

ПЕРСониФИЦИРОВАННЫЙ ПЕРЕНОС ЭМБРИОНОВ У ЖЕНЩИН С ПОВТОРНЫМИ НЕУДАЧАМИ ИМПЛАНТАЦИИ: РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ГРУППОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

*Е. Аскар^{1,2}, А.Н. Рыбина^{1,2}, А.Т. Абшекенова^{1,2},
Ш.К. Карибаева^{1,2}, Р.К. Валиев¹, В.Н. Локшин¹*

¹ТОО «Международный клинический центр репродуктологии «PERSONA»», Алматы, Республика Казахстан;

²НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова»,
Алматы, Республика Казахстан

АННОТАЦИЯ

Актуальность: Достижение положительного результата в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) возможно при синхронизации эндометрия и эмбриона в момент переноса эмбрионов, что приводит к имплантации. Одной из причин десинхронизации эндометрия и эмбриона является сдвиг окна имплантации, что может быть индивидуальной особенностью женщины, а не только исходом хронического эндометрита. Определение морфологического «субстрата» имплантации со стороны эндометрия – пиноподий и экспрессии фактора, ингибирующего лейкемию (LIF), в дни предполагаемого переноса эмбриона при соответствующей подготовке эндометрия дает возможность проведения персонифицированного переноса эмбрионов (РЕТ). РЕТ, подходящий конкретной пациентке, повышает ее шанс на беременность до общепопуляционного уровня.

Цель исследования – изучить частоту наступления беременности у женщин с повторными неудачами имплантации в период «окна имплантации» в зависимости от длительности приема прогестерона и уровня экспрессии маркеров имплантации LIF, пиноподии.

Материалы и методы: Проведено ретроспективное сплошное исследование с января 2021 года по сентябрь 2022 года в Международном клиническом центре репродуктологии «PERSONA» (Алматы, Казахстан). В исследование были включены 51 женщина с ПНИ, которым была сделана диагностическая офисная гистероскопия с биопсией эндометрия в пролиферативную фазу менструального цикла, на 6 и 8 день приема прогестерона с гистологией эндометрия. Также было проведено ИГХ на LIF, пиноподии.

Результаты: Частота клинической беременности после РЕТ в 1 группе составила 60% (9 пациенток), во 2 группе – 52,9% (27 пациенток), $p=0,63$. Во 2 группе, пациентки, которые раньше не имели положительного результата, при РЕТ получили положительный результат, сравнимый с общепопуляционным.

Заключение: Сдвиг «окна имплантации» может привести к неудачным попыткам ВРТ. Изменение временных рамок развития пиноподий и аномальной экспрессии LIF в эндометрии приводит к неудачам имплантации, так как отсутствует синхронная готовность эндометрия и эмбриона к имплантации, поэтому стандартный перенос эмбрионов приводит к неудаче. Проведение РЕТ у женщин со сдвигом окна имплантации повышает шанс наступления беременности.

Ключевые слова: Персонифицированный перенос эмбриона (РЕТ), окно имплантации, лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), повторные неудачи имплантации (ПНИ).

PERSONALIZED EMBRYO TRANSFER IN WOMEN WITH REPEATED IMPLANTATION FAILURES: A RETROSPECTIVE GROUP STUDY

*Y. Askar^{1,2}, A.N. Rybina^{1,2}, A.T. Abshekenova^{1,2},
Sh. Karibayeva^{1,2}, R.K. Valiev¹, V.N. Lokshin¹*

¹«International Clinic of Reproductive Health «PERSONA» LLP, Almaty, the Republic of Kazakhstan;

²«Asfendiyarov Kazakh National Medical University» NCJSC, Almaty, the Republic of Kazakhstan

ABSTRACT

Relevance: Achieving a positive result in the programs of assisted reproductive technologies is possible when the endometrium and the embryo are synchronized at the time of embryo transfer, which will lead to implantation. One of the reasons for the desynchronization of the endometrium and the embryo is the shift of the window of implantation, which can be an individual feature of a woman and not just a result of chronic endometritis. Determination of the morphological “substrate” of the endometrium - pinopode - and the expression of the leukemia inhibitory factor (LIF) on the day of the intended embryo transfer with appropriate preparation of the endometrium, allows carrying out personalized embryo transfer (RET).

