

Time-lapse технологии, или технологии покадровой съемки для постоянного наблюдения за развитием эмбрионов внутри инкубатора, используются в клинической эмбриологии уже более 10 лет. Современная система культивирования с системой Time Lapse объединяет три компонента: инкубатор, микроскоп и программное обеспечение. Связь этих элементов обеспечивает непрерывный мониторинг эмбрионов [Basile et al., 2014; Aparicio-Ruiz et al., 2016] и, параллельно, поддерживает стабильную и непрерывную среду культивирования, что позволяет избежать необходимости перемещать эмбрионы за пределы инкубатора, подвергая их нефизиологическим условиям, включая колебания температуры, влажности, pH и концентрации газа [Zhang et al., 2010].

Важным преимуществом культивирования в системах Time-lapse является возможность оценки морфокинетических параметров развития эмбрионов, многие из которых на основании длительных наблюдения являются положительными или отрицательными прогностическими факторами успешности лечения в циклах ВРТ. Опубликовано множество исследований, направленных на определение того, могут ли определенные особенности эмбриона быть связаны с образованием бластоцисты и исходами беременности [Meseguer et al., 2012; Aparicio-Ruiz et al., 2016]. Есть данные, что развитие до стадии бластоцисты было связано с временем первого дробления и интервала между вторым и третьим делениями [Wong et al., 2010]. В недавних исследованиях выявлена положительная и значимая корреляция между диаметром бластоцисты с исходами беременности [Sciorio et al., 2021]. Несколько исследований выявили различные особенности развития эмбрионов, отмеченные как факторы плохого прогноза, такие как прямое, неравномерное или обратное дробление [Desai et al., 2014; Jun 20; Liu et al., 2015 Jun; 103; Liu et al., 2014; Nov; Aguilar et al., 2014] или коллапсирование бластоцисты [Marcos et al., 2015; Sciorio et al., 2020-a; Sciorio et al., 2020]. Таким образом, существует ряд морфологических и динамических показателей развития эмбрионов, которые положительно коррелируют с высокой частотой имплантации и зуплоидным статусом эмбрионов. Все эти данные могут быть использованы при выборе и ранжировании эмбрионов.

В клинике Сканферт в марта 2021 года введен в эксплуатацию ПЕРВЫЙ В РОССИИ инкубатор с системой Time-lapse нового поколения Embryoscope Plus. К августу 2021 г. В Embryoscope Plus проведено культивирование эмбрионов 160 пар, проходящих лечение в клинике. Культивирование проводили в одношаговой среде GTL (Vitrolife) при 6% CO<sub>2</sub> и 4 % O<sub>2</sub>. Эмбрионы, полученные в результате оплодотворения методом ИКСИ, помещали в инкубатор сразу после оплодотворения, полученные при оплодотворении методом ЭКО - через 18-19 часов после добавления суспензии сперматозоидов, после очищения от клеток кумулюса. В 65 циклах проводилось ПГТ-А методом NGS (выполнено в лаборатории «Генетико»), биопсия проводилась на 5 и 6 день развития эмбрионов. Аннотирование эмбрионов в системе Guided Annotation проводилось в ручном режиме. При этом учитывались следующие параметры:

- число пронуклеусов;
- время первого деления;
- время деления на 3,4,5 клеток;
- время начала бластуляции;
- качество ВКМ и ТЭ.

В результате аннотирования по данным параметрам система присваивает каждому эмбриону соответствующий KID SCORE D5 по 10-ти балльной системе оценки развития и качества бластоцист и их потенциала к имплантации.

Выбор эмбрионов для переноса и / или криоконсервации осуществлялся в соответствии с KID SCORE D5. В случаях, когда ПГТ-А проводилось не для всех биопсированных эмбрионов, для диагностики в первую очередь отправлялись эмбрионы с более высоким KID SCORE.

Поскольку параметры, входящие в оценку KID SCORE, как показано в ряде научных публикаций, могут быть использованы для оценки прогноза успешной имплантации эмбриона, мы поставили задачу на первом этапе оценить корреляцию между оценкой KID SCORE и зуплоидным статусом эмбрионов.

Для этого мы выявили корреляцию между KID SCORE 179 эмбрионов с известным генетическим статусом и оценили достоверность различий этого показателя между зуплоидными, анеуплоидными и мозаичными эмбрионами. Результаты представлены в таблице 1.

Как видно из полученных данных, выявлено достоверное различие между группами зуплоидных и анеуплоидных эмбрионов. Мозаичные эмбрионы не имеют достоверных различий ни с группой зуплоидных, ни с группой анеуплоидных эмбрионов.

Кроме того в процессе аннотирования эмбрионов выявлен ряд морфокинетических особенностей развития, фиксация которых возможна только при использовании систем Time Lapse. Данные особенности и частота их выявления приведены в Таблице 2.

Таблица 1. Сравнение KID SCORE зуплоидных, анеуплоидных и мозаичных эмбрионов

	Зуплоидные эмбрионы	Анеуплоидные Эмбрионы	Мозаичные эмбрионы
Количество эмбрионов	93	70	16
KID SCORE D5	6,83±1,46*	5,97±1,34*	6,275±1,05

\* p=0,00013 - достоверно значимые различия

Таблица 2. Морфокинетические особенности развития эмбрионов, выявленные при культивировании в Embryoscope Plus и частота их встречаемости

	Морфокинетические особенности	Встречаемость
1	Раннее исчезновение пронуклеусов (до 17 часов после оплодотворения)	Единичные случаи
2	Слияние пронуклеусов	Единичные случаи
3	Появление третьего пронуклеуса (более, чем через 20 часов после оплодотворения)	Единичные случаи
4	Асинхронное появление второго пронуклеуса (через 25 часов после оплодотворения)	Единичные случаи
5	Мультиплекция на стадии двух бластомеров	Примерно 70% эмбрионов
6	Обратное дробление (слияние бластомеров)	8-10% эмбрионов
7	Прямое деление на 3 бластомера	5-10 % эмбрионов
8	Исключение бластомеров при компактизации	Около 20% морул
9	Коллапсирование бластоцист (пульсация)	20% бластоцист

Таким образом, в результате проведенного исследования показана положительная взаимосвязь между оценкой KID SCORE и зуплоидным статусом эмбриона. Полученные данные позволяют ранжировать эмбрионы по данному показателю при выборе на перенос и диагностику.

Данное исследование является первым этапом работы с данными, полученными при культивировании в Embryoscope Plus. В ходе дальнейших исследований планируется выявление возможных корреляций между KID SCORE и генетическим статусом эмбрионов у разных возрастных групп пациентов и пациентов с различными причинами бесплодия. Также планируется оценить значимость выявляемых морфокинетических «маркеров» для наступления имплантации и генетического статуса эмбрионов.

**Выводы:** Внедрение Time Lapse технологий в современную лабораторию ВРТ предоставила возможность оценить новые морфокинетические и морфометрические параметры, помогающие команде эмбриологов при выборе одного эмбриона для переноса, перспективных эмбрионов для криоконсервации и ранжирования эмбрионов для проведения ПГТ. Использование Embryoscope Plus позволяет поддерживать более стабильные условия культивирования и идентифицировать неизвестные или не определяемые при стандартном культивировании особенности развития эмбриона.