

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ПОДВІЙНОГО ЕМБРІОТРАНСФЕРУ У ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ¹ДЗ “Український медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України”

(м. Харків, Україна)

²Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України (м. Харків, Україна)³Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків, Україна)

gaviley_o@ukr.net

Метод подвійних кріопереносів ембріонів є багатообіцяючим інструментом в області допоміжних репродуктивних технологій. Частота настання вагітності після переносу вітрифікованих ембріонів за даними різних досліджень становить 40-50%. Проте, якість ембріонів – не єдиний фактор, що впливає на успішну імплантацію та частоту настання вагітності. Не менш важливою складовою є фактори спричинені станом матки. На даний час, жоден з протоколів підготовки ендометрію до кріопереносу не є універсальним з точки зору оцінки “вікна” імплантації, оскільки кожного менструального циклу воно може змінюватись.

В дослідженні було проведено аналіз 156 кріоциклів серед жінок віком від 26 до 30 років, в анамнезі які мали відсутність ембріотрансферу, у зв'язку з ускладненнями після гормональної стимуляції, або одну чи більше невдалих спроб ембріотрансферу. Подвійні ембріотрансфери проводились пацієнтам з попередніми невдалими спробами та пацієнтам старшого репродуктивного віку.

Аналіз проведених кріоциклів серед жінок різних вікових груп направлений на пошук оптимальних умов і часу для проведення ембріотрансферу, включаючи модифікації загальноприйнятого та подвійного переносу показав, що застосування методу подвійного ембріотрансферу дає можливість підвищити ефективність кріоциклів, збільшуючи частоту настання вагітностей та живонароджування, зменшуючи кількість багатоплідних вагітностей. При подвійних кріопереносах збільшується вірогідність попадання у “вікно” імплантації, оскільки його час не є постійним по відношенню до відповіді ендометрію.

Ключові слова: ембріон, вітрифікація, імплантація, подвійні ембріотрансфери, вікно імплантації, ендометрій, стимуляція.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження є частиною НДР «Підвищення ефективності раціонального ведення вагітності і пологів при плацентарній дисфункції й високому ризику перинатальної паталогії», № державної реєстрації 0113U000973.

Вступ. Кількість дітей народжених за допомогою допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), збільшується в усьому світі. Однак, не дивлячись на постійне удосконалення протоколів та дійсно революційні досягнення репродуктології, ефективність програм «запліднення in vitro» за даними всесвітнього комітету з моніторингу ДРТ (ICMART) та Європейської спілки репродукції людини та ембріології (ESHRE) за-

лишається у межах від 24% до 48%, причому лише 70% таких вагітностей завершуються пологамі [1].

Протягом останніх років збільшується тенденція до переносу ембріонів в кріоциклах оминаючи перенос ембріонів у циклі стимуляції. Наростаюча популярність зумовлена в першу чергу зменшенням впливу та наслідків гормональної стимуляції яєчників на організм жінок. Кріоконсервація дає можливість використання якісного матеріалу в ДРТ не вдаючись до повторних гормональних стимуляцій, а також використовується для передімплантаційної генетичної діагностики (ПГД). ПГД дозволяє не тільки запобігти народженню дітей з генетичними захворюваннями, а й в багатьох випадках підвищує ефективність програм екстракорпорального запліднення (ЕКЗ).

На сьогодні якість вітрифікованих ембріонів та їх потенціал не відрізняються від ембріонів отриманих у свіжих циклах [2]. Частота настання вагітності після переносу вітрифікованих ембріонів за даними різних досліджень становить 40-50% [1]. Проте, залишається відкритим цілий спектр питань впливу факторів кріоконсервування на морфофункціональні характеристики ембріонів людини. Зокрема, не отримано переконливих доказів безпеки процедури кріоконсервування, тривалого зберігання і відтаювання для генетичного апарату ембріонів людини [3].

Якість ембріонів – не єдиний фактор, що впливає на успішну імплантацію та частоту настання вагітності. Вважають, що близько 70% візуально здорових ембріонів після переносу не імплантується. В такому випадку, після проведення ПГД і виключення всіх явних причин, які перешкоджають успішному завершенню програми, невдачу розцінюють як порушення на етапі імплантації ембріону [4].

Якщо ембріони задовільної якості, а умови культивування є оптимальними, вибір підходящого часу ембріотрансферу, кількості ембріонів та стадії їх розвитку залишаються ключовими факторами для настання успішної вагітності [5]. Вважається, що якість ембріона визначає результат перших днів вагітності, тоді як її продовження залежить від факторів спричинених станом матки, адже рецептивність ендометрію може визначити до 64% успіху імплантації.

