество переносимых эмбрионов (Sheikhansari G. et al., 2020).

Известно, что около 80% зигот не развиваются до предимплантационной стадии, а также не все полученные бластоцисты имплантируются. В связи с этим все больше внимания уделяется этапу культивирования эмбрионов и выбору эмбриона для переноса.

Поиск эффективных и воспроизводимых критериев для выявления эмбриона с самым высоким потенциалом развития относится к наиболее важным научным и клиническим задачам репродуктологии.

Отбор эмбрионов лучшего качества представляет собой очередную нерешенную задачу ЭКО, поскольку наиболее важные периоды раннего эмбриогенеза проходят в закрытых инкубаторах и не доступны визуальному контролю. Первоначальной доступной оценкой эмбриона была единственно

возможная доступная морфологическая стратегия, предложенная Гарднером (Minasi M.G. et al., 2020). В Венском консенсусе (2017) были обозначены наиболее эффективные параметры оценки качества эмбриона (Reprod Biomed Online, 2017). Кроме этого, для получения эмбрионов хорошего качества на 5-е сутки необходимо обеспечить оптимальные условия для их культивирования. Появление инкубатора нового типа со встроенной системой видеомониторирования позволяет анализировать динамические события в развитии эмбрионов – от оплодотворения до образования бластоцисты, что позволило существенно повысить оценку качества эмбриона и спрогнозировать эффективность его имплантации в эндометрий (Sciorio R. et al., 2021). Time-lapse-микроскопия (TLM – микроскопия с временным интервалом) существенно повысила эффективность отбора эмбрионов с максимальным потенциалом имплантации. Эта технология позволяет проводить неинвазивное наблюдение за эмбрионами без необходимости выводить их из оптимальных условий культивирования, дает возможность оценивать структуру эмбрионов в динамике, с интервалом 5-10 мин (Meseguer, M., 2016; Wang, S.X.Y., 2011).

Многие морфокинетические параметры эмбрионов, культивируемых в системе Time-lapse, оцениваются как биомаркеры оптимального отбора эмбрионов, в том числе для прогнозирования плоидного статуса эмбрионов (Parvanov D. et al., 2021). Однако сохраняющиеся неудачи программ ЭКО требуют продолжения научного поиска биомаркеров, способных прогнозировать эмбриогенез для конкретных практических целей: выбора персонализированного метода ВРТ лечения бесплодия у конкретной супружеской пары.

Степень разработанности темы исследования

К настоящему времени данные о результатах использования Time-lapse system опираются на неселективные выборки пациенток, разделенных исключительно по способу культивирования эмбрионов, остаются не систематизированными по ряду позиций, а по ряду – противоречивыми.

Таким образом, поиск новых способов повышения результативности ЭКО, несмотря на многочисленные исследования, остается весьма актуальным, особенно у женщин старшего репродуктивного возраста, и у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию.

Цель исследования

Повышение эффективности программ ВРТ с использованием Time-lapse системы в селективно отобранных клинических группах.

Задачи исследования

1. Сравнить эффективность программ ЭКО по показателям этапа раннего эмбриогенеза при использовании разных технологий культивирования у пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО, пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию, пациенток с повторными неудачами имплантации, пациенток позднего репродуктивного возраста.
2. Оценить эффективность программ ЭКО по частоте наступления беременности в зависимости от технологии культивирования полученных эмбрионов у пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО, пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию, пациенток с повторными неудачами имплантации, пациенток позднего репродуктивного возраста.
3. Сравнить частоту ранних репродуктивных потерь при культивировании в стандартных условиях и при применении Time-lapse системы у пациенток указанных групп
4. Определить наличие/отсутствие корреляционной связи между хромосомными аномалиями эмбрионов и их эмбриологическим развитием при культивировании в системе Time-lapse.
5. Определить наличие корреляционной зависимости плоидного статуса эмбриона и морфокинетической оценкой по шкале KIDScore D5, версия 4 в группе пациенток оптимального и старшего репродуктивного возраста
6. Разработать алгоритм использования системы Time-lapse в программах ВРТ

Научная новизна исследования

Впервые в России проведено исследование влияния различных технологий культивирования эмбрионов на селективно подобранных группах и показано повышение эффективности программ ЭКО при использовании Time-lapse технологии у пациенток старшего репродуктивного возраста и пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию. Впервые показано, что применение инкубатора с системой Time-lapse способствует возрастанию кумулятивной ЧНБ на каждый стимулированный цикл, хотя и не обеспечивает увеличения показателя ЧНБпэ при переносе эмбрионов в нативном цикле стимуляции. До настоящего времени не проводилось исследований, оценивающих влияние культивирования эмбрионов в инкубаторе Time-lapse на повышение кумулятивной частоты наступления беременности за счет получения большего количества эмбрионов хорошего качества у пациентов в селективных группах. Это может дать возможность сократить частоту «незавершенных» циклов и получить большее число эмбрионов хорошего качества, что позволяет осуществлять больше переносов в пересчете на один стимулированный цикл, за счет криоконсервации оставшихся эмбрионов и их последующего использования. Впервые оценена корреляционная связь бальной оценки KIDScore D5 с частотой анеуплоидий у пациенток различных возрастных групп.

