

УДК: 618.177-089.888.11

DOI: 10.37800/RM.3.2022.76-86

## ПРОДЛЕННОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ В ЕСТЕСТВЕННЫХ И МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЦИКЛАХ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

А.О. Полумискова<sup>1</sup>, М.С. Шишиморова<sup>1</sup>, С.И. Тевкин<sup>1</sup>, Т.М. Джусубалиева<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> ТОО «Институт Репродуктивной Медицины», Алматы, Республика Казахстан

### Аннотация

**Актуальность:** У 20% женщин в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) наблюдается слабый ответ на применяемую гормональную стимуляцию яичников. Одной из эффективных тактик ведения «бедных» ответчиков, является проведение программ ЭКО/ИКСИ в естественном цикле (ЕЦ) или модифицировано-естественном цикле (МЕЦ). Продленное культивирование позволяет улучшить селекцию эмбрионов, повысить эффективность программ ВРТ, и уменьшить количество эмбрионов на перенос. У «бедных» ответчиков применение дополнительной селекции эмбрионов при помощи продленного культивирования, может быть не эффективно.

**Цель исследования** – сравнить эффективность программ ВРТ с переносом эмбрионов на третий или пятый день развития при проведении естественных и модифицированных естественных циклов.

**Методы:** Проанализированы программы ЭКО/ИКСИ в ЕЦ и МЕЦ, проведенные с января 2013 по декабрь 2019 года в Институте Репродуктивной Медицины г. Алматы. Пациентки, проходившие ЕЦ или МЕЦ, были разделены на 2 группы: группа А – 185 циклов с переносом эмбрионов на третий день развития и группа Б – 171 программа с продленным культивированием и переносом эмбрионов на пятый день.

**Результаты:** Анализ эффективности программ ВРТ при переносе на пятый день развития показал достоверное увеличение частоты наступления клинической беременности и частоты имплантации по сравнению с третьим днем (25,7 и 22,1% группа В против 15,14 и 12,72% группа А, соответственно  $p > 0,05$ ). Выявлены достоверные различия в переносе на третьи или пятые сутки при проведении ЕЦ и МЕЦ ЭКО/ИКСИ по частоте потери беременности – 8,1 против 21,9% ( $p < 0,001$ ). Ранние потери беременностей были достоверно выше в группе А и составили 44,8 против 14,3% в группе Б ( $p < 0,01$ ). Показатель живорождения в ЕЦ или МЕЦ был достоверно выше при проведении переносов на пятые сутки по сравнению с третьими сутками (21,9 против 8,11%,  $p < 0,001$ ).

**Заключение:** Анализ полученных в ходе исследования результатов показал, что эффективность программ при проведении естественных и модифицированных естественных циклов ЭКО/ИКСИ достоверно выше при выборе на перенос бластоцист на пятый день развития, в сравнении переносом дробящихся эмбрионов третьего дня.

**Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), естественный цикл (ЕЦ), модифици-

рованный естественный цикл (МЕЦ), стадия дробления, стадия бластоцисты, продленное культивирование, перенос эмбрионов.

**Введение:** Применение гормональной стимуляции супероуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), позволяет увеличить количество полученных ооцитов на цикл, и соответственно, доступных эмбрионов и бластоцист для выбора на перенос или криоконсервацию, что в конечном итоге позволяет увеличить эффективность программ при лечении бесплодия. Таким образом, благодаря, внедрению и совершенствованию протоколов гормональной стимуляции супероуляции, эффективность лечения методами ВРТ увеличилась с 20-30 до 40-50% [1]. Однако, несмотря на очевидное преимущество стимуляции супероуляции в отношении увеличения числа фолликулов и количества получаемых ооцитов, отмечается негативное влияние гормональных препаратов на качество эндометрия [2]. В клинической практике отмечается, что у 20% женщин, в программах ВРТ наблюдается слабый ответ на применяемую гормональную стимуляцию яичников. Для данной категории пациентов применение стандартной стимуляции или высоких доз гонадотропинов, может быть не эффективно, особенно в финансовом плане [3]. Одной из эффективных тактик ведения «бедных» ответчиков, является проведение программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) / интрацитоплазматической инъекция сперматозоида в яйцеклетку (ИКСИ) в естественном цикле (ЕЦ), при котором получают один или более ооцитов во время спонтанного менструального цикла без применения каких-либо препаратов, или модифицировано-естественном цикле (МЕЦ), когда получают один или более ооцитов во время естественного менструального цикла с применением препаратов, блокирующих спонтанный пик лютеинизирующего гормона (ЛГ) с индукцией окончательного созревания ооцита (ооцитов) [4-6].

В настоящее время, благодаря усовершенствованию культуральных сред и улучшению условий культивирования, в лабораториях ВРТ все чаще применяют продленное культивирование эмбрионов, до пятого или шестого дня развития, что позволяет большинству клиник производить перенос эмбрионов на стадии бластоцисты и криоконсервировать оставшиеся эмбрионы. Показано, что эффективность программ при переносе бластоцист выше, чем при переносе дробящихся эмбрионов третьих суток [7, 8]. Продленное культивирование позволяет улучшить селекцию эмбрионов, повысить эффективность программ

ВРТ и уменьшить количество эмбрионов на перенос [9]. Однако с внедрением продленного культивирования увеличились риски отмены переноса или криоконсервации из-за полной остановки в развитии эмбрионов в связи с тем, что только 40% эмбрионов хорошего качества на третий день развиваются до стадии бластоцисты [10, 11]. По данным Niakan с соавт., до стадии экспандированной бластоцисты доходят 50-60% эмбрионов от всех дробившихся на третьи сутки [12]. Риску неудачного завершения программы и отмены переноса наиболее подвержена группа «бедных» ответчиков. В исследованиях отмечается, что сниженный ответ яичников приводит к высокой частоте отмен переносов [13] в связи с отсутствием эмбрионов или бластоцист хорошего качества, а также к низкой частоте живорождения [14].

Учитывая, что при проведении ЕЦ или МЕЦ в программах ЭКО/ИКСИ у «бедных» ответчиков на трансвагинальной пункции фолликулов (ТВПФ) получают 1-4 ооцита, применение дополнительной селекции эмбрионов при помощи продленного культивирования может быть неэффективным. Несмотря на многочисленные публикации о высокой эффективности переносов бластоцист пятого дня, следует учитывать количество циклов, в которых был отменен перенос из-за отсутствия или низкого качества бластоцист на пятый день.

**Цель исследования** – сравнить эффективность программ ВРТ с переносом эмбрионов на третий или пятый день развития при проведении естественных и модифицированных естественных циклов ЭКО/ИКСИ.

