

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ЮЗЬКО ВІКТОРІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА**

УДК 618.177-02:616.441-008.64

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ОСОБЛИВОСТІ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У**  
**ПАЦІЄНТОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ, ПОВ'ЯЗАНИМ З ВІДСУТНІСТЮ**  
**ОВУЛЯЦІЇ**

222 – Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

  
\_\_\_\_\_ В.О. Юзько

Науковий керівник: Андрієць Оксана Анатоліївна, доктор медичних наук,  
професор

Чернівці - 2022

## АНОТАЦІЯ

*Юзько В.О.* Особливості допоміжних репродуктивних технологій у пацієнток із безпліддям, пов'язаним з відсутністю овуляції. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Заклад вищої освіти Буковинський державний медичний університет МОЗ України, Чернівці, 2022.

У дисертації узагальнено і по-новому вирішено наукове завдання, що полягає у підвищенні ефективності лікування безпліддя в жінок із використанням допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) шляхом застосування нового підходу до підготовки та проведення контрольованої оваріальної стимуляції (КОС) в циклах запліднення шляхом інтрацитоплазматичного введення сперматозоїда в яйцеклітину (ICSI) із використанням мелатоніну для покращення якості отриманих ооцитів та ембріонів.

За даними вітчизняних і закордонних вчених, частоту безпліддя можна розглядати як прямі репродуктивні втрати. В Україні сьогодні частота жіночого безпліддя складає 60%, а чоловічого – 40%. Традиційні методи діагностики та лікування безпліддя не завжди можуть ліквідувати проблему [90]. Більш ефективними виявились методи допоміжних репродуктивних технологій, зокрема запліднення ін вітро (IVF) та інтрацитоплазматичне введення сперматозоїда в яйцеклітину (ICSI). Сьогодні вони зайняли основне місце у вирішенні проблем репродукції людини. Але й дані технології не дають повної гарантії подолання безпліддя [104]. Це пов'язано з цілим рядом факторів, які негативно впливають на їх ефективність, зокрема, вік пацієнтки, тривалість анамнезу безпліддя та застосованих раніше методів лікування, овуляторного резерву, правильності відбору пацієнток та вибору методу стимуляції овуляції і технології запліднення, якості яйцеклітин та ембріонів, багатьох інших складових [101]. В той же час, допоміжні репродуктивні технології постійно удосконалюються [56].

Метою даної роботи було підвищити ефективність лікування безпліддя жінок із використанням допоміжних репродуктивних технологій шляхом оптимізації підготовки до контрольованої оваріальної стимуляції в циклах інтрацитоплазматичного введення сперматозоїда в яйцеклітину для покращення якості отриманих ооцитів та ембріонів.

Завдання дослідження:

1. Оцінити клінічну картину в жінок із безпліддям, які лікувались з використанням допоміжних репродуктивних технологій, та у жінок-донорів ооцитів.

2. Виявити особливості оваріального резерву та гормонів репродуктивної панелі в жінок із безпліддям, які лікувались з використанням допоміжних репродуктивних технологій та в жінок-донорів ооцитів.

3. Провести ретроспективний аналіз ефективності допоміжних репродуктивних технологій у жінок із безпліддям та у жінок-донорів ооцитів.

4. Застосувати схему підготовки з використанням мелатоніну в програмах допоміжних репродуктивних технологій та дослідити вміст мелатоніну в сироватці крові та фолікулярній рідині.

5. Проаналізувати ембріологічні показники при використанні в схемі підготовки до контрольованої оваріальної стимуляції препарату мелатоніну.

6. Оцінити клінічні результати використання запропонованої схеми підготовки до ДРТ у жінок із безпліддям.

*Об'єкт дослідження:* репродуктивна функція в жінок із безпліддям, які лікуються з використанням ДРТ.

Дизайн проведеного нами дослідження – проспективне, відкрите, контрольоване в пацієток із безпліддям, яке виконувалось у чотири кроки. При першому кроці проводився відбір пацієток та їх розподіл по групах. Відібрано для дослідження 89 жінок, з яких 76 – пацієтки із безпліддям. Перед ініціацією протоколу ДРТ всі пацієтки були розподілені на 3 групи:

– до 1 групи увійшло 13 жінок, які в програмах стимуляції та пункції фолікулів слугували донорами ооцитів (контрольна);

– до 2 групи (основна група) увійшло 33 жінки зі стандартною схемою лікування (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда в яйцеклітину, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером) та прийомом впродовж місяця до пункції препарату мелатоніну;

– до 3 групи (група порівняння) увійшло 43 пацієнтки, які отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїду в яйцеклітину, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером).