Теоретическая и практическая значимость работы

Усовершенствование культивирования эмбрионов с использованием Time-lapse системы достоверно повышает частоту наступления беременности и ее вынашивания, особенно в когорте пациенток старшего репродуктивного возраста и с повторными неудачами ЭКО.

Применение культивирования в стандартных условиях у группы пациенток молодого репродуктивного возраста, с сохранным овариальным резервом, адекватным ответом на стимуляцию, с одной стороны, не снижает ЧНБ, с другой – уменьшает финансовые затраты на применение Time-lapse технологии.

Методология и методы исследования

Исследовательская работа выполнена на базе ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. академика В.И. Краснопольского». Лечение бесплодия методом ВРТ выполнялось сотрудниками отделения репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ им. академика В.И. Краснопольского (руководитель – член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор Краснопольская К. В.).

Проведен ретроспективный анализ 2185 пациенток, проводивших программы ЭКО,

Когорта I – 671 пациентка с хорошим прогнозом программ ЭКО: группа 1 (n = 551): культивирование эмбрионов в стандартных инкубаторах; группа 2 (n = 120): культивирование эмбрионов с использованием инкубатора с Time-lapse системой. **Когорта II** – 457 пациенток с «бедным» ответом на гонадотропины в программах ЭКО: группа 3 (n = 374): пациентки, у которых культивирование эмбрионов проводилось в стандартных инкубаторах; группа 4 (n = 83): пациентки, у которых культивирование эмбрионов проводилось с использованием инкубатора с Time-lapse системой. **Когорта III –** 399 пациенток с повторными неудачами имплантации в программах ЭКО: группа 5 (n = 247): пациентки, у которых культивирование эмбрионов проводилось в стандартных инкубаторах; группа 6 (n = 152): пациентки, у которых культивирование эмбрионов проводилось с использованием инкубатора с Time-lapse системой. **Когорта IV –** 658 пациенток старшего репродуктивного возраста: группа 7 (n = 526): пациентки, у которых культивирование эмбрионов проводилось в стандартных инкубаторах; группа 8 (n = 132): пациентки, у которых культивирование эмбрионов проводилось с использованием инкубатора с Time-lapse системой.

Настоящее исследование одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ МО МОНИИАГ до его начала (протокол № 9 от 23.11.2021 г.). Все испытуемые перед включением в исследование подписали информированное добровольное согласие на обработку их персональных данных в научных

целях. Тема исследования утверждена на заседании ученого совета ГБУЗ МО МОНИИАГ 23 ноября 2021 г. (протокол №10.5).

Основные положения, выносимые на защиту

1. У пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию, пациенток старшего репродуктивного возраста культивирование эмбрионов с применением системы Time-lapse достоверно увеличивает число генерируемых бластоцист хорошего качества и достоверно снижает число «незавершенных» циклов. У пациенток в неселективной популяции, пациенток с хорошим прогнозом успеха программы ЭКО и женщин с повторными неудачами имплантации культивирование эмбрионов с применением системы Time-lapse, по сравнению со стандартными условиями культивирования, не улучшает параметры раннего эмбриогенеза по показателям оплодотворения, количеству генерируемых качественных бластоцист, «незавершенных» циклов.

2. Частота ранних репродуктивных потерь имеет тенденцию к снижению при культивировании эмбрионов с использованием системы Time-lapse у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию суперовуляции. Культивирование эмбрионов с применением системы Time-lapse не приводит к снижению частоты ранних репродуктивных потерь у пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО, пациенток с повторными неудачами имплантации и женщин позднего репродуктивного возраста. Частота наступления беременности на перенос эмбриона достоверно не отличается во всех когортах, независимо от условий культивирования, несмотря на тенденцию к улучшению показателей имплантации в когорте пациенток с «бедным» ответом и в старшем репродуктивном возрасте при культивировании эмбрионов с использованием системы Time-lapse.

