

УДК 618.177-089.888.11

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD631530>

Перспективы использования протеомного подхода с целью оценки эффективности имплантации эмбрионов, вошедших в цикл ЭКО

М.С. Зементова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

В настоящем обзоре представлены неинвазивные способы оценки потенциала имплантации эмбрионов, вошедших в цикл ЭКО. Описан морфологический подход к оценке качества эмбрионов, используемый в клинической практике. Кроме того, такие неинвазивные подходы, как анализ бесклеточной ДНК в культуральной среде, оценка морфокинетических изменений отдельных эмбрионов с использованием моделей искусственного интеллекта, анализ потребления кислорода отдельными эмбрионами и протеомный подход, рассмотрены в литературе в качестве дополнений к существующей системе оценки качества эмбрионов. Основное внимание в данной статье уделено идентификации белковых молекул в отработанных культуральных средах дробящихся эмбрионов как наиболее перспективному и малоизученному подходу. Описана диагностическая значимость хорионического гонадотропина человека и его изоформ, фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина-6, -8, -1 β , человеческого лейкоцитарного антигена-G, фактора стволовых клеток, интерферона альфа, хемокинов (CCL15, CCL27 и CXCL12), молекулы тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии 1, тканевых ингибиторов металлопротеиназ 4, E-селектина, фактора фон Виллебранда и других соединений в качестве биомаркеров потенциала имплантации эмбрионов. Анализ этих белков в отработанных культуральных средах дробящихся эмбрионов может дополнить морфологическую оценку качества эмбрионов при принятии решений о выборе эмбриона для переноса.

Ключевые слова: эффективность имплантации; имплантация; эмбрион; отработанная среда; омиксный подход; протеомика; цитокины; белки; неинвазивный тест.

Как цитировать

Зементова М.С., Сельков С.А., Соколов Д.И. Перспективы использования протеомного подхода с целью оценки эффективности имплантации эмбрионов, вошедших в цикл ЭКО // Журнал акушерства и женских болезней. 2024. Т. 73. № 6. С. 207–222. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD631530>

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD631530>

Prospects for using a proteomic approach to evaluate the effectiveness of implantation of embryos transferred in an IVF cycle

Maria S. Zementova, Sergey A. Selkov, Dmitry I. Sokolov

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

This review presents non-invasive ways to evaluate the implantation potential of embryos that have entered the IVF cycle. A morphological approach to assessing the quality of embryos used in clinical practice is described. In addition, non-invasive approaches such as cell-free DNA analysis in culture medium, assessment of morphokinetic changes of individual embryos using artificial intelligence models, analysis of oxygen consumption by individual embryos, and the proteomic approach are considered in the literature as additions to the existing embryo quality assessment system. The focus of this article is on the identification of protein molecules in spent culture media of cleavage embryos as the most promising and poorly studied approach. The diagnostic significance of human chorionic gonadotropin and its isoforms, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, -8, -1 β , human leukocyte antigens-G, stem cell factor, interferon- α , chemokines (CCL15, CCL27, CXCL12), platelet endothelial cell adhesion molecule 1, tissue inhibitors of metalloproteinase 4, E-selectin, von Willebrand factor and other compounds as biomarkers of embryo implantation potential is described. The analysis of these proteins in the spent culture media of embryos can complement the morphological assessment of embryo quality when making decisions on choosing an embryo for transfer.

Keywords: implantation efficiency; implantation; embryo; spent media; omics approach; proteomics; cytokines; proteins; non-invasive test.

To cite this article

Zementova MS, Selkov SA, Sokolov DI. Prospects for using a proteomic approach to evaluate the effectiveness of implantation of embryos transferred in an IVF cycle. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2024;73(6):207–222. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD631530>

Received: 07.05.2024

Accepted: 03.10.2024

Published online: 11.12.2024

ВВЕДЕНИЕ

Репродуктивные возможности *Homo sapiens* крайне низкие в сравнении с возможностями других млекопитающих. По данным литературы, вероятность успешного живорождения у человека составляет всего 25–30 %. К наиболее распространенным естественным причинам репродуктивных неудач относят нарушения развития зародыша в процессе имплантации в матку. В настоящее время эффективность программ ЭКО достигает всего 25–30 %, что связано с высокой вероятностью естественных репродуктивных потерь при имплантации и особенностями физиологии отдельных пациенток [1]. Таким образом, процесс имплантации является ключевым фактором формирования беременности, состоявшейся естественным путем или при помощи вспомогательных репродуктивных технологий.

Сегодня морфологическая оценка качества эмбрионов остается наиболее распространенным методом прогнозирования эффективности ЭКО. Данный подход содержит множество недостатков, в том числе слабую корреляцию этой оценки с потенциалом имплантации эмбриона [1, 2]. Именно поэтому одной из актуальных задач современной репродуктивной медицины является поиск оптимального неинвазивного теста, позволяющего индивидуально определить потенциал имплантации эмбрионов.

РАЗВИТИЕ ЗАРОДЫША ОТ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ ДО ВНЕДРЕНИЯ В МАТКУ

После оплодотворения зародыш начинает движение к ампулярной части маточной трубы. В течение 24–30 ч после оплодотворения происходит дробление зиготы до стадии морулы, а затем до бластоцисты. Весь процесс перемещения зародыша от этапа оплодотворения до внедрения в матку занимает 4–5 сут [3].

В это время зародыш окружен блестящей оболочкой (*zona pellucida*). Она выполняет несколько функций: избирательно пропускает один сперматозоид (обеспечивает акросомную реакцию), сдерживает чрезмерный рост зародыша, предотвращает его внедрение в слизистую оболочку маточной трубы (трубную внематочную беременность), защищает генетически чужеродный зародыш от иммунного конфликта в организме матери. Через блестящую оболочку также происходит всасывание маточного секрета, что способствует формированию полости бластоцисты [3].

В течение 1–2 дней после попадания в матку формируется зрелая бластоциста. Ее бластомеры разделяются на темные и светлые. Темные бластомеры образуют эмбриобласт или внутреннюю клеточную массу, перемещающуюся к эмбриональному полюсу бластоцисты. Из эмбриобласта в будущем сформируются тело зародыша

и большинство внезародышевых органов и тканей. Светлые бластомеры окружают эмбриобласт и замыкают полость бластоцисты. Они образуют первичный трофобласт (трофобластодерму) — источник развития эпителия хориона, а позже эпителия плацентарных ворсин. В период нахождения бластоцисты в матке трофобласт трансформируется с целью имплантации зародыша в эндометрий [3].

Клетки наружного слоя бластоцисты дифференцируются по двум направлениям, образуя ворсинчатый и вневорсинчатый трофобласт [4, 5]. Ворсинчатый цитотрофобласт преобразуется в синцитиотрофобласт — покрывающий ворсинки плаценты многоядерный слой из клеток, содержащих лизосомальные гранулы с гидролитическими ферментами. Ворсинчатый цитотрофобласт образует пул стволовых клеток, обеспечивающих рост, регенерацию и инвазивность трофобласта [6]. Основные функции синцитиотрофобласта: обеспечение газообмена, обмен питательными веществами между организмом матери и плодом, выработка гормонов и формирование иммунологической толерантности [4, 6]. Физиологическая функция вневорсинчатого трофобласта заключается в прикреплении плаценты к стенке матки и реконструкции спиральных артерий. Клетки вневорсинчатого трофобласта реконструируют материнские спиральные артерии, что приводит к сильному расширению концевых участков. Эта адаптация снижает резистентность стенок артерий. Благодаря этому снижается скорость и давление материнского кровотока, что обеспечивает повышенную маточно-плацентарную перфузию, необходимую для удовлетворения потребностей развивающегося плода [5].

Процесс имплантации происходит на 6–7-й день после оплодотворения и включает несколько стадий [1, 3, 7] (рис. 1): расположение, адгезию и инвазию.

На первой стадии перед имплантацией у зародыша растворяется блестящая оболочка. Данная стадия получила название «вылупление» (*hatching*). «Вылупившимся» эмбрионам необходим сигнал активации до имплантации. При его отсутствии процесс может прекратиться на данной стадии (наступит пауза) [1]. Всплеск эстрогена на 4-й день способствует повышению восприимчивости матки и активации эмбриона за счет местного производства катехолэстрогена эпителиальными клетками эндометрия. Эти клетки передают сигналы от прикрепленной трофобластодермы для инициации децидуализации — волны клеточной дифференцировки, инициируемой в поверхностной антимезометриальной строме [1, 7]. Данный процесс зависит от активации генных сетей от рецептора прогестерона [1]. После «вылупления» бластоциста устанавливает контакт с эндометрием через клетки трофобластодермы [1, 7] (рис. 1). При этом наблюдают слабые взаимодействия бластоцисты с эпителием эндометрия, запускающие первую коммуникацию между двумя тканями за счет передачи сигналов гепарин-связывающего эпидермального фактора роста [1, 7–9].

