

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦЕЙТРАФЕРНОЙ СЪЕМКИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

© А. Ю. Романов,¹ Е. В. Ковальская, Н. П. Макарова,
А. Г. Сыркашева, Н. В. Долгушина

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. акад. В. И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ, Москва, 117997;

¹ электронный адрес: romanov1553@yandex.ru

Традиционным методом выбора эмбрионов в циклах вспомогательных репродуктивных технологий является визуальная оценка морфологии эмбриона с применением метода световой микроскопии. Несмотря на широкое использование данного метода в рутинной клинической практике, он имеет определенные недостатки, связанные с невозможностью анализа изменений скорости различных этапов преимплантационного развития эмбриона. Применение морфокинетического анализа позволяет наблюдать за эмбрионами в течение всего процесса культивирования *in vitro*. Оценка морфокинетических параметров эмбриона, а именно динамики его развития на ранних этапах эмбриогенеза, облегчает отбор наиболее перспективных эмбрионов для селективного переноса в полость матки, что способствует повышению эффективности программ экстракорпорального оплодотворения и снижению частоты многоплодных беременностей.

Ключевые слова: эмбрион, экстракорпоральное оплодотворение, вспомогательные репродуктивные технологии, морфокинетический анализ, селективный перенос эмбриона.

Для повышения эффективности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) в клинике часто применяется одновременный перенос нескольких эмбрионов, что сопряжено с повышением риска развития многоплодной беременности, ассоциированной с различными материнскими и неонатальными осложнениями (Kovacs, 2012; Ferraretti et al., 2013). В связи с этим в настоящее время особенно актуальным является выбор единственного эмбриона наилучшего качества для переноса в полость матки. Традиционным методом отбора эмбрионов в циклах ВРТ является визуальная оценка морфологии эмбрионов на различных этапах дробления с использованием метода световой микроскопии. Существует большое количество классификаций эмбрионов, включающих в себя определенные критерии для разных сроков развития эмбриона (Ebner et al., 2003).

Цель обзора — обобщение имеющихся литературных данных об использовании методов морфокинетического анализа для оценки качества эмбрионов в программах ВРТ и сравнение морфокинетического и традиционного анализа эмбрионов.

Оценка качества эмбрионов в циклах вспомогательных репродуктивных технологий

В 1-е сут после оплодотворения оценивают количество и морфологию пронуклеусов. Наличие в яйцеклетке двух пронуклеусов и двух полярных тел указывает на

нормальное развитие процесса оплодотворения. В литературе представлено несколько систем оценки качества эмбриона 1-х сут культивирования, в которых преимущественно оценивают морфологию пронуклеусов и их взаимное расположение (Tesarik, Greco, 1999; Scott et al., 2000; Scott, 2003). Согласно одной из классификаций, по размеру пронуклеусов, их форме, симметричности и расположению, по распределению, форме и распределению проядрышек зиготы градируются на 5 классов (Scott et al., 2000).

На 2-е и 3-и сут оценивают количество и размер бластомеров, их симметричность, наличие и степень фрагментации, наличие многоядерности бластомеров, а также состояние блестящей оболочки. По этим критериям эмбрионы подразделяются на 4 класса (А — эмбрион отличного качества, В — эмбрион хорошего качества, С — эмбрион с дефектами развития, D — эмбрион, не рекомендуемый для переноса). Эмбрион отличного качества на 2-е сут развития состоит из 4 бластомеров, на 3-и сут — из 7—8 бластомеров, имеет степень фрагментации менее 10 %, нормальную блестящую оболочку, бластомеры такого эмбриона симметричны, не имеют вакуолей и многоядерности (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011). Многоядерным считается бластомер, имеющий более 1 ядра в состоянии интерфазы.

На 4-е сут оценивают степень компактизации морулы и ее морфологию (Tao et al., 2002; Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of

Embryology, 2011). Признаками морулы хорошего качества считают протекание 4-й стадии дробления и вовлечение всех бластомеров в компактизацию (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011).