3. Использование искусственного интеллекта в инкубаторе с системой Time-lapse позволяет выявить у пациенток старшего репродуктивного возраста, в отличие от пациенток молодого репродуктивного возраста, достоверно большее количество эмбрионов с низкой суммой баллов. Наибольшее количество анеуплоидных эмбрионов встречается при низкой сумме баллов по

шкале KIDScore D5 вне зависимости от возраста, при этом у пациенток старшего репродуктивного возраста средняя и высокая сумма баллов по шкале KIDScore D5 дает одинаково высокий процент анеуплоидий.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор участвовал в сборе анамнестических, клинико-лабораторных и инструментальных данных у части проспективных пациенток. Диссертант провел ретроспективный анализ более 500 карт для оценки программ ЭКО и репродуктивных исходов. Принимал активное участие в проведении программ ЭКО и ведение пациенток по беременности в 1 триместре. Совместно с научным руководителем по результатам проведенного исследования сформулированы выводы и практические рекомендации.

Апробация диссертации и внедрение полученных результатов в практику

Апробация диссертационной работы состоялась в ходе заседания №7 Ученого совета ГБУЗ МО МОНИИАГ имени академика В.И. Краснопольского (в рамках Государственной итоговой аттестации) 28.05.2024 г. Материалы диссертации были представлены в ходе следующих научных мероприятий: 1) «Time-lapse инкубатор, есть ли реальные преимущества?» проф. Краснопольская К.В., Самойлова А.А., Конькова А.Л. – XVII Общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии». 8–11 сентября 2023 года, г. Сочи. 2) «Использование Time-lapse технологии при дифференцированном подходе к пациентке в программах ВРТ» - проф. Краснопольская К.В., Самойлова А.А. – Международный форум по репродуктивной медицине. 30 сентября 2023 года, г. Екатеринбург. 3) «Искусственный интеллект в ВРТ» проф. Краснопольская К.В., Самойлова А.А. – I Московский Областной конгресс «Подмосковные вечера. У истоков жизни». 24 мая 2024 года, г. Москва. 4) «Способы повышения эффективности программ экстракорпорального оплодотворения» - проф. Краснопольская К.В., Самойлова А.А. – XVII Общероссийский

научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии». 6-9 сентября 2024 года, г. Сочи.

Публикации по теме диссертации

По теме настоящего исследования было опубликовано 5 печатных работ, все они были напечатаны в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Из данных научных работ 4 были опубликованы в журнале, индексируемом реферативной базой данных SCOPUS.

Структура и объем диссертации

Диссертация представлена рукописью на русском языке, объемом 102 машинописные страницы и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и списка используемой литературы. Иллюстративный материал включает 17 таблиц и 6 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленной целью и задачами в исследование было проведено ретро и проспективное обследование 3000 инфертильных пациенток, обратившихся в отделение репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ имени академика В.И. Краснопольского. После анализа клинико-анамнестических данных и проведенного обследования в исследование было включено 2185 пациенток, прошедших программу ЭКО, которые в зависимости от способа культивирования были разделены на две группы: у одной группы культивирование эмбрионов проводилось с использованием стандартного инкубатора, другую группу составили пациентки, у которых культивирование эмбрионов проходило в инкубаторе с использованием Time-lapse системы.

Далее, согласно дизайну исследования, неселективная популяция была

разделена на четыре когорты в зависимости от факторов, влияющих на исходы программ ЭКО. В дальнейшем каждая когорта подразделилась на 2 группы в зависимости от способа культивирования эмбрионов.

На 2 этапе исследования у пациенток с подтвержденной беременностью проведена оценка ранних репродуктивных потерь в каждой когорте в зависимости от способа культивирования эмбрионов. На 3 этапе согласно поставленным задачам исследования нами была проведена оценка корреляционной связи между плоидным статусом эмбрионов по данным ПГТ-А и оценкой морфокинетических параметров эмбрионального развития с применением шкалы KIDScore D5 в зависимости от возраста пациенток.

Оценивали корреляционную связь между наличием анеуплоидии по данным ПГТ-А и балльной оценкой морфокинетических параметров эмбрионального развития с применением шкалы KIDScore D5 у эмбрионов, культивирование которых проводилось с применением системы Time-lapse в зависимости от возраста пациенток.

Учитывая поставленную цель исследования – персонализировать подход к определенным группам пациенток – критерии включения отличались в каждой когорте пациенток. *Общие критерии включения*: согласие на добровольное участие в научном исследовании, медицинские показания для проведения программы ЭКО согласно приказу МЗ РФ № 803н.

Критерии включения для I когорты: репродуктивный возраст пациенток ≤ 35; сохранный овариальный резерв АМГ $> 1{,}2$; 1я или 2я предстоящая программа ЭКО, отсутствие мужского фактора бесплодия.

Критерии включения для II когорты: получение при трансвагинальной пункции фолликулов < 3 ооцитов; репродуктивный возраст пациенток ≤ 42.