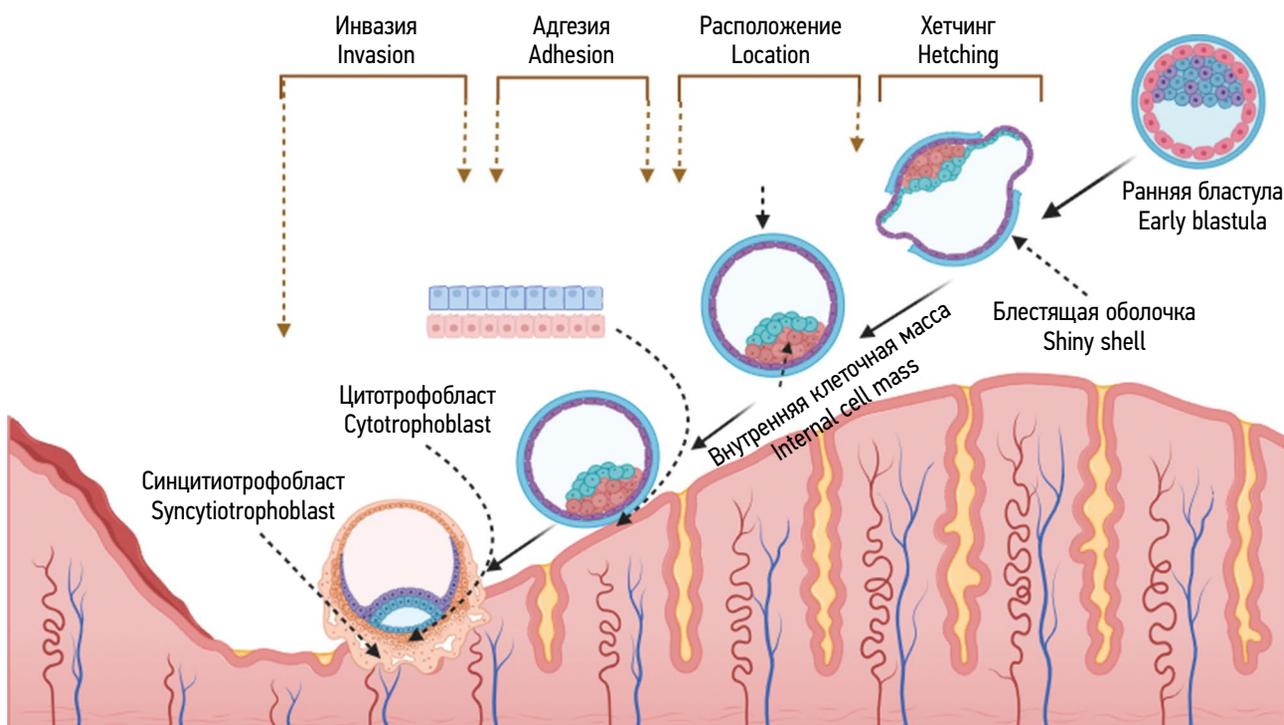


Рис. 1. Этапы имплантации у человека

Fig. 1. Stages of human implantation

На второй стадии контакт между клетками трофэктодермы и эпителием эндометрия усиливается благодаря взаимодействию молекул клеточной адгезии интегринов, селектинов или кадгеринов [1, 7–9].

На этапе адгезии бластоциста эмбриональным полюсом прилегает к поверхности эндометрия, благодаря чему площадь контакта синцитиотрофобласта со слизистой оболочкой матки становится больше. Важно отметить, что нарушения ориентации бластоцисты при адгезии приводит к гибели зародыша [3] (рис. 1).

На третьей стадии синцитиотрофобласт активно выделяет гидролитические ферменты, постепенно разрушающие эпителий эндометрия и его собственную пластинку. Зародыш проникает в эндометрий [3, 7, 8]. Разрушение эпителия происходит в том числе из-за активации гидролитических ферментов в лизосомах самого эндометрия [3, 7]. В среднем через 40 ч зародыш полностью погружается в слизистую оболочку матки [3, 7, 8]. В месте имплантации образуется имплантационный коагулят, состоящий из крови, фибрина и фрагментов тканей. К 12-му дню дефект полностью эпителизируется [3] (рис. 1).

Таким образом, процесс имплантации включает стадии расположения, адгезии и инвазии. Нарушение коммуникации между рецептивным эндометрием и эмбрионом на любой из стадий лежит в основе репродуктивных потерь. Именно поэтому одной из задач современной репродуктивной медицины является поиск биомаркеров, способных предсказать потенциал имплантации отдельных эмбрионов в ходе циклов ЭКО.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЭМБРИОНА

Морфологическая оценка является наиболее распространенным способом определения качества эмбриона, ее считают быстрым, простым и неинвазивным методом. В настоящее время не существует универсального подхода к классификации эмбрионов по их качеству [10]. Это связано с основными недостатками метода — неизбежностью влияния человеческого фактора и, следовательно, значительной вариабельностью оценок между наблюдателями [10, 11].

При использовании морфологического подхода оценка эффективности имплантации демонстрировала крайне низкий уровень. В дополнение к вышеупомянутой комплексной системе оценки качества эмбрионов были предприняты попытки оценить эмбрион на различных стадиях развития: зиготы, дробления, морулы и бластоцисты [1].

Одна из систем оценки предполагает измерение качества зиготы в баллах на пронуклеарной стадии. Его проводят через 16–18 ч после оплодотворения с учетом следующих критериев: размера пронуклеусов и их симметричности, количества пронуклеусов, особенностей распределения ядрышек и внешнего вида цитоплазмы [14]. По данным литературы, данный подход не приводил к улучшению клинических показателей беременности при переносе эмбрионов на 3-й день культивирования. Однако при условии переноса эмбрионов на 2-й день данный прогностический подход демонстрировал связь с эффективностью имплантации [15]. На основании

сравнения с другой системой оценки качества зигот показано, что эмбрионы, развившиеся из «нормальных» зигот демонстрируют более высокие эффективность имплантации и формирование успешной беременности в процентах, чем эмбрионы, развившиеся из «аномальных» на пронуклеарной стадии зигот [16]. Таким образом, последовательная морфологическая оценка на стадии зиготы и бластоцисты коррелировала с потенциалом имплантации [17]. В литературе описана градуированная система оценки качества эмбрионов (GES): их оценивали три раза в течение культивирования: через 16–18 ч после оплодотворения, затем через 25–27 и 64–67 ч соответственно. На основании трех измерений эмбрионам присваивали баллы в пределах 100. Установлено, что эмбрионы, набравшие более 70 баллов демонстрировали эффективность имплантации 39 %, а менее 65 баллов — 24 % [18].

Описана балльная система оценивания качества эмбрионов на стадии морулы. При этом морулы, отнесенные к классу А, показали значительно более высокую скорость образования бластоцист, чем морулы классов В, С и D. Обнаружена также корреляция между качеством морулы, скоростью формирования бластулы и качеством бластоцисты. Установлено, что система оценки качества морулы обладает большей прогностической силой, чем традиционная система оценки на 3-й день культивирования [19].

В соответствии с подходом, внедренным в клиническую практику, при помощи световой микроскопии можно оценить качество и стадию развития эмбрионов *in vitro*. На 2–3-й день эмбрионального развития проводят анализ качества развития по скорости дробления, степени цитоплазматической фрагментации, форме, симметричности и относительным размерам бластомеров. Можно определить качество эмбриона на основании наличия ануклеарных фрагментов в цитоплазме. В соответствии с данной системой классификации выделяют эмбрионы качества А (с отсутствием ануклеарных фрагментов), В, С и D (с содержанием ануклеарных фрагментов больше 50 %) [12].

Качество эмбрионов на 4-е сутки культивирования, достигших стадии морулы, оценивают по мере убывания их качества и по степени снижения компактизации бластомеров от Grade 4 до Grade 1 [13].

На 5–6-е сутки культивирования оценка качества эмбрионов основана на анализе клеток трофэктодермы и внутренней клеточной массы, а также размера полости. Рассматривают несколько параметров бластоцисты: степень формирования полости бластоцисты (от 1 до 6), качество клеток трофэктодермы (А, В, С) и качество клеток внутренней клеточной массы (А, В, С). D.K. Gardner и соавт. перенесли по 2 эмбриона каждой пациентке на стадии бластоцисты и обнаружили, что при переносе 2 бластоцист высшего сорта (>3АА) показатели частоты имплантации и клинической беременности составили 72,8 и 86,8 % против 54,3 и 69,6 % при 1 бластоцисте высшего качества соответственно [10, 14]. Показатели составили 28,1

и 43,8 % соответственно в случае, когда качество обеих бластоцист было ниже высшего (<3АА) [14]. В другом исследовании авторы обнаружили, что среди зуплоидных эмбрионов морфология внутренней клеточной массы является лучшим критерием для оценки эффективности имплантации, а комплексная оценка повышает точность прогноза [15].

Таким образом, согласно этому подходу эмбрионами хорошего качества считают [10–14]: на 2-й день культивирования — эмбрионы классов А и В, состоящие из 4 бластомеров и более; на 3-й — эмбрионы классов А и В, состоящие из 6 бластомеров и более; на 4-й — морулы Grade 3 и 4; на 5–6-й — бластоцисты классов 3ВВ и выше.

Несмотря на детальную проработку критериев оценки качества эмбрионов с точки зрения морфологии, эффективность имплантации в ходе циклов ЭКО демонстрирует низкий результат в процентах. Согласно последним статистическим данным Общества вспомогательных репродуктивных технологий (SART) и Американского центра репродуктивной медицины (ACRM) успех процедур вспомогательных репродуктивных технологий, таких как ЭКО и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов (ИКСИ) составляет 43,3, 31,9 и 20,1 % у женщин в возрасте менее 35, 35–37 и 38–40 лет соответственно [20]. Именно поэтому клиницисты и эмбриологи сталкиваются с трудностями отбора эмбрионов с лучшим потенциалом имплантации.

Существуют различные инвазивные и неинвазивные методы отбора эмбрионов, дополняющие предсказательную силу отбора на основе морфологических критериев:

- анализ бесклеточной ДНК в культуральной среде;
- оценка морфокинетических изменений отдельных эмбрионов на ранних стадиях развития с использованием моделей искусственного интеллекта;
- анализ потребления кислорода отдельными эмбрионами;
- омиксный подход к исследованию отработанных культуральных сред.

АНАЛИЗ БЕСКЛЕТОЧНОЙ ДНК В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ

Основным инвазивным методом оценки качества эмбриона считают преимплантационный генетический скрининг (PGS или PGT), при котором эмбрионы подвергают биопсии на стадии 8 клеток или бластоцисты. При помощи PGT определяют анеуплоидии (PGT-A), структурные перестройки хромосом (PGT-SR) или моногенные нарушения (PGT-M). Данный способ является дорогостоящим и ненадежным из-за вероятности повреждения эмбриона, погрешностей при обнаружении мозаицизма и анеуплоидии [16]. Кроме того, он обладает очень высокой долей ложноположительных результатов,

связанных с мозаицизмом эмбрионов [17, 18]. После того, как Международное общество преимплантационной генетической диагностики (PGDIS) усовершенствовало метод и издало новое руководство, резкая критика PGT как диагностического теста продолжилась [8, 17, 18]. Это связано в том числе с отсутствием улучшения точности прогноза при использовании PGT «следующего поколения» [17, 18]. В связи с этим современные исследования направлены в сторону поиска доступного неинвазивного теста, позволяющего точно определить возможности имплантации отдельных эмбрионов.

Анализ бесклеточной ДНК в культуральной среде (niPGT-A) рассматривают в литературе как неинвазивную разновидность преимплантационного генетического скрининга. Это анализ отработанных культуральных сред бластоцист человека с целью идентификации качества бесклеточной ДНК (cfDNA) (PGT-A 4.0) [17, 19].