**Материалы и методы:** Проведено одноцентровое ретроспективное рандомизированное неконтролируемое исследование. Анализируемые данные включали: возраст пациентов, количество полученных ооцитов, частоту дробления, данные и результаты переноса эмбрионов, качество эмбрионов, выбранных на перенос. На первом этапе исследования проведен анализ эффективности при переносе эмбрионов на 3-и (группа А) или 5-е сутки (группа Б) по частоте наступления клинической беременности (ЧНКБ), частоте имплантации (ЧИ), частоте живорождения и ранним потерям беременностей на перенос. Второй этап исследования включал анализ тактики культивирования, примененной в группах А и Б, с оценкой ЧНКБ, частоты потери беременности (ЧПБ) и частоты живорождения на ТВПФ, с учётом отмен переносов на пятый день развития из-за отсутствия или низкого качества бластоцист.

В соответствии с поставленной целью, были проанализированы программы ЭКО/ИКСИ именно в ЕЦ и МЕЦ, чтобы исключить возможное негативное влияние препаратов стимуляции суперовуляции, на рецептивность эндометрия. Включены, циклы, где на ТВПФ получали от 1 до 4 ооцит-кумуллюсных комплексов (ОКК) включительно. Данные программы были проведены с января 2013 по декабрь 2019 года в Институте Репродуктивной Медицины (ИРМ) г. Алматы. Пациентки были разделены на 2 группы: группа А – 185 циклов с переносом эмбрионов на третий день развития и группа Б – 171 программа с продленным культивированием, из которых 105 циклов завершились переносом на пятый день, а оставшиеся 66 циклов (38,6%) были сняты с программы.

Критерии включения: пациентки с диагнозом бесплодие, связанное с трубно-перитонеальным фактором, сочетанным фактором, а также идиопатическим бесплодием; возраст до 42 лет на момент прохождения программы ЭКО/ИКСИ с использованием собственных ооцитов в ЕЦ и/или МЕЦ; максимальное количество полученных ооцитов на ТВПФ равнялось четырем.

Критерии исключения: программы с использованием донорских ооцитов и донорской спермы, циклы с суррогатным материнством, программы с переносом эмбрионов после преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) методом сравнительной геномной гибридизации (array Comparative Genomic Hybridization – aCGH), программы с отсроченным переносом или переносом в криоцикле, программы с использованием витрифицированных криоооцитов. Также исключались пациенты с тяжелым мужским фактором бесплодия: олигоастенотератозооспермия, криптозооспермия, обструктивная и не обструктивная азооспермия.

У «бедных» ответчиков в ЕЦ и МЕЦ решение о переносе эмбрионов на третьи или пятые сутки принималось коллегиально (репродуктолог + эмбриолог) на третий день развития эмбрионов, после морфологической оценки качества. Эмбрионы хорошего качества могли быть перенесены на третий день или же оставлены до пятого дня, дробящиеся эмбрионы низкого качества могли быть перенесены с целью исключения возможных рисков остановки развития *in vitro*, либо применяли продленное культивирование до пятого дня с целью выбора перспективного эмбриона на перенос.

Рост фолликулов контролировали с помощью вагинального ультразвукового исследования (УЗИ). В зависимости от истории болезни пациентов оплодотворение проводили методом ЭКО или ИКСИ, спустя 3±1 ч. после забора ооцит-кумуллюсных комплексов. Через 16-18 часов после инсеминации/инъекции оценивали оплодотворение, и зиготы, которые имели 2 пронуклеуса и 2 полярных тела культивировали до третьих/пятых суток в группах с использованием линейки сред ORIGIO (Дания) в мини-инкубаторах PLANER (Великобритания) в газовой фазе 6,0% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> и 89% N<sub>2</sub>.

Оценку эмбрионов проводили на 3 или 5 сутки развития эмбрионов, т.е. в день планируемого переноса. Качество эмбрионов третьих суток развития оценивали в соответствии критериями, установленными в лаборатории ВРТ ИРМ. Эмбрионы хорошего качества на третьи сутки (рисунок 1) оценивались на 3,0 – 3,5 балла, эмбрионы низкого качества (рисунок 2) имели оценку 2,5 балла и ниже.

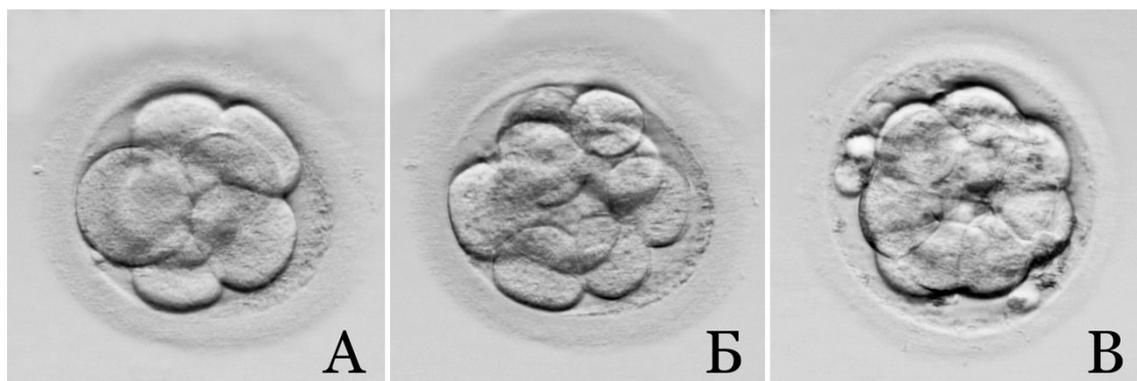


Рисунок 1 – Эмбрионы хорошего качества третьих суток развития, А-В (фото лаборатории ВРТ ИРМ)



Рисунок 2 – Эмбрионы низкого качества, на третий день развития, А-В (фото лаборатории ВРТ ИРМ)

Качество бластоцист оценивали на пятый день развития по классификации Gardner, которая учитывает степень экспансии, качество внутриклеточной массы (ВКМ) и трофэктодермы (ТЭ) [15]. Бластоцисты со степенью экспансии 1 классифицировались как ранние бластоцисты, бластоцисты со степенью экспансии 2 и более, категории AA, AB, BA, BB были отнесены к бластоцистам отличного/хорошего качества (рисунок 3) и бластоцисты низкого качества (рисунок 4) со степенью экспансии 2 и более, категории BC, CB, CC. На перенос, выбирали бластоци-

сты отличного/хорошего качества со степенью экспансии 2 и более, а в случае их отсутствия, на перенос выбирали эмбрионы с замедленным развитием – морулы/ранние бластоцисты (рисунок 5). Перед переносом всем эмбрионам третьего дня, а также морулам/ранним бластоцистам проводили вспомогательный хетчинг, используя лазер RI Saturn 5 Active™ (Великобритания). Перенос эмбрионов/бластоцист в полость матки проводили в среде UTM™ (Origio, Дания) под контролем УЗИ.