На 5—6-е сут оценивают морфологию бластоцисты (плотность упаковки и количество клеток внутренней клеточной массы, количество и размеры клеток трофэктодермы). Степень зрелости бластоцисты обозначают цифрами (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011): 1-я степень — ранняя бластоциста, полость бластоцисты меньше половины объема эмбриона; 2-я степень — полная бластоциста, полость полностью занимает объем эмбриона; 3-я степень — расширенная бластоциста, полость бластоцисты становится больше и начинает истончаться блестящая оболочка; 4-я степень — бластоциста, совершающая или совершившая хетчинг.

Помимо оценки степени зрелости бластоцисты, на 5—6-е сут проводят оценку внутренней клеточной массы (ВКМ) и трофэктодермы. ВКМ должна быть легко различима, выпуклой формы, состоять из большого количества клеток, компактно и плотно связанных вместе. Трофэктодерма должна состоять из большого количества плотно связанных эпителиоподобных клеток (Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011).

Хотя морфологическая оценка качества эмбрионов недорога и проста в реализации в условиях эмбриологической лаборатории, она имеет некоторые недостатки. Изменение скорости определенных этапов преимплантационного развития может остаться незамеченным при оценке морфологии в конкретный момент времени, что приводит к ошибочной оценке потенциала эмбриона. Таким образом, единичных наблюдений оказывается недостаточно для точной оценки, а более частые наблюдения невозможны ввиду негативного влияния изменений окружающей среды при нахождении эмбриона вне инкубатора. В связи с этим в настоящее время на смену морфологической оценке качества эмбрионов приходит морфокинетический анализ.

Преимущества цейтраферной микроскопии

В основе морфокинетического анализа качества эмбриона лежит цейтраферная съемка (от англ. time-lapse monitoring) — фотосъемка, при которой осуществляется многократное фотографирование одного и того же объекта с одной и той же точки съемки через равные промежутки времени, например каждые 20 мин, каждые 5 мин или даже каждые 10 с. При традиционной микроскопии изображения могут быть получены не чаще чем 1 раз в сутки, в результате чего исследователь получает информацию о морфологии эмбриона, но никак не о динамике процесса его развития. Системы морфокинетического анализа сконструированы таким образом, что позволяют наблюдать за эмбрионами внутри инкубатора в течение всего времени культивирования. Полученные в результате такого наблюдения серии снимков могут быть проанализированы с целью оценки качества эмбриона.

Хорошо известно, что свет способен повреждать структуру ДНК, индуцируя локальное повышение температуры и формирование свободных радикалов в клетке

(Frigault et al., 2009; Lodish et al., 2012). Любой процесс получения изображения (будь то цейтраферная или традиционная микроскопия) сопряжен с облучением эмбриона светом в течение определенного времени. Свет видимого спектра оказывает меньшее повреждающее действие на ДНК, чем свет ультрафиолетового спектра, поэтому в системах цейтраферной съемки обычно используют светопольную или темнопольную микроскопию. За счет использования особых ламп суммарное облучение, которому подвергается эмбрион при цейтраферной микроскопии, существенно ниже получаемого в рутинной клинической практике при обычном морфологическом анализе (Mese-guer et al., 2011; Wong et al., 2013).

Другое преимущество цейтраферной микроскопии — возможность наблюдения за эмбрионами в оптимальных условиях культивирования. Изменения pH и температуры окружающей среды во время перемещения образцов из инкубатора на столик микроскопа и обратно для наблюдения могут негативно влиять на качество эмбриона. Отсутствие необходимости перемещения эмбрионов снижает вероятность возникновения ошибок идентификации эмбрионов и облегчает анализ данных.

Кроме того, имеется возможность интеграции систем цейтраферной съемки со специальным программным обеспечением, которое позволит не только автоматически анализировать и хранить полученные данные, но также моделировать и прогнозировать биологические процессы. С момента внедрения морфокинетического анализа стало возможным наблюдение как за эмбрионом в целом, так и за отдельными бластомерами. Цейтраферная микроскопия позволяет оценивать площадь, периметр, диаметр, плотность, степень фрагментации отдельных бластомеров, а также анализировать изменения этих параметров во времени (Wong et al., 2013).

