

© Коллектив авторов, 2020

Я.А. ПЕТРОСЯН, А.Г. СЫРКАШЕВА, А.Ю. РОМАНОВ, Н.П. МАКАРОВА, Е.А. КАЛИНИНА

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ВЕДЕНИЮ ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОГО ЭТАПА У ПАЦИЕНТОК В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ С ПЕРЕНОСОМ РАЗМОРОЖЕННОГО ЭМБРИОНА

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

Цель. Оценить эффективность дополнительных эмбриологических методик в программах переноса размороженных эмбрионов.

Материалы и методы. Проведено лечение бесплодия 288 пар с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) с переносом размороженного эмбриона (РЭ), которые были стратифицированы в две группы в зависимости от наступления беременности: группа 1 (беременность+, n=92), группа 2 (беременность-, n=196). Оценивали влияние эмбриологического этапа на эффективность программ ВРТ.

Результаты. В группе пациенток до 33 лет применение проназного хетчинга увеличивает эффективность ВРТ в 3,3 раза, у пациенток 34 лет и старше – снижает частоту наступления беременности (ЧНБ), а лазерный хетчинг позволяет увеличить ЧНБ в 4,8 раза. Применение культуральной среды, обогащенной гиалуроновой кислотой (Embryogluе), увеличивает ЧНБ в подгруппе пациенток в возрасте 38 лет и старше, а также при наличии 3 и более неэффективных циклов переноса эмбриона в анамнезе. Пролонгированное культивирование эмбриона после оттаивания и до переноса эмбриона в полость матки не влияет на эффективность переноса РЭ.

Заключение. Ни одна из дополнительных эмбриологических методик не показала своей эффективности при рутинном применении. Дальнейшие исследования должны быть направлены на выявление групп пациентов, которым однозначно должны быть рекомендованы те или иные современные эмбриологические методики, а также их комбинации.

Ключевые слова: вспомогательные репродуктивные технологии, эмбрионы, хетчинг, беременность, размораживание эмбрионов, замороженные эмбрионы, криоперенос.

Вклад авторов: Петросян Я.А.: скрининг пациенток в исследование, сбор материала и формирование базы данных, подготовка текста статьи; Сыркашева А.Г.: проведение клинического этапа исследования, статистическая обработка данных; Романов А.Ю.: статистическая обработка данных, подготовка текста статьи; Макарова Н.П.: проведение эмбриологического этапа исследования, подготовка текста статьи; Калинина Е.А.: редактирование текста статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Петросян Я.А., Сыркашева А.Г., Романов А.Ю., Макарова Н.П., Калинина Е.А. Дифференцированный подход к ведению эмбриологического этапа у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий с переносом размороженного эмбриона. Акушерство и гинекология. 2020; 11: 107-113 <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.107-113>

© A group of authors, 2020

YA.A. PETROSYAN, A.G. SYRKASHEVA, A.YU. ROMANOV, N.P. MAKAROVA, E.A. KALININA

DIFFERENTIATED APPROACH TO THE EMBRYOLOGICAL STAGE IN FROZEN-THAWED EMBRYO TRANSFER

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russia

Objective. To evaluate the effectiveness of additional embryological techniques in frozen-thawed embryo transfer programs.

Materials and methods. The study included 288 couples treated for infertility using assisted reproductive technologies (ART) with frozen-thawed embryo transfer. The couples were stratified into two groups depending on the onset of pregnancy: group 1 consisted of couples who achieved pregnancy (pregnancy +, n=92), group 2 included the couples who did not achieve pregnancy (pregnancy -, n=196). The influence of the embryological stage on the effectiveness of ART programs was evaluated.

Results. The use of pronase hatching increases the ART effectiveness in patients under 33 years by 3.3 times and the use of pronase hatching reduces the pregnancy rate in patients aged 34 years and older, while laser hatching increases the pregnancy rate by 4.8 times. The use of a culture medium enriched with hyaluronic acid (Embryogluе) increases the pregnancy rate in patients aged 38 years and older and in patients with previous

history of three or more ineffective embryo transfer cycles. Prolonged embryo cultivation after thawing and before embryo transfer to the uterine cavity does not influence the effectiveness of frozen-thawed embryo transfer.

Conclusion. *None of the additional embryological techniques has shown its effectiveness in its regular use. Further research should be aimed at identifying groups of patients who need to be recommended certain modern embryological techniques, as well as their combinations.*

Keywords: *assisted reproductive technologies, embryos, hatching, pregnancy, embryo thawing, frozen embryos, frozen-thawed embryo transfer.*

Authors' contributions. Petrosyan Ya.A.: patients screening for the study, collecting material and forming a database, preparing the text of the article; Syrkasheva A.G.: conducting the clinical phase of the study, statistical data processing; Romanov A.Yu.: statistical data processing, preparing the text of the article; Makarova N.P.: conducting the embryological stage of the study, preparing the text of the article; Kalinina E.A.: editing the text of the article.