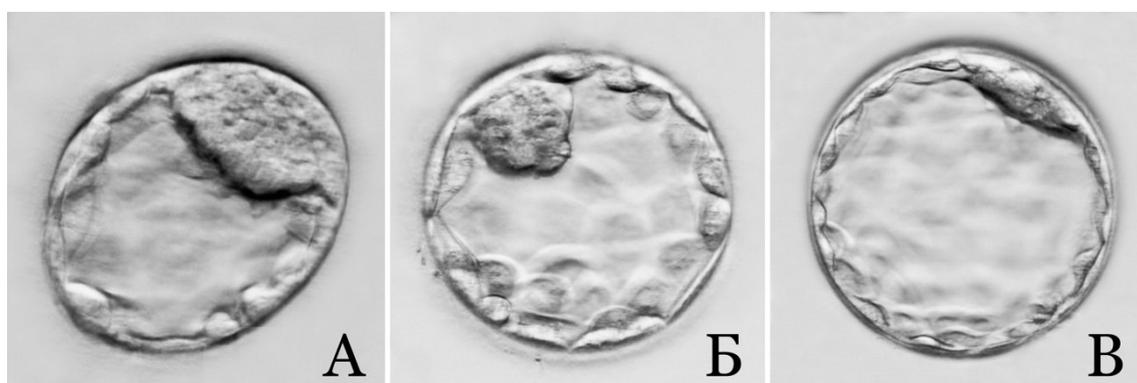


Рисунок 3 – Эмбрионы пятых суток развития: бластоцисты отличного/хорошего качества, А-В (фото лаборатории ВРТ, ИРМ)

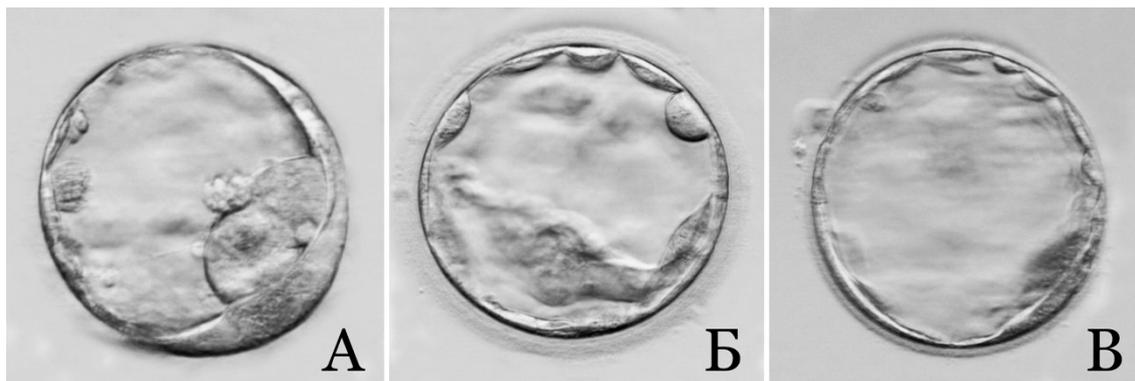


Рисунок 4 – Эмбрионы пятых суток развития: бластоцисты низкого качества, А-В (фото лаборатории ВРТ ИРМ)

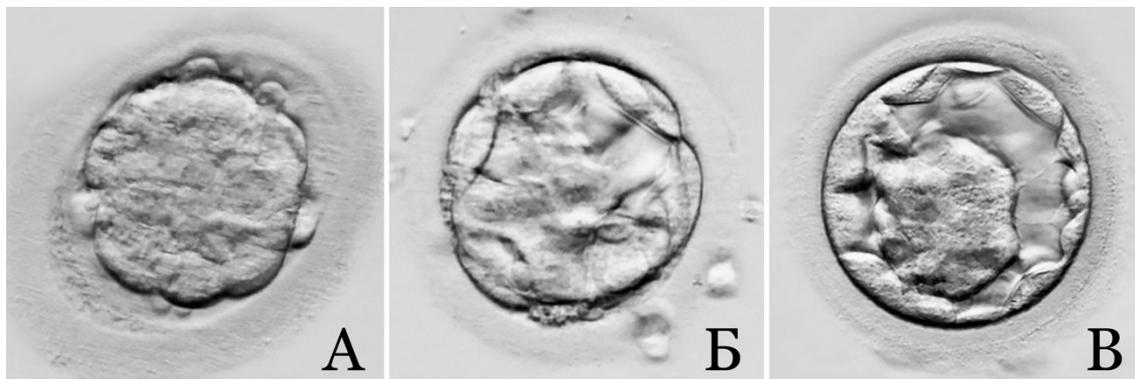


Рисунок 5 – Эмбрионы пятых суток развития: морула (А) и ранние бластоцисты (Б, В) (фото лаборатории ВРТ, ИРМ)

Анализ на хорионический гонадотропин человека (ХГч) проводился после переноса эмбрионов на 14 день. Наличие клинической беременности подтверждалось визуализацией плодного яйца по УЗИ.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы STATISTICA v.10.0 для Windows. Оценка достоверности различий между двумя параметрическими выборочными распределениями (у выборок разного объема) выполняли с помощью стандартных методов вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Для оценки достоверности различий между двумя непараметрическими выборочными распределениями (для выборок разного объема) использовали тест  $\chi^2$  Пирсона. Имеющиеся различия частот в сравниваемых совокупностях для анализируемого признака при парных сравнениях, считали статистически достоверными при пороговом уровне значимости  $p \leq 0,05$ . Проводя данное исследование, размер выборки предварительно не рассчитывали.

**Результаты:** Объектами данного ретроспективного исследования были медицинские карты пациентов и данные медицинской электронной системы «Medialog».

Сравнение клинических характеристик и эмбриологические показатели при проведении ЕЦ и МЕЦ ЭКО/ИКСИ у пациенток групп А и Б представлено в таблице 1. Исследуемые группы были сопоставимы по среднему возрасту женщин и мужчин, количеству полученных ооцитов на ТВПФ, количеству дробящихся эмбрионов на третий день. Статистически значимой разницы между данными показателями не обнаружено (таблица 1).