Метод в основном применяют для определения ploидности эмбрионов. Однако еще его используют для сопоставления других данных, таких как частота успешного наступления беременности и качество эмбрионов. Проведя количественный анализ соотношения уровней геномной и митохондриальной ДНК, авторы исследования установили, что у эмбрионов с высоким потенциалом развития и успешной имплантацией это соотношение достоверно выше ($p < 0,0001$). Выявлена также тенденция к более высокому соотношению этих величин у эмбрионов с успешной имплантацией ($p = 0,045$) [10].

L. Huang и соавт. использовали секвенирование следующего поколения (NGS) для изучения cfDNA в отработанных культуральных средах бластоцист человека [21]. Они сообщили об отсутствии ложноотрицательных результатов и более высокой эффективности niPGT-A по сравнению с таковой у PGT-A. По мнению авторов, niPGT-A позволяет более точно определить ploидность эмбрионов, количество копий хромосом и обладает меньшей погрешностью, связанной с мозаицизмом эмбрионов, чем PGT-A. Данное исследование подвергли серьезной критике по ряду критериев. Кроме того, была проведена оценка соответствия ploидности между образцами отработанных сред и жидкости бластоцели. Для этого эмбриональные клетки проанализировали при помощи биопсии. В результате обнаружено, что уровни соответствия ploидности значительно различаются. Различия в цитогенетических данных, полученных после биопсии трофобластической оболочки, могут быть связаны с эмбриональным мозаицизмом или загрязнением ДНК [22].

В своем исследовании С. Rubio и соавт. оценили соответствие результатов анализа эмбриональной cfDNA и биопсии трофобластической оболочки в выборке 1301 бластоцисты человека. Результаты анализа эмбриональной cfDNA в 78,2 % случаев (866/1108) совпадали с результатами соответствующих биопсий трофобластической оболочки [19]. Более того, среди 81 бластоцисты, признанной анеуплоидной при первичной биопсии трофобластической оболочки и, следовательно,

использованной для оценки на внутренней клеточной массе, соответствие ploидности cfDNA эмбрионов из трофобластической оболочки и внутренней клеточной массы было сходным — 87,5 и 84,4 % соответственно. На основании этих результатов авторы сделали вывод, что эмбриональная cfDNA происходит в равной степени из внутренней клеточной массы и трофобластической оболочки [19]. Данное предположение оспорено в литературе [17, 21].

Для эмбрионов на стадии бластулы характерен мозаицизм [17, 23] — наличие бластомеров с хромосомными аномалиями и нормальных бластомеров в одном эмбрионе. В литературе сообщено о мозаицизме у 50 % эмбрионов на стадии бластоцисты, включенных в протоколы ЭКО [23]. Однако эмбрионы способны к самокоррекции в процессе преимплантационного развития: они элиминируют аномальные бластомеры в виде клеточного мусора или фрагментов клеток [17, 23]. В исследовании S. Singla и соавт. продемонстрировали, что во время и после процесса имплантации p53-зависимый процесс, включающий аутофагию и апоптоз, отвечает за преимущественное удаление анеуплоидных бластомеров в мышечных эмбрионах [24]. Человеческие эмбрионы и гастролоиды обладают похожей способностью к самокоррекции [25]. Отмечено существенное снижение анеуплоидии, начиная с 3-го дня развития эмбриона, вплоть до полной зуплоидии [23, 25]. Таким образом, раннее развитие эмбриона контролирует программа гибели клеток, обеспечивающая элиминацию аномальных бластомеров, сохраняя оптимальный баланс между сигналами выживания и апоптоза.

По данным литературы, основным источником cfDNA в отработанных культуральных средах являются анеуплоидные бластомеры или их фрагменты, утилизируемые эмбрионом в процессе развития. По данным исследования, в выборке из 175 бластоцист 112 (64 %) эмбрионов выводили остатки клеток / фрагменты за пределы интактного эмбриона. В исследовании R. Orvieto и соавт. по результатам анализа бесклеточной ДНК клеточного дебриса в отработанной культуральной среде при помощи полногеномной амплификации и метода Array-Comparative Genomic Hybridization (CGH) из 9 зуплоидных бластоцист у 5 были выявлены хромосомные аномалии: трисомии по 19-й и 21-й хромосомам; трисомии по 11-й, 18-й, 19-й и 22-й хромосомам; трисомия по 7-й хромосоме; моносомия по 22-й хромосоме; XXУ. Эти данные подтверждают предположение о том, что основным источником cfDNA в отработанных средах являются удаленные анеуплоидные бластомеры и/или их фрагменты [23].

Таким образом, однократная биопсия трофобластической оболочки на стадии бластоцисты при помощи PGT или niPGT-A не учитывает возможность эмбрионов к самокоррекции в процессе дальнейшего развития [23, 25]. Данные подходы к оценке качества эмбрионов отбраковывают эмбрионы с хорошим потенциалом имплантации, что приводит к ложноположительным результатам анализа эмбрионов [17, 25].

ОЦЕНКА МОРФОКИНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ОТДЕЛЬНЫХ ЭМБРИОНОВ НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛЕЙ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Динамические изменения в эмбрионе от оплодотворения до формирования бластоцисты анализируют при помощи технологии замедленной съемки. Системы замедленной съемки соединены с камерами и могут формировать изображения каждые 5–15 мин, что позволяет отслеживать динамические изменения эмбрионов во время культивирования [10, 26].

Системы замедленной съемки подразделены на два основных типа [10]:

- инкубатор со встроенной камерой замедленной съемки;
- небольшая камера замедленной съемки, установленная в обычные инкубаторы с диоксидом углерода.

Эти покадровые системы способны отслеживать и регистрировать морфологические, а также кинетические изменения, отражающие способность эмбриона к имплантации и дальнейшему развитию [10, 26].

Покадровые системы являются отличными исследовательскими инструментами для мониторинга развития эмбриона в различных условиях, но их ценность для прогнозирования потенциала имплантации эмбриона до сих пор не доказана [10]. В рандомизированном контролируемом исследовании установлено, что использование инкубатора со встроенной камерой замедленной съемки для отбора эмбрионов связано с более высокими эффективностью имплантации и вероятностью наступления беременности [27]. Однако при воспроизведении условий эксперимента другие исследователи не подтвердили эту корреляцию [10, 28, 29]. По данным литературы, включающим 9 рандомизированных контролируемых исследований и анализ материала 2955 бесплодных женщин, пока не выявлено существенной разницы между эффективностью имплантации, частотой наступления беременности или частотой невынашивания беременности при оценке потенциала имплантации эмбриона при помощи технологичной замедленной съемки [10, 30].

Применение искусственного интеллекта во вспомогательных репродуктивных технологиях и использование моделей глубокого обучения могут повысить эффективность систем замедленной съемки при определении наиболее подходящего эмбриона для переноса одного эмбриона и открывают перспективы для автоматизации и стандартизации отбора эмбрионов [10, 31]. Подходы глубокого обучения применяют для классификации изображений, поскольку они позволяют эффективно анализировать морфокинетические изменения эмбрионов в ходе

их развития [31, 32]. Сверточные нейронные сети — один из конкретных и широко используемых инструментов глубокого обучения для решения задач классификации изображений [32]. Преимуществами такого подхода являются непредвзятость алгоритмов и высокая скорость принятия решений [10].

Пример неинвазивного и автоматизированного способа оценки качества эмбрионов — алгоритм STORK-A. При обучении алгоритма использован набор данных, полученный от 1385 пациенток, в виде 10 378 эмбрионов, состоящий из статических изображений, полученных через 110 ч после ИКСИ. Модель глубокого обучения для прогнозирования плоидности эмбрионов использует изображения, извлеченные из сверточной нейронной сети. Затем она объединяет данные с клинической информацией, такой как возраст матери, морфокинетические параметры и одна из трех морфологических оценок (качество бластоцисты, количество бластомеров бластоцисты, оценка бластоцисты искусственным интеллектом), перед генерацией прогноза. Таким образом, алгоритм STORK-A демонстрирует способность предсказывать плоидность эмбрионов неинвазивным способом и перспективность в качестве стандартизированного дополнения к традиционным методам отбора эмбрионов и определения потенциала имплантации. Авторы сообщают о точности алгоритма 63–77 % [32].

АНАЛИЗ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ОТДЕЛЬНЫМИ ЭМБРИОНАМИ

Потребление кислорода эмбрионом остается постоянным от зиготы до морулы, а затем увеличивается на стадии бластоцисты до 6,5–7,5 дня развития [10]. Исследователи разработали респирометрический биочип с целью измерения потребления кислорода предимплантационными эмбрионами и дальнейшей оценки способности эмбриона к имплантации. Биочипы позволили охарактеризовать потребление кислорода предимплантационными мышинными эмбрионами на стадии двух клеток и бластоцисты путем мониторинга 10 таких эмбрионов в течение 1 ч. Данный метод оценивает метаболизм предимплантационных эмбрионов и их жизнеспособность [33].

Разработано также другое устройство, опосредованное чип-датчиком, получившее название Chip-Sensing Embryo Respiration Monitoring system (CERMs). Оно позволило проводить автоматические измерения с использованием электрохимического метода, анализирующего скорость потребления растворенного кислорода эмбрионами. Показатели потребления кислорода эмбрионами человека, достигшими стадии бластоцисты, были значительно выше, чем у неразвивающихся эмбрионов через 48, 72 и 96 ч после размораживания. Таким образом, *in vitro* развитие человеческих эмбрионов, выведенных из заморозки, до стадии бластоцисты можно было бы предсказать через 48 ч

после размораживания (4-й день) путем измерения потребления кислорода с помощью CERMs. При этом не отмечена корреляция между скоростью потребления кислорода эмбрионом и качеством этого эмбриона на основании морфологической оценки [34].

ОМИКСНЫЙ ПОДХОД. ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ЭФФЕКТИВНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

Омиксный подход предлагает глобальный взгляд на биологические процессы благодаря одновременному анализу тысяч молекул в одном биологическом образце. До недавнего времени различные омиксные технологии использовали для одновременной идентификации тысяч функционально значимых генов (геномов), эпигенетических модификаций ДНК (эпигеномов), кодирующих участков генов (экзонов), транскриптов (транскриптомов),

белков (протеомов) и метаболитов (метаболомов) в биологической системе при единичных экспериментах [7]. В область исследования были включены дополнительные более функциональные подходы, такие как секретомика (анализ секретируемых продуктов) и липидомика (крупномасштабный анализ липидов разных классов) [7, 35].