Conflict of interest. The authors declare that there are no possible conflicts of interests.

Financing. The study has not been supported.

For citation: Petrosyan Ya.A., Syrkasheva A.G., Romanov A.Yu., Makarova N.P., Kalinina E.A. Differentiated approach to the embryological stage in frozen-thawed embryo transfer. Akusherstvo i Ginekologiya / Obstetrics and gynecology. 2020; 11: 107-113 (in Russian). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.11.107-113>

Число эмбриологических методик, применяемых в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), неуклонно возрастает [1–10], однако наиболее изученной и широко внедренной в клиническую практику остается криоконсервация эмбрионов [11–14]. В настоящее время криоконсервация является широко распространенным, безопасным, экономически целесообразным методом увеличения кумулятивной частоты наступления беременности [15, 16]. Кроме того, успешная криоконсервация эмбрионов позволяет приблизиться к селективному переносу одного эмбриона с целью снижения рисков, ассоциированных с развитием многоплодной беременности [17, 18].

Несмотря на это, на сегодняшний день не существует единой эмбриологической тактики для проведения переноса размороженного эмбриона (РЭ). Основным критерием эффективности криоконсервации и оттаивания эмбриона является морфологическая интактность эмбрионов и их способность к дальнейшему дроблению. Однако необходимые морфологические параметры для решения вопроса о витрификации эмбриона или переноса РЭ в полость матки четко не определены. Данные относительно оптимального временного промежутка между оттаиванием эмбриона и проведением его переноса в полость матки также противоречивы [19]. Четко не определены показания для использования различных методов вспомогательного хетчинга (ВХ) и других эмбриологических методик в программах криопереноса эмбрионов [20–26].

Цель исследования: оценить эффективность дополнительных эмбриологических методик в программах переноса РЭ.

Материалы и методы

В проспективное исследование были включены 288 супружеских пар, обратившихся для лечения бесплодия в период с 2017 по 2019 гг. в отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б.В. Леонова ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель – проф. Калинина Е.А.) с отсутствием противопоказаний к проведению ВРТ и подписанным информированным согласием на

участие в исследовании. Критериями включения явились: нормальный кариотип обоих супругов, отсутствие выраженной патозооспермии (100% тератозооспермия, абсолютная астенозооспермия, все виды азооспермии), наличие витрифицированных эмбрионов. Критериями исключения явились использование донорских гамет или суррогатного материнства, а также отмена переноса РЭ в данном цикле по любым причинам.

Все включенные в исследование супружеские пары были обследованы согласно приказу Минздрава России №107н от 30.08.2012 г. «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению» [3].

Оплодотворение ооцитов в цикле экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), когда осуществляли витрификацию эмбриона, проводили различными методами: инсеминация ооцитов *in vitro* («классическое» ЭКО, далее ЭКО, как метод оплодотворения), интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит (ИКСИ), физиологическая интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит (ПИКСИ). В качестве культуральных сред для витрификации/размораживания эмбрионов использовали коммерческие культуральные среды. Размораживание эмбрионов проводили за 2–3 ч до переноса эмбрионов (непродолжительное культивирование) или вечером в день, предшествующий дню переноса (за 10–12 ч до переноса эмбриона, пролонгированное культивирование). Качество эмбрионов оценивал эмбриолог с помощью метода световой микроскопии, согласно общепринятой классификации Гарднера [4]. ВХ проводили с использованием лазерного микроманипулятора или путем полного удаления блестящей оболочки (проназный хетчинг). В части циклов осуществляли перенос РЭ в культуральной среде, обогащенной гиалуроновой кислотой (ГК).

Подготовка эндометрия для переноса криоконсервированных эмбрионов проводилась с использованием циклической гормональной терапии (эстрогены+гестагены) или в спонтанном овуляторном менструальном цикле. Мониторинг состояния эндометрия и фолликулогенеза осуществляли с помощью ультразвукового исследования в динамике. Перенос

эмбрионов осуществляли на 7-е сутки после пика эндогенного лютеинизирующего гормона (ЛГ) в спонтанном цикле или на 5–6-й день приема препаратов прогестерона в цикле с использованием циклической гормональной терапии.