Большое количество исследований подтверждает, что использование систем цейтраферной съемки не оказывает влияния на количество эмбрионов высокого качества (Nakahara et al., 2010), потенциал их развития (Kirkegaard et al., 2012), формирование и жизнеспособность бластоцисты (Cruz et al., 2011), частоту имплантации и наступления беременности (Nakahara et al., 2010; Kirkegaard et al., 2012), а также профиль генетической экспрессии (Wong et al., 2010). Перенос эмбрионов, культивированных при помощи систем цейтраферной микроскопии, не только приводит к успешной имплантации, но и ведет к рождению здоровых детей. В целом можно постулировать, что использование систем цейтраферной микроскопии не ведет к каким-либо необратимым нарушениям раннего эмбрионального развития (Mio, Maeda, 2008; Pribenszky et al., 2010; Wong et al., 2013).

Использование цейтраферной микроскопии как дополнительного критерия отбора эмбриона в полость матки в программах ВРТ

При стандартном наблюдении за эмбрионами оплодотворение оценивается через 16—18 ч после ЭКО или ИКСИ по наличию или отсутствию двух полярных тел и двух пронуклеусов. Для оценки потенциала эмбриона учитывают не только количество пронуклеусов, но и размер, локализацию, симметричность пронуклеусов и проядрышек (от англ. nucleolar precursor bodies, NPBs) (Ebner et al., 2003). С появлением цейтраферной микроскопии представления о развитии эмбриона и прогностической

ценности тех или иных морфологических критериев стали меняться.

Исследование Азарелло с соавторами (Azzarello et al., 2012) поставило под сомнение устоявшееся мнение о связи морфологии пронуклеусов через 16—18 ч после оплодотворения и потенциала имплантации эмбриона. С помощью цейтраферной микроскопии было показано, что от момента формирования до момента исчезновения пронуклеусы претерпевают значительные изменения: меняется их расположение относительно друг друга (они постепенно сближаются), меняются количество и размер проядрышек (они имеют тенденцию сливаться), но на частоте наступления беременности эти изменения не отражаются. Более важным показателем оказалось время исчезновения пронуклеусов (от англ. — pronuclei breakdown) в период первого дробления. В группе с положительным исходом (рождение здорового ребенка) этот показатель составил 24 ч 52 мин ± 35 мин. Признаком низкого потенциала эмбриона стало исчезновение пронуклеусов ранее чем через 20 ч 45 мин после оплодотворения. Такие эмбрионы авторы не рекомендуют переносить пациентке. Несмотря на это, раннее первое дробление, наоборот, считают признаком высокого потенциала эмбриона (Lemmen et al., 2008).

Феномен раннего дробления, т. е. деления зиготы на два бластомера через 25—27 ч после оплодотворения, и его влияние на частоту наступления беременностей описаны Эдвардсом и соавторами еще в 1984 г. (Edwards et al., 1984). Время первого дробления подробно изучали с помощью цейтраферной микроскопии и обычного наблюдения и установили, что раннее дробление является признаком хорошего качества эмбриона (Shoukir et al., 1997; Sakkas et al., 1998; Lundin et al., 2001; Salumets et al., 2003; Ciray et al., 2005). В одном из недавних исследований (Meseguer et al., 2011) были выявлены различные морфокинетические параметры эмбриона (время дробления на 2, 3, 4 и 5 бластомеров, а также временные промежутки между 1, 2 и 3-м делениями), четко коррелирующие с частотой имплантации. Таким образом, оценка ранних этапов дробления эмбриона является вспомогательным методом при выборе эмбриона для переноса в полость матки. Однако зафиксировать точное время первого дробления каждого эмбриона возможно только при использовании цейтраферной микроскопии.

