

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 618.177

DOI: 10.26456/vtbio392

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЭМБРИОНОВ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ С УЧЕТОМ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЖЕНЩИН

Д.И. Игнатьев, А.А. Романченко, Г.И. Морозов, Н.Ю. Арепина

Тверской государственный университет, Тверь

В работе представлен анализ распределения качества эмбрионов двух возрастных групп у женщин при использовании разных вспомогательных репродуктивных технологий. Отмечено, что при их использовании наблюдается преобладание эмбрионов с высокой оценкой качества (АА, АВ). Отмечены возрастные различия уровня антимюллера и фолликулостимулирующего гормонов. Анализ показал, что их уровень в целом не оказывает влияния на выбор метода ЭКО, но при этом данный показатель можно рассматривать как дополнительный, например, на этапе медикаментозной суперовуляции при выборе вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: морфологическая оценка, эмбрионы, ЭКО, гормональный статус, вспомогательные репродуктивные технологии.

Введение. На сегодняшний день бесплодие считается наиболее болезненной проблемой в рамках репродуктивного здоровья населения в Российской Федерации. Это обусловлено низкой рождаемостью, колоссальным количеством прерванных беременностей искусственным путем и массовым распространением патологии органов малого таза воспалительного характера. Современная диагностика и новейшие методики лечения основаны на инновационных разработках, что позволяет расшифровывать регуляцию процесса репродукции на гормональном и генетическом уровне (Министерство..., 2011; Шилова и др., 2017). К наиболее эффективным методам обследования при бесплодии относят ультразвуковую диагностику, а непосредственно для устранения причин заболевания и лечения применяют эндоскопическую хирургию и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) (Ahmed, Rodie, 2010; Шилова и др., 2017).

На сегодняшний день существует два метода оплодотворения *in vitro*: классическое ЭКО и инъекция сперматозоида в цитоплазму ооцита (ИКСИ). В первом случае сперматозоид проникает в яйцеклетку «естественным путем», преодолевая окружающие ооцит

клетки кумулюса, взаимодействуя с рецепторами блестящей оболочки (Visser, Themmen, 2005; Кулаков и др., 2006; Кулешова и др., 2015).

Цель работы – изучить особенности оценки качества эмбрионов в программах ЭКО с учетом гормонального статуса женщин

Методика. Сбор материала для исследования проводился на базе эмбриологической лаборатории ООО «КДФ» в г. Тверь в период с июля по октябрь 2022 г. В исследовании приняли участие женщины в возрасте 33–46 лет, которые составили две возрастные группы: 33–38 лет и 39–46 лет.

Ключевым моментом эмбриологического этапа программы ЭКО являлось создание для предимплантационных эмбрионов, развивающихся *in vitro*, условий, максимально приближенных к таковым *in vivo*. Это достигалось подбором адекватного состава культуральной среды и поддержанием ее температуры и pH на физиологическом уровне. Культивирование эмбрионов осуществлялось в CO₂ инкубаторе, обеспечивающем необходимые значения температуры (37°C), влажности и концентрации углекислого газа (5–6%). На 5 день выращивания эмбрион достигает в лаборатории ЭКО самой продвинутой стадии развития – бластоцисты. Рассматривая клетки эмбриона под микроскопом, подвергали их оценке, используя классификацию бластоцист по Д. Гарднеру (Шурыгина, 2015).

Анализ крови на гормоны приводился как комплексное лабораторное обследование при подготовке к процедуре ЭКО. Первичный анализ венозной крови проводился на второй или третий день менструального цикла женщины, что позволяло установить базовый гормональный уровень для более точного мониторинга и тестирования на протяжении всего цикла ЭКО. Анализ на гормоны проводился с использованием иммуноферментного анализа и включал учет концентрации следующих гормонов (с соответствующими референсными значениями): антимюллеров гормон (АМГ) (2,1–7,3 нг/мл); фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) (1,37–9,90 мЕд/л); лютеинизирующий гормон (ЛГ) (1,68–15 мЕд/л).

Результаты и обсуждение. Количество женщин, относящихся к 1 группе (от 33 до 46 лет) в выборке составило 47. Ко 2 группе (39–46 лет) женщин в выборке составило 24. Обратившиеся в ООО «Клиника Доктора Фомина» с целью применения вспомогательных репродуктивных технологий были разделены на три группы в зависимости от используемого метода оплодотворения ооцитов по методу ЭКО: классическое ЭКО, ИКСИ, СПЛИТ (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациенток по методу ЭКО в возрастных группах

Метод	1 группа (33 – 38 лет)	2 группа (39 – 46 лет)
ЭКО	7	0
ИКСИ	23	20
СПЛИТ	12	4
Итого	42	24