В настоящее время омиксные исследования используют в качестве первого шага для более интегративного, глобального и целостного анализа биологических систем. Таким образом, при помощи омиксного подхода исследователи рассматривают биологическую систему и ее функции в целом, а не анализируют ее отдельные компоненты. При помощи омиксных технологий рассматривают молекулярные взаимодействия на разных уровнях (интерактомы) и преобразуют их в четко определенные сети, такие как сети регуляции генов, сети межбелкового взаимодействия и метаболические пути [7] (рис. 2).

Оценка протеома имеет решающее значение для полного понимания физиологического состояния эмбриона,

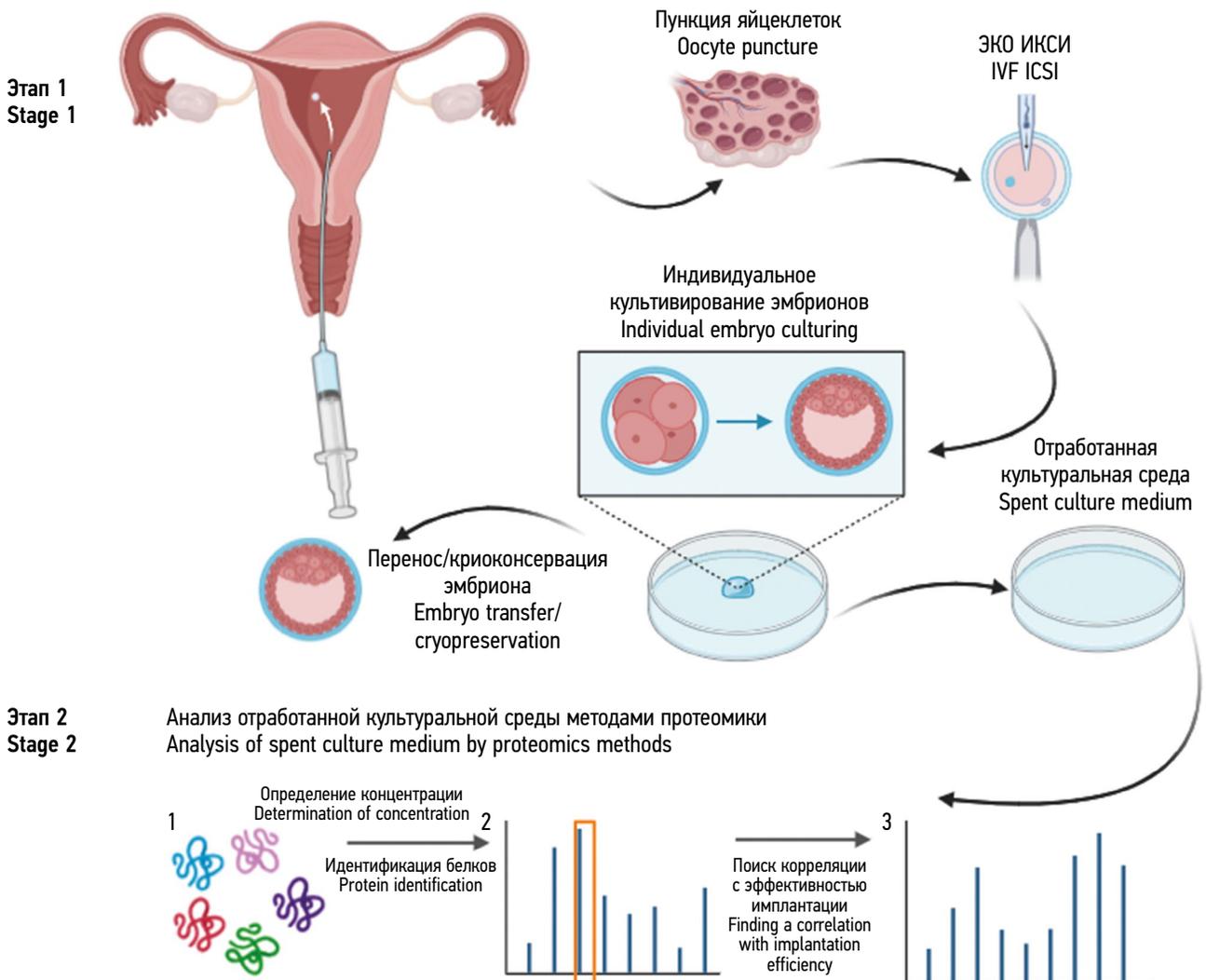


Рис. 2. Поиск корреляции уровней протеомных маркеров с эффективностью имплантации ЭКО ИКСИ — экстракорпоральное оплодотворения и интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов

Fig. 2. Search for correlation of proteomic markers levels with implantation efficiency. IVF ICSI — *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection

поскольку количество матричных РНК не всегда коррелирует с количеством белка. По данным литературы, тесты, основанные на методах протеомики, можно проводить непосредственно перед переносом эмбриона. Субъективная интерпретация данных устраняется за счет использования биоинформационных конвейеров, анализирующих многомерные данные. Самое большое преимущество такой технологии в том, что она позволяет различать эмбрионы, воспринимаемые как морфологически идентичные [10]. Анализ эмбрионального протеома особенно сложен из-за низкой концентрации белка и большого количества белков, подлежащих идентификации. Это, наряду с недостатками чувствительности методов протеомики, ограничивает протеомные исследования идентификацией конкретных белков, секретируемых эмбрионом в среду [7] (рис. 2).

Протеомные исследования быстро перешли к неинвазивной оценке белков, секретируемых человеческими эмбрионами в культуральную среду (рис. 2). Перенос эмбриона преимущественно осуществляют на 2–3-й или 5-й день культивирования. Оставшуюся после переноса эмбриона среду анализируют в целях поиска потенциальных биомаркеров. Несмотря на их перспективность, ни анализ секрета эмбриона, ни другие протеомные технологии не внедрены в клиническую практику. Другие

проблемы в поиске протеомных биомаркеров, включая отсутствие стандартизированных методов и перспективную валидацию биомаркеров на отдельных эмбрионах, исследователи должны преодолеть в ближайшем будущем [2].

Секретом представляет собой набор белков, экспрессируемых организмом и секретируемых во внеклеточное пространство. Эмбриональный секрет — это совокупность белков, продуцируемых и секретируемых развивающимся эмбрионом (например, цитокинов, факторов роста, внеклеточного матрикса). В этих секретах цитокины представляют собой большую группу белков, секретируемых клетками и действующих как гуморальные регуляторы, модулирующие функциональную активность отдельных клеток и тканей. Цитокины связываются со специфическими рецепторами на клеточных мембранах и тем самым индуцируют каскад сигнальных путей, приводящих к фактическому воздействию на клетку или ткань [11]. В репродуктивной иммунологии цитокины участвуют в регуляции развития эмбриона, клеточного стресса, апоптоза и стимулируют процесс имплантации через ауто-, пара- и эндокринные пути [12]. Цитокиновый анализ культуральных сред является неинвазивным методом получения информации о качестве эмбриона (табл. 1, 2). В сочетании с результатами морфологической оценки качества эмбрионов

Таблица 1. Взаимосвязь наличия и концентрации протеомных биомаркеров с морфологической оценкой качества эмбриона на 2–3-й и 5-й дни переноса в полость матки

Table 1. Relationship between the presence and concentration of proteomic biomarkers with the morphological assessment of embryo quality on days 2–3 and 5 of transfer into the uterine cavity

День после оплодотворения	Качество эмбриона	Продукция цитокинов	Продукция других факторов
2-й	A	IL-1 β [39, 42], IFN- α 2, SCF, IL-6 [43, 44]	sCD146 [45], hCG β [46]
	B	IL-1 β [39, 42], IFN- α 2, SCF, IL-6 [43, 44]	sCD146 [45], hCG β [46]
	C	IL-1 β [39, 42]	sCD146 [45], hCG β [46]
	D	IL-1 β [39, 42]	sCD146 [45]
3-й	A	IL-1 β [39, 42], \uparrow CCL15, \uparrow CCL27, \uparrow CXCL-12 [2], CCL8, CCL13, CCL21 [2], LIF [47], TSLP, TNF α [42, 47]	sCD146 [45], hCG β [46], \uparrow HLA-G [48]
	B	IL-1 β [42], CCL15, CCL27, CXCL12, CCL8, CCL13, CCL21 [2], LIF [47], TSLP, TNF α [42]	sCD146 [45], hCG β [46], \uparrow HLA-G [48]
	C	IL-1 β [42], CCL15, CCL27, CXCL12, CCL8, CCL13, CCL21 [2], LIF [47], TSLP, TNF α [42]	sCD146 [45], hCG β [46], \downarrow HLA-G [48]
	D	IL-1 β [42], CCL15, CCL27, CXCL12, CCL8, CCL13, CCL21 [2], LIF [47], TSLP, TNF α [2, 42]	sCD146 [45], \downarrow HLA-G [48]
5-й	A	\downarrow TNF α [42, 47], \downarrow IL-8, LIF [47]	\uparrow β -ХГЧ, hCG β [46], EPHB4, ALCAM, CSTB, VMH, TIMP4, CCL24, SELE, FAS, JAM-A, PON3, PDGF-A, vWF, PECAM-1 [49]
	B	\downarrow TNF α [42, 47], \downarrow IL-8, LIF [47]	\uparrow β -ХГЧ, hCG β [46], EPHB4, ALCAM, CSTB, VMH, TIMP4, CCL24, SELE, FAS, JAM-A, PON3, PDGF-A, vWF, PECAM-1 [49]
	C	\uparrow TNF α [42, 47], \uparrow IL-8, LIF [47], CCL24 [49]	\downarrow β -ХГЧ, hCG β [46], EPHB4, ALCAM, CSTB, VMH, TIMP4, SELE, FAS, JAM-A, PON3, PDGF-A, vWF, PECAM-1 [49]
	D	\uparrow TNF α [42, 47], \uparrow IL-8, LIF [47], CCL24 [49]	\downarrow β -ХГЧ, hCG β [46], EPHB4, ALCAM, CSTB, VMH, TIMP4, SELE, FAS, JAM-A, PON3, PDGF-A, vWF, PECAM-1 [49]

Примечание. Значимые сокращения раскрыты в тексте статьи. Стрелками указаны повышение и снижение концентрации биомаркеров.