Исследование Рубио с соавторами (Rubio et al., 2012) продемонстрировало, что одним из ключевых показателей раннего эмбриогенеза является время деления двухклеточного эмбриона. В норме второй клеточный цикл длится 10—12 ч. Этого времени достаточно для удвоения генетического материала и цитокинеза. Однако благодаря цейтраферной микроскопии в некоторых эмбрионах была обнаружена аномально короткая продолжительность клеточного цикла (всего 1.8 ч) (Rubio et al., 2012). За такое короткое время полной репликации ДНК может не произойти, поскольку она занимает около 8—10 ч (Roberts, Kunkel, 1996), результатом чего может стать неравномерное распределение генетического материала между бластомерами. Рубио с соавторами (Rubio et al., 2012) была продемонстрирована более низкая частота наступления беременности при переносе эмбрионов с коротким клеточным циклом второго дробления (менее 5 ч) по сравнению с нормально дробящимися эмбрионами.

Еще одним критерием оценки качества эмбрионов является наличие фрагментации. Традиционно считается, что для эмбрионов с большей степенью фрагментации ха-

рактерны меньший потенциал имплантации и большая частота анеуплоидии (Alikani et al., 1999; Ebner et al., 2001) соответственно, при переносе предпочтение отдается тем эмбрионам, в которых фрагментация отсутствует. Однако с применением системы цейтраферной микроскопии было показано, что фрагментация имеет различное происхождение, поэтому по-разному отражается на качестве эмбрионов (Van Blerkom et al., 2001). Авторы выделили два основных типа формирования фрагментации, оба из которых часто регистрировали в одном и том же эмбрионе: дефинитивная (окончательная) фрагментация и псевдофрагментация. Дефинитивная фрагментация характеризуется постоянством фрагментов, ясно обособленных от бластомеров. Псевдофрагментация — явление, наоборот, преходящее, фрагменты исчезают при последующем наблюдении. Кроме того, в процессе развития эмбриона цитоплазматические фрагменты могут появляться и исчезать путем лизиса или резорбции. В связи с этим одномоментная оценка степени фрагментации эмбриона может оказаться необъективной и повлечет за собой ошибки при выборе эмбриона (Van Blerkom et al., 2001). При помощи электронной микроскопии авторы обнаружили фрагменты, соединенные с бластомерами посредством цитоплазматических перемычек, что может являться основой для резорбции таких фрагментов (псевдофрагментов). Также авторы предположили, что формирование обособленных фрагментов может происходить посредством разрыва перемычки, соединяющей псевдофрагмент с бластомером (Van Blerkom et al., 2001).

Кроме того, предикторами качества эмбриона являются синхронность дробления (длительность стадии трех бластомеров), время дробления на четыре бластомера, время дробления на пять бластомеров и время формирования морулы (Cruz et al., 2012).

В результате применения систем цейтраферной съемки стало известно, что различные этапы преимплантационного развития эмбрионов в норме длятся строго определенное время (Reijo Pera, 2011). Ускорение или замедление процессов не всегда отражается на морфологии эмбриона при ее одномоментной оценке. Так, из аномально дробящегося эмбриона к 5-м сут после оплодотворения может сформироваться бластоциста отличного качества. Однако любые отклонения от типового сценария влияют на потенциал имплантации эмбриона, а следовательно, на результативность цикла ВРТ.

В ряде исследований авторы оценивали связь между наличием анеуплоидии и морфокинетическими показателями эмбрионов: продолжительностью первого, второго и третьего митотических делений, временем от оплодотворения до начала и до завершения бластуляции, что позволило выделить группу эмбрионов с низким риском развития анеуплоидии (Chavez et al., 2012; Campbell et al., 2013a, 2013b). В одной из подобных работ авторы сообщают об увеличении частоты живорождения при переносе эмбрионов с низким риском развития анеуплоидии более чем в 1.5 раза (Campbell et al., 2013b), однако члены другого авторского коллектива обращают внимание на недостатки проведенного исследования — недостаточный объем выборки и отсутствие учета кофакторов (Ottolini, Rienzi, 2014).