Критерии включения для III когорты: в анамнезе 3 и более неудачных программ ЭКО с адекватным ответом на стимуляцию суперовуляции (при трансвагинальной пункции фолликулов получено > 3).

Критерии включения для IV когорты: репродуктивный возраст пациенток ≥ 36; получение при трансвагинальной пункции фолликулов > 3 ооцитов.

Общими критериями исключения явились: наличие противопоказаний к программам ВРТ согласно приказу № 803 н; аномалия кариотипа; мужской фактор бесплодия; наличие тяжелой экстрагенитальной патологии.

Критерии исключения для I когорты: репродуктивный возраст пациенток ≥ 36; получение при трансвагинальной пункции фолликулов < 3 ооцитов; сниженный овариальный резерв АМГ $< 1{,}2$; более 2-х программ ЭКО в анамнезе.

Критерии исключения для II когорты: получение при трансвагинальной пункции фолликулов > 3 ооцитов; репродуктивный возраст пациенток ≥ 42.

Критерии исключения для III когорты: 1-я, 2-я предстоящая программы ЭКО; репродуктивный возраст пациенток ≥ 42,

Критерии исключения для IV когорты: репродуктивный возраст пациенток < 36 и ≥ 42; получение при трансвагинальной пункции фолликулов < 3 ооцитов; в анамнезе 3 и более неудачные программы ЭКО с адекватным ответом на стимуляцию суперовуляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке данных клинико-анамнестического обследования группы женщин внутри каждой когорты в целом были сопоставимы по возрасту, типу и факторам бесплодия, овариальному резерву, гормональному профилю, используемому протоколу стимуляции.

При межкогортном сравнении наименьший средний возраст отмечен у пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО, который составил 31,42 года. Во II когорте, у пациенток с «бедным» ответом на гонадотропины, в программах ЭКО средний возраст пациенток – 36,57 лет. Возраст пациенток с повторными неудачными программами ЭКО в анамнезе составил 37,28 лет. Средний возраст женщин из когорты IV – пациентки старшего репродуктивного возраста был закономерно самым высоким и составлял 38,8 лет.

Все пациентки, включенные в исследование, имели нормальный тип телосложения. Средние значения ИМТ соответствовали нормальным

значениям и не имели статистически значимых различий при внутрикогортном сравнении: в I когорте – 23,86 кг/м^2, во II когорте – 24,79 кг/м^2, в когорте III – 24,68 кг/м^2, IV когорте – 24,63 кг/м^2 (p=0,874).

У пациенток с хорошим прогнозом успеха программ ЭКО и пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию было выявлено преобладание первичного бесплодия над вторичным. Так, частота первичного бесплодия у пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО составляла 56,04%, у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию – 55,54%. Напротив, пациентки с повторными неудачами имплантации и пациентки старшего репродуктивного возраста чаще имели вторичное бесплодие. Процент первичного бесплодия у пациенток III когорты составил 33,08%, у IV когорты – 37,39%.

При анализе факторов, явившихся причинами бесплодия в когорте I – пациентки с хорошим прогнозом успеха программы ЭКО и когорте II – пациентки с «бедным» ответом на стимуляцию суперовуляции – более половины исследуемых имели трубно-перитонеальный фактор бесплодия: 56,18% и 50,11% соответственно. В старшем репродуктивном возрасте также наиболее часто встречался трубно-перитонеальный фактор бесплодия: в группах 7 и 8 – 29,94%. У пациенток с повторными неудачами имплантации наиболее частой причиной бесплодия явился наружный генитальный эндометриоз – 41,35%.

Согласно собранным данным, диагностические и лечебные лапароскопические вмешательства по поводу миом, наружного генитального эндометриоза, кистозных образований яичников, патологии маточных труб наиболее часто в анамнезе проводились у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию гонадотропинами (II когорта) – 56,12%, в отличие от других когорт. Оперативные гистероскопии в анамнезе, проводившиеся у пациенток с гиперпластическими процессами в эндометрии, а также с целью диагностики состояния эндометрия у пациенток с повторными неудачами имплантации, с самой высокой частотой отмечены в III когорте – 49,78%, в отличие от остальных когорт. Оперативные вмешательства на шейке матке в анамнезе включали пункционные биопсии, эксцизии и конизации. При межкогортном

сравнении частота этих оперативных вмешательств оказалась низкой во всех группах исследования без достоверно значимых отличий.

При анализе акушерского анамнеза у пациенток с вторичным бесплодием при межкогортном сравнении ранние репродуктивные потери наиболее часто отмечались в анамнезе женщин с повторными неудачами имплантации и у пациенток старшего репродуктивного возраста – 34,7% и 37% соответственно. Внематочные беременности в анамнезе реже встречались у пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО – 12,54%. У пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию суперовуляции, повторными неудачами имплантации и женщин старшего репродуктивного возраста частота внематочных беременностей не имела статистически значимых отличий. Данные о преждевременных и своевременных родах были сопоставимы при межкогортном и внутригрупповом исследовании и не имели статистически значимых различий.