Ведение посттрансферного периода осуществлялось согласно принятым в клинической практике протоколам. Через 14 дней после переноса эмбриона в полость матки определялась концентрация β -субъединицы хорионического гонадотропина в сыворотке крови пациентки. При визуализации сердцебиения эмбриона через 5 недель после переноса эмбриона регистрировали клиническую беременность, после чего разделяли пациенток на группы и определяли частоту наступления беременности.

Статистический анализ

Для статистического анализа использовался пакет статистических программ Statistica 10.0 (США). Для определения нормальности распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. Данные с нормальным распределением представлены как среднее значение (стандартное отклонение).

Определяли влияние различных методов работы с эмбрионами на частоту наступления клинической беременности. При оценке массива данных не учитывали оператора протокола; также не была произведена стратификация по производителю препарата и клиническим параметрам цикла овариальной стимуляции.

Статистический анализ проводился с применением χ^2 -теста для сравнения категориальных переменных. Мерой ассоциации для сравнения бинарных данных было отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95% (95% ДИ). Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Исследование было одобрено комиссией по этике ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Результаты

В исследование были включены 288 пациенток, проходивших цикл переноса РЭ в ФГБУ НМИЦ АГП

с января 2017 г. по март 2019 г. Средний возраст пациенток составил 33,5 (4,6) года. Частота наступления клинической беременности составила 31,9% ($n=92$).

Рутинное использование различных методов ВХ, культуральной среды, обогащенной ГК, а также изменение времени культивирования эмбриона после оттаивания не оказывало влияния на частоту наступления беременности. Полученные данные представлены в таблицах 1 и 2.

Дальнейший анализ данных был посвящен поиску подгрупп пациенток, в которых данные методики приводят к увеличению частоты наступления беременности. Для этого были проанализированы следующие показатели:

- возраст пациентки;
- индекс массы тела (ИМТ) пациентки, наличие или отсутствие ожирения;
- наличие неудач ВРТ в анамнезе;
- наличие и вид патозооспермии, метод оплодотворения ооцитов.

На первом этапе оценили эффективность различных методов ВХ в вышеуказанных подгруппах. Вначале была проанализирована ВХ у пациенток разных возрастных групп. Обнаружено, что полное удаление зоны пеллюцида было более эффективно у более молодых пациенток, а частичная диссекция зоны пеллюцида – наоборот, была более эффективной у пациенток более старшего возраста. Путем проведения ROC-анализа был найден пороговый уровень эффективности проназного хетчинга, который составил 33 года. В таблице 3 представлена частота наступления беременности при использовании ВХ в различных возрастных группах.

Таким образом, в подгруппе пациенток до 33 лет полное удаление зоны пеллюцида увеличивало вероятность наступления беременности в 3,3 раза, а в подгруппе пациенток 34 лет и старше применение частичной диссекции зоны пеллюцида увеличивало вероятность наступления беременности в 4,8 раза.

Далее провели анализ эффективности различных методов ВХ в зависимости от ИМТ пациентки, наличия неудач ВРТ в анамнезе, метода оплодотворения ооцитов (табл. 4).

Таблица 1. Использование различных эмбриологических методик в программах переноса РЭ

Исход программы	Среда, обогащенная ГК	Стандартная среда	Накануне + (продолжительное культивирование)	Накануне – (непродолжительное культивирование)
Беременность+, n (%)	24 (30,4)	68 (32,5)	26 (35,6)	66 (30,7)
Беременность-, n (%)	55 (69,6)	141 (67,5)	47 (64,4)	149 (69,3)
p , χ^2 -тест	0,420		0,262	

Таблица 2. Использование различных методов ВХ в программах переноса РЭ

Исход программы	Проназный хетчинг	Лазерный хетчинг
Беременность+, n	32	60
Беременность-, n	74	122
Частота наступления беременности,	33,0	30,2
p , χ^2 -тест	0,362	

При разделении пациенток на группы в зависимости от ИМТ, анамнеза лечения бесплодия, наличия или отсутствия патозооспермии, а также метода оплодотворения не было выявлено значимых отличий по эффективности разных методов ВХ (табл. 4).

На втором этапе была проанализирована эффективность среды, обогащенной ГК, в программах ВРТ с переносом РЭ в полость матки. Использование среды с ГК не увеличивало эффективность ВРТ у пациенток раннего и позднего репродуктивного возраста, а также у пациенток с нормальным ИМТ и с избыточной массой тела (табл. 5). Однако в подгруппе пациенток, имеющих в анамнезе не менее 3 неудачных переносов эмбриона в полость матки, использование среды с ГК приводило к увеличению частоты наступления беременности: 47,1% по сравнению с 11,4%. ОШ наступления беременности при использовании среды с ГК при наличии 3 и более переносов эмбриона в анамнезе составило 6,89 (95% ДИ 1,62–30,47) (табл. 5).