На даний час, жоден з протоколів підготовки ендометрію до кріопереносу не є універсальним з точки зору оцінки “вікна” імплантації, оскільки кожного менструального циклу воно може змінюватись [6].

Зазвичай в програмах ДРТ протягом одного менструального циклу, проводять один ембріотрансфер декількох ембріонів (від одного до трьох) – загально-

прийнятий ембріотрансфер. Для кращої імплантації ембріонів може використовуватися метод подвійного ембріотрансферу, який дає можливість збільшити вірогідність попадання у «вікно» імплантації, за рахунок синхронізації зрілості ендометрію і ембріона.

Перші дані про результати використання методики подвійного ембріотрансферу мали суперечливий характер. Деякі автори не відмічали ніякої різниці в частоті настання клінічних вагітностей та імплантації між загальноприйнятим «класичним» та «подвійним» переносами, пояснюючи це тим, що повторне втручання в порожнину матки може нашкодити ембріону який вже імплантувався [7]. Інші [8], показали високу ефективність подвійного переносу ембріонів, пояснюючи це можливою підготовкою ендометрію, викликаною першим ембріотрансфером.

Використання подвійного ембріотрансферу в кріопротоколі показало високу частоту настання вагітності – 53,7% проти 40% в загальноприйнятому переносі відповідно, при цьому частота настання багатоплідної вагітності зменшилась і склала 2,3% проти 15% відповідно [9]. Аналіз проведений Расса А та ін. [10] показав, що показник живонародженості не має достовірної різниці між «класичними» та «подвійним» кріопереносами і склав 21,7% проти 23,4%, але показник багатоплідної вагітності частіше зустрічається при «подвійних» ембріотрансферах 16,7% проти 1,9% (p < 0,01).

Мета дослідження. Оцінити ефективність використання методу подвійних ембріотрансферів в проведених кріоциклах, з метою удосконалення кріопротоколів та підвищення результативності у циклах ДРТ.

Об'єкт і методи дослідження. Вперше було проведено оцінку ефективності методу подвійного ембріотрансферу в кріоциклах ДРТ у порівнянні з загальноприйнятим методом.

Були проаналізовані кріоцикли проведені в 2018-2019 рр. у жінок віком 26 – 45 років, та розділені на дві групи в залежності від обраного методу ембріотрансферу. В дослідженні було проведено аналіз кріоциклів, що проводились в 2018-2019 рр. групи були поділені за віком та методом ембріотрансферу.

Таблиця – Показники вагітностей та народжуваності в залежності від віку пацієнтів

Вік	Подвійні кріопереноси				Загальноприйняті кріопереноси			
	Жінок	Вагітностей	Багатоплідних вагітностей	Живонародження	Жінок	Вагітностей	Багатоплідних вагітностей	Живонародження
до 30	9	6 (66,6%)	0	4 (44,4%)	19	10 (52,6%)	2	5 (50,0%)
31-35	18	10 (55,5%)	1	9 (90,0%)	40	17 (42,5%)	2	12 (70,6%)
36-45	29	14 (48,2%)	2	7 (50,0%)	41	13 (31,7%)	1	5 (38,5%)
всього	56	30 (53,6%)	3	20 (66,7%)	100	40 (40,0%)	5	22 (55,0%)

Молодший репродуктивний вік 26-30 років, середній 31-35 років, старший 36-45 років. Розподіл по групам такий в групі молодшого репродуктивного віку 28 жінок, середнього репродуктивного віку – 58 та старшого репродуктивного віку – 70 жінок відповідно. В анамнезі жінки мали відсутність ембріотрансферу, у зв'язку з ускладненнями після гормональної стимуляції, або одну чи більше невдалих спроб ембріотрансферу. Всього було проведено 156 кріоциклів: 100 – загальноприйнятим та відповідно 56 з подвійним ембріотрансфером. Подвійні ембріотрансфери проводились пацієнтам з попередніми невдалими спробами та пацієнтам старшого репродуктивного віку.

Всі ембріони були кріоконсервовані на стадії бластоцисти методом вітрифікації у середовищах та носіях Cryotech (Японія). Кріоконсервація проводилась згідно з інструкцією виробника.

