

## ВЕРОЯТНОСТЬ УСПЕШНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНА ОТ ДНЯ ЕГО РАЗВИТИЯ

Иванова А.А., Миронова А.Г., Яковенко С.А., Симоненко Е.Ю.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Ленинские горы, 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: Annetkurella@yandex.ru

Поступила в редакцию: 12.07.2018.

**Аннотация.** В настоящее время в клиниках вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) осуществляется перенос эмбрионов на стадии бластоцист 5-го или 6-го дня развития, что соответствует физиологическим нормам. Известно, что именно на 5-й и 6-й день жизни бластоцисты претерпевают кардинальные морфологические перестройки, и нет точных данных, эмбрион какого дня развития лучше имплантируется в матку - до перестройки или после. В данной работе с помощью статистического анализа на основе клинических данных о 4130 пациентах было проведено сравнение вероятности положительного исхода программы ВРТ для эмбрионов разного дня развития, полученных при оплодотворении предварительно криоконсервированных яйцеклеток. В работе учитывается не только различный возраст пациентов (рассмотрены три возрастные группы), а также степень развития и качество самих эмбрионов (по Д. Гарднеру). Из проведенного анализа было выяснено, что взаимосвязь между днем развития эмбриона и вероятностью положительного исхода вспомогательных репродуктивных технологий существует. Большой объем выборки позволил получить результаты с высокой асимптотической точностью  $p=0,005$ . Результат обработки данных показывает, что клиническая беременность наступает чаще при переносе эмбрионов, которые развиваются до стадии бластоцисты быстрее, т.е. на 5-й день. Кроме того, проведенный анализ позволяет сделать выводы, связанные с общими итогами программ ВРТ.

**Ключевые слова:** эмбрион 5-го дня развития, бластоциста, ВРТ.

Проблема бесплодия является крайне актуальной в современном обществе. Во всем мире около 48,5 млн. бесплодных пар, и их число стремительно растет. Экстракорпоральное оплодотворение является одним из самых перспективных методов для терапии бесплодия. Рассмотрим основные этапы данной программы: оплодотворение яйцеклеток *in vitro* (ИВМ) и культивирование эмбриона с его дальнейшим переносом в полость матки. После процедуры интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку (ИКСИ) оплодотворяются от 50 % до 90 % зрелых яйцеклеток, более низкий показатель может быть обусловлен плохим морфологическим качеством яйцеклетки или сперматозоида. Эмбрионы могут быть перенесены в матку в период с первого по шестой день развития. Перенос эмбриона в матку на стадии бластоцисты (5-ый или 6-ой день) повышает вероятность наступления беременности, так как является наиболее приближенным к физиологическим условиям. Способ переноса эмбриона на стадии бластоцисты позволяет снизить риск многоплодной беременности, за счет имплантации меньшего количества эмбрионов. В настоящий момент во многих клиниках осуществляется перенос бластоцист именно 5-го и 6-го дней развития. Известно, что в этот период бластоцисты претерпевают кардинальные морфологические перестройки [4].

Данная работа посвящена изучению влияния дня развития перенесенного эмбриона на исход программы вспомогательных репродуктивных технологий. Для достижения цели был выбран статистический анализ клинических данных о пациентах, которым был сделан перенос эмбриона 5-ого или 6-ого дня.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все данные о переносах криоконсервированных эмбрионов разных дней развития были предоставлены клиникой экстракорпорального оплодотворения АльтраВита. В таблице 1 указаны данные о 4130 пациентах. Для более детального анализа были исследованы отдельные возрастные группы и пациенты с разным качеством перенесенных эмбрионов и разной степенью их развития.

Под клинической беременностью подразумевается состояние организма, при котором эмбрион обнаруживается в полости матки на сроке более трех недель с сердцебиением 110-180 ударов/минуту, под биохимической беременностью – состояние, при котором имплантация плодного яйца завершается самопроизвольным выкидышем на очень ранних (не более первых двух эмбриональных недель) сроках.