Морфологический анализ качества предимплантационных эмбрионов первой группы с женщинами оптимального репродуктивного возраста выявил 7 типов эмбрионов по качеству (по Гарднеру). Среди предимплантационных эмбрионов больше всего было обнаружено высококачественных АА-эмбрионов (29%); АВ-эмбрионов хорошего качества (25%). Среднее количество составили эмбрионы удовлетворительного качества – ВС (13%) и совсем малое количество эмбрионы качества- АС (4%). Так же было получено небольшое количество эмбрионов на стадии Мо (17%) и В1 (13%) (рис. 18). Морфологический анализ качества предимплантационных эмбрионов второй группы с женщинами повышенного репродуктивного возраста выявил 7 типов эмбрионов по качеству (по Гарднеру). Среди предимплантационных эмбрионов больше всего и в равном количестве было обнаружено высококачественных АА-эмбрионов (36%) и хорошего качества-АВ (36%). Малое количество составили эмбрионы ВВ- качества (7%).

Также было получено небольшое количество эмбрионов на стадии В1 (14%) и маленькое количество Мо (7%), которые рассматриваются как непригодные для переноса В зависимости от возраста, обратившейся пары и причины бесплодия проводятся два основных метода оплодотворения: ЭКО и ИКСИ. В случае бесплодия неясного генеза или при низкой вероятности оплодотворения с помощью классического ЭКО, для повышения успешного оплодотворения, программу ЭКО могут проводили методом СПЛИТ, т.е. разделение количества яйцеклеток на равное количество и применение к ним разных методов оплодотворения.

Классическое ЭКО было проведено у 7 пациенток. На 5 сутки было проведено культивирование, после чего было получено: 33 эмбриона. Среди них преимущественно эмбрионы имею оценку АВ (30%) и АА (27%) качества. Меньшее количество оставалось в стадии морулы (15%). Среднее количество было получено эмбрионов среднего качества- ВС и столько же бластоцисты (9%). В малом

количестве были получены эмбрионы удовлетворительного качества-АС (6%) и ВВ (3%).

Метод ИКСИ был проведен у 43 пациенток. На 5 сутки было проведено культивирование, после чего было получено: 32 эмбриона. Среди них преимущественно эмбрионы имеют отличную оценку АА (28%) и АВ (31%) качества. Так же были получены эмбрионы на стадии морулы (25%). В небольшом количестве были получены эмбрионы ВС-качества (6%) и столько же на стадии бластоцисты (6%). В малом количестве были получены эмбрионы удовлетворительно АС-качества (3%).

Метод СПЛИТ был проведен у 16 пациенток. На 5 сутки было проведено культивирование, после чего было получено: 24 эмбриона. Среди них преимущественно эмбрионы имеют отличную оценку- АА (33%). В небольшом количестве было получено эмбрионов на стадии морулы (17%). Одинаковое количество эмбрионов имеют АВ- качества (13%) и стадию бластоцисты (13%). Так же в равном количестве были получены эмбрионы удовлетворительного качества –ВВ (8%), ВС (8%) и АС (8%).

Перед процедурой ЭКО важным и обязательным является гормональное обследование. Во внимание брались следующие показатели: антимюллеров гормон (АМГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ). Среди пациенток первой возрастной группы средний показатель АМГ составляет $1,90 \pm 0,30$ нг/мл., при референтных значениях 2,1-7,3 нг/мл. Средний показатель ФСГ – $6,06 \pm 0,28$ мЕд/л при референтных значениях 1,37-9,90 мЕд/л. Средний показатель ЛГ составляет $4,74 \pm 0,37$ мЕд/л, при референтных значениях 1,68-15 мЕд/л. Среди пациенток первой возрастной группы замечены отклонение от нормы в анализе АМГ, показатель имеет нижнюю границу нормы или выходит за границу нормы. У пациенток средней возрастной группы средний показатель АМГ имеет $0,83 \pm 0,16$ нг/мл, при норме 2,1-7,3 нг/мл. Средний показатель ФСГ - $8,01 \pm 1,11$, при референтных значениях 1,37-9,90 мЕд/л. Средний показатель ЛГ составляет $4,82 \pm 0,86$ мЕд/л, при референтных значениях 1,68-15 мЕд/л. Среди пациенток второй возрастной группы показатель АМГ значительно ниже нормы.

Проанализировав две возрастные группы, мы видим отклонение в разной степени показателей АМГ в обеих группах. Это может говорить о плохой функциональности яичников, недостаточный запас фолликулов, истощение половых желез. Показатели анализа на ФСГ у обеих групп находились в пределах нормы, однако, у второй группы показатель немного выше, чем у первой. Без значительной разницы между двумя группами имеют показатели гормона ЛГ, которые тоже находятся в норме.