Розподіл пацієнток із безпліддям на групи виконувався рандомізовано: шляхом парності чи непарності візиту у кабінет для прегравідарного консультування, так до групи порівняння потрапили непарні візити, до основної – парні.

Критерії включення до дослідження: безпліддя, незалежно від форми, та наявність інформованої згоди жінки на включення в дослідження.

Критерії виключення з дослідження: пацієнтки з серцево-судинними захворюваннями, цукровим діабетом, захворюваннями печінки, щитоподібної залози, легень, злоякісні новоутворення в анамнезі, з алкогольною та ніотиною залежністю, когнітивними порушеннями, а також з хворобами інших органів та систем, які могли б вплинути на результат дослідження, зокрема, ВІЛ-інфекція, туберкульоз, сифіліс, вірусні гепатити В та С, гострий інфекційний процес впродовж дослідження, тощо. Серед пацієнток не було жінок, які працювали вночі.

На другому кроці дослідження було проведено аналіз клініко-анамнестичної характеристики, лабораторних та інструментальних досліджень, ембріологічних показників та частоти настання вагітності в трьох групах дослідження. За показаннями здійснювались консультації фахівців інших спеціальностей та проводились додаткові інструментальні методи дослідження.

На третьому кроці нами була розроблена та апробована методологія застосування мелатоніну в пацієнток із безпліддям.

Крок чотири був завершальним, під час якого нами була проведена оцінка ембріологічних показників та ефективності настання вагітності в двох групах дослідження у пацієнок із безпліддям, а також впровадження результатів дослідження в клінічну практику.

Імунохімічними методами на 2-3-й день менструального циклу визначали в сироватці периферичної крові рівні антимюлерового гормону (АМГ), лютеїнізуючого гормону (ЛГ), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), пролактину (ПРЛ), тиреотропного гормону (ТТГ), естрадіолу ( $E_2$ ), прогестерону (П), вільного тестостерону ( $T_B$ ),  $\beta$ -хоріонічного гонадотропіну людини ( $\beta$ -ХГЛ), сироваткових онкомаркерів СА-125 і HE-4 за допомогою стандартних наборів Roche Diagnostics (Швейцарія) на аналізаторі Cobas 6000 (e 601 модуль). Рівень мелатоніну в сироватці крові та фолікулярній рідині визначали, використовуючи набори Melatonin ELISA, виробництва IBL, Німеччина. Основа дослідження – імуноферментна взаємодія. Для дослідження використовувався автоматичний імуноферментний аналізатор-термошейкер StatFax 2000. Матеріалом для дослідження були венозна кров і фолікулярна рідина.

Спектральний аналіз використовували для оцінки запліднювальної здатності сперми на сперманалізаторі АФС-500-2 (БІОЛА, СНГ). Параметри сперми оцінювали відповідно рекомендаціям ВООЗ (2010).

Ультразвукове дослідження (УЗД) органів малого тазу проводили із застосуванням трансвагінальної методики. Ультразвуковий моніторинг зростання фолікулів вперше здійснювали на п'яту добу контрольованої оваріальної стимуляції, потім – залежно від індивідуальних особливостей зростання фолікулів. Трансвагінальну пункцію фолікулів під контролем УЗД проводили через 35-36 год після введення тригера овуляції. При УЗД в день перенесення ембріонів оцінювали товщину (М-ехо) і структуру ендометрія.

Запліднення статевих клітин здійснювали із застосуванням техніки ICSI.

Визначали зрілість ооцитів: ооцити на стадії метафази II вважали зрілими (МII), метафази I – незрілими (MI). Через 18-20 год. після запліднення, оцінювали ефективність запліднення за наявністю двупронуклеарних зигот.

Частоту запліднення обчислювали, як відношення зигот з двома пронуклеусами до загальної кількості зигот. На стадії дроблення якість ембріонів оцінювали за наявністю фрагментації цитоплазми і кількості і симетричності бластомерів.

Ембріони, придатні для ембріотрансферу, вітрифікували. Перенесення двох або одного (при відсутності іншого) вітрифікованих/відігрітих ембріонів проводили у сегментованому циклі. Діагностику вагітності проводили біохімічним методом на 14-й день після перенесення ембріонів в порожнину матки. При позитивному аналізі крові на  $\beta$ -ХГЛ, на 21-й день після ембріотрансферу проводили ультразвукову діагностику наявності та стану плідного яйця в порожнині матки. Клінічна вагітність, яка