Метод оплодотворения ооцитов, а также наличие патозооспермии у супруга не влияли на эффективность использования среды с ГК (табл. 6).

На третьем этапе проанализировали эффективность различной продолжительности культивирования эмбрионов после оттаивания и до переноса: размораживание эмбрионов за 10–12 ч до переноса эмбри-

она (продолженное культивирование) и размораживание эмбриона за 3–4 ч до переноса эмбриона (непродолженное культивирование) (табл. 7).

Частота наступления беременности при использовании различных методик культивирования эмбриона после размораживания не различалась в целом, а также в различных подгруппах пациенток. Аналогичные данные были получены при анализе эффективности различных методов культивирования эмбрионов в зависимости от качества спермы при оплодотворении и метода оплодотворения (табл. 7).

Обсуждение

Согласно данным, полученным в исследовании, использование различных методов ВХ, культуральной среды, обогащенной ГК, а также изменение времени культивирования эмбриона после оттаивания не оказывало влияния на частоту наступления беременности. Таким образом, ни одна из изученных эмбриологических методик не должна рутинно применяться для всех групп пациентов или назначаться только по желанию пациента, что согласуется с большинством имеющихся в литературе научных данных [7–10].

Дальнейший анализ был посвящен поиску подгрупп пациенток, в которых данные методики при-

Таблица 3. Эффективность различных методов ВХ в программах переноса РЭ в зависимости от возраста

Возраст пациентки	Проназный хетчинг	Лазерный хетчинг	<i>p</i> , χ^2 -тест	ОШ (95 ДИ)
≤33 лет, <i>n</i> (%)	29/53 (54,7)	29/108 (26,9)	0,001	3,29 (1,56–6,94)*
>34 лет, <i>n</i> (%)	6/48 (6,3)	24/59 (45,8)	0,001	4,8 (1,65–15,79)**

* – отношение шансов при использовании проназного хетчинга по сравнению с лазерным/отсутствием хетчинга.

** – отношение шансов при использовании лазерного хетчинга по сравнению с проназным/отсутствием хетчинга.

Таблица 4. Эффективность различных методов ВХ в программах переноса РЭ: клиничко-анамнестические характеристики

Параметры	Проназный хетчинг	Лазерный хетчинг	<i>p</i> , χ^2 -тест	ОШ (95 ДИ)
Индекс массы тела пациентки				
ИМТ <25 кг/м ² , <i>n</i> (%)	28/92 (30,4)	56/162 (34,6)	0,298	1,21 (0,67–2,18)**
ИМТ ≥25 кг/м ² , <i>n</i> (%)	3/10 (30,0)	2/14 (14,3)	0,332	2,57 (0,22–36,5)*
ИМТ ≥30 кг/м ² , <i>n</i> (%)	1/4 (25,0)	2/6 (33,3)	0,667	1,5 (0,05–117,6)**
Наличие неудач ВРТ в анамнезе				
Более 3 переносов эмбриона в анамнезе, <i>n</i> (%)	7/39 (17,9)	18/58 (31,0)	0,113	2,06 (0,70–6,53)**
2 и менее переносов эмбриона в анамнезе, <i>n</i> (%)	25/67 (37,3)	42/124 (33,9)	0,374	1,16 (0,44–1,68)*
Спермограмма супруга				
Нормозооспермия, <i>n</i> (%)	10/34 (29,4)	26/63 (41,3)	0,176	1,69 (0,64–4,63)**
Патозооспермия, <i>n</i> (%)	22/72 (30,6)	34/119 (28,6)	0,770	1,1 (0,55–2,18)*
Метод оплодотворения				
ЭКО, <i>n</i> (%)	7/11 (63,6)	16/31 (51,6)	0,491	3,39 (0,72–17,87)*
ИКСИ или ПИКСИ, <i>n</i> (%)	25/95 (26,3)	44/151 (29,1)	0,631	1,15 (0,62–2,15)**

* – отношение шансов при использовании проназного хетчинга по сравнению с лазерным/отсутствием хетчинга.