Таблица 2. Взаимосвязь наличия и концентрации протеомных биомаркеров с эффективностью имплантации эмбриона на 2–3-й и 5-й дни переноса в полость матки

Table 2. Relationship between the presence and concentration of proteomic biomarkers with embryo implantation efficiency on days 2–3 and 5 of transfer into the uterine cavity

День после оплодотворения	Продукция цитокинов	Продукция других факторов	Связь с потенциалом имплантации
2-й	IL-6 [43, 44]	↑HLA-G [48], ХГЧ [46] A8K9P0, HPTR_HUMAN, AGRP_HUMAN, Q5QPP3, B7WNR2, B7WNY2, CARP_HUMAN, CM027_HUMAN, Q4ZG79, B5MD94, B4DS72, RSRC2_HUMAN, A8K9Z6, JARD2_HUMAN, SPAG6_HUMAN, PGPS1_HUMAN, B7Z5S5, C7SDG0 [50]	Успешная имплантация [43, 44, 46, 48]
	–	↑sCD146 [45] Q0VAC5, B7Z925, B8ZZZ9, PTPRS_HUMAN, B3KQ13, B5MD10, B4DXQ7, CLC14_HUMAN, LHX9_HUMAN, B4DPN0, Q541F1 [50]	Нарушение имплантации [45]
3-й	IL-1β [39, 42]	–	Нет связи [39, 42]
	LIF [47], IL-6 [43, 44], CCL15, CCL27, CXCL-12 [2], ↑TNFα [42]	↑HLA-G [48], ХГЧ [46] A8K9P0, HPTR_HUMAN, AGRP_HUMAN, Q5QPP3, B7WNR2, B7WNY2, CARP_HUMAN, CM027_HUMAN, Q4ZG79, B5MD94, B4DS72, RSRC2_HUMAN, A8K9Z6, JARD2_HUMAN, SPAG6_HUMAN, PGPS1_HUMAN, B7Z5S5, C7SDG0 [50] ↑sCD146 [45] Q0VAC5, B7Z925, B8ZZZ9, PTPRS_HUMAN, B3KQ13, B5MD10, B4DXQ7, CLC14_HUMAN, LHX9_HUMAN, B4DPN0, Q541F1 [50]	Успешная имплантация [2, 43, 44, 46, 48] Нарушение имплантации [42, 45]
5-й	IL-1β [39, 42]	–	Нет связи [39, 42]
	LIF [47], ↑CCL24 [49], ↑TNFα [42, 47], ↓CCL24 [49]	↑EPHB4, ↑ALCAM, ↑CSTB, ↑BMH, ↑TIMP4, ↑SELE, ↑FAS, ↑JAM-A, ↑PON3, ↑PDGF-A, ↑vWF, PECAM-1 [49], ХГЧ [46] ↓EPHB4, ↓ALCAM, ↓CSTB, ↓BMH, ↓TIMP4, ↓SELE, ↓FAS, ↓JAM-A, ↓PON3, ↓PDGF-A, ↓vWF, ↓PECAM-1 [49]	Успешная имплантация [46, 49] Нарушение имплантации [42, 47, 49]
	IL-1β [39, 42]	–	Нет связи [39, 42, 47]

Примечание. Значимые сокращения раскрыты в тексте статьи. Стрелками указаны повышение и снижение концентрации биомаркеров.

результаты анализа цитокинового профиля могут помочь в принятии решений относительно отбора эмбрионов для переноса [2].

Такой цитокин, как интерлейкин-1β (IL-1β), обнаружен в эмбрионах человека [36–38] и культуральных жидкостях эмбрионов [39, 40]. Он способствует инвазии клеток трофобласта за счет увеличения синтеза протеаз, таких как матриксная металлопротеиназа-3, катепсин, активаторы плазминогена урокиназного типа в клетках трофобласта [39]. Во время децидуализации IL-1β не только повышает активность матриксной металлопротеиназы-3, но и увеличивает экспрессию инсулиноподобного фактора роста в стромальных фибробластах приматов [39, 41] (табл. 1, 2).

В исследовании 2012 г. E. Taskin и соавт. анализировали супернатанты культуральных сред 100 эмбрионов, полученных от 38 пациентов в ходе циклов ЭКО, через 2–3 дня после ИКСИ. Затем они определяли корреляции между концентрацией IL-1β, качеством эмбрионов и количеством их бластомеров. Установлено, что качество эмбриона и количество секретируемого им IL-1β не коррелируют. Обнаружено, что количество бластомеров, отмеченных у каждого эмбриона на 2-й и 3-й дни, зависит от секреции IL-1β. При этом возраст пациентки и этиология

бесплодия не оказывали влияния на количество секретируемого IL-1β и качество эмбриона. Таким образом, предимплантационные эмбрионы человека секретируют IL-1β в отработанные культуральные среды в концентрациях, коррелирующих с количеством их бластомеров [39] (табл. 1, 2).

В другом исследовании провели сравнительный анализ концентраций таких цитокинов, как фактор некроза опухоли альфа (TNF-α) и IL-8, в отработанных культуральных средах, полученных от эмбрионов разного качества на 5-е сутки культивирования. Высокий уровень секреции IL-8 эмбрионом свидетельствует о нарушениях деления бластомеров, а повышенная концентрация TNF-α указывает на гибель клеток. Повышенные уровни IL-8 и TNF-α наблюдали в культуральных средах, полученных от эмбрионов низкого качества. Авторы заявляют о необходимости данного исследования на более многочисленной выборке для проверки установленных корреляций [47] (табл. 1, 2). Высокий уровень провоспалительных цитокинов IL-6, -8 и TNF-α характерен для ранних этапов имплантации. Данные цитокины могут секретироваться не только эмбрионом, но и клетками эндометрия, а также клетками иммунной системы, рекрутируемыми к месту имплантации зародыша [51].

По данным литературы, присутствие растворимого человеческого лейкоцитарного антигена G (HLA-G) коррелирует с потенциалом имплантации эмбрионов поскольку HLA-G участвует в формировании иммунологической толерантности между иммунной системой матери и плодом, способствуя выживаемости эмбриона. Обнаружено, что повышенная секреция данной молекулы связана с наступлением успешной беременности [44, 52, 53] (табл. 1, 2).

Молекула клеточной адгезии CD146 экспрессируется на 2–3-й день эмбрионального развития на мембране бластомеров. Растворимая форма (sCD146), образующаяся в результате мембранного протеолиза CD146 металлопротеазами, коррелирует с потенциалом имплантации эмбриона. При помощи ELISA показано, что секреция белка sCD146 достоверно связана с более низким потенциалом имплантации эмбриона [44, 45, 53] (табл. 1, 2). sCD146 экспрессируется клетками ооцит-кумулюсного комплекса, фолликулярными клетками, предимплантационным эмбрионом, клетками вневорсинчатого трофобласта и клетками эндометрия [45].

По данным литературы, повышенный уровень в отработанной среде для культивирования бластоцист фактора стволовых клеток (SCF) и интерферона альфа 2 (IFN- α 2) указывает на успешность развития эмбриона [44] (табл. 1, 2).

F. Dominguez и соавт. использовали данные протеомной дактилоскопии в сочетании с покадровым морфокинетическим анализом в выборке из 28 эмбрионов, полученных от 17 пациенток, вошедших в протокол ЭКО ИКСИ, для анализа отработанных культуральных сред. Среди исследованных биомаркеров (SCF, TNF-R1, плацентарного фактора роста 1, IFN- α 2, IL-6, CXCL13 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора) цитокин IL-6 внес наиболее значительный вклад в прогноз эффективности имплантации эмбрионов [43]. У эмбрионов, демонстрировавших повышенную секрецию IL-6 в культуральную среду, эффективность имплантации была значительно выше [43, 44]. Эпителиальные клетки эндометрия и предимплантационный эмбрион вступают в коммуникацию, секретировав IL-6, что способствует успешной имплантации зародыша. Авторы также сообщили, что для подтверждения данной закономерности необходимо аналогичное исследование с большей выборкой [43] (табл. 1, 2).

Другая исследовательская группа выявила 18 белков, исключительно экспрессируемых в группе с положительной имплантацией (A8K9P0, HPTR_HUMAN, AGRP_HUMAN, Q5QPP3, B7WNR2, B7WNY2, CARP_HUMAN, CM027_HUMAN, Q4ZG79, B5MD94, B4DS72, RSRC2_HUMAN, A8K9Z6, JARD2_HUMAN, SPAG6_HUMAN, PGPS1_HUMAN, B7Z5S5, C7SDG0), и 11 — в группе с отрицательной имплантацией эмбрионов (Q0VAC5, B7Z925, B8ZZ9, PTPRS_HUMAN, B3KQ13, B5MD10, B4DXQ7, CLC14_HUMAN, LHX9_HUMAN, B4DPN0, Q541F1) в выборке из 16 эмбрионов, полученных от 8 пациенток, вошедших в протокол ЭКО ИКСИ [44, 50] (табл. 1, 2).

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) вырабатывают клетки трофобласта на протяжении всего периода беременности. Анализ экспрессии генов, кодирующих ХГЧ, продемонстрировал повышенную экспрессию генов, кодирующих β -субъединицу ХГЧ (hCG β) в эмбрионах на стадии двух бластомеров (табл. 1, 2). Кроме того, авторы исследования проанализировали отработанные культуральные среды от 118 эмбрионов разного качества и на разных стадиях развития, вошедших в протокол ЭКО. hCG β обнаружен в средах от зигот на стадии 2 пронуклеусов до эмбрионов стадии бластоцисты. В то время как hCG β отсутствовал у эмбрионов с 1 пронуклеусом и недробящихся деградирующих эмбрионов, а также во всех контрольных средах (табл. 1, 2). До «вылупления» бластоцисты гипергликозилированную изоформу ХГЧ, hCGh, избирательно наблюдали у триплоидных зигот на стадии 3 пронуклеусов. После хэтчинга, hCGh и ХГЧ обнаружили в высоких концентрациях в отработанных культуральных средах. Доминирование ХГЧ и экспрессия hCGh, наблюдаемые после «вылупления» бластоцисты, вероятно коррелируют с эффективной имплантацией. Таким образом, изоформы ХГЧ, секретлируемые дробящимися эмбрионами в отработанную культуральную среду, рассматривают в качестве потенциальных биомаркеров для предсказания жизнеспособности эмбрионов, эффективности их имплантации и возможных геномных мутаций в ходе циклов ЭКО [46] (табл. 1, 2).