The study aimed to study the pregnancy rate in women with repeated implantation failures during the “implantation window” depending on the duration of progesterone intake and the level of implantation markers expression of LIF, pinopodium.

Materials and Methods: A retrospective cohort study was conducted from January 2021 to September 2022 at the private fertility unit PERSONA International Clinical Center for Reproductive Health in Almaty, Kazakhstan, performing in vitro fertilization. 51 patients with RIF underwent hysteroscopy with biopsy of the endometrium in the proliferative phase of the menstrual cycle on days 6 and 8 of taking progesterone. IGH study of LIF and pinopodes was also conducted.

Results: The frequency of clinical pregnancy after personalized transfer in group 1 was 60% (9 patients); in group 2 - 52.9% (27 patients), $p=0.63$. In group 2, patients who previously had a positive result received a positive result during personalized transfer, comparable to the general population.

Conclusion: A shift of the “implantation window” can lead to unsuccessful attempts to apply assisted reproductive technologies. A change in the time frames of the development of pinopode and abnormal expression of LIF in the endometrium leads to implantation failures since there is no synchronous readiness of the endometrium and embryo for implantation. Therefore, the standard transfer of embryos leads to failure. Personalized embryo transfer (RET) increases the chance of pregnancy in women with a sliding window implantation.

Keywords: *Personalized embryo transfer, a window of implantation, leukemia inhibitory factor (LIF), repeated implantation failure.*

ҚАЙТАЛАНАТЫН ИМПЛАНТАЦИЯ СӘТСІЗДІГІ БАР ӘЙЕЛДЕРДЕ ЭМБРИОНДАРДЫҢ ДЕРБЕСТЕНДІРІЛГЕН ТАСЫМАЛЫ: РЕТРОСПЕКТИВТІ ТОПТЫҚ ЗЕРТТЕУ

*Е. Асқар^{1,2}, А.Н. Рыбина^{1,2}, А.Т. Абшекенова^{1,2},
Ш.К. Карибаева^{1,2}, Р.К. Валиев¹, В.Н. Локшин¹*

*¹«PERSONA» Халықаралық репродуктология клиникалық орталығы» ЖШС, Алматы,
Қазақстан Республикасы;*

*²«С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті» АҚ,
Алматы, Қазақстан Республикасы;*

АНДАТПА

Өзектілігі: Қосалқы репродуктивті технология бағдарламаларында оң нәтижеге жету эмбрионды тасымалдау кезінде эндометрии мен эмбрион синхронизациясы кезде мүмкін болады, бұл имплантацияға әкеледі. Эндометрии мен эмбрионның десинхронизациясының себептерінің бірі имплантация терезесінің ығысуы болып табылады, бұл созылмалы эндометриттің салдары емес, әйелдің жеке ерекшелігі болуы мүмкін. Эмбриондардың дербестендірілген тасымалы, әр әйелге өзінің ерекшеліктерін ескере отырып, жалпы популяциядағы жүктіліктің мүмкіндігін жоғарлатады.

Зерттеудің мақсаты – Прогестеронды қабылдау ұзақтығына және LIF, пиноподии эспрессиясына байланысты «Имплантация терезесі» кезінде қайталанатын имплантация сәтсіздігі бар әйелдерде жүктілік көрсеткіштерін бағалау.

Материалдар мен әдістері: 2021 жылдың қаңтарынан 2022 жылдың қыркүйегіне дейін PERSONA халықаралық репродуктология клиникалық орталығында ретроспективті зерттеу жүргізілді. Зерттеуге етеккір циклінің пролиферативті фазасында прогестерон қабылдауының 6 және 8-ші күндерінде диагностикалық гистероскопиямен бірге эндометриялық биопсиямен жүргізілген қайталанатын имплантация сәтсіздігі бар 51 әйел қамтылды. LIF және пиноподиялардв анықтауға иммуногистохимиялық зерттеуде жүргізілді.