Для статистической обработки использовался критерий  $\chi^2$ , так как:

1. Данные бинарные: наступление беременности, отсутствие беременности.
2. Каждая ячейка таблицы сопряженности имеет значение выше 5.
3. Сопоставляемые группы независимы, так как вероятность одного события не изменяет вероятность наступления другого события.

Статистическая обработка полученных данных произведена в программе IBM SPSS Statistics 23 и MS Excel 2010.

Таблица 1. Начальные данные

Исход программы	День переноса	Количество пациентов		
		Клиническая беременность	Нет беременности	Сумма
Исход программы	5 день	1285	1445	2730
	6 день	470	930	1400
	<b>Итог</b>	1755	2375	<b>4130</b>
	<b>Итог</b>	1755	2375	<b>4130</b>
Исход программы для пациентов в возрасте до 35 лет	5 день	883	809	1692
	6 день	248	417	665
	<b>Итог</b>	1131	1226	<b>2357</b>
	<b>Итог</b>	1131	1226	<b>2357</b>
Исход программы для пациентов в возрасте от 35 до 39 лет	5 день	318	435	753
	6 день	154	316	470
	<b>Итог</b>	472	751	<b>1223</b>
	<b>Итог</b>	472	751	<b>1223</b>
Исход программы для пациентов старше 39 лет	5 день	84	201	285
	6 день	68	197	265
	<b>Итог</b>	152	398	<b>550</b>
	<b>Итог</b>	152	398	<b>550</b>
Исход программы для эмбрионов качества АА	5 день	271	209	480
	6 день	65	54	119
	<b>Итог</b>	336	263	<b>599</b>
	<b>Итог</b>	336	263	<b>599</b>
Исход программы для эмбрионов качества ВА	5 день	208	189	397
	6 день	54	56	110
	<b>Итог</b>	262	245	<b>507</b>
	<b>Итог</b>	262	245	<b>507</b>
Исход программы для эмбрионов качества АВ	5 день	244	279	523
	6 день	55	98	153
	<b>Итог</b>	299	377	<b>676</b>
	<b>Итог</b>	299	377	<b>676</b>
Исход программы для эмбрионов качества ВВ	5 день	536	709	1245
	6 день	290	704	994
	<b>Итог</b>	826	1413	<b>2239</b>
	<b>Итог</b>	826	1413	<b>2239</b>

Формула для вычисления  $\chi^2$  К.Пирсона

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}},$$

где  $i$  – номер строки (от 1 до  $r$ );  $j$  – номер столбца (от 1 до  $c$ );  $O_{ij}$  – фактическое количество наблюдений в ячейке  $ij$ ;  $E_{ij}$  – ожидаемое число наблюдений в ячейке  $ij$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуя таблицу 1, можно проанализировать общий итог программы ВРТ. Видно, что примерно в 46,5 % случаев наступает биохимическая беременность, но клиническая беременность наступает лишь у 39,5 % пациентов.

Таблица 2 показывает, что для всех исходов программы ВРТ существует зависимость исхода от дня развития перенесенного эмбриона. Большой объем выборки (4130 пациентов) позволил получить результаты с высокой асимптотической значимостью  $p=0,005$ . Из полученных данных видно, что клиническая беременность наступает чаще при переносе эмбрионов, которые развиваются до стадии бластоцисты быстрее.

Анализ данных для разных возрастных групп, представленный в таблице 3, показывает, что для пациентов старше 39 лет нет статистической зависимости между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности. Возможными причинами данных результатов, может быть маленькая выборка для пациентов данной группы (550 пациентов). Кроме того, известно, что с увеличением возраста уменьшается вероятность наступления беременности, как в естественном цикле, так и в программе ЭКО. Можно предположить, что в данной группе пациентов основным фактором является не день развития эмбриона на

**Таблица 2.** Анализ статистической взаимосвязи между днем развития эмбриона и наступлением клинической беременности, общим исходом программы ВРТ

Нулевая гипотеза	Значение $\chi^2$	Кол-во степеней свободы	Табличное значение $\chi^2$ (при $p=0,005$ )	Решение
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности.	69,0	1	7.9	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и общим исходом программы ВРТ.	23,2	6	18.5	Нулевая гипотеза отклоняется.