В статье I. Lee и соавт. оценивали концентрацию цитокинов в отработанных культуральных средах для предимплантационных эмбрионов с целью поиска их взаимосвязи с морфологической оценкой качества эмбрионов на 3-й день культивирования и результатами ЭКО. Культуральные среды, полученные от 72 эмбрионов 39 пациенток, проанализировали при помощи мультиплексного анализа для изменения концентраций [2]. Среди проанализированных цитокинов уровни хемокинов CCL15, CCL27 и CXCL12 были значительно повышены в группе эмбрионов наивысшего качества. Авторы предлагают использовать данные соединения в качестве биомаркеров для прогнозирования качества эмбрионов и результатов ЭКО [2] (табл. 1, 2).

A. Freis и соавт. исследовали взаимосвязь между секретомом бластоцист и потенциалом имплантации эмбрионов. Авторы проанализировали отработанные культуральные среды от 69 эмбрионов, перенесенных на 5-й день культивирования. Образцы разделены на две группы: среды от эмбрионов, успешно имплантированных и неимплантируемых. Измерены 92 белка одновременно в эмбриональных супернатантах при помощи технологии бесконтактного удлинения с использованием антител, меченных олигонуклеотидами. В результате, среды имплантировавшихся бластоцист показали значительно более высокую секрецию белков EPHB4, ALCAM, CSTB, BMH, тканевых ингибиторов металлопротеиназ 4 (TIMP4), хемокина CCL24, E-селектина (SELE), FAS, JAM-A, PON3, PDGF-A, фактора фон Виллебранда (vWF)

и молекулы тромбоцитарно-эндотелиальной клеточной адгезии 1 (PECAM-1), чем среды от эмбрионов без последующей имплантации. Наибольшее относительное изменение уровня секреции продемонстрировано для белков PECAM-1, TIMP4, SELE и vWF (табл. 1, 2).

Таким образом, перечисленные в настоящем разделе белки являются потенциальными биомаркерами эффективности имплантации blastocyst. Однако предстоит определить порог секреции этих соединений для их идентификации в качестве биомаркеров [49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс имплантации является ключевым фактором формирования беременности, состоявшейся естественным путем или при помощи вспомогательных репродуктивных технологий. В настоящее время имплантация эмбрионов в ходе циклов ЭКО демонстрирует крайне низкую эффективность в процентах. Это связано с естественно низкой эффективностью имплантации у людей, особенностями физиологии отдельных пациенток, а также отсутствием стандартизированных и точных подходов для оценки потенциала имплантации отдельных эмбрионов. Именно поэтому важной задачей современной репродуктивной медицины является поиск оптимального неинвазивного теста, позволяющего определить потенциал имплантации эмбрионов в ходе циклов ЭКО.

В настоящее время для этой цели используют морфологическую оценку качества эмбрионов. Кроме того, такие неинвазивные подходы, как анализ бесклеточной ДНК в культуральной среде, оценка морфокинетических изменений отдельных эмбрионов с использованием моделей искусственного интеллекта и анализ потребления кислорода отдельными эмбрионами рассматривают в литературе в качестве дополнений к существующей системе оценки качества эмбрионов. Однако использование данных подходов сопряжено с рядом трудностей и слабо коррелирует с потенциалом имплантации зародыша. Одним из наиболее перспективных и малоизученных способов оценки потенциала имплантации отдельных эмбрионов является идентификация белковых биомаркеров в обработанных культуральных средах дробящихся эмбрионов при помощи методов протеомики.

Эндометрий и эмбрионы вступают в «диалог» в процессе имплантации. Данные взаимодействия осуществляют молекулы-посредники, такие как цитокины, факторы роста и их рецепторы. Идентификация этих мессенджеров

в качестве биомаркеров позволит отбирать эмбрионы с более высоким потенциалом имплантации, улучшить условия культивирования и повысить восприимчивость эндометрия. По данным литературы, ХГЧ и его изоформы, TNF- α , IL-8, -6, -1 β , HLA-G, SCF, IFN- α 2, CCL15, CCL27, CXCL12, TIMP4, PECAM-1, SELE и vWF являются потенциальными биомаркерами эффективности имплантации эмбрионов в ходе циклов ЭКО. Анализ этих белков в обработанных культуральных средах дробящихся эмбрионов может дополнить морфологическую оценку качества эмбрионов при принятии решений о выборе эмбриона для переноса.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа поддержана поисковым научным исследованием № 123120700019-8.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Наибольший вклад распределен следующим образом: *М.С. Земетова* — методология, проверка данных, формальный анализ, написание текста, визуализация; *С.А. Сельков* — ресурсы, рецензирование, администрирование, привлечение финансирования; *Д.И. Соколов* — концептуализация, проверка данных, формальный анализ, ресурсы, курирование, написание текста, визуализация, руководство, администрирование, привлечение финансирования.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The study has been supported by exploratory scientific research No. 123120700019-8.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Author contribution. All the authors have made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the article as well as read and approved the final version before its publication.

Personal contribution of the authors: *M.S. Zementova* — methodology, validation, formal analysis, investigation, text writing, visualization; *S.A. Selkov* — resources, review and editing, project administration, funding acquisition; *D.I. Sokolov* — conceptualization, validation, formal analysis, resources, data curation, text writing, visualization, supervision, project administration, funding acquisition.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ashary N., Tiwari A., Modi D. Embryo Implantation: war in times of love // *Endocrinology*. 2018. Vol. 159, N 2. P. 1188–1198. doi: 10.1210/en.2017-03082
2. Lee I., Ahn S.H., Kim H.I., et al. Cytokines in culture media of preimplantation embryos during *in vitro* fertilization: im-

pact on embryo quality // *Cytokine*. 2021. Vol. 148. ID: 155714. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155714

3. Должиков А.А., Заболотная С.В. Прикладная морфология для студентов и врачей: морфология последа человека. Учебное пособие. Белгород, 2005.

4. Sheridan M.A., Fernando R.C., Gardner L., et al. Establishment and differentiation of long-term trophoblast organoid cultures from the human placenta // *Nat Protoc.* 2020. Vol. 15, N 10. P. 3441–3463. doi: 10.1038/s41596-020-0381-x
5. Abbas Y., Turco M.Y., Burton G.J., et al. Investigation of human trophoblast invasion *in vitro* // *Hum Reprod Update.* 2020. Vol. 26, N 4. P. 501–513. doi: 10.1093/humupd/dmaa017
6. Айламазян Э.К., Степанова О.И., Сельков С.А., и др. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели // *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2013. Т. 68, № 11. С. 12–21. EDN: ROBKBV doi: 10.15690/vramn.v68i11.837
7. Hernández-Vargas P., Muñoz M., Domínguez F. Identifying biomarkers for predicting successful embryo implantation: applying single to multi-OMICs to improve reproductive outcomes // *Hum Reprod Update.* 2020. Vol. 26, N 2. P. 264–301. doi: 10.1093/humupd/dmz042
8. Ojsosegros S., Seriola A., Godeau A.L., et al. Embryo implantation in the laboratory: an update on current techniques // *Hum Reprod Update.* 2021. Vol. 27, N 3. P. 501–530. doi: 10.1093/humupd/dmaa054
9. Aplin J.D., Ruane P.T. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance // *J Cell Sci.* 2017. Vol. 130, N 1. P. 15–22. doi: 10.1242/jcs.175943
10. Anagnostopoulou C., Maldonado Rosas I., Singh N., et al. Oocyte quality and embryo selection strategies: a review for the embryologists, by the embryologists // *Panminerva Med.* 2022. Vol. 64, N 2. P. 171–184. doi: 10.23736/s0031-0808.22.04680-8
11. Baxter Bendus A.E., Mayer J.F., Shipley S.K., et al. Interobserver and intraobserver variation in day 3 embryo grading // *Fertil Steril.* 2006. Vol. 86, N 6. P. 1608–1615. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.05.037
12. Nagy Z.P., Liu J., Joris H., et al. The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates // *Hum Reprod.* 1995. Vol. 10, N 12. P. 3171–3177. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a135881
13. Tao J., Tamis R., Fink K., et al. The neglected morula/compact stage embryo transfer // *Hum Reprod.* 2002. Vol. 17, N 6. P. 1513–1518. doi: 10.1093/humrep/17.6.1513
14. Gardner D.K., Schoolcraft W.B. Culture and transfer of human blastocysts // *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1999. Vol. 11, N 3. P. 307–311. doi: 10.1097/00001703-199906000-00013
15. Nazem T.G., Sekhon L., Lee J.A., et al. The correlation between morphology and implantation of euploid human blastocysts // *Reprod Biomed Online.* 2019. Vol. 38, N 2. P. 169–176. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.10.007
16. Juneau C., Franasiak J., Treff N. Challenges facing contemporary preimplantation genetic screening // *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2016. Vol. 28, N 3. P. 151–157. doi: 10.1097/gco.0000000000000270
17. Orvieto R., Aizer A., Gleicher N. Is there still a rationale for non-invasive PGT-A by analysis of cell-free DNA released by human embryos into culture medium? // *Hum Reprod.* 2021. Vol. 36, N 5. P. 1186–1190. doi: 10.1093/humrep/deab042
18. Munné S., Kaplan B., Frattarelli J.L., et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial // *Fertil Steril.* 2019. Vol. 112, N 6. P. 1071–1079.e7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.07.1346
19. Rubio C., Navarro-Sánchez L., García-Pascual C.M., et al. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts // *Am J Obstet Gynecol.* 2020. Vol. 223, N 5. P. 751.e1–751.e13. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.035
20. Jain T., Grainger D.A., Ball G.D., et al. 30 years of data: impact of the United States *in vitro* fertilization data registry on advancing fertility care // *Fertil Steril.* 2019. Vol. 111, N 3. P. 477–488. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.11.015
21. Huang L., Bogale B., Tang Y., et al. Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy in spent medium may be more reliable than trophoctoderm biopsy // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019. Vol. 116, N 28. P. 14105–14112. doi: 10.1073/pnas.1907472116
22. Leaver M., Wells D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? // *Hum Reprod Update.* 2020. Vol. 26, N 1. P. 16–42. doi: 10.1093/humupd/dmz033
23. Orvieto R., Shimon C., Rienstein S., et al. Do human embryos have the ability of self-correction? // *Reprod Biol Endocrinol.* 2020. Vol. 18, N 1. P. 98. doi: 10.1186/s12958-020-00650-8
24. Singla S., Iwamoto-Stohl L.K., Zhu M., et al. Autophagy-mediated apoptosis eliminates aneuploid cells in a mouse model of chromosome mosaicism // *Nat Commun.* 2020. Vol. 11, N 1. P. 2958. doi: 10.1038/s41467-020-16796-3
25. Yang M., Rito T., Metzger J., et al. Depletion of aneuploid cells in human embryos and gastruloids // *Nat Cell Biol.* 2021. Vol. 23, N 4. P. 314–321. doi: 10.1038/s41556-021-00660-7
26. You Y., Stelzl P., Zhang Y., et al. Novel 3D *in vitro* models to evaluate trophoblast migration and invasion // *Am J Reprod Immunol.* 2019. Vol. 81, N 3. ID: e13076. doi: 10.1111/aji.13076
27. Rubio I., Galán A., Larreategui Z., et al. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope // *Fertil Steril.* 2014. Vol. 102, N 5. P. 1287–1294.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.07.738
28. Goodman L.R., Goldberg J., Falcone T., et al. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial // *Fertil Steril.* 2016. Vol. 105, N 2. P. 275–285.e10. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.10.013
29. Conaghan J., Chen A.A., Willman S.P., et al. Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial // *Fertil Steril.* 2013. Vol. 100, N 2. P. 412–419.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.021
30. Armstrong S., Bhide P., Jordan V., et al. Time-lapse systems for embryo incubation and assessment in assisted reproduction // *Cochrane Database Syst Rev.* 2019. Vol. 5, N 5. ID: Cd011320. doi: 10.1002/14651858.CD011320.pub4
31. Chavez-Badiola A., Flores-Saiffe-Farías A., Mendizabal-Ruiz G., et al. Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm (ERICA): artificial intelligence clinical assistant predicting embryo ploidy and implantation // *Reprod Biomed Online.* 2020. Vol. 41, N 4. P. 585–593. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.07.003
32. Barnes J., Brendel M., Gao V.R., et al. A non-invasive artificial intelligence approach for the prediction of human blastocyst ploidy: a retrospective model development and validation study // *Lancet Digit Health.* 2023. Vol. 5, N 1. P. e28–e40. doi: 10.1016/s2589-7500(22)00213-8
33. O'Donovan C., Twomey E., Alderman J., et al. Development of a respirometric biochip for embryo assessment // *Lab Chip.* 2006. Vol. 6, N 11. P. 1438–1444. doi: 10.1039/b607622j
34. Kurosawa H., Utsunomiya H., Shiga N., et al. Development of a new clinically applicable device for embryo evaluation which mea-