Відтаювання ембріонів проводили в день ембріотрансферу за інструкцією виробника середовища для ревітрифікації Cryotech (Японія). Всі ембріологічні параметри ембріонів після розморожування ембріолог оцінював відразу після відтаювання і повторно перед проведенням ембріотрансферу.

Ембріотрансфер проводили спираючись на день від призначення препаратів на основі прогестерону та день менструального циклу пацієнтки, за допомогою катетера Sydney IVF Cook Medical (Австралія). Кількість перенесених ембріонів в порожнину матки при загальноприйнятому ембріотрансфері становила 1 або 2, інколи 3 ембріони (за згодою пацієнтів), при подвійному – двічі по 1 ембріону.

Результати між групами порівнювали за альтернативними ознаками, зокрема наявність або відсутність вагітності, спираючись на результати тестів з визначення хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) і кількості клінічних вагітностей. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакету програм MS Excel. Оцінка статистичної гіпотези проводилась за допомогою критерію χ^2 (Хи-квадрат) p=0,02, при n=2.

Результати досліджень та їх обговорення. В дослідженні показано, що використання «подвійних» ембріотрансферів збільшує ефективність кріоциклів у програмах ДРТ, в середньому на 13,6%. Так, в групі з подвійними кріопереносами частота настання вагітності склала 53,6%, в той час як в групі з загальноприйнятими усього 40,0%, а частота живонародження 35,7% та 22,0% відповідно.

Слід зауважити, що найбільша кількість кріоциклів, як з використанням подвійних так і загальноприйнятих переносів припали на групу пацієнтів старшого репродуктивного віку (від 36 до 45 років) – 44,9% від усіх переносів. Так, в групі пацієнтів з загальноприйнятими кріопереносами він становив 41,0%, з подвійними – 51,7%, при цьому зростав відсоток багатоплідних вагітностей.

Проте, кількість народжених дітей в групі з подвійним ембріотрансфером склала 66,7% проти 55,0% в загальноприйнятих (табл.).

Проведений аналіз показав, що показник живонародження не має достовірної різниці між загальноприйнятими та подвійними кріопереносами у пацієнтів до 30 років і складає 44,4% проти 50,0%, однак багатоплідні вагітності частіше зустрічається в групі з

загальноприйнятими ембріотрансферами, в той час як в групі з подвійними кріопереносами не відмічалось жодного випадку багатоплідних вагітностей.

Що стосується пацієнтів середнього репродуктивного віку (від 31 до 35 років), то відсоток вагітностей частіше відмічався в групі пацієнтів з подвійним ембріотрансфером і становив 55,5% проти 42,5%, відсоток живонародження складав 90,0% проти 70,6%. В групі пацієнтів, яким було проведено загальноприйнятий ембріотрансфер двох та більше ембріонів, багатоплідні вагітності зустрічалися частіше.

Спираючись на літературні дані та проведений аналіз було визначено, що серед пацієнтів середнього та старшого репродуктивного віку є доцільним використання методу подвійного ембріотрансферу.

Оскільки, пацієнти старшої вікової групи мають ряд особливостей, які ускладнюють реалізацію репродуктивної функції жінки спричинену перш за все – зниженням оварального резерву, гінекологічними захворюваннями (аденоміоз, міоми матки, гіперплазія ендометрію, довготривалими запальними процесами придатків та матки, оперативними втручання на органах малого тазу та ін.) та ендокринними патологіями [11], використання кріоциклів в багатьох випадках може підвищити ефективність програм ЕКЗ.

Аналіз проведених кріоциклів був направлений на пошук оптимальних умов і часу для проведення ембріотрансферу, включаючи модифікації загальноприйнятого та подвійного переносу.

Враховуючи все це подвійний ембріотрансфер може бути запропонований в якості альтернативного методу, який оснований на варіабельності процесу синхронізації зрілості ендометрію і стадії розвитку ембріону [4], що дозволяє збільшити вірогідність у його попадання.

Висновки

Подвійні ембріотрансфери дали можливість підвищити ефективність кріопереносів в середньому на 13,6%.

Застосування методу подвійного ембріотрансферу дозволило збільшити частоту настання вагітностей та живонароджування серед пацієнтів середнього та старшого репродуктивного віку на 14,8% та 15,5% відповідно.

Відмічено зменшення кількості багатоплідних вагітностей при використанні подвійних ембріотрансферів серед пацієнтів молодшого репродуктивного віку.