Всем пациенткам, вошедшим в исследование, была проведена стандартная программа ЭКО. Статистический анализ вида проводимого протокола не выявил значимых различий в группах внутри когорт. Однако стоит отметить преобладание выбора протоколов с антагонистами ГнРГ в когорте пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО, когорте пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию: группа 1 (культивирование в стандартном инкубаторе) – 65,9% против группы 2 (культивирование в инкубаторе с использованием системы Time-lapse) – 65,8% (p=0,568), группа 3 – 67,1% против 71,1% в группе 4 (p=0,683). Обратная картина наблюдается в когорте пациенток с повторными неудачами имплантации, у которых наиболее часто проводился протокол с агонистами ГнРГ: в группе пациенток с культивированием эмбрионов в стандартном инкубаторе в 60,07%; при культивировании в инкубаторе с системой Time-lapse - в 59,21% (p=0,914). У пациенток старшего репродуктивного возраста не было значимого различия в виде протокола вне зависимости от способа культивирования.

Согласно дизайну исследования, на 1 этапе нами был проведен сравнительный анализ результатов этапа раннего эмбриогенеза в зависимости

от способа культивирования эмбрионов в неселективной популяции пациенток. При оценке частоты оплодотворения не наблюдалось достоверно значимой разницы в способе культивирования эмбрионов между стандартным инкубатором – 65,86% и инкубатором с системой Time-lapse – 64,64% (p=0,674). Применение инкубатора с системой Time-lapse в неселективной популяции обеспечило генерацию сопоставимого процента бластоцист хорошего качества: 48,32% и 49,19% соответственно (p=0,734). Применение стандартного инкубатора или с системой Time-lapse не сопровождалось статистически значимым различием по частоте «незавершенных» циклов, в которых не удавалось получить пригодные к переносу бластоцисты (13,36% и 10,79%, p=0,395) (Таблица 1).

Таблица 1 – Результаты культивирования эмбрионов в стандартном инкубаторе и с системой Time-lapse в неселективной популяции

Параметры		**Стандартный инкубатор**	**Инкубатор с системой Time-lapse**	**p**
Количество циклов (n=2185)		1698	487	
Количество ооцитов		11691	3554	
Показатели оплодотворения	абс	7700	2297	
	% от числа ооцитов	65,86%	64,64%	0,674
Количество полученных качественных бластоцист	абс	3875	1130	
	% от числа зигот, всего	48,32%	49,19%	0,734
Циклы, не сопровождавшиеся получением качественных бластоцист	абс	518	122	
	% от числа всех циклов	13,36%	10,79%	0,395

Прицельная оценка параметров оплодотворения у инфертильных пациенток с хорошим прогнозом программы ЭКО, как и в неселективной популяции, показала отсутствие статистически значимой разницы в показателях оплодотворения (65,71% против 66,02%, p=0,492), генерации

бластоцист хорошего качества (71,31% против 69,94%, p=0,512), числу «незавершенных» циклов (8,5% против 6,7%, p=0,274) (Таблица 2).

Данные этапа раннего эмбриогенеза инфертильных пациенток с «бедным» ответом на гонадотропины по показателям оплодотворения не дали статистически значимой разницы между способами культивирования (70,08% против 69,23%, p=0,491). При культивировании в стандартном инкубаторе выход бластоцист хорошего качества составил 40,09% против 45,52% в сравнении с использованием Time-lapse системы; достоверных отличий между группами не было (p=0,231). Аналогичная закономерность наблюдается в частоте «незавершенных» циклов (59,95% и 50,60%, p=0,198) (Таблица 2).

Отдельно нами была проведена оценка этапа раннего эмбриогенеза в когорте инфертильных пациенток с повторными неудачами имплантации. Сходно с предыдущими у данной когорты пациенток отсутствует достоверно значимая разница в показателях оплодотворения (65,38% против 66,14%, p=0,325), получения качественных бластоцист (33,46% против 33,86%, p=0,481) и «незавершенных» циклов (35,63% против 28,95%, p=0,219) (Таблица 2).

У инфертильных пациенток старшего репродуктивного возраста также отсутствовали достоверные различия по данным показателя оплодотворения (65,85% против 66,02%, p=0,843). Однако у пациенток с применением культивирования в инкубаторе с системой Time-lapse число полученных бластоцист хорошего качества оказалось достоверно больше (40,64% против 29,66%, p=0,025). Отмечалась тенденция к достоверно меньшему числу «незавершенных» циклов у пациенток при культивировании с использованием системы Time-lapse (21,21% против 32,32%, p=0,032) (Таблица 2)

При межкогортном анализе данных пациенток с «бедным» ответом на гонадотропины, женщин с повторными неудачами имплантации и позднего репродуктивного возраста демонстрируется меньший процент генерации качественных бластоцист и больший процент «незавершенных» циклов в отличие от пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО.