Таблица 1 – Клинические характеристики пациентов и эмбриологические показатели при проведении естественных и модифицированных естественных циклов ЭКО/ИКСИ

Параметры	Группа А (3 сутки)	Группа Б (5 сутки)	p-value (t-Стьюдента)
Возраст женщин лет, сред. ( $\pm$ SD)	36,9 $\pm$ 1,6	36,7 $\pm$ 1,7	0,730
Возраст мужчин лет, сред. ( $\pm$ SD)	38,7 $\pm$ 2,4	38,8 $\pm$ 2,1	0,846
Получено ооцитов на ТВПФ, сред. ( $\pm$ SD)	1,51 $\pm$ 0,4	1,53 $\pm$ 0,7	0,819
Дробилось на третий день, сред.	1,28	1,38	0,160
Перенесено эмбрионов/бластоцист, сред.	1,23	1,20	0,591

Аббревиатуры: ТВПФ – трансвагинальная пункция фолликулов

Также было проанализировано соотношение возрастных категорий в группах А и Б, чтобы исключить влияние возраста на эффективность программы ЭКО/ИКСИ при дальнейшем сравнении. Пациентки были разделены на

следующие возрастные категории: до 34 лет (включительно), 35-39 лет, от 40 лет (включительно). Статистически значимой разницы между показателями для разных возрастных групп не обнаружено (таблица 2).

Таблица 2 – Возрастные группы пациенток в программах естественных и модифицированных естественных циклов ЭКО/ИКСИ

Возраст женщин	Группа А (3 сутки)	Группа Б (5 сутки)	p-value (t-Стьюдента)
$\leq$ 34 лет	28,65% (53/185)	29,24% (50/171)	0,347
35 – 39 лет	37,84% (70/185)	39,18% (67/171)	0,263
$\geq$ 40 лет	33,51% (62/185)	31,58% (54/171)	0,518

С целью оценки компетентности группы А и Б были сопоставлены по качеству выбранных на перенос эмбрионов/бластоцист (таблица 3). Анализ параметров выбора на перенос эмбрионов/бластоцист показал, что в группе А 86,5% случаев – это перенос как минимум 1 эмбриона отличного/хорошего качества (3,0 – 3,5 балла), а 13,5% – переносы эмбрионов низкого качества ( $\leq$ 2,5 балла). В группе Б 73,3% – перенос минимум одной бластоцисты отличного/хо-

рошего качества, 2% – перенос бластоцист низкого качества и 24,7% – перенос морул и ранних бластоцист. При сопоставлении по качеству выбранных на перенос эмбрионов/бластоцист (таблица 3), в группе А чаще переносили эмбрионы отличного/хорошего качества, чем в группе Б, таким образом наблюдается достоверное увеличение разницы в компетентности группы А по сравнению с группой Б ( $p < 0,01$ ).

Таблица 3 – Сравнение компетентности групп в зависимости от качества переносимых эмбрионов/бластоцист

Параметры выбора для переноса эмбрионов/бластоцист	Группа А (3 сутки)	Группа Б (5 сутки)	p-value, ( $\chi^2$ Пирсона)
Отличное/хорошее качество	86,5% (160/185)	73,3% (77/105)	0,003
Низкое качество + морулы и ранние бластоцисты	13,5% (25/185)	26,7% (28/105)	

Эффективность программ ВРТ при проведении ЕЦ и МЕЦ ЭКО/ИКСИ с переносом на третьи или пятые сутки в рамках исследования представлена в таблице 4. Анализ результатов переноса на пятый день развития показал достоверное увеличение ЧНКБ и ЧИ по сравнению с третьим днем (25,7 и 22,1% группа В против 15,14 и 12,72% группа А, соответственно  $p > 0,05$ ). Статистический анализ с применением критерия  $\chi^2$  Пирсона выявил достоверные различия в переносе на третьи или пятые сутки при проведении ЕЦ и МЕЦ ЭКО/ИКСИ по ЧПБ (скрининг в 12 недель) – 8,1 против 21,9%, соответственно ( $p < 0,001$ ). Ранние потери беременности были достоверно выше

в группе А и составили 44,8% против 14,3% в группе Б ( $p < 0,01$ ). В ЕЦ и МЕЦ ЭКО/ИКСИ наблюдалось достоверное увеличение частоты живорождения при проведении переносов на пятые сутки по сравнению с третьими (21,9 против 8,11%,  $p < 0,001$ ).

При переносе эмбрионов на 3 или 5 сутки развития показатели ЧНКБ, ЧПБ и живорождения в ЕЦ и МЕЦ цикла, с учетом отмены переноса из-за отсутствия или низкого качества blastocyst, не показали статистически достоверной разницы между группами А и Б ( $p > 0,05$ ) (таблица 5).

Таблица 5 – Эффективность программ ЭКО/ИКСИ в естественных и модифицированных естественных циклах при культивировании эмбрионов до третьего или пятого дня, с учётом случаев отмены переноса из-за отсутствия или низкого качества blastocyst на пятый день развития

Параметры на ТВПФ	Группа А (3 сутки)	Группа Б (5 сутки)	p-value ( $\chi^2$ Пирсона)
ЧНКБ, %	15,1% (28/185)	15,8% (27/171)	0,864
ЧПБ (скрининг 12 недель), %	8,1% (15/185)	13,5% (23/171)	0,102
Частота живорождения, %	8,1% (15/185)	13,5% (23/171)	0,102

Примечания: ТВПФ – трансвагинальная пункция фолликулов; ЧНКБ – частота наступления клинической беременности; ПЭ – перенос эмбрионов; ЧПБ – частота прогрессирующей беременности

Таблица 4 – Эффективность программ ВРТ при переносе эмбрионов на третьи или пятые сутки в естественных и модифицированных естественных циклах ЭКО/ИКСИ

Параметры на ПЭ	Группа А (3 сутки)	Группа Б (5 сутки)	p-value ( $\chi^2$ Пирсона)
ЧНКБ, %	15,1% (28/185)	25,7% (27/105)	0,027
ЧИ, %	12,7% (29/228)	22,1% (28/127)	0,021
ЧПБ (скрининг 12 недель), %	8,1% (15/185)	21,9% (23/105)	<0,001
Ранние потери беременностей ( $\leq 12$ недель гестации), %	44,8% (13/29)	14,3% (4/28)	0,011
Частота живорождения, %	8,1% (15/185)	21,9% (23/105)	<0,001

Примечания: ЧНКБ – частота наступления клинической беременности; ПЭ – перенос эмбрионов; ЧИ – частота имплантации; ЧПБ – частота прогрессирующей беременности

**Обсуждение:** Мировая практика по выбору эмбрионов на перенос показывает, что в большинстве клиник по лечению бесплодия преобладают переносы эмбрионов пятого дня развития на стадии blastocyst, однако, в некоторых случаях, всё ещё выполняются переносы эмбрионов третьих суток на стадии дробления. Одной из причин переноса эмбрионов на стадии дробления являются противоречивые результаты исследований, в которых сравнивается эффективность переносов эмбрионов на стадии дробления или blastocyst. Так, в исследовании Fernández-Shaw с соавт. показано, что у пациентов в возрасте  $\geq 35$  лет наблюдается более высокая частота прогрессирующей и кумулятивной беременности при переносе эмбрионов на пятый день в сравнении с пере-

носом эмбрионов третьего дня развития, при этом таких различий не наблюдается у женщин моложе 35 лет [16]. В 2016 году Glujovsky с соавт. не обнаружили статистически значимой разницы в частоте кумулятивной беременности между переносами дробящихся эмбрионов и blastocyst (OR = 0,89; 95% CI, 0,64–1,22; 48,9 против 52,0%, соответственно) [17]. В мета-анализе Martins с соавт. также не было обнаружено преимуществ при переносе blastocyst в сравнении с дробящимися эмбрионами [18]. В работах Kaur с соавт. [19] и Glujovsky с соавт. [8] отмечается улучшение показателей имплантации, клинической беременности и живорождения при переносе эмбрионов на стадии blastocyst по сравнению с результатами переноса дробящихся эмбрионов.