Таблица 2

Содержание половых гормонов в крови в возрастных группах пациенток

Гормоны	1 группа (33 – 38 лет)	2 группа (39 – 46 лет)	P
АМГ, нг/мл	2,90±0,30	2,10±0,16	0,05
ФСГ, мЕд/л	6,06±0,28	8,00±1,11	0,01
ЛГ, мЕд/л	4,74±0,37	5,01±0,86	–

Примечание: P – уровень статистической значимости.

При решении второй задачи были проанализированы возрастные различия уровня половых гормонов у женщин двух исследуемых групп (табл. 2). Анализ данных показал, что уровень фолликулостимулирующего гормона у пациенток 2 возрастной группы статистически достоверно выше ($8,00 \pm 0,11$ мЕд/л) по сравнению с пациентками первой возрастной группы ($6,06 \pm 0,28$ мЕд/л) ($p < 0,1$). Аналогичная картина наблюдается и при сравнении уровня содержания антимюллера гормона ($p < 0,05$).

Выводы. 1. Анализ распределения качества эмбрионов в изучаемых возрастных группах показал преобладание эмбрионов с высокой оценкой качества (АА, АВ). Аналогичная тенденция отмечается и при анализе качества эмбрионов в зависимости от выбираемого метода ЭКО.

2. Возрастные различия уровня половых гормонов у женщин наблюдаются в содержании антимюллера ($p < 0,05$) и фолликулостимулирующего ($p < 0,01$) гормонов. При этом их среднее содержание не выходит за рамки соответствующих возрастных референсных значений.

3. Анализ содержания половых гормонов, которые находятся в пределах референсных значений, показал, что их уровень в целом не оказывает влияния на выбор метода ЭКО. При этом данный показатель можно рассматривать как дополнительный, например, на этапе медикаментозной суперовуляции, а также для проведения дальнейшей программы ЭКО и выбора соответствующего метода ЭКО.

Список литературы

- Кулешова К.Т., Сахаутдинова И.В., Зулкарнеева Э.М. 2015. Вспомогательные репродуктивные технологии. Уфа, 2015. 63 с.
- Кулаков В.И., Здановский В.М., Корсак В.С., Кузьмичев Л.Н. 2006. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) (руководство для врачей). СПб. 61 с.

- Корсак В.С. 2019. Руководство по клинической эмбриологии. М.: Специальное издательство медицинских книг. 224 с.
- Министерство здравоохранения Российской Федерации. Женское бесплодие (современные подходы к диагностике и лечению). 2011. URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293724/4293724217.pdf> (дата обращения 15.03.2023).
- Шилова С.Д., Лобачевская О.С., Царева С.Н., Жуковская С.В. 2017. Основы вспомогательных репродуктивных технологий в лечении бесплодия. М.: Учебно-методическое пособие. 35 с.
- Шурыгина О.В. 2015. Руководство по клинической эмбриологии. Самара: АСГАРД. 407 с.
- Ahmed S.F., Rodie M. 2010. Investigation and initial management of ambiguous genitalia // Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. № 24(2). P. 197-218.
- Visser J.A., Themmen A.P. 2005. Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis // Mol Cell Endocrinol. № 234(1-2). P. 81-86.

EVALUATION OF EMBRYO QUALITY IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS TAKING INTO ACCOUNT THE HORMONAL STATUS OF WOMEN

D.I. Ignatev, A.A. Romanchenko, G.I. Morozov, N.Yu. Arepina
Tver State University, Tver

The paper presents an analysis of the distribution of embryo quality in two age groups in women using different assisted reproductive technologies. It is noted that when using them, there is a predominance of embryos with a high quality rating (AA, AB). Age-related differences in the levels of anti-Müllerian and follicle-stimulating hormones were noted. The analysis showed that their level as a whole does not affect the choice of IVF method, but at the same time this indicator can be considered as an additional one, for example, at the stage of drug superovulation when choosing assisted reproductive technologies.

Keywords: *morphological assessment, embryos, IVF, hormonal status, assisted reproductive technologies.*

Об авторах:

ИГНАТЬЕВ Данила Игоревич – кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и физиологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Ignatev.DI@tversu.ru.

РОМАНЧЕНКО Анастасия Андреевна – магистрант 2 года обучения направления 06.04.01 Биология (Медико-биологические науки), 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: biology@tversu.ru.

МОРОЗОВ Глеб Игоревич – кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и физиологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Morozov.GI@tversu.ru.

АРЕПИНА Наталья Юрьевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физического воспитания, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Arepina. NY@tversu.ru.

Игнатъев Д.И. Оценка качества эмбрионов в программах вспомогательных репродуктивных технологий с учетом гормонального статуса женщин / Д.И. Игнатъев, А.А. Романченко, Г.И. Морозов, Н.Ю. Арепина // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2025. № 1(77). С. 7-13.

Дата поступления рукописи в редакцию: 20.10.24

Дата подписания рукописи в печать: 25.03.25