Таблица 2 – Результаты культивирования эмбрионов в стандартном инкубаторе и с системой Time-lapse

Параметры		Стандартный инкубатор (группа 1)	Инкубатор с системой Time-lapse (группа 2)	p	Стандартный инкубатор (группа 3)	Инкубатор с системой Time-lapse (группа 4)	p	Стандартный инкубатор (группа 5)	Инкубатор с системой Time-lapse (группа 6)	p	Стандартный инкубатор (группа 7)	Инкубатор с системой Time-lapse (группа 8)	p
Количество циклов (n=671)		551	120		374	83		247	152		526	132	
Количество ооцитов		5596	1189		234	156		1632	1173		4229	1036	
Показатели оплодотворения	абс	3677	785		171	108		1067	756		2785	648	
	% от числа ооцитов	65,71%	66,02%	0,492	70,08%	69,23%	0,491	65,38%	66,14%	0,325	65,85%	66,02%	0,743
Количество полученных качественных бластоцист	абс	2622	549		70	47		357	256		826	278	
	% от числа зигот всего	71,31%	69,94%	0,512	40,09%	45,52%	0,231	33,46%	33,86%	0,481	29,66%	40,64%	0,025
Циклы, не сопровождавшиеся получением качественных бластоцист	абс	47	8		213	42		88	44		170	28	
	% от числа всех циклов	8,5%	6,7%	0,274	59,95%	50,60%	0,198	35,63%	28,95%	0,219	32,32%	21,21%	0,032

Согласно дизайну исследования, на 2 этапе для решения 3 и 4 поставленных задач была проведена оценка ЧНБ и частота ранних репродуктивных потерь у пациенток в зависимости от прогноза программ ЭКО.

При оценке данных параметров у когорты инфертильных пациенток с хорошим прогнозом программ ЭКО не выявлено статистически значимой разницы по ЧНБ (42,05% против 44,44%, p=0,684) и ранним репродуктивным потерям (10,76% против 10,71%, p=0,964), независимо от способа культивирования эмбрионов (Таблица 3).

У пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию также отсутствуют достоверные различия между используемым способом культивирования в показателях ЧНБ (39,82% против 42,11%, p=0,543) и ранними репродуктивными потерями (15,56% против 10,52%, p=0,375).

У инфертильных пациенток с повторными неудачами имплантации аналогично предыдущим когортам отсутствуют статистически значимые различия как по показателю ЧНБ (39,77% против 41,46%, p=0,592), так и по ранним репродуктивным потерям (8,7% против 5,8%, p=0,489) (Таблица 3).

У пациенток старшего репродуктивного возраста отсутствуют достоверные различия между используемым способом культивирования в показателях ЧНБ (24,87% против 28,57%, p=0,671) и ранних репродуктивных потерь (35,41% против 33,33%, p=0,285).

Представленные данные по ЧНБ при межкогортном исследовании указывают на более низкую частоту наступления беременности и более высокую частоту репродуктивных потерь у пациенток старшего репродуктивного возраста. Когорта II – пациентки с «бедным» ответом на стимуляцию гонадотропинами и повторными неудачами имплантации (когорта III) – независимо от используемой технологии культивирования эмбрионов, также характеризовались более низкими значениями показателей ЧНБ в сравнении с пациентками с хорошим прогнозом программ ЭКО.

Таблица 3 – Частота наступления беременности и ранние репродуктивные потери при культивировании эмбрионов в стандартном инкубаторе и с системой Time-lapse

Параметры		**Стандартный инкубатор (группа 1)**	**Инкубатор с системой Time-lapse (группа 2)**	**p**	**Стандартный инкубатор (группа 3)**	**Инкубатор с системой Time-lapse (группа 4)**	**p**	**Стандартный инкубатор (группа 5)**	**Инкубатор с системой Time-lapse (группа 6)**	**p**	**Стандартный инкубатор (группа 7)**	**Инкубатор с системой Time-lapse (группа 8)**	**p**
Перенесено эмбрионов (n=365)	абс	302	63		113	19		88	41		193	21	
Частота наступления беременности	абс	130	28		45	8		35	17		48	6	
	% от числа переносов	43,05%	44,44%	0,684	39,82%	42,11%	0,543	39,77%	41,46%	0,593	24,87%	28,57%	0,671
Частота ранних репродуктивных потерь (n=17)	абс	14	3		7	2		3	1		17	2	
	% от ЧНБ	10,76%	10,71%	0,964	15,56%	10,52%	0,375	8,7%	5,8%	0,489	35,41%	33,33%	0,285

Согласно задачам и дизайну исследования нами были оценены пациентки, которым было проведено ПГТ-А, подразделенные на 2 подгруппы в зависимости от возраста: младший репродуктивный возраст (<36 лет) и старший репродуктивный возраст (≥36 лет).