Ещё одной возможной причиной, объясняющей интерес к переносам дробящихся эмбрионов, являются вероятные долгосрочные последствия нарушений эпигенетических модификаций во время развития эмбрионов *in vitro*, в связи с тем, что во время преимплантационного развития эмбрионов происходит полное эпигенетическое репрограммирование генома, а так как эпигенетические модификации особенно чувствительны к условиям внешней среды, то ошибки на данном этапе развития могут привести к возникновению заболеваний после рождения [20, 21]. Согласно результатам исследования Aljhdali с соавт., продленное культивирование мышинных эмбрионов *in vitro* и последующий перенос эмбрионов на стадии бластоцисты повышает риск возникновения дисфункции сердечно-сосудистой системы у самцов в сравнении с группой переноса эмбриона на стадии дробления [22].

Имеются данные, что применение продленного культивирования у пациенток со слабым ответом в циклах ЕЦ и МЕЦ увеличивает шансы полной остановки развития эмбрионов. Так, в исследовании Papanikolaou и др. были проанализированы пациентки, у которых на третий сутки был только один жизнеспособный эмбрион, для чего провели сравнение эффективности при выполнении переноса дробящихся эмбрионов на третий день развития с переносом эмбрионов от четвертого до шестого дня (группа продленного культивирования). Анализ полученных результатов показал достоверное увеличение следующих показателей в группе с переносом эмбрионов третьих суток развития: частота наступления биохимической беременности – 16,7 против 9,5%, соответственно ( $p < 0,01$ ), ЧКБ – 14,7 против 6,8%, соответственно ( $p < 0,001$ ), и живорождения – 9,7 против 4,4%, соответственно ( $p < 0,01$ ) [23].

Исследования подтверждают низкие показатели ЧНКБ, ЧПБ и частоты живорождения при переносе на пятый день эмбрионов с замедленным развитием, т.е. морул и ранних бластоцист [24–26]. Эта информация подтверждается нашими данными, так как данная группа эмбрионов при проведении расчетов была объединена с группой, в которой были также проведены переносы бластоцист низкого качества. при сопоставлении по качеству выбранных на перенос эмбрионов в группе А чаще переносили эмбрионы отличного/хорошего качества, чем в группе Б, что в итоге показывает достоверное увеличение разницы в компетентности группы А по сравнению с группой Б ( $p < 0,01$ ).

На сегодняшний день, кроме статической морфологической оценки для отбора эмбриона или бластоцисты на перенос, существуют другие методы селекции: морфокинетика и оценка системой искусственного интеллекта (ИИ), интегрированной в инкубатор с покадровой съемкой. Основываясь на морфокинетике эмбриона, можно отобрать для переноса более перспективные дробящиеся эмбрионы третьего дня [27–29]. Одна из систем ИИ позволяет определить, какие из дробящихся эмбрионов могут достигнуть стадии экспандированной бластоцисты с высоким потенциалом к имплантации [30]. В ряде исследований продемонстрировано, что ИИ способен определять зуплоидный статус бластоцисты [31, 32]. Однако, несмотря на преимущества оценки и отбора эмбрионов/бластоцист при помощи морфокинетики или ИИ, не все клиники по лечению бесплодия оснащены данным вы-

сокотехнологичным оборудованием, что на сегодняшний день является одним из главных ограничений по применению данного метода.

Проведение морфологической оценки и классификация эмбрионов на третий сутки развития является Основным недостатком переноса эмбриона на стадии дробления по сравнению с переносом на стадии бластоцисты. Одна из причин низкой эффективности программ с переносом дробящихся эмбрионов третьего дня по сравнению с бластоцистами является повышенная анеуплоидность. Эмбрионы на стадии дробления обычно демонстрируют высокий уровень хромосомных анеуплоидий. Так, около 60% от всех дробящихся эмбрионов на третий день развития имеют как минимум 1 анеуплоидный бластомер, а по статистике только 1 из 5 эмбрионов способен к имплантации [33, 34]. При этом, среди женщин в возрасте 36 лет и старше 59% эмбрионов, оцененных как «отлично» на третий день развития, были анеуплоидными по сравнению с 35% бластоцист с оценкой «отлично» на 5-й день [23]. Следует отметить, что даже в группе пациентов моложе 35 лет у эмбрионов с лучшей морфологией и соответствующим днем развития уровень анеуплоидий составляет 56% [35].

На сегодняшний день нет единого общего мнения об уровне анеуплоидий у дробящихся эмбрионов третьего дня. Например, в работе Orvieto с соавт. после выполнения биопсии бластомеров у 30 эмбрионов на третий день зуплоидными были 19 (63,3%), однако в результате культивирования 12 (66,6%) эмбрионов остановились в развитии и только 7 (58,3%) развились до бластоцисты [11].

Согласно результатам данного исследования, в группе А гораздо чаще переносили дробящиеся эмбрионы хорошего качества 86,5%, по сравнению с группой Б, где только в 73,3% на перенос выбирали как минимум 1 бластоцисту хорошего качества ( $p < 0,01$ ). Несмотря на то, что компетентность группы А была выше, чем группы Б, показатели ЧНКБ, ЧИ, ЧПБ и живорождения были гораздо выше при переносе эмбрионов на пятый день развития (группа Б) по сравнению с переносом дробящихся эмбрионов на третий день развития (группа А). Учитывая, представленные ранее публикации, об увеличенном уровне анеуплоидии дробящихся эмбрионов третьего дня [23, 33, 35], можно предположить, что это явилось одной из причин высокой частоты ранних потерь беременностей в группе А по сравнению с группой Б (44,8 против 14,3%,  $p < 0,01$ , соответственно). В исследованиях подтверждается связь между частотой ранних потерь беременности и уровнем анеуплоидии эмбрионов [36, 37].