Нәтижелері: Дербестендірілген эмбрион тасымалынан кейінгі клиникалық жүктіліктің жиілігі 1 топта 60% (9 пациент), 2 топта - 52,9% (27 пациент), $p=0,63$. 2-топта бұрын оң нәтиже бермеген емделушілер персонализацияланған трансфермен жалпы популяциямен салыстырғанда оң нәтиже алды.

Қорытынды: «Имплантация терезесінің» ауысуы қосалқы репродуктивті технологияның сәтсіз әрекеттеріне әкелуі мүмкін. Пиноподидың даму уақытын өзгерту және эндометридегі қалыпты LIF экспрессиясы имплантацияның сәтсіздігіне әкеледі, өйткені эндометрия мен эмбрионның имплантацияға синхронды дайындығы жоқ, сондықтан стандартты эмбрион трансфері сәтсіздікке әкеледі. Имплантация терезесі ауысқан әйелдерде эмбриондарды дербестендірілген тасымал жасау жүктілік мүмкіндігін арттырады.

Түйінді сөздер: *дербестендірілген эмбрион тасымалы, имплантация терезесі, қайталанатын имплантация сәтсіздіктері (RIF), Лейкемия-тежеуші фактор (LIF), пиноподии.*

Введение: Совершенствование результатов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) связано с решением основной проблемы репродуктологии – распознавание окна имплантации. Рецептивность эндометрия имеет решающее значение для имплантации эмбриона, и было доказано, что ее нарушение является важным фактором бесплодия [1].

Имплантация эмбриона – сложный процесс, требующий синхронного диалога между здоровым эмбрионом и восприимчивым эндометрием [2]. Рецептивность эндометрия определяется конечным и чувствительным ко времени окном имплантации, управляемым не полностью определенным комплексом эндокринных, паракринных и аутокринных факторов [3]. Во время типичного фи-

зиологического менструального цикла продолжительность такого окна, когда может произойти имплантация бластоцисты, ограничена 4-5-дневным периодом. При вспомогательной репродукции этот процесс фармакологически имитируется за счет комбинации добавок эстрогена и прогестерона с мониторингом окна имплантации, оцениваемым с помощью ультразвукового исследования и уровня гормонов в крови [4]. Нарушения синхронизации между эндометрием и эмбрионом является причиной отсутствия имплантации. В нашем исследовании были изучены количественные значения экспрессии LIF и развития пиноподий у женщин с ПНИ в период «Окна имплантации» в зависимости от длительности назначения прогестерона.

Цель исследования – изучить частоту наступления беременности у женщин с повторными неудачами имплантации в период «окна имплантации» в зависимости от длительности приема прогестерона и уровня экспрессии маркеров имплантации LIF, пиноподии.

Материалы и методы: Проведено ретроспективное сплошное исследование в Международном клиническом центре репродуктологии «PERSONA» (Алматы, Казахстан) с января 2021 года по сентябрь 2022 года. В исследование были включены 51 женщин, имевшие в анамнезе неудачные попытки переноса эмбриона высокого морфологического класса по Гарднеру $\geq 4AB$ или зуплоидного эмбриона по заключению aCGH. В прошлом все пациентки перенесли гистероскопию и биопсию эндометрия с гистологическим исследованием + иммуногистохимическое исследование (ИГХ) на хронический эндометрит (ХЭ). В дальнейшем они получили лечение ХЭ и прошли контрольную биопсию без признаков воспаления, однако первый цикл переноса после контрольной биопсии был с отрицательным результатом.

Критерии включения: возраст до 38 лет или донорские ооциты; перенос эмбриона высокого качества $\geq 4AB$ по Гарднеру; необъяснимое бесплодие; 2 и более неудачных переноса эмбрионов в анамнезе; отсутствие ХЭ по данным ИГХ.

Критерии исключения: возраст старше 38 лет и собственные ооциты; суррогатное материнство; тяжелый мужской фактор; качество эмбриона ниже 4AB по Гарднеру; другие патологии эндометрия (ХЭ, миома матки, полипы эндометрия).