** – отношение шансов при использовании лазерного хетчинга по сравнению с проназным/отсутствием хетчинга.

Таблица 5. Эффективность среды с ГК в программах переноса РЭ: возраст, ИМТ пациенток, неудачи ВРТ в анамнезе

Частота наступления беременности	Среда, обогащенная ГК	Стандартная среда	p, χ^2 -тест	ОШ (95 ДИ)
Возраст				
≥38 лет, n (%)	5/13 (38,5)	6/42 (14,3)	0,070	3,75 (0,70–18,90)
<38 лет, n (%)	19/66 (28,8)	62/167 (37,1)	0,246	0,68 (0,35–1,32)
ИМТ				
ИМТ <25 кг/м ² , n (%)	20/60 (33,3)	60/184 (32,6)	0,518	1,03 (0,52–1,99)
ИМТ ≥25 кг/м ² , n (%)	2/14 (14,3)	6/20 (30,0)	0,261	0,39 (0,03–2,81)
Неудачи ВРТ в анамнезе				
≥3 переносов эмбриона в анамнезе, n (%)	8/17 (47,1)	4/35 (11,4)	0,007	6,89 (1,62–30,47)
<3 переносов эмбриона в анамнезе, n (%)	16/62 (25,8)	64/174 (36,8)	0,117	0,60 (0,31–1,31)

Таблица 6. Эффективность среды с ГК в программах переноса РЭ: метод оплодотворения ооцитов

Частота наступления беременности	Среда с ГК	Рутинная среда	p, χ^2 -тест	ОШ (95 ДИ)
Спермограмма супруга				
Нормозооспермия, n (%)	7/23 (30,4)	29/74 (39,2)	0,308	0,68 (0,21–2,02)
Патозооспермия, n (%)	17/56 (30,4)	39/135 (28,9)	0,485	1,07 (0,51–2,22)
Метод оплодотворения ооцитов				
ЭКО, n (%)	8/14 (57,1)	15/28 (53,6)	0,545	1,16 (0,27–5,20)
ИКСИ или ПИКСИ, n (%)	16/65 (24,6)	53/181 (29,3)	0,291	0,79 (0,38–1,56)

Таблица 7. Эффективность различной продолжительности культивирования эмбрионов после оттаивания: клиничко-анамнестические данные, метод оплодотворения ооцитов

Частота наступления беременности	Пролонгированное культивирование	Непродолжительное культивирование	p, χ^2 -тест	ОШ (95 ДИ)
Возраст пациентки				
<35 лет, n (%)	20/50 (40,0)	42/131 (32,1)	0,202	1,41 (0,72–2,76)
≥35 лет, n (%)	6/23 (26,1)	24/84 (28,6)	0,520	0,88 (0,25–2,72)
ИМТ пациентки				
<25 кг/м ² , n (%)	22/65 (33,8)	58/179 (32,4)	0,274	1,07 (0,55–2,02)
≥25 кг/м ² , n (%)	2/6 (33,3)	6/28 (21,4)	0,438	1,83 (0,13–16,65)
Число переносов эмбриона в анамнезе				
≥2, n (%)	9/31 (29,0)	31/110 (28,2)	0,545	1,04 (0,38–2,68)
0–1, n (%)	17/42 (40,5)	35/105 (33,3)	0,264	1,36 (0,60–3,02)
Спермограмма супруга				
Нормозооспермия, n (%)	10/22 (45,5)	26/75 (34,7)	0,250	1,57 (0,53–4,57)
Патозооспермия, n (%)	16/51 (31,4)	40/140 (28,6)	0,418	1,14 (0,53–2,40)
Метод оплодотворения ооцитов				
ЭКО, n (%)	9/15 (60,0)	14/27 (51,9)	0,428	1,39 (0,33–6,17)
ИКСИ или ПИКСИ, n (%)	17/58 (29,3)	52/188 (27,7)	0,464	1,08 (0,53–2,16)

водят к увеличению частоты наступления беременности. Согласно полученным ранее данным, эффективность проназного и лазерного хетчинга может различаться [24, 25]. С учетом вышеизложенного мы проанализировали эффективность различных методов ВХ в различных подгруппах пациенток.

В группе пациенток до 33 лет (пороговый возраст, собственные данные) применение проназного хетчинга увеличивает эффективность ВРТ и является более целесообразным, чем проведение лазерного хетчинга. Напротив, у пациенток 34 лет и старше применение проназного хетчинга снижает частоту наступления беременности, а лазерный хетчинг является более целесообразным, поскольку позволяет увеличить частоту наступления беременности в 4,8 раза. С возрастом происходит снижение качества гамет и эмбрионов, нарастает степень и тяжесть генетических аномалий и других нарушений эмбрионального развития [27–30]. Таким образом, если ВХ (особенно проназный) полностью безопасен для бластоцисты отличного качества, то при выполнении на бластоцисте со сниженными компенсаторными возможностями он может привести к снижению ее имплантационного потенциала. Принципиальным отличием проназного хетчинга является полное удаление зоны пеллюцида (в отличие от частичной ее диссекции при лазерном хетчинге), что может быть фактором, объясняющим отличие данных методов в различных группах пациенток. Возможно, в эмбрионах не отличного качества изменяется качество межклеточных связей между отдельными бластомерами, что снижает эффективность проназного хетчинга.