**Заключение:** Анализ результатов данного исследования показал, что эффективность программ ЕЦ и МЕЦ у пациенток с «бедным» ответом была достоверно выше при переносе бластоцист на пятый день развития в сравнении с переносом дробящихся эмбрионов третьего дня. Использование продленного протокола культивирования увеличивало число отмен эмбриотрасферов в связи с отсутствием бластоцист хорошего качества. Однако, перерасчет эффективности на ТВПФ не выявил разницы в частоте наступления беременности в исследуемых группах. С целью снижения ранних потерь беременности при переносе эмбрионов на третий день развития и для увеличения эффективности программ ВРТ в протоколах ЕЦ и МЕЦ наиболее целесообразно использовать продленное культивирование до пятого дня.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Xin ZM., Xu B., Jin HX., Song WY., Sun YP. Day 3 embryo transfer may have better pregnancy outcomes in younger than 35-year-old patients with poor ovarian response // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2012. – Vol. 29(10). – P. 1077-1081. <https://doi.org/10.1007/s10815-012-9830-y>
2. Montoya-Botero P., Polyzos N. The endometrium during and after ovarian hyperstimulation and the role of segmentation of infertility treatment // *Best Pract. Res. Clin. End. Metab.* – 2019. – Vol. 33(1). – P. 61-75. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.09.003>
3. Di Guardo F., Blockeel C., De Vos M., Palumbo M., Christoforidis N., Tournaye H., Drakopoulos P. Poor ovarian response and the possible role of natural and modified natural cycles // *Ther. Adv. Reprod. Health.* – 2022. – Vol. 16. <https://doi.org/10.1177/26334941211062026>
4. Zegers-Hochschild F., Adamson G., Dyer S., Racowsky C., de Mouzon J., Sokol R., Rienzi L., Sunde A., Schmidt L., Cooke I., Simpson J., van der Poel S. The international glossary on infertility and fertility care, 2017 // *Fertil. Steril.* – 2017. – Vol. 108(3). – P. 393-406. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.06.005>
5. Youssef M., Wely van M., Al-Inany H., Madani T., Jahangiri N., Khodabakhshi S., Alhalabi M., Akhondi M., Ansari-pour S., Tokhmechy R., Zarandi L., Rizk A., El-Mohamedy M., Shaer E., Khattab M., Mochtar M., Veen van der F. A mild ovarian stimulation strategy in women with poor ovarian reserve undergoing IVF: a multicenter randomized non-inferiority trial // *Hum. Reprod.* – 2017. – Vol. 32(1). – P. 112-118. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew282>
6. Moffat R., Hansali C., Schoetzau A., Ahler A., Gobrecht U., Beutler S., Raggi A., Sartorius G., De Geyter C. Randomised controlled trial on the effect of clomiphene citrate and gonadotropin dose on ovarian response markers and IVF outcomes in poor responders // *Hum. Reprod.* – 2021. – Vol. 36(4). – P. 987-997. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa336>
7. Maheshwari A., Hamilton M., Bhattacharya S. Should we be promoting embryo transfer at blastocyst stage? // *Repr. Biomed/ Online.* – 2016. – Vol. 32(2). – P. 142-146. 1. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.09.016>
8. Glujovsky D., Quinteiro R., Alvarez Sedo C., Ciapponi A., Cornelisse S., Blake D. Cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in assisted reproductive technology // *Cochr. Data. of Syst. Rev.* – 2022. – Vol. 19(5). – Art. ID: CD002118. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002118.pub6>
9. Neblett M., Kim T., Jones T., Baumgarten S., Coddington C., Zhao Y., Shenoy C. Is there still a role for a cleavage-stage embryo transfer? // *F. S. Rep.* – 2021. – Vol. 29(3). – P. 269-274. <https://doi.org/10.1016/j.xfre.2021.06.004>
10. Goldman R., Racowsky C., Farland L., Munné S., Ribustello L., Fox J. Predicting the likelihood of live birth for elective oocyte cryopreservation: a counseling tool for physicians and patients // *Hum. Reprod.* – 2017. – Vol. 32(4). – P. 853-859. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex008>
11. Orvieto R., Jonish-Grossman A., Maydan S., Noach-Hirsh M., Dratviman-Storobinsky O., Aizer A. Cleavage-stage human embryo arrest, is it embryo genetic composition or others? // *Repr. Biol. End.* – 2022. – Vol. 20(1). – P. 1-5. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00925-2>
12. Niakan K., Han J., Pedersen R., Simon C., Pera R. Human pre-implantation embryo development // *Development.* – 2012. – Vol. 139(5). – P. 829-841. <https://doi.org/10.1242/dev.060426>
13. Polyzos N., Corona R., Van De Vijver A., Blockeel C., Drakopoulos P., Vloeberghs V., De Vos M., Camus M., Humaidan P., Tournaye H. Corifollitropin alfa followed by hpHMG in GnRH agonist protocols. Two prospective feasibility studies in poor ovarian responders // *Gyn. End.* – 2015. – Vol. 31(11). – P. 885-890. <https://doi.org/10.3109/09513590.2015.1065481>
14. Zhang Y., Zhang C., Shu J., Guo J., Chang HM., Leung P., Sheng J-Z., Huang H. Adjuvant treatment strategies in ovarian stimulation for poor responders undergoing IVF: a systematic review and network meta-analysis // *Hum. Reprod. Up.* – 2020. – Vol. 26(2). – P. 247-263. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmz046>
15. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26(6). – P. 1270-1283. <https://doi.org/10.1093/humrep/der037>