Женщины были разделены на 2 группы по результатам иммуногистохимического исследования экспрессии LIF и пиноподии. Возраст пациенток в группах колебался от 24 до 54 лет. В первую группу вошли 15 женщин, у которых на 6 сутки приема прогестерона была выявлена недостаточная экспрессия LIF и пиноподий ≤ 7 баллов, а на 8 сутки приема прогестерона экспрессия LIF и пиноподий составила 8-9 баллов. Вторая группа, в которой были 31 (60,8%) женщин с нормальной экспрессией LIF и пиноподий на 6 сутки приема прогестерона, были подготовлены на стандартный перенос эмбрионов.

Для пролиферации эндометрия пациентки получали эстрадиола валерат в дозе 6-8 мг/сут, при достижении толщины эндометрия 8-10 мм назначался препарат микролизированного прогестерона в дозе 600-800 мг/сут. В течение ближайших 1-3 месяцев к биопсии пациентки были подготовлены к криопереносу эмбрионов в искусственном цикле.

Проведена диагностическая офисная гистероскопия с биопсией эндометрия или аспирационная биопсия эндометрия на 6 и 8 день приема прогестерона в искусственном цикле, имитирующем цикл подготовки к криопереносу. Было проведено ИГХ на LIF и пиноподии по стандартной методике. Экспрессию LIF, пиноподии определяли в баллах: экспрессию LIF и пиноподий в 10% принимали за 1 балл. Оценка в 8-9 баллов считалась достаточной для успешной имплантации.

Персонализированный перенос эмбриона (PET) проведен на 8 день приема прогестерона в 1 группе. 15 пациенткам перенесен 1 эмбрион высокого качества и/или после преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А). Во 2 группе 31 пациентке проведен стандартный перенос эмбрионов в искусственном цикле на 6 день приема прогестерона.

Данные, полученные в ходе исследования, были подвергнуты статистической обработке с использованием вариационной статистики с использованием базы данных SPSS. При сравнении средних значений использовали t-критерий Стьюдента. Качественные переменные описываются абсолютными (n) и относительными (%) значениями. Критерий χ^2 использовался для сравнения частот и качественных переменных. Значение вероят-

ности (P-значение) менее 0,05 считалось статистически значимым. Первичной конечной точкой была частота клинической беременности. Формулы расчёта: частота клинической беременности = число беременностей/число переносов $\times 100\%$.

Результаты: Частота клинической беременности при переносе эмбриона высокого качества в 1й группе составила 60% (9 пациенток), во 2й группе – 52,9% (27 пациенток), $p=0,63$ (рисунок 1). Во 2й группе пациентки, которые раньше не имели положительного результата, при проведении PET получили положительный результат, сравнимый с общепопуляционным. Толщина эндометрия перед назначением препаратов прогестерона достоверно не отличалась и составила 8,84 мм (ДИ 95%: 8,52-9,16 мм). Во 2й группе средняя толщина составила 8,52 мм (ДИ 95%: 8,2-8,36 мм) ($p<0,005$).