- tures embryo oxygen consumption // *Hum Reprod*. 2016. Vol. 31, N 10. P. 2321–2330. doi: 10.1093/humrep/dew187
35. Altmäe S., Esteban F.J., Stavreus-Evers A., et al. Guidelines for the design, analysis and interpretation of 'omics' data: focus on human endometrium // *Hum Reprod Update*. 2014. Vol. 20, N 1. P. 12–28. doi: 10.1093/humupd/dmt048
36. De los Santos M.J., Mercader A., Francés A., et al. Role of endometrial factors in regulating secretion of components of the immunoreactive human embryonic interleukin-1 system during embryonic development // *Biol Reprod*. 1996. Vol. 54, N 3. P. 563–574. doi: 10.1095/biolreprod54.3.563
37. Simón C., Moreno C., Remohí J., et al. Cytokines and embryo implantation // *J Reprod Immunol*. 1998. Vol. 39, N 1–2. P. 117–131. doi: 10.1016/s0165-0378(98)00017-5
38. Krüssel J.S., Simón C., Rubio M.C., et al. Expression of interleukin-1 system mRNA in single blastomeres from human preimplantation embryos // *Hum Reprod*. 1998. Vol. 13, N 8. P. 2206–2211. doi: 10.1093/humrep/13.8.2206
39. Taşkın E.A., Baltacı V., Çağiran G., et al. Detection of IL-1 β in culture media supernatants of pre-implantation human embryos; its relation with embryo grades and development // *Gynecol Endocrinol*. 2012. Vol. 28, N 4. P. 296–298. doi: 10.3109/09513590.2011.631627
40. Barañao R.I., Piazza A., Rumi L.S., et al. Determination of IL-1 and IL-6 levels in human embryo culture-conditioned media // *Am J Reprod Immunol*. 1997. Vol. 37, N 2. P. 191–194. doi: 10.1111/j.1600-0897.1997.tb00212.x
41. Fazleabas A.T., Kim J.J., Strakova Z. Implantation: embryonic signals and the modulation of the uterine environment – a review // *Placenta*. 2004. Vol. 25, Suppl. A. P. S26–S31. doi: 10.1016/j.placenta.2004.01.014
42. Salama K.M., Alloush M.K., Al Hussini R.M. Are the cytokines TNF alpha and IL 1Beta early predictors of embryo implantation? Cross sectional study // *J Reprod Immunol*. 2020. Vol. 137. ID: 102618. doi: 10.1016/j.jri.2019.102618
43. Dominguez F., Meseguer M., Aparicio-Ruiz B., et al. New strategy for diagnosing embryo implantation potential by combining proteomics and time-lapse technologies // *Fertil Steril*. 2015. Vol. 104, N 4. P. 908–914. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.06.032
44. Zmuidinaite R., Sharara F.I., Iles R.K. Current advancements in noninvasive profiling of the embryo culture media secretome // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 5. doi: 10.3390/ijms22052513
45. Bouvier S., Paulmyer-Lacroix O., Molinari N., et al. Soluble CD146, an innovative and non-invasive biomarker of embryo selection for *in vitro* fertilization // *PLoS One*. 2017. Vol. 12, N 3. ID: e0173724. doi: 10.1371/journal.pone.0173724
46. Butler S.A., Luttoo J., Freire M.O., et al. Human chorionic gonadotropin (hCG) in the secretome of cultured embryos: hyperglycosylated hCG and hCG-free beta subunit are potential markers for infertility management and treatment // *Reprod Sci*. 2013. Vol. 20, N 9. P. 1038–1045. doi: 10.1177/1933719112472739
47. Abreu C.M., Thomas V., Knaggs P., et al. Non-invasive molecular assessment of human embryo development and implantation potential // *Biosens Bioelectron*. 2020. Vol. 157, ID: 112144. doi: 10.1016/j.bios.2020.112144
48. Yie S.M., Balakier H., Motamedi G., et al. Secretion of human leukocyte antigen-G by human embryos is associated with a higher *in vitro* fertilization pregnancy rate // *Fertil Steril*. 2005. Vol. 83, N 1. P. 30–36. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.06.059
49. Freis A., Roesner S., Marshall A., et al. Non-invasive embryo assessment: altered individual protein profile in spent culture media from embryos transferred at day 5 // *Reprod Sci*. 2021. Vol. 28, N 7. P. 1866–1873. doi: 10.1007/s43032-020-00362-9
50. Cortezzi S.S., Garcia J.S., Ferreira C.R., et al. Secretome of the preimplantation human embryo by bottom-up label-free proteomics // *Anal Bioanal Chem*. 2011. Vol. 401, N 4. P. 1331–1339. doi: 10.1007/s00216-011-5202-1
51. Dekel N., Gnainsky Y., Granot I., et al. Inflammation and implantation // *Am J Reprod Immunol*. 2010. Vol. 63, N 1. P. 17–21. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00792.x
52. Díaz R.R., Zamora R.B., Sánchez R.V., et al. Embryo sHLA-G secretion is related to pregnancy rate // *Zygote*. 2019. Vol. 27, N 2. P. 78–81. doi: 10.1017/s0967199419000054
53. Rebmann V., Switala M., Eue I., et al. Rapid evaluation of soluble HLA-G levels in supernatants of *in vitro* fertilized embryos // *Hum Immunol*. 2007. Vol. 68, N 4. P. 251–258. doi: 10.1016/j.humimm.2006.11.003

REFERENCES

1. Ashary N, Tiwari A, Modi D. Embryo implantation: war in times of love. *Endocrinology*. 2018;159(2):1188–1198. doi: 10.1210/en.2017-03082
2. Lee I, Ahn SH, Kim HI, et al. Cytokines in culture media of pre-implantation embryos during *in vitro* fertilization: Impact on embryo quality. *Cytokine*. 2021;148:155714. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155714
3. Dolzhikov AA, Zabolotnaya SV. Applied morphology for students and doctors: morphology of the human placenta. Study guide. Belgorod; 2005. (in Russ.)
4. Sheridan MA, Fernando RC, Gardner L, et al. Establishment and differentiation of long-term trophoblast organoid cultures from the human placenta. *Nat Protoc*. 2020;15(10):3441–3463. doi: 10.1038/s41596-020-0381-x
5. Abbas Y, Turco MY, Burton GJ, et al. Investigation of human trophoblast invasion *in vitro*. *Hum Reprod Update*. 2020;26(4):501–513. doi: 10.1093/humupd/dmaa017
6. Ailamazan EK, Stepanova OI, Selkov SA, et al. Cells of immune system of mother and trophoblast cells: constructive cooperation for the sake of achievement of the joint purpose. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2013;68(11):12–21. EDN: ROBKBV doi: 10.15690/vramn.v68i11.837
7. Hernández-Vargas P, Muñoz M, et al. Identifying biomarkers for predicting successful embryo implantation: applying single to multi-OMICs to improve reproductive outcomes. *Hum Reprod Update*. 2020;26(2):264–301. doi: 10.1093/humupd/dmz042
8. Ojosnegros S, Seriola A, Godeau AL, et al. Embryo implantation in the laboratory: an update on current techniques. *Hum Reprod Update*. 2021;27(3):501–530. doi: 10.1093/humupd/dmaa054
9. Aplin JD, Ruane PT. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance. *J Cell Sci*. 2017;130(1):15–22. doi: 10.1242/jcs.175943
10. Anagnostopoulou C, Maldonado Rosas I, Singh N, et al. Oocyte quality and embryo selection strategies: a review for the embryologists, by the embryologists. *Panminerva Med*. 2022;64(2):171–184. doi: 10.23736/s0031-0808.22.04680-8