16. Fernández-Shaw S., Cercas R., Braña C., Villas C., Pons I. Ongoing and cumulative pregnancy rate after cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer using vitrification for cryopreservation: impact of age on the results // *J. Assist. Reprod. Gen.* – 2015. – Vol. 32(2). – P. 177-184. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0387-9>
17. Glujovsky D., Farquhar C. Cleavage-stage or blastocyst transfer: what are the benefits and harms? // *Fertil. Steril.* – 2016. – Vol. 106. – P. 244-250. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.06.029>
18. Martins W., Nastri C., Rienzi L., Poel van der S., Gracia C., Racowsky C. Blastocyst vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes // *Ultra. Obstet. Gyn.* – 2017. – Vol. 49. – P. 583-591. <https://doi.org/10.1002/uog.17327>
19. Kaur P., Swarankar M., Maheshwari M., Acharya V. A comparative study between cleavage stage embryo transfer at day 3 and blastocyst stage transfer at day 5 in in-vitro fertilization/intra-cytoplasmic sperm injection on clinical pregnancy rates // *J. Hum. Repr. Sci.* – 2014. – Vol. 7. – P. 194-197. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.142481>
20. Canovas S., Ross P., Kelsey G., Coy P. DNA methylation in embryo development: epigenetic impact of ART (assisted reproductive technologies) // *BioEssays.* – 2017. – Vol. 39(11). – Art. ID: 1700106. <https://doi.org/10.1002/bies.201700106>
21. Barker D. The origins of the developmental origins theory // *J. Int. Med.* – 2007. – Vol. 261(5). – P. 412-417. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01809.x>
22. Aljahdali A., Airina R., Velazquez M., Sheth B., Wallen K., Osmond C., Watkins A., Eckert J, Smyth N., Fleming T. The duration of embryo culture after mouse IVF differentially affects cardiovascular and metabolic health in male offspring // *Hum. Reprod.* – 2020. – Vol. 35(11). – P. 2497-2514. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa205>
23. Papanikolaou E., Kolibianakis E., Tournaye H., Venetis C., Fatemi H., Tarlatzis B., Devroey P. Live birth rates after transfer of equal number of blastocysts or cleavage-stage embryos in IVF. A systematic review and meta-analysis // *Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 23(1). – P. 91-99. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem339>
24. Haas J., Meriano J., Laskin C., Bentov Y., Barzilay E., Casper R., Cadesky K. Clinical pregnancy rate following frozen embryo transfer is higher with blastocysts vitrified on day 5 than on day 6 // *J. Assist. Rep. Gen.* – 2016. – Vol. 33(12). – P. 1553-1557. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0818-x>
25. Tannus S., Cohen Y., Henderson S, Ma'mari Al N., Shavit T., Son W-Y., Dahan M. Fresh transfer of day 5 slow-growing embryos versus deferred transfer of vitrified, fully expanded day 6 blastocysts: which is the optimal approach? // *Hum. Reprod.* – 2019. – Vol. 34(1). – P. 44-51. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey351>
26. Polumiskova A., Shishimorova M., Tevkin S., Jussubaliyeva T., The best of the worst: analyze of outcome in artificial reproductive technologies (ART) fresh cycles with transfers of slow-growing embryos and expanded poor-quality blastocysts // *Hum. Reprod.* – 2022. – Vol. 37(Suppl.1). – Art. ID: deac107.128. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac107.128>
27. Chamayou S., Patrizio P., Storaci G., Tomaselli V., Alecci C., Ragolia C., Crescenzo C., Guglielmino A. The use of morphokinetic parameters to select all embryos with full capacity to implant // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2013. – Vol. 30(5). – P. 703-710. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-9992-2>
28. Petersen B.M., Boel M., Montag M., Gardner D.K. Development of a generally applicable morphokinetic algorithm capable of predicting the implantation potential of embryos transferred on Day 3 // *Hum. Reprod.* – 2016. – Vol. 31(10). – P. 2231-2244. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew188>
29. Bartolacci, A., Dal Canto M., Guglielmo M., Mura L., Brigante C., Mignini Renzini M., Buratini J. Early embryo morphokinetics is a better predictor of post-ICSI live birth than embryo morphology: Speed is more important than beauty at the cleavage stage // *Zygote.* – 2021. – Vol. 29(6). – P. 495-502. <https://doi.org/10.1017/S0967199421000253>
30. Nguyen D.P., Pham Q.T., Tran T.L, Vuong L.N., Ho T.M. Blastocyst Prediction of Day-3 Cleavage-Stage Embryos Using Machine Learning // *Fertil. Reprod.* – 2021. – Vol. 4. – P. 150-155. <https://doi.org/10.1142/s266131822150016x>
31. Kato K., Ueno S., Berntsen J., Kragh M.F., Okimura T., Kuroda T. Does embryo categorization by existing artificial intelligence, morphokinetic or morphological embryo selection models correlate with blastocyst euploidy rates? // *Reprod. BioMed. Online.* – 2022. – In press. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2022.09.010>

32. Bori L., Meseguer F., Valera M.A., Galan A., Remohi J., Meseguer M. The higher the score, the better the clinical outcome: retrospective evaluation of automatic embryo grading as a support tool for embryo selection in IVF laboratories // Hum. Reprod. – 2022. – Vol. 37(6). – P. 1148–1160. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac066>
33. Mantzouratou A., Delhanty J. Aneuploidy in the human cleavage stage embryo // Cytogen. Gen. Res. – 2011. – Vol. 133(2-4). – P. 141-148. <https://doi.org/10.1159/000323794>
34. Maurer M., Ebner T., Puchner M., Mayer R.B., Shebl O., Oppelt P., Duba H.C. Chromosomal Aneuploidies and Early Embryonic Developmental Arrest // Int J Fertil Steril. – 2015. – Vol. 9(3). – P. 346-353. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2015.4550>
35. Munné 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 // Rep. Bio. Online. – 2007. – Vol. 14(5). – P. 628-634. [https://doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)61057-7](https://doi.org/10.1016/s1472-6483(10)61057-7)
36. Gu C., Li K., Li R., Li L., Li X., Dai X., He Y. Chromosomal Aneuploidy Associated with clinical characteristics of pregnancy loss // Front Genet. – 2021. – Vol. 12. – P. 667-697. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.667697>
37. Ouyang Y., Tan Y., Yi Y., Gong F., Lin G., Li X., Lu G. Correlation between chromosomal distribution and embryonic findings on ultrasound in early pregnancy loss after IVF-embryo transfer // Hum. Reprod. – 2016. – Vol. 31(10). – P. 2212-2218. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew201>

## ҚОСАЛҚЫ РЕПРОДУКТИВТІК ТЕХНОЛОГИЯЛАР БАҒДАРЛАМАЛАРЫНЫҢ ТАБИҒИ ЖӘНЕ ТҮРЛЕНДІРІЛГЕН ЦИКЛДАРЫНДА ЭМБРИОНДАРДЫ ҰЗАРТЫП КУЛЬТИВАЦИЯЛАУ

*А.О. Полумискова<sup>1</sup>, М.С. Шишиморова<sup>1</sup>, С.И. Тевкин<sup>1</sup>, Т.М. Джусубалиева<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> ЖШС “Репродуктивтік Медицина Институты”, Алматы, Қазақстан Республикасы

### Андатпа

**Өзектілігі:** Әйелдердің 20%-де қосалқы репродуктивтік технологиялардың (ҚРТ) бағдарламаларында аналық бездердің пайдаланатын гормондық ынталандырылуына әлсіз қайтарым байқалады. «Аз» қайтарымды жүргізудің тиімді тактикасының бірі табиғи циклде (ТЦ) немесе түрлендірілген-табиғи циклде (ТТЦ) ЭКО/ИКСИ бағдарламаларын жүргізу болып табылады. Ұзартылған культивациялау эмбриондардың селекциясын жақсартуға, ҚРТ бағдарламаларының тиімділігін арттыруға және көшіріп салынатын эмбриондардың санын азайтуға мүмкіндік береді. «Аз» қайтарымдарда ұзартылған культивациялаудың көмегімен эмбриондарды қосымша селекциялауды қолдану тиімсіз болуы мүмкін.