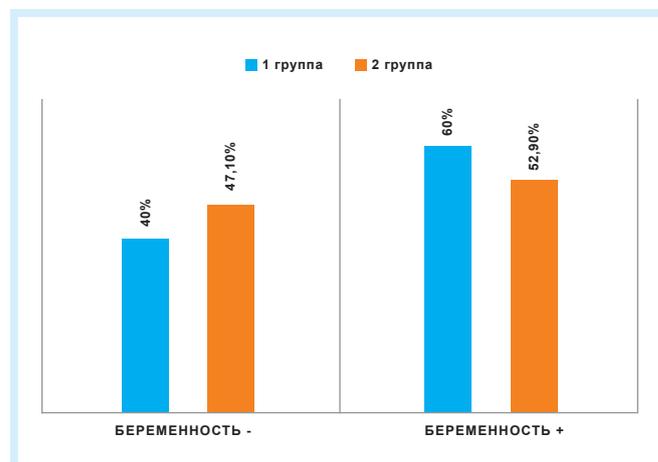


Рисунок 1 – Показатели частоты наступления беременности в группах исследования

Обсуждение: ХЭ считается одной из предполагаемых причин ПНИ в программах ВРТ. Однако лечение ХЭ и получение отрицательных контрольных результатов ИГХ на CD-138 не у всех пациенток приводит к наступлению беременности. Данная категория неудач может быть связана со сдвигом окна имплантации и десинхронизацией эндометрия и эмбриона при стандартной подготовке к переносу на 6 сутки приема прогестерона. Определение экспрессии LIF и пиноподий в разные дни может помочь выявить сдвиг, характерный для конкретной пациентки. Гистологическое исследование в сочетании с ИГХ является стандартизированной процедурой, позволяющее провести количественное определение экспрессии LIF и пиноподий, является менее дорогостоящей по сравнению, например, с исследованием массива рецептивности эндометрия (ERA) и доступной в разных странах [5]. ERA уже несколько лет используется для диагностики молекулярного статуса рецептивного эндометрия с применением панели массива экспрессии примерно из 250 генов, связанных с рецептивностью эндометрия [6]. Этот диагностический инструмент также может помочь выявить, что у каждой женщины есть персонализированное окно имплантации, которое можно использовать для оптимизации сроков переноса эмбрионов. Однако использование этого инструмента имеет ограничения, в том числе расходы, неточные результаты и инвазивный характер теста [6, 7]. Проверив 17 исследований в метаанализе 2022 г., Н.Р. Трап и др. не выявили увеличения частоты клинической беременности после применения ERA, только при первом переносе эмбрионов [8]. В 2018 г. М. Аунарчи и др. показали, что женщины с плохими результатами ЭКО

обычно имеют изменения формы пиноподий и слабое развитие пиноподий [9, 10]. Персонализация криопереноса у таких женщин привела к увеличению частоты наступления беременности.

Заключение: Проведение ПЕТ у женщин со сдвигом окна имплантации повышает шанс наступления беременности. Изменение временных рамок развития пиноподий

и аномальной экспрессии LIF в эндометрии приводит к неудачам имплантации, так как отсутствует синхронная готовность эндометрия и эмбриона к имплантации, поэтому стандартный перенос эмбрионов приводит к неудаче. Следует провести хорошо спланированные проспективные исследования или РКИ, чтобы прояснить представленные выводы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Lessey B.A., Young S.L. What exactly is endometrial receptivity? // *Fertil. Steril.* – 2019. – Vol. 111. – P. 611-617. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.02.009>
2. Brosens J.J., Salker M.S., Teklenburg G., Nautiyal J., Salter S., Lucas E.S. Uterine selection of human embryos at implantation // *Sci. Rep.* – 2014. – Vol. 4. – P. 3894. <https://doi.org/10.1038/srep03894>
3. Dahdouh E.M., Balayla J., Garcia-Velasco J.A. Impact of blastocyst biopsy and comprehensive chromosome screening technology on preimplantation genetic screening: a systematic review of randomized controlled trials // *Reprod. BioMed. Online.* – 2015. – Vol. 30(3). – P. 281-289. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.11.015>
4. Tan J., Kan A., Hitkari J., Taylor B., Tallon N., Warraich G., Yuzpe A., Nakhuda G. The role of the endometrial receptivity array (ERA) in patients who have failed euploid embryo transfers // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2018. – Vol. 35(4). – P. 683-692. <https://doi.org/10.1186/s40738-019-0059-7>
5. Аскар Е., Рыбина А., Абшекенова А., Локшин В., Карибаева Ш., Валиев Р. Экспрессия LIF у женщин с повторными неудачами имплантации и хроническим эндометритом // *Репрод. Мед.* – 2023. – №1(54). – С. 25-28 [Askar E., Rybina A., Abshekenova A., Lokshin V., Karibaeva Sh., Valiev R. Jekspressija LIF u zhenshin s povtornymi neudachami implantacii i hronicheskim jendometritom // *Reprod. Med.* – 2023. – №1(54). – S. 25-28 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.37800/RM.1.2023.25-28>
6. Díaz-Gimeno P., Ruiz-Alonso M., Blesa D., Bosch N., Martínez-Conejero J.A., Alama P., Garrido N., Pellicer A., Simón C. The accuracy and reproducibility of the endometrial receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial receptivity // *Fertil. Steril.* – 2013. – Vol. 99(2). – P. 508-517 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.046>
7. Díaz-Gimeno P., Horcajadas J.A., Martínez-Conejero J.A., Esteban F.J., Alama P., Pellicer A., Simon C. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 95(1). – P. 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.04.063>
8. Bassil R., Casper R., Samara N., Hsieh T.B., Barzilay E., Orvieto R., Haas J. Does the endometrial receptivity array really provide personalized embryo transfer? // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2018. – Vol. 35(7). – P. 1301-1305. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1190-9>
9. Tran H.P., Tran T.T., Le L.T., Pham B., Vu S.N., Ly L.T., Hoang T.T. The impact of an endometrial receptivity array on personalizing embryo transfer for patients with infertility: a meta-analysis // *F&S Reviews.* – 2022. – Vol. 3(3). – P. 157-173. <https://doi.org/10.1016/j.xfnr.2022.06.002>
10. Aunapuu M., Kibur P., Järveots T., Arend A. Changes in morphology and presence of pinopodes in endometrial cells during the luteal phase in women with infertility problems: A pilot study // *Medicina (Kaunas).* – 2018. – Vol. 54(5) – P. 69. <https://doi.org/10.3390/medicina54050069>