Применение культуральной среды, обогащенной ГК (EmbryoGlue), увеличивает частоту наступления беременности в подгруппе пациенток в возрасте 38 лет и старше, а также при наличии 3 и более неэффективных циклов переносов эмбриона в анамнезе, что соответствует данным мировой литературы [26].

Заключение

Ни одна из дополнительных эмбриологических методик не показала своей эффективности при рутинном применении. Более того, использование таких методик при отсутствии показаний может приводить к снижению эффективности ВРТ. Дальнейшие исследования должны быть направлены на выявление групп пациенток, которым однозначно должны быть рекомендованы те или иные современные эмбриологические методики, а также их комбинации.

Литература/References

1. Сыркашева А.Г., Казакова В.В., Долгушина Н.В., Романов А.Ю., Андреева М.Г., Яроцкая Е.Л. Реализация программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с агрегатами гладкого эндоплазматического ретикулума в цитоплазме ооцитов. *Акушерство и гинекология*. 2016; 7: 54-9. [Syrkasheva A.G., Kazakova V.V., Dolgushina N.V., Romanov A.Yu., Andreeva M.G., Yarotskaya E.L. Implementation of assisted reproductive technology programs in patients with smooth endoplasmic reticulum aggregates in the cytoplasm of oocytes. *Obstetrics and Gynecology*. 2016; (7): 54-9. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.7.54-9>.
2. Ковальская Е.В., Сыркашева А.Г., Романов А.Ю., Макарова Н.П., Долгушина Н.В. Современные представления о компактизации эмбрионов человека в условиях *in vitro*. *Технологии живых систем*. 2017; 1: 25-35. [Kovalskaya E.V., Syrkasheva A.G., Romanov A.Yu., Makarova N.P., Dolgushina N.V. Modern concepts of compaction of human embryos *in vitro*. *Journal Technologies of Living Systems*. 2017; (1): 25-35. (in Russian)].
3. Романов А.Ю., Ковальская Е.В., Макарова Н.П., Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В. Использование цейтраферной съемки для оценки качества эмбрионов человека в программах экстракорпорального оплодотворения. *Цитология*. 2017; 59(7): 462-6. [Romanov A.Yu., Kovalskaya E.V., Makarova N.P., Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V. Use of time-lapse imaging to assess the quality of human embryos in the IVF cycles. *Cytology*. 2017; 59(7):462-6. (in Russian)].
4. Романов А.Ю., Силачев Д.Н., Макарова Н.П., Долгушина Н.В. Влияние механической микровибрации на качество эмбрионов человека при культивировании *in vitro* и исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2018; 2: 86-90. [Romanov A.Yu., Silachev D.N., Makarova N.P., Dolgushina N.V. The influence of mechanical microvibration on the quality of human embryos during *in vitro* cultivation and the outcomes of assisted reproductive technologies programs. *Cell technologies in biology and medicine*. 2018; (2):86-90. (in Russian)].
5. Романов А.Ю., Силачев Д.Н., Макарова Н.П., Долгушина Н.В. Effect of Mechanical Microvibration on the Quality of Human Embryos during In Vitro Culturing and Outcomes of Assisted Reproduction Technologies. *Bull Exp Biol Med*. 2018; 165(4):544-7.
6. Романов А.Ю., Фролова А.М., Макарова Н.П., Долгушина Н.В. Первый российский опыт применения управляемой механической микровибрации при культивировании эмбрионов человека в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология*. 2019; 12: 120-5. [Romanov A.Yu., Frolova A.M., Makarova N.P., Dolgushina N.V. The first Russian experience of using controlled mechanical microvibration in the cultivation of human embryos in programs of assisted reproductive technologies. *Obstetrics and Gynecology*. 2019; (12):120-5. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12.120-125>.
7. Datta A.K., Campbell S., Deval B., Nargund G. Add-ons in IVF programme – hype or hope? *Facts Views Vis. ObGyn*. 2015; 7(4): 241-50.
8. Harper J., Jackson E., Sermon K., Aitken R.J., Harbottle S., Mocanu E. et al. Adjuncts in the IVF laboratory: where is the evidence for “add-on” interventions? *Hum. Reprod*. 2017; 32(3): 485-91. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dex004>.
9. Zemyarska M.S. Is it ethical to provide IVF add-ons when there is no evidence of a benefit if the patient requests it? *J. Med. Ethics*. 2019; 45(5): 346-50. <https://dx.doi.org/10.1136/medethics-2018-104983>.
10. Gleicher N., Kushnir V.A., Barad D.H. Worldwide decline of IVF birth rates and its probable causes. *Hum. Reprod. Open*. 2019; 2019(3): hoz017. <https://dx.doi.org/10.1093/hropen/hoz017>.
11. Наими З.М.С., Калинина Е.А., Донников А.Е., Алиева К.У., Дударова А.Х., Тухватуллина Я.А. Эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий при переносе эмбрионов в стимулированном цикле по сравнению с переносом криоконсервированных/размороженных эмбрионов. *Акушерство и гинекология*. 2016; 6: 11-7. [Naimi Z.M.S., Kalinina E.A., Donnikov A.E., Alieva K.Y., Dydarova A.Kh., Tukhvatullina Ya.A. Efficiency of assisted reproductive technology programs in stimulated-cycle embryo transfer versus cryopreserved-thawed embryo transfer. *Obstetrics and Gynecology*. 2016; (6): 11-7. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2016.6.11-17>.
12. Кравчук Я.Н., Калугина А.С., Зубова Ю.Г. Применение методов криоконсервации эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология*. 2012; (8-2): 80-4. [Kravchuk Ya.N., Kalygina A.S., Zybova Yu.G. Application of methods of cryopreservation of embryos in programs of assisted reproductive technologies. *Obstetrics and Gynecology*. 2012; (8-2): 80-4. (in Russian)].