момент его переноса, а уменьшение репродуктивной способности, связанное с возрастными изменениями или с нарушениями криотолерантности клеток. Было показано, что к 39 годам количество яйцеклеток, вырабатываемых яичником, снижается, что усложняет выбор эмбриона, наилучшим образом подходящего для программы ЭКО. Также у пациентов данной группы повышается процент анеуплоидии, за счет чего растет риск развития эмбриона с патологией [1].

Что касается других возрастных групп, видно, что вероятность наступления клинической беременности для эмбрионов 5-го дня развития гораздо выше, чем для эмбрионов 6-го дня. Данный результат является показательным, так как в этом случае основным фактором являются особенности развития бластоцисты, а не возрастные изменения.

В работе были рассмотрены не только разные возрастные группы пациентов, но и группы эмбрионов разного качества (степень развития и качество эмбриона оценивались по классификации бластоцист по D. Gardner и W. Schoolcraft [2]). В данной классификации оценивается качество внутриклеточной массы от лучшего «А» до худшего «С» и качество трофктодермального слоя («А» - «С»). Таким образом, качество эмбриона описывается двумя буквами. Также классификация Д. Гарднера описывает степень зрелости бластоцисты от «1» – ранней до «6» – вылупившейся.

Из таблицы 4 видно, что статистическая зависимость между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности есть только у эмбрионов качества АВ и ВВ, в остальных группах нулевая гипотеза принимается. Возможной причиной такого результата является маленькая выборка для эмбрионов качества ВА, АА. Кроме того, в данных группах количество эмбрионов 5-ого дня развития почти в три раза превышает количество эмбрионов 6-го дня, что в свою очередь также может влиять на результат. Надо отметить, что чаще всего в клиниках переносят эмбрионы именно качества АВ и ВВ. Поэтому результат проведенного статистического анализа о преимуществе выбора 5 дня развития, а не 6-го, крайне важен. Более того для эмбрионов качества ВВ перенос на 5-й день повышает вероятность наступления беременности на 14 % по сравнению с переносом на 6-й день.

**Таблица 3.** Анализ статистической взаимосвязи между наступлением клинической беременности и днем развития эмбриона для трех различных возрастных групп

Нулевая гипотеза	Значение $\chi^2$	Кол-во степеней свободы	Табличное значение $\chi^2$ (при $p=0,005$ )	Решение
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для пациентов в возрасте до 35 лет.	42,4	1	7.9	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для пациентов в возрасте от 35 до 39 лет.	10,9	1	7.9	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для пациентов старше 39 лет.	0,9	1	7.9	Нулевая гипотеза принимается.

**Таблица 4.** Анализ статистической взаимосвязи между наступлением клинической беременности и днем развития для эмбрионов разного качества

Нулевая гипотеза	Значение $\chi^2$	Кол-во степеней свободы	Табличное значение $\chi^2$	Решение
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов качества АА.	0,1	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза принимается.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов качества АВ.	5,5	1	5.0 ( $p=0,025$ )	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов качества ВВ.	45,7	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов качества ВА.	0,4	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза принимается.

Анализ эмбрионов разных степеней развития показал, что в данных группах существует взаимосвязь между днем развития эмбриона и вероятностью наступления клинической беременности. Для всех исследуемых степеней развития результат статистического анализа также установил более эффективным перенос эмбриона на 5-й день. Можно отметить, что на 3-й и 4-й стадии значение критерия  $\chi^2$  максимально. Так, для 3-й степени вероятность наступления беременности при переносе на 5-ый день на 22 % выше, чем на 6-й ( $p=0,005$ ). 5-я и 6-я степень развития в данной работе не исследовалась, так как на данном этапе начинается «вылупление» бластоцисты.