Данные авторов:

Аскар Е. – акушер-гинеколог ТОО «Международный клинический центр репродуктологии «PERSONA»», докторант НАО «Казахский национальный медицинский университет» им. С.Д. Асфендиярова, тел.: +77075670670, e-mail: yenglik.askar@yahoo.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2538-3728>.

Рыбина А.Н. (корреспондирующий автор) – репродуктолог, акушер-гинеколог ТОО «Международный клинический центр репродуктологии «PERSONA»», докторант НАО «Казахский национальный медицинский университет» им. С.Д. Асфендиярова, тел.: +77772636715, e-mail: oedema@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9368-66837>.

Абшекенова А.Т. – репродуктолог, акушер-гинеколог ТОО «Международный клинический центр репродуктологии «PERSONA»», докторант НАО «Казахский национальный медицинский университет» им. С.Д. Асфендиярова, тел.: +77078305002, email: abshekenova@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3138-6650>.

Карibaева Ш.К. – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии НАО «Казахский национальный медицинский университет» им. С.Д. Асфендиярова, репродуктолог, акушер-гинеколог, директор по стратегическому развитию ТОО «Международный клинический центр репродуктологии «PERSONA»», тел.: +77017550675, e-mail: sh.karibaeva@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5691-8652>.

Валиев Р.К. – к.м.н., репродуктолог, акушер-гинеколог, ТОО «Международный клинический центр репродуктологии «PERSONA»», тел.: +77772258189, e-mail: rvaliev75@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2526-42917>.

Локшин В.Н. – академик НАН РК, профессор, главный репродуктолог МЗПК, президент Казахстанской Ассоциации Репродуктивной Медицины, Генеральный директор МКЦР «Persona», Алматы, Республика Казахстан, тел.: +77017558209, e-mail: v_lokshin@persona-ivf.kz, ORCID <https://orcid.org/0000-0002-4792-5380>.

Вклады авторов:

вклад в концепцию – **Абшекенова А.Т., Рыбина А.Н., Аскар Е.**

научный дизайн – **Локшин В.Н., Рыбина А.Н., Аскар Е.**

исполнение заявленного научного исследования – **Абшекенова А.Т., Рыбина А.Н., Аскар Е., Карibaева Ш.К., Валиев Р.К.**

интерпретация заявленного научного исследования – **Абшекенова А.Т., Рыбина А.Н., Аскар Е., Локшин В.Н., Карibaева Ш.К., Валиев Р.К.**

создание научной статьи – **Абшекенова А.Т., Рыбина А.Н., Аскар Е., Локшин В.Н., Карibaева Ш.К., Валиев Р.К.**

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии финансирования исследования.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования: Авторы несут полную ответственность за содержание данной статьи.