**Зерттеудің мақсаты** – табиғи және түрлендірілген табиғи циклдерді жүргізу кезінде эмбриондарды дамудың үшінші немесе бесінші күнінде көшіріп салумен ҚРТ бағдарламаларының тиімділігін салыстыру.

**Әдістері:** 2013 жылғы қаңтар 2019 жылғы желтоқсан аралығында Алматы қ. Репродуктивтік медицина институтында (РМИ) өткен табиғи және түрлендірілген табиғи циклдердегі ЭКО/ИКСИ бағдарламаларына талдау жасалды. Табиғи немесе модификацияланған табиғи циклде бағдарламадан өткен науқастар 2 топқа бөлінді: А тобы – дамудың үшінші күнінде эмбриондарды көшіріп салумен 185 цикл және Б тобы – бесінші күнінде эмбриондарды ұзартылған культивациялаумен және көшіріп салумен 171 бағдарлама.

**Нәтижелері:** Дамудың бесінші күнінде көшіру кезінде ҚРТ бағдарламаларының тиімділігін талдау үшінші күнмен салыстырғанда ЧКБ және ЧИ (В тобының 25,7 және 22,1%-не А тобының 15,14 және 12,72% қарсы, тиісінше  $p > 0,05$ ) анық өскенін көрсетті. ЧПБ бойынша 21,9% қарсы 8,1 ( $p < 0,001$ ) ЭКО/ИКСИ табиғи және түрлендірілген табиғи циклдерін жүргізу кезінде үшінші немесе бесінші тәулікте көшіріп салу барысында нақты айырмашылықтар анықталды. Соңына жетпей қалған жүктіліктер Б тобына қарағанда А тобында едәуір жоғары болды және 14,3%-ке қарсы 44,8 құрады ( $p < 0,01$ ). ТЦ мен ТТЦ-да тірі туу көрсеткіші үшінші тәулікпен салыстырғанда бесінші тәулікте көшіріп салуды жүргізу кезінде айтарлықтай жоғары (8,11% қарсы 21,9,  $p < 0,001$ ).

**Қорытынды:** Зерттеу барысында алынған нәтижелер талдамасы ЭКО/ИКСИ табиғи және түрлендірілген табиғи циклдерін жүргізу кезінде бағдарламалардың тиімділігі үшінші күнінде бөлшектенген эмбриондарды көшіріп салумен салыстырғанда дамудың бесінші күнінде бластоцистті көшіріп салуды таңдаған кезде айтарлықтай жоғары екенін көрсетті.

**Кілтті сөздер:** қосалқы репродуктивтік технологиялар (ҚРТ), табиғи цикл, түрлендірілген табиғи цикл, бөлшектену кезеңі, бластоцисттер кезеңі, ұзартылған культивациялау, эмбриондарды көшіріп салу.

## EXTENDED EMBRYO CULTURE IN NATURAL AND MODIFIED CYCLES IN ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGY PROGRAMS

A.O. Polumiskova<sup>1</sup>, M.S. Shishimorova<sup>1</sup>, S.I. Tevkin<sup>1</sup>, T.M. Jussubaliyeva<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> “Institute of Reproductive Medicine” LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan

### Abstract

**Relevance:** About 20% of women undergoing assisted reproductive technology art (ART) programs encounter low response following ovarian stimulation. One of the effective medical strategies for “poor” responders is to conduct IVF / ICSI programs in a natural or modified natural cycle. The application of extended embryo culture improved embryo selection, increased ART programs’ effectiveness, and reduced the number of embryos per transfer. But in the case of “poor” responders, the additional embryo selection by applying extended embryo culture may not be effective.

**The purpose** is to compare the effectiveness of ART programs with embryo transfer on the third or fifth day of development in natural and modified natural cycles.

**Methods:** This study included natural or modified natural IVF/ICSI cycles conducted in 2013-2019 at the Institute of Reproductive Medicine (Almaty, Kazakhstan). The patients who underwent natural or modified natural IVF/ICSI cycles were divided into two groups: group A (185 cycles), with embryo transfer on Day 3 of development, and group B (171 cycles), with extended embryo culture and embryo transfer on Day 5.

**Results:** The clinical pregnancy rate and implantation rate were significantly increased in group B (Day 5 embryo transfer) compared to group A (Day 3 embryo transfer): 25,7 and 22,1% vs. 15,14 and 12,72%, respectively ( $p < 0,05$ ). The ongoing pregnancy rate was significantly higher in group B: 21,9 vs. 8,1% ( $p < 0,001$ ). The miscarriage rate was higher in group A: 44,8 vs. 14,3% ( $p < 0,001$ ). The live birth rate was significantly lower in group A: 8,11 vs. 21,9% ( $p < 0,001$ ).

**Conclusion:** Our study showed that blastocyst transfers are more effective in natural and modified natural cycles than cleavage-stage embryo transfers, even in the case of “poor” responders.

**Keywords:** assisted reproductive technologies (ART), natural cycle (NC), modified natural cycle (mNC), cleavage-stage, blastocyst-stage, extended cultivation, embryo transfer.

---

#### Данные авторов:

**Полумискова Анастасия Олеговна** – старший эмбриолог лаборатории ВРТ, Институт репродуктивной медицины, Алматы, Казахстан; e-mail: a.polumiskova@gmail.com; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2782-9236>

**Шишиморова Мария Сергеевна** – канд. биол. наук, генетик, руководитель по науке Института репродуктивной медицины, Алматы, Казахстан; e-mail: shishimorova\_m@irm.kz; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8957-2851>

**Тевкин Сергей Иванович** – канд. биол. наук, эмбриолог лаборатории ВРТ, Институт репродуктивной медицины, Алматы, Казахстан; [tevkins@rambler.ru](mailto:tevkins@rambler.ru); <https://orcid.org/0000-0003-4876-0327>

**Джусубалиева Тамара Муфтаховна** – канд. мед. наук, врач акушер-гинеколог высшей категории, директор Института репродуктивной медицины, эксперт ВОЗ по репродуктивному здоровью, Алматы, Казахстан; e-mail: [jussubaliyeva.t@irm.kz](mailto:jussubaliyeva.t@irm.kz); ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8194-764X>

**Адрес для корреспонденции:** Шишиморова М.С., ТОО «Институт репродуктивной медицины», ул. Толе би 99, г. Алматы, 050012, Республика Казахстан.

#### Вклады авторов:

вклад в концепцию – Полумискова А.О., Шишиморова М.С.

научный дизайн – Полумискова А.О., Тевкин С.И.

исполнение заявленного научного исследования – Полумискова А.О.

интерпретация заявленного научного исследования – Полумискова А.О., Тевкин С.И., Шишиморова М.С.

создание научной статьи – Полумискова А.О., Шишиморова М.С., Джусубалиева Т.М.

**Финансирование:** Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.