13. Rienz L.F., Iussig B., Dovere L., Fabozzi G., Cimadomo D., Ubaldi F.M. Perspectives in gamete and embryo cryopreservation. *Semin. Reprod. Med.* 2018; 36(5): 253-64. <https://dx.doi.org/10.1055/s-0038-1677463>.
14. Levi-Setti P.E., Patrizio P., Scaravelli G. Evolution of human oocyte cryopreservation: slow freezing versus vitrification. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2016; 23(6): 445-50. <https://dx.doi.org/10.1097/MED.000000000000289>.
15. Koc J., Kanyó K., Kriston R., Somoskői B., Cseh S. Cryopreservation of embryos and oocytes in human assisted reproduction. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 307268. <https://dx.doi.org/10.1155/2014/307268>.
16. Kaye L., Will E.A., Bartolucci A., Nulsen J., Benadiva C., Engmann L. Pregnancy rates for single embryo transfer (SET) of day 5 and day 6 blastocysts after cryopreservation by vitrification and slow freeze. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2017; 34(7): 913-9. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-017-0940-4>.
17. Edgar D.H., Gook D.A. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum. Reprod. Update.* 2012; 18(5): 536-54. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dms016>.
18. Pandian Z., Templeton A., Serour G., Bhattacharya S. Number of embryos for transfer after IVF and ICSI: a Cochrane review. *Hum. Reprod.* 2005; 20(10): 2681-7. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dei153>.
19. Wang H., Ou Z., Chen Z., Yang L., Sun L. Influence of different post-thaw culture time on the clinical outcomes of different quality embryos. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2019; 28(4): 523-7. <https://dx.doi.org/10.17219/acem/91010>.
20. Ибрагимова Э.О., Долгушина Н.В., Сыркашева А.Г., Романов А.Ю., Языкова О.И., Макарова Н.П. Роль вспомогательного хетчинга в программах лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий: обзор литературы. *Гинекология.* 2016; 18(2): 44-7. [Ibragimova E.O., Dolgushina N.V., Syrkasheva A.G., Romanov A.Yu., Yazikova O.I., Makarova N.P. The role of assisted hatching in assisted reproductive technology treatment programs for infertility: a literature review. *Gynecology.* 2016; 18(2): 44-7. (in Russian)].
21. Шафеев Р.А., Сыркашева А.Г., Романов А.Ю., Макарова Н.П., Долгушина Н.В., Семенова М.Л. Хетчинг бластоцисты у человека. *Онтогенез.* 2017; 48(1): 8-20. [Schaffei R.A., Syrkasheva A.G., Romanov A.Yu., Makarova N.P., Dolgushina N.V., Semenova M.L. Blastocyst hatching in humans. *Ontogenez.* 2017; 48(1): 8-20. (in Russian)].
22. Syrkasheva A.G., Dolgushina N.V., Romanov A.Yu., Burmenskaya O.V., Makarova N.P., Ibragimova E.O. et al. Cell and genetic predictors of human blastocyst hatching success in assisted reproduction. *Zygote.* 2017; 25(5): 631-6. <https://dx.doi.org/10.1017/S0967199417000508>.
23. Shafei R.A., Syrkasheva A.G., Romanov A.Y., Makarova N.P., Dolgushina N.V., Semenova M.L. Blastocyst hatching in humans. *Russ. J. Dev. Biol.* 2017; 48(1): 5-15. <https://dx.doi.org/10.1134/S1062360417010106>.
24. Долгушина Н.В., Ибрагимова Э.О., Романов А.Ю., Макарова Н.П., Довгань А.А., Сыркашева А.Г., Калинина Е.А. Роль проназного хетчинга в повышении эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология.* 2018; 3: 70-4. [Dolgushina N.V., Ibragimova E.O., Romanov A.Yu., Makarova N.P., Dovgan A.A., Syrkasheva A.G. The role of pronase hatching in improving the efficiency of assisted reproductive technology programs. *Obstetrics and Gynecology.* 2018; (3):70-5. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.3.70-74>.
25. Долгушина Н.В., Ибрагимова Э.О., Романов А.Ю., Бурменская О.В., Макарова Н.П., Шафеев Р.А., Сыркашева А.Г. Предикторы эффективности спонтанного хетчинга бластоцист человека в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология.* 2018; 2: 88-95. [Dolgushina N.V., Ibragimova E.O., Romanov A.Yu., Bourmenskaya O.V., Makarova N.P., Schaffei R.A. Predictors of the effectiveness of spontaneous hatching of human blastocysts in assisted reproductive technology programs. *Obstetrics and Gynecology.* 2018; (2):88-95. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.2.88-95>.
26. Романов А.Ю., Макарова Н.П., Долгушина Н.В., Калинина Е.А. Культуральная среда, обогащенная гиалуроновой кислотой, при переносе эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий: механизм действия и показания к применению. *Акушерство и гинекология.* 2018; 12: 12-6. [Romanov A.Yu., Makarova N.P., Dolgushina N.V., Kalinina E.A. Culture medium enriched with hyaluronic acid for embryo transfer in programs of assisted reproductive technologies: mechanism of action and indications for use. *Obstetrics and Gynecology.* 2018; (12):12-6. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.12.12-16>.
27. Li Y.J., Chen J.H., Sun P., Li J.J., Liang X.Y. Intrafollicular soluble RAGE benefits embryo development and predicts clinical pregnancy in infertile patients of advanced maternal age undergoing in vitro fertilization. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2017; 37(2): 243-7. <https://dx.doi.org/10.1007/s11596-017-1722-z>.
28. Munné S. Status of preimplantation genetic testing and embryo selection. *Reprod. Biomed. Online.* 2018; 37(4): 393-6. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.08.001>.
29. García-Ferreira J., Hilario R., Dueñas J. High percentages of embryos with 21, 18 or 13 trisomy are related to advanced paternal age in donor egg cycles. *JBRA Assist. Reprod.* 2018; 22(1): 26-34. <https://dx.doi.org/10.5935/1518-0557.20180004>.
30. Kristensen S.G., Humaidan P., Coetzer K. Mitochondria and reproduction: possibilities for testing and treatment. *Panminerva Med.* 2019; 61(1): 82-96.