Аналіз проведених ембріотрансферів показав, що при подвійних кріопереносах збільшується вірогідність попадання у “вікно” імплантації, оскільки його час не є постійним по відношенню до відповіді ендометрію.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати можуть бути використані для пошуку оптимальних умов і часу для проведення ембріотрансферу в кріоциклі.

Література

1. De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka M, Wyns C, Mocanu E, Motrenko T, et al. Corrigendum. ART in Europe, 2015: results generated from European registries by ESHRE. Human Reproduction Open. 2020;3:1-17. DOI: 10.1093/hropen/hoaa038.
2. Devine K, Connell M, Richter K, Ramirez C, Levens E, De Cherney A, et al. Single vitrified blastocyst transfer maximizes liveborn children per embryo while minimizing preterm birth. Fertility And Sterility. 2015;103(6):1454-1460. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.02.032.
3. Batwala M, Wilding M, Dalapati T, Nargund G. Case report: Pregnancy After Vitrification of Biopsied Human Blastocysts Previously Frozen by the Slow Method. European Scientific Journal. 2018;14(27):51. DOI: 10.19044/esj.2018.v14n27p51.
4. Wael A, Madkour I, Noah B, Zaheer H, Al-Bahr A, Abdelhamid A, et al. Does sequential embryo transfer improve pregnancy rate in patients with repeated implantation failure? A randomized control study. Middle East Fertil Soc J. 2015;20(4):255-261. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/277588264>.
5. Stamenov GS, Parvanov DA, Chaushev TA. Mixed double-embryo transfer: A promising approach for patients with repeated implantation failure. Clinical and Experimental Reproductive Medicine. 2017;44(2):105-110. DOI: <https://doi.org/10.5653/cerm.2017.44.2.105>.
6. Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. J Hum Reprod Sci. 2015;8(3):121-9.
7. Farhat M, Zentner B, Lossos F, Bdolah Y, Holtzer H, Hurwitz A. Successful pregnancy following replacement of embryos previously refrozen at blastocyst stage: case report. Hum Reprod. 2001;16(2):337-339.
8. Kumasako Y, Otsu E, Utsunomiya T, Araki Y. The efficacy of the transfer of twice frozen-thawed embryos with the vitrification method. Fertility And Sterility. 2009;91(2):383-386. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.11.079.
9. Gukasyan S, Zarudneva A, Krasnova O, Bykova T, Buldina O, Tugushev M. Effektivnost' «dvoynikh» krioperenosov. Materialy KHKHĬKH Yezhegodnoy Mezhdunarodnoy konferentsii Rossiyskoy Assotsiatsii Reproduktsii Cheloveka Reprodukivnyye tekhnologii segodnya i zavtra; 2019; Rostov-na-Donu. Rostov-na-Donu: RARCH; 2019. s. 25-27. Dostupno: http://rahr.ru/d_pec_h_mat_konf/Tezis_RAHR_2019.pdf. [in Russian].
10. Racca A, Drakopoulos P, Van Landuyt L, Willem C, Santos-Ribeiro S, Tournaye H, et al. Single and double embryo transfer provide similar live birth rates in frozen cycles. Gynecological Endocrinology. 2020;36(9):824-828. DOI: 10.1080/09513590.2020.1712697.
11. Naimi N, Kalinina K, Donnikov D, Alieva A, Dudarova D, Tukhvatullina T. Efficiency of assisted reproductive technology programs in stimulated-cycle embryo transfer versus cryopreserved-thawed embryo transfer. Akusherstvo i Ginekologiya. 2016;6:11-17. DOI: 10.18565/aig.2016.6.11-17.

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ПОДВІЙНОГО ЕМБРІОТРАНСФЕРУ У ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Пітько В. А., Логінова О. О., Новикова О. О., Сініло Н. М., Черкашина Я. О., Павлов І. В., Гавілей О. В.

Резюме. Протягом останніх років збільшується тенденція до переносу ембріонів в кріоциклах. Наростаюча популярність зумовлена в першу чергу зменшенням впливу та наслідків гормональної стимуляції яєчників на організм жінок. Кріоконсервація дає можливість використання якісного матеріалу в ДРТ не вдаючись до повторних гормональних стимуляцій, а також використовується для ПГД, що дозволяє не тільки запобігти народженню дітей з генетичними захворюваннями, а й в багатьох випадках підвищує ефективність програм ЕКЗ. Якість ембріонів – не єдиний фактор, що впливає на успішну імплантацію, не менш важливою складовою є фактори спричинені станом матки.