Анализ результатов ПГТ-А не выявил достоверного преимущества между способами культивирования и обеспечил сопоставимую частоту получения бластоцист как в молодом (70,91% и 78,88%, p=0,412), так и в старшем репродуктивном возрасте (49,82% и 46,92%, p=0,425). Однако при оценке плоидного статуса эмбрионов в зависимости от возраста достоверно большее количество эуплоидных эмбрионов было у пациенток молодого репродуктивного возраста, как при культивировании в стандартных условиях (70,91% против 49,82%, p=0,003), так и с применением культивирования с Time-lapse системой (78,88% против 46,92%, p=0,005) (Таблица 4).

Таблица 4 – Результаты ПГТ-А при культивировании эмбрионов с применением стандартной и Time-lapse технологии

Сравниваемые группы пациенток с разным прогнозом успешного использования ЭКО		**Стандартный инкубатор (n = 338)**	**Инкубатор с системой Time-lapse (n = 243)**	**P**
Кол-во эмбрионов, которым проведено ПГТ-А у пациенток молодого репродуктивного возраста (n=88)		55	33	
Кол-во эмбрионов, рекомендованных к переносу в возрасте <36 лет	Абс	39	26	
	%	70,91%*	78,88%*	0,412
Кол-во эмбрионов, которым проведено ПГТ-А у пациенток старшего репродуктивного возраста (n=493)		283	210	
Кол-во эмбрионов, рекомендованных к переносу в старшем репродуктивном возрасте ≥36 лет	Абс	141	97	
	%	49,82%**	46,92%**	0,425
P между * vs**		0,003	0,005	

Оценка корреляционной связи между морфокинетическими параметрами эмбрионов, культивируемых в инкубаторе с системой Time-lapse с учетом их балльной характеристики по шкале KS5 и возрастом исследуемых пациенток выявила, что у пациенток старше 36 лет, в сравнении с пациентками молодого репродуктивного возраста, отмечалась вдвое большая частота эмбрионов с

низкой суммой баллов (24,0% против 12,16%, p=0,003) и одновременно вдвое меньшая частота эмбрионов с высокой оценкой их морфокинетических параметров (20,21% против 42,08%, p=0,007). Доли полученных бластоцист, имеющих среднюю сумму баллов, достоверно не отличались и составляли (45,75% и 55,78%, p=0,493) (Таблица 5).

С целью оценки корреляционной связи между частотой анеуплоидии эмбрионов, культивируемых в инкубаторе с системой Time-lapse, их балльной характеристики по шкале KS5 и возрастом исследуемых пациенток, анеуплоидные эмбрионы по данным ПГТ-А были разделены в зависимости от возраста пациенток. Количество эмбрионов составило 146 и 289 в молодом и старшем репродуктивном возрасте соответственно.

Частота анеуплоидных эмбрионов с низкой, средней и высокой оценкой в зависимости от молодого и старшего репродуктивного возраста составила соответственно 71,87% против 81,25% (p=0,009); 51,72% против 64,35% (p=0,004) и 37,5% против 69,35% (p=0,001). Из полученных результатов следует, что частота эмбриональной анеуплоидии нарастает при ухудшении морфокинетических параметров развивающихся эмбрионов во всех возрастных группах, однако у женщин старше 36 лет это явление более выражено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение TLT-инкубаторов вместо традиционных планшетных аналогов эффективно у женщин старше 36 лет, пациенток с «бедным» ответом на гонадотропины, с повторными неудачами имплантации, увеличивая число качественных бластоцист и снижая число незавершенных циклов. У женщин с разным прогнозом успеха ЭКО преимущество TLT-инкубатора менее выражено, хотя и увеличивает число возможных переносов, повышая кумулятивную ЧНБ. Женщинам старше 36 лет целесообразно приоритетное назначение ПГТ-А, независимо от типа инкубатора и морфокинетических параметров эмбриона, поскольку медико-генетическое заключение важнее морфологической оценки. Оценка KIDScore D5 имеет безусловное значение

для отбора эмбрионов для переноса. Однако в старшем репродуктивном возрасте целесообразно совместное использование KIDScore D5 с генетическим тестированием эмбрионов.