Поступила 26.03.2020

Принята в печать 01.04.2020

Received 26.03.2020

Accepted 01.04.2020

Сведения об авторах:

Петросян Яна Аршавиловна, аспирант отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия, ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ.

E-mail: Yana_petrosyan86@mail.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Сыркашева Анастасия Григорьевна, к.м.н., старший научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия, ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(926)363-17-20. E-mail: anast.syrkasheva@gmail.com. Адрес: 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Романов Андрей Юрьевич, аспирант, специалист отдела наукометрии департамента организации научной деятельности, ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ. Тел.: +7(903)158-94-00. E-mail: romanov1553@yandex.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Макарова Наталья Петровна, д.б.н., ведущий научный сотрудник отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия, ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: np_makarova@oparina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Калинина Елена Анатольевна, д.м.н., руководитель отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия, ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ. E-mail: e_kalinina@oparina4.ru. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:

Yana A. Petrosyan, postgraduate student, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Healthcare of Russian Federation. E-mail: Yana_petrosyan86@mail.ru. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Anastasiya G. Syrkasheva, M.D., Ph.D., Senior researcher of ART Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Ministry of Healthcare of Russian Federation. Tel.: +7(926)363-17-20. E-mail: anast.syrkasheva@gmail.com. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Andrey Yu. Romanov, postgraduate student, specialist of R&D Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Ministry of Healthcare of Russian Federation. Tel.: +7(903)158-94-00. E-mail: romanov1553@yandex.ru. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Nataliya P. Makarova, PhD, Leading Researcher of IVF Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Ministry of Healthcare of Russian Federation. E-mail: np_makarova@oparina4.ru. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Elena A. Kalinina, M.D., Ph.D, Head of IVF Department, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Ministry of Healthcare of Russian Federation. E-mail: e_kalinina@oparina4.ru. 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.