Використання методу подвійного ембріотрансферу у кріоциклах, дає можливість збільшити вірогідність попадання у «вікно» імплантації, за рахунок синхронізації зрілості ендометрію і ембріона.

Метою роботи стала оцінка ефективності використання методу подвійних ембріотрансферів в проведених кріоциклах.

Для вивчення було відібрано дві групи пацієнтів віком 26-45 років, в лікуванні яких використовували подвійні та загальноприйняті (один ембріотрансфер) кріопереноси протягом 2018-2019 рр. Ембріони були кріоконсервовані на стадії бластоцисти (5 доба розвитку) методом вітрифікації. Кількість перенесених ембріонів в порожнину матки при загальноприйнятому ембріотрансфері становила 1 або 2, інколи 3 ембріони (за згодою пацієнтів), при подвійному – двічі по 1 ембріону. Результати між групами порівнювали за наявністю або відсутністю вагітності, спираючись на результати тестів з визначення хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) і кількості клінічних вагітностей. Оцінка статистичної гіпотези проводилась за допомогою критерію χ^2 (Хи-квадрат) $p=0,02$, при $n=2$.

Проведений аналіз показав, що подвійні ембріотрансфери дають можливість підвищити результативність проведених кріоциклів і зменшити частоту настання багатоплідних вагітностей. Використання даного методу дало можливість збільшити частоту настання вагітностей у пацієнтів старшого та середнього репродуктивного віку.

Ключові слова: ембріон, вітрифікація, імплантація, подвійні ембріотрансфери, вікно імплантації, ендометрій, стимуляція.

EVALUATION OF EFFICIENCY OF USING THE METHOD OF DOUBLE EMBRYOTRANSFER IN PROGRAMS OF AUXILIARY REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

Pitko V. A., Loginova O. A., Novikova O. A., Sinilo N. N., Cherkashina J. O., Pavlov I. V., Gaviley O. V.

Abstract. In recent years, there has been an increase in the trend towards embryo transfer in cryocycles. The growing popularity is primarily due to the reduction of the impact and consequences of hormonal stimulation of the ovaries on the body of women. Cryopreservation allows the use of high-quality material in assisted reproductive technologies, without resorting to repeated hormonal stimulation, and can also be used for prenatal genetic diagnosis, which not only prevents the birth of children with genetic diseases, but in many cases increases the effectiveness of treatment in vitro fertilization programs. The quality of embryos is not the only factor influencing the successful implantation, no less important component are the factors caused by the condition of the uterus.

The aim of the work was to evaluate the effectiveness of using the method of double embryo transfers in cryocycles.

Two groups of patients aged from 26 to 45 years were selected for the study, in the treatment of which double and conventional (one embryo transfer) cryopreservations were used during 2018-2019. The embryos were cryopreserved at the blastocyst stage (5 days of development) by vitrification. The number of embryos transferred to the uterine cavity in conventional embryo transfer was 1 or 2, sometimes 3 embryos (with the consent of patients), in double – twice 1 embryo.

The results between the groups were compared for the presence or absence of pregnancy, based on the results of tests to determine human chorionic gonadotropin (HCG) and the number of clinical pregnancies. The evaluation of the statistical hypothesis was performed using the criterion (Chi-square) $p=0.02$, with $n=2$.

The analysis showed that double embryo transfers make it possible to increase the effectiveness of cryocycles and reduce the incidence of multiple pregnancies. The use of this method made it possible to increase the frequency of pregnancies in patients of older and middle reproductive age.

Key words: embryos, vitrification, implantation, “double” cryo-transfers, “implantation window” endometrium, stimulation.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Pitko V. A.: 0000-0003-4237-7052 ^{AF}

Loginova O. A.: 0000-0002-7845-3195 ^{CE}

Sinilo N. N.: 0000-0002-1965-5627 ^{BC}

Cherkashina J. O.: 0000-0002-1947-2521 ^{BD}

Pavlov I. V.: 0000-0001-6687-7815 ^{BD}

Gaviley O. V.: 0000-0003-3335-0392 ^{BD}

Конфлікт інтересів:

Усі автори даної статті засвідчують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Гавілей Ольга Володимирівна

ДЗ “Український медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України”

Адреса: Україна, 61020, м. Харків, вул. Тімірязєва 10

Тел.: 0679056288

E-mail: gaviley_o@ukr.net

А – концепція роботи та дизайн, В – збір та аналіз даних, С – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, Е – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Тарасенко К. В.

Стаття надійшла 04.02.2021 року

Стаття прийнята до друку 07.08.2021 року