Совсем недавно Маркос с соавторами (Marcos et al., 2015) сообщили о весьма неожиданном предикторе неудачи имплантации. Проанализировав ретроспективные данные по 460 циклам ЭКО, исследователи в 19.4 % случаев зарегистрировали феномен спастического сокращения (коллапса) бластоцисты с последующим восстанов-

лением объема бластоцисты, в 8 случаях (1.74 %) наблюдали два таких сокращения, в 2 наблюдениях (0.43 %) — три сокращения. Этот феномен был ранее описан в литературе как этап преимплантационного развития эмбриона, непосредственно предшествующий хетчингу бластоцисты (Mio, Maeda, 2008). Согласно полученным при помощи морфокинетического анализа данным, эмбрионы, подвергающиеся коллапсу на стадии бластоцисты, имели значимо более короткие временные интервалы от оплодотворения до завершения первого, второго и третьего митотических делений, формирования морулы и бластоцисты по сравнению с контрольной группой (без коллапса) (Marcos et al., 2015). Помимо этого, частота имплантации в группе бластоцист без коллапса оказалась значительно выше, чем в группе бластоцист с коллапсом — 48.5 % (95%-ный доверительный интервал 46.7—53.4 %) и 35 % (95%-ный доверительный интервал 25.3—44.9 %) соответственно ($p = 0.019$). Отношение шансов в модели логистической регрессии успешной имплантации эмбриона составило 0.55 (95%-ный доверительный интервал 0.32—0.94, $p = 0.028$). При этом авторы не выявили значимой разницы в частоте хетчинга в этих двух группах (Marcos et al., 2015).

Заклучение

В клинической практике при наличии у пациентки избыточного числа эмбрионов одинакового (при одномоментной оценке) качества возникает проблема выбора эмбриона для переноса. Решить ее позволяют системы цейтраферной микроскопии. Основываясь на вышеперечисленных критериях, эмбриологи могут получать дополнительные сведения о развитии эмбриона, оценивать его в динамике, благодаря чему происходит отбор наиболее перспективных эмбрионов. Кроме того, все больше внимания уделяется проблеме многоплодных беременностей после ВРТ. Избежать ее помогает только селективный перенос одного эмбриона, основанием для которого может быть морфокинетический анализ.

Таким образом, цейтраферная микроскопия — это неинвазивный и безопасный метод исследования эмбрионов, при котором отсутствует необходимость перемещать эмбрион из оптимальных условий культивирования. Данный метод позволяет получить дополнительные данные о качестве эмбриона и его потенциале развития, что особенно актуально при необходимости выбора одного эмбриона для переноса в циклах ВРТ. Все это говорит о важности морфокинетического наблюдения за эмбрионами в научной и клинической практике.

Список литературы

- Alikani M., Cohen J., Tomkin G., Garrisi G. J., Mack C., Scott R. T. 1999. Human embryo fragmentation *in vitro* and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil. Steril.* 71 : 836—842.
- Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. 2011. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum. Reprod.* 26 : 1270—1283.
- Azzarello A., Hoest T., Mikkelsen A. L. 2012. The impact of pronuclei morphology and dynamics on live birth outcome after time-lapse culture. *Hum. Reprod.* 27 : 2649—2657.
- Campbell A., Fishel S., Bowman N., Duffy S., Sedler M., Hickman C. F. L. 2013a. Modelling a risk classification of aneuploidy

in human embryos using non-invasive morphokinetics. *Reprod. Biomed. Online.* 26 : 477—485.

Campbell A., Fishel S., Bowman N., Duffy S., Sedler M., Thornton S. 2013b. Retrospective analysis of outcomes after IVF using an aneuploidy risk model derived from time-lapse imaging without PGS. *Reprod. Biomed. Online.* 27 : 140—146.