ВЫВОДЫ

1. Использование системы ИИ в рутинной практике ВРТ требует персонализированного подхода для отбора пациенток, которым возможно повысить эффективность программ ЭКО применением инкубатора с системой Time-lapse.

2. Time-lapse технология обеспечивает достоверное улучшение показателей эмбриогенеза (проявляемое в увеличении частоты получаемых бластоцист и снижении частоты «незавершенных» циклов) в когорте пациенток старше 36 лет и оказывает менее выраженный аналогичный эффект в когортах женщин с бедным ответом и повторными неудачами имплантации.

3. Использование технологии Time-lapse при хорошем прогнозе программ ЭКО, у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию, с повторными неудачами имплантации, старшего репродуктивного возраста не обеспечивает достоверного улучшения показателей ЧНБ и снижения частоты ранних репродуктивных потерь, за исключением пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию, у которых уменьшается частота ранних репродуктивных потерь при культивировании в инкубаторе Time-lapse. Из-за возможности получения в таких инкубаторах большего числа качественных бластоцист есть возможность увеличить число переносов эмбрионов на один стимулированный цикл и тем самым увеличить кумулятивную частоту наступления беременности.

4. Частота эмбриональной анеуплоидии в старшем репродуктивном возрасте увеличивается до 55%, независимо от условий культивирования.

5. Использование Time-lapse-технологии клеточного культивирования в сравнении с традиционной методологией не обеспечивает снижения частоты эмбриональной анеуплоидии. Оправданно приоритетное назначение ПГТ-А женщинам старшего репродуктивного возраста, поскольку у них отмечается

существенное возрастание доли анеуплоидных эмбрионов независимо от условий культивирования.

6. У пациенток старшего репродуктивного возраста происходит достоверное ухудшение морфокинетических параметров эмбрионов, на что указывает большее число анеуплоидных эмбрионов с низкой суммой баллов при оценке по шкале KIDScore D5.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Культивирование эмбрионов в инкубаторе с системой Time-lapse достоверно снижает долю «незавершенных» циклов, что повышает количество эмбрионов, пригодных для криоконсервации, а, следовательно, повышает кумулятивную частоту наступления беременности.

2. Применение культивирования эмбрионов в инкубаторе с системой Time-lapse наиболее оправдано у пациенток с «бедным» ответом на стимуляцию, женщин старшего репродуктивного возраста.

3. ПГТ-А при культивировании эмбрионов в инкубаторе Time-lapse оправдано при низкой сумме баллов согласно шкале KIDScore D5.

4. Высокая оценка баллов согласно шкале KIDScore D5 у пациенток старшего репродуктивного возраста не обеспечивает достоверного снижения числа эмбрионов с анеуплоидией, следовательно, представляется оправданным назначение ПГТ-А, независимо от результатов оценки их морфокинетических параметров.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Краснопольская К.В., Самойлова А.А., Ершова И.Ю., Куллыев А.П. Современные методы оценки качества эмбрионов // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2023. – Т.23. – №3. – С. 49-55 **(Перечень ВАК РФ, SCOPUS).**

2. Краснопольская К.В., Самойлова А.А., Ершова И.Ю., Исакова К.М., Конеева Ц.О., Бочарова Т.В. Особенности репродуктивного статуса при культивировании эмбрионов с использованием традиционной и time-lapse технологии (TLT) // Проблемы репродукции. – 2023. Т.29. – №3 – С. 45-53 **(Перечень ВАК РФ, SCOPUS).**

3. Краснопольская К.В., Самойлова А.А., Ершова И.Ю., Исакова К.М., Конькова А.Л., Бочарова Т.В. Влияние технологий культивирования эмбрионов с применением традиционных и TLT-инкубаторов на репродуктивные исходы у женщин с разными прогнозами успешности экстракорпорального оплодотворения // Проблемы репродукции. – 2024. Т.30. – №4. – С. 71-77 **(Перечень ВАК РФ, SCOPUS).**

4. Краснопольская К.В., Самойлова А.А., Ершова И.Ю., Исакова К.М., Конькова А.Л., Бочарова Т.В. Особенности плоидного статуса эмбрионов, культивированных с использованием традиционной и time-lapse-технологии (TLT) у женщин оптимального и старшего репродуктивного возраста // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. 2024. Т. 12. № 2 (44). С. 36-42 **(Перечень ВАК РФ, SCOPUS).**

5. Краснопольская К.В., Самойлова А.А., Исакова К.М., Конькова А.Л., Бочарова Т.В. Характеристика плоидного статуса эмбрионов с различной морфокинетической оценкой по шкале KIDScore D5 у женщин оптимального и старшего репродуктивного возраста // Международный научно-исследовательский журнал. — 2024. — №8 (146) **(Перечень ВАК РФ).**