11. Baxter Bendus AE, Mayer JF, Shipley SK, et al. Interobserver and intraobserver variation in day 3 embryo grading. *Fertil Steril*. 2006;86(6):1608–1615. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.05.037
12. Nagy ZP, Liu J, Joris H, et al. The influence of the site of sperm deposition and mode of oolemma breakage at intracytoplasmic sperm injection on fertilization and embryo development rates. *Hum Reprod*. 1995;10(12):3171–3177. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a135881
13. Tao J, Tamis R, Fink K, et al. The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Hum Reprod*. 2002;17(6):1513–1518. doi: 10.1093/humrep/17.6.1513
14. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1999;11(3):307–311. doi: 10.1097/00001703-199906000-00013
15. Nazem TG, Sekhon L, Lee JA, et al. The correlation between morphology and implantation of euploid human blastocysts. *Reprod Biomed Online*. 2019;38(2):169–176. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.10.007
16. Juneau C, Franasiak J, Treff N. Challenges facing contemporary preimplantation genetic screening. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2016;28(3):151–157. doi: 10.1097/gco.0000000000000270
17. Orvieto R, Aizer A, Gleicher N. Is there still a rationale for non-invasive PGT-A by analysis of cell-free DNA released by human embryos into culture medium? *Hum Reprod*. 2021;36(5):1186–1190. doi: 10.1093/humrep/deab042
18. Munné S, Kaplan B, Frattarelli JL, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. *Fertil Steril*. 2019;112(6):1071–1079.e7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.07.1346
19. Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, et al. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(5):751.e1–751.e13. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.035
20. Jain T, Grainger DA, Ball GD, et al. 30 years of data: impact of the United States *in vitro* fertilization data registry on advancing fertility care. *Fertil Steril*. 2019;111(3):477–488. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.11.015
21. Huang L, Bogale B, Tang Y, et al. Noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy in spent medium may be more reliable than trophoctoderm biopsy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019;116(28):14105–14112. doi: 10.1073/pnas.1907472116
22. Leaver M, Wells D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? *Hum Reprod Update*. 2020;26(1):16–42. doi: 10.1093/humupd/dmz033
23. Orvieto R, Shimon C, Rienstein S, et al. Do human embryos have the ability of self-correction? *Reprod Biol Endocrinol*. 2020;18(1):98. doi: 10.1186/s12958-020-00650-8
24. Singla S, Iwamoto-Stohl LK, Zhu M, et al. Autophagy-mediated apoptosis eliminates aneuploid cells in a mouse model of chromosome mosaicism. *Nat Commun*. 2020;11(1):2958. doi: 10.1038/s41467-020-16796-3
25. Yang M, Rito T, Metzger J, et al. Depletion of aneuploid cells in human embryos and gastruloids. *Nat Cell Biol*. 2021;23(4):314–321. doi: 10.1038/s41556-021-00660-7
26. You Y, Stelzl P, Zhang Y, et al. Novel 3D *in vitro* models to evaluate trophoblast migration and invasion. *Am J Reprod Immunol*. 2019;81(3):e13076. doi: 10.1111/aji.13076
27. Rubio I, Galán A, Larreategui Z, et al. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope. *Fertil Steril*. 2014;102(5):1287–1294.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.07.738
28. Goodman LR, Goldberg J, Falcone T, et al. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2016;105(2):275–285.e10. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.10.013
29. Conaghan J, Chen AA, Willman SP, et al. Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial. *Fertil Steril*. 2013;100(2):412–419.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.021
30. Armstrong S, Bhide P, Jordan V, et al. Time-lapse systems for embryo incubation and assessment in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;5(5):Cd011320. doi: 10.1002/14651858.CD011320.pub4
31. Chavez-Badiola A, Flores-Saiffe-Farías A, Mendizabal-Ruiz G, et al. Embryo Ranking Intelligent Classification Algorithm (ERICA): artificial intelligence clinical assistant predicting embryo ploidy and implantation. *Reprod Biomed Online*. 2020;41(4):585–593. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.07.003
32. Barnes J, Brendel M, Gao VR, et al. A non-invasive artificial intelligence approach for the prediction of human blastocyst ploidy: a retrospective model development and validation study. *Lancet Digit Health*. 2023;5(1):e28–e40. doi: 10.1016/s2589-7500(22)00213-8
33. O'Donovan C, Twomey E, Alderman J, et al. Development of a respirometric biochip for embryo assessment. *Lab Chip*. 2006;6(11):1438–1444. doi: 10.1039/b607622j
34. Kurosawa H, Utsunomiya H, Shiga N, et al. Development of a new clinically applicable device for embryo evaluation which measures embryo oxygen consumption. *Hum Reprod*. 2016;31(10):2321–2330. doi: 10.1093/humrep/dew187
35. Altmäe S, Esteban FJ, Stavreus-Evers A, et al. Guidelines for the design, analysis and interpretation of 'omics' data: focus on human endometrium. *Hum Reprod Update*. 2014;20(1):12–28. doi: 10.1093/humupd/dmt048
36. De los Santos MJ, Mercader A, Francés A, et al. Role of endometrial factors in regulating secretion of components of the immunoreactive human embryonic interleukin-1 system during embryonic development. *Biol Reprod*. 1996;54(3):563–574. doi: 10.1095/biolreprod54.3.563
37. Simón C, Moreno C, Remohí J, et al. Cytokines and embryo implantation. *J Reprod Immunol*. 1998;39(1–2):117–131. doi: 10.1016/s0165-0378(98)00017-5
38. Krüssel JS, Simón C, Rubio MC, et al. Expression of interleukin-1 system mRNA in single blastomeres from human preimplantation embryos. *Hum Reprod*. 1998;13(8):2206–2211. doi: 10.1093/humrep/13.8.2206
39. Taşkın EA, Baltacı V, Çağiran G, et al. Detection of IL-1 β in culture media supernatants of pre-implantation human embryos; its relation with embryo grades and development. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(4):296–298. doi: 10.3109/09513590.2011.631627
40. Barañao RI, Piazza A, Rumi LS, et al. Determination of IL-1 and IL-6 levels in human embryo culture-conditioned media. *Am J Reprod Immunol*. 1997;37(2):191–194. doi: 10.1111/j.1600-0897.1997.tb00212.x
41. Fazleabas AT, Kim JJ, Strakova Z. Implantation: embryonic signals and the modulation of the uterine environment – a review. *Placenta*. 2004;25(Suppl A):S26–S31. doi: 10.1016/j.placenta.2004.01.014
42. Salama KM, Alloush MK, Al Hussini RM. Are the cytokines TNF alpha and IL 1Beta early predictors of embryo implantation? Cross sectional study. *J Reprod Immunol*. 2020;137:102618. doi: 10.1016/j.jri.2019.102618

- 43.** Dominguez F, Meseguer M, Aparicio-Ruiz B, et al. New strategy for diagnosing embryo implantation potential by combining proteomics and time-lapse technologies. *Fertil Steril.* 2015;104(4):908–914. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.06.032
- 44.** Zmuidinaite R, Sharara FI, Iles RK. Current advancements in non-invasive profiling of the embryo culture media secretome. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5). doi: 10.3390/ijms22052513
- 45.** Bouvier S, Paulmyer-Lacroix O, Molinari N, et al. Soluble CD146, an innovative and non-invasive biomarker of embryo selection for *in vitro* fertilization. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173724. doi: 10.1371/journal.pone.0173724
- 46.** Butler SA, Luttoo J, Freire MO, et al. Human chorionic gonadotropin (hCG) in the secretome of cultured embryos: hyperglycosylated hCG and hCG-free beta subunit are potential markers for infertility management and treatment. *Reprod Sci.* 2013;20(9):1038–1045. doi: 10.1177/1933719112472739
- 47.** Abreu CM, Thomas V, Knaggs P, et al. Non-invasive molecular assessment of human embryo development and implantation potential. *Biosens Bioelectron.* 2020;157:112144. doi: 10.1016/j.bios.2020.112144
- 48.** Yie SM, Balakier H, Motamedi G, et al. Secretion of human leukocyte antigen-G by human embryos is associated with a higher *in vitro* fertilization pregnancy rate. *Fertil Steril.* 2005;83(1):30–36. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.06.059
- 49.** Freis A, Roesner S, Marshall A, et al. Non-invasive embryo assessment: altered individual protein profile in spent culture media from embryos transferred at day 5. *Reprod Sci.* 2021;28(7):1866–1873. doi: 10.1007/s43032-020-00362-9
- 50.** Cortezzi SS, Garcia JS, Ferreira CR, et al. Secretome of the preimplantation human embryo by bottom-up label-free proteomics. *Anal Bioanal Chem.* 2011;401(4):1331–1339. doi: 10.1007/s00216-011-5202-1
- 51.** Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, et al. Inflammation and implantation. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(1):17–21. doi: 10.1111/j.1600-0897.2009.00792.x
- 52.** Díaz RR, Zamora RB, Sánchez RV, et al. Embryo sHLA-G secretion is related to pregnancy rate. *Zygote.* 2019;27(2):78–81. doi: 10.1017/s0967199419000054
- 53.** Rebmann V, Switala M, Eue I, et al. Rapid evaluation of soluble HLA-G levels in supernatants of *in vitro* fertilized embryos. *Hum Immunol.* 2007;68(4):251–258. doi: 10.1016/j.humimm.2006.11.003

ОБ АВТОРАХ

* Мария Сергеевна Зементова;

адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, д. 3;
ORCID: 0000-0001-5161-369X;
e-mail: marizementova@mail.ru

Сергей Алексеевич Сельков, д-р мед. наук, профессор,

засл. деят. науки РФ;
ORCID: 0000-0003-1560-7529;
eLibrary SPIN: 7665-0594;
e-mail: selkovsa@mail.ru

Дмитрий Игоревич Соколов, д-р биол. наук;

ORCID: 0000-0002-5749-2531;
eLibrary SPIN: 3746-0000;
e-mail: falcojugger@yandex.ru

AUTHORS INFO

* Maria S. Zementova;

address: 3 Mendeleevskaya Line, Saint Petersburg,
199034, Russia;
ORCID: 0000-0001-5161-369X;
e-mail: marizementova@mail.ru

Sergey A. Selkov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor,

Honored Scientist of the Russian Federation;
ORCID: 0000-0003-1560-7529;
eLibrary SPIN: 7665-0594;
e-mail: selkovsa@mail.ru

Dmitry I. Sokolov, Dr. Sci. (Biology);

ORCID: 0000-0002-5749-2531;
eLibrary SPIN: 3746-0000;
e-mail: falcojugger@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author