### ВЫВОД

На основании данных 4130 пациентов был проведен статистический анализ по сравнению вероятности положительного исхода программы ВРТ для эмбрионов 5-го и 6-го дней развития. В большинстве проанализированных групп вероятность положительного исхода программы ВРТ у эмбрионов 5-го дня развития выше, чем у эмбрионов 6-го дня, что также справедливо для пациентов в возрасте до 39 лет, эмбрионов качества АВ, ВВ и эмбрионов 1-4 степеней развития.

**Таблица 5.** Анализ статистической взаимосвязи между наступлением клинической беременности и днем развития для эмбрионов разной степени развития

Нулевая гипотеза	Значение $\chi^2$	Кол-во степеней свободы	Табличное значение $\chi^2$	Решение
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов 1 степени развития.	4.2	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов 2 степени развития.	11.7	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов 3 степени развития.	75.5	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза отклоняется.
Отсутствует статистическая взаимосвязь между днем развития перенесенного эмбриона и наступлением клинической беременности для эмбрионов 4 степени развития.	59.9	1	7.9 ( $p=0,005$ )	Нулевая гипотеза отклоняется.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №14-50-00029).

**Список литературы / References:**

1. Munne S., Chen S., Colls P., Garrisi J., Zheng X., Cekleniak N., Lenzi M., Hughes P., Fischer J., Garrisi M., Tomkin G., Cohen J. Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *Reprod. Biomed. Online*, 2007, vol. 14, pp. 628-634.
2. Gardner D.K., Schoolcraft W.B. *In vitro* culture of human blastocysts. In: *Towards Reproductive Certainty: Infertility and Genetics Beyond*. Eds. R. Jansen, D. Mortimer. Carnforth: Parthenon Press, 1999, pp. 378-388.
3. Balaban B., Urman B., Sertac A., Alatas C., Aksoy S., Mercan R. Blastocyst quality affects the success of blastocyst-stage embryo transfer. *Fertility and Sterility*, 2000, vol. 74, pp. 282-287.
4. Shapiro B.S., Richter K.S., Harris D.C., Daneshmand S.T. A comparison of day 5 and day 6 blastocysts transfers. *Fertil. Steril.*, 2001, vol. 75, pp. 1126-1130.

**DEPENDENCE OF THE PROBABILITY OF SUCCESSFUL EMBRYO IMPLANTATION FROM THE DAY OF ITS DEVELOPMENT**

**Ivanova A.A., Mironova A.G., Yakovenko S.A., Simonenko E.Yu.**

Lomonosov Moscow State University

*Leninskie gory, 1-2, Moscow, 119991, Russia; e-mail: Annetkurella@yandex.ru*

**Abstract.** Currently in the clinics of assisted reproductive technologies (ART) embryos are transferred at the stage of blastocysts on the 5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> day of development. This corresponds to physiological norms. It is known fact that blastocysts undergo radical morphological reconstructions on the 5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> day of development. It is important to understand the embryo of which day is better implanted into the uterus – before or after reconstruction. Using statistical analysis, based on data about 4130 patients, a comparison of the probability of successful ART result between embryos of 5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> day, obtained by fertilization of pre-cryopreserved oocyte was made. Three age groups and groups of patients with transferred embryos of different quality and degree of development (according to D. Gardner) were studied. It was found that the relationship between the day of embryo development and the probability of positive outcome of assisted reproductive technologies (ART) exists. A large selection size made it possible to obtain results with a high asymptotic accuracy  $p = 0.005$ . From obtained data, it can be seen that clinical pregnancy occurs more often if the transferred embryos develop to the stage of the blastocyst faster, i.e. on the 5<sup>th</sup> day. In addition, the analysis allows to draw conclusions related to the overall results of ART programs.

**Key words:** *embryo of 5<sup>th</sup> day, blastocyst, ART.*