Chavez S. L., Loewke K. E., Han J., Moussavi F., Colls P., Munne S., Behr B., Reijo Pera R. 2012. Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage. *Nat. Commun.* 3 : 1251.

Ciray H. N., Karagenç L., Ulug U., Bener F., Bahceci M. 2005. Use of both early cleavage and day 2 mononucleation to predict embryos with high implantation potential in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil. Steril.* 84 : 1411—1416.

Cruz M., Gadea B., Garrido N., Pedersen K. S., Martínez M., Pérez-Cano I., Muñoz M., Meseguer M. 2011. Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by time-lapse imaging. *J. Assist. Reprod. Genet.* 28 : 569—573.

Cruz M., Garrido N., Herrero J., Pérez-Cano I., Munoz M., Meseguer M. 2012. Timing of cell division in human cleavage-stage embryos is linked with blastocyst formation and quality. *Reprod. Biomed. Online.* 25 : 371—381.

Ebner T., Moser M., Sommergruber M., Tews G. 2003. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development: a review. *Hum. Reprod. Update.* 9 : 251—262.

Ebner T., Yaman C., Moser M., Sommergruber M., Pölz W., Tews G. 2001. Embryo fragmentation *in vitro* and its impact on treatment and pregnancy outcome. *Fertil. Steril.* 76 : 281—285.

Edwards R. G., Fishel S. B., Cohen J., Fehilly C. B., Purdy J. M., Slater J. M., Steptoe P. C., Webster J. M. 1984. Factors influencing the success of *in vitro* fertilization for alleviating human infertility. *J. Vitro. Embryo Transf.* 1 : 3—23.

Ferraretti A. P., Goossens V., Kupka M., Bhattacharya S., De Mouzon J. et al. 2013. Assisted reproductive technology in Europe, 2009: results generated from European registers by ESHRE. *Hum. Reprod.* 28 : 2318—2331.

Frigault M. M., Lacoste J., Swift J. L., Brown C. M. 2009. Live-cell microscopy — tips and tools. *J. Cell Sci.* 122 : 753—767.

Kirkegaard K., Hindkjaer J. J., Grøndahl M. L., Kesmodel U. S., Ingerslev H. J. 2012. A randomized clinical trial comparing embryo culture in a conventional incubator with a time-lapse incubator. *J. Assist. Reprod. Genet.* 29 : 565—572.

Kovacs P. 2012. Multiple pregnancies after ART and how to minimize their occurrence. 2012. *Current Women's Health Reviews.* 8 : 289—296.

Lemmen J. G., Agerholm I., Ziebe S. 2008. Kinetic markers of human embryo quality using time-lapse recordings of IVF/ICSI-fertilized oocytes. *Reprod. Biomed. Online.* 17 : 385—391.

Lodish H., Berk A., Kaiser C. A., Kreiger M., Bretscher A., Ploegh H., Amon A., Scott M. P. 2013. *Molecular cell biology.* New York: W. H. Freeman and Company. 1154 p.

Lundin K., Bergh C., Hardarson T. 2001. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum. Reprod.* 16 : 2652—2657.

Marcos J., Pérez-Albalá S., Mifsud A., Molla M., Landeras J., Meseguer M. 2015. Collapse of blastocysts is strongly related to lower implantation success: a time-lapse study. *Hum. Reprod.* 30 : 2501—2508.

Meseguer M., Herrero J., Tejera A., Hilligsøe K. M., Ramsing N. B., Remoh J. 2011. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum. Reprod.* 26 : 2658—2671.

Mio Y., Maeda K. 2008. Time-lapse cinematography of dynamic changes occurring during *in vitro* development of human embryos. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 199 : 660. e1—e5.

Nakahara T., Iwase A., Goto M., Harata T., Suzuki M., Ienaga M., Kobayashi H., Takikawa S., Manabe S., Kikkawa F., Ando H. 2010. Evaluation of the safety of time-lapse observations for human embryos. *J. Assist. Reprod. Genet.* 27 : 93—96.

- Ottolini C., Rienzi L., Capalbo A. 2014. A cautionary note against embryo aneuploidy risk assessment using time-lapse imaging. *Reprod. Biomed. Online*. 28 : 273—275.
- Pribenszky C., Mátyás S., Kovács P., Losonczi E., Zádori J., Vajta G. 2010. Pregnancy achieved by transfer of a single blastocyst selected by time-lapse monitoring. *Reprod. Biomed. Online*. 21 : 533—536.
- Reijo Pera R. 2011. Non-invasive imaging of human embryos to predict developmental competence. *Placenta*. 32 : 264—267.
- Roberts J. D., Kunkel T. A. 1996. DNA replication in eukaryotic cells. Ed. by L. Melvin. DePamphilis. New York: Cold Spring Harbor Lab. Press. 1058 p.
- Rubio I., Kuhlmann R., Agerholm I., Kirk J., Herrero J., Escribá M. J., Bellver J., Meseguer M. 2012. Limited implantation success of direct-cleaved human zygotes: a time-lapse study. *Fertil. Steril.* 98 : 1458—1463.
- Sakkas D., Shoukir Y., Chardonens D., Bianchi P. G., Campana A. 1998. Early cleavage of human embryos to the two-cell stage after intracytoplasmic sperm injection as an indicator of embryo viability. *Hum. Reprod.* 13 : 182—187.
- Salumets A., Hydén-Granskog C., Mäkinen S., Suikkari A. M., Tiitinen A., Tuuri T. 2003. Early cleavage predicts the viability of human embryos in elective single embryo transfer procedures. *Hum. Reprod.* 18 : 821—825.
- Scott L. 2003. The biological basis of non-invasive strategies for selection of human oocytes and embryos. *Hum. Reprod. Update*. 9 : 237—249.
- Scott L., Alvero R., Leondires M., Miller B. 2000. The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Hum. Reprod.* 15 : 2394—2403.
- Shoukir Y., Campana A., Farley T., Sakkas D. 1997. Early cleavage of in-vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage: a novel indicator of embryo quality and viability. *Hum. Reprod.* 12 : 1531—1536.
- Tao J., Tamis R., Fink K., Williams B., Nelson-White T., Craig R. 2002. The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Hum. Reprod.* 17 : 1513—1518.
- Tesarik J., Greco E. 1999. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. *Hum. Reprod.* 14 : 1318—1323.
- Van Blerkom J., Davis P., Alexander S. 2001. A microscopic and biochemical study of fragmentation phenotypes in stage-appropriate human embryos. *Hum. Reprod.* 16 : 719—729.
- Wong C., Chen A. A., Behr B., Shen S. 2013. Time-lapse microscopy and image analysis in basic and clinical embryo development research. *Reprod. Biomed. Online*. 26 : 120—129.
- Wong C. C., Loewke K. E., Bossert N. L., Behr B., De Jonge C. J., Baer T. M., Reijo Pera R. 2010. Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. *Nat. Biotechnol.* 28 : 1115—1121.

Поступила 6 III 2017

EMBRYO QUALITY ASSESSMENT BY EVALUATION OF MORPHOKINETICS OF THE HUMAN EMBRYOS IN ASSISTED REPRODUCTION

A. Yu. Romanov,¹ E. V. Kovalskaya, N. P. Makarova,
A. G. Syrkasheva, N. V. Dolgushina

Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology,
Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 117997;

¹ e-mail: romanov1553@yandex.ru

The routine embryo selection in IVF cycles is based on single observations by light microscopy. Despite widespread use of this method in clinical practice, it has some limitations related to impossibility of analysis the dynamic biological processes of early embryo development. Time-lapse microscopy makes it possible to observe embryo development over all period of in vitro incubation. Evaluation of morphokinetics as a predictor of embryo quality can improve selection of most viable embryos, elevating the effectiveness of IVF cycles and reducing the frequency of multiple pregnancies.

Key words: embryo, *in vitro* fertilization, assisted reproductive technologies, time-lapse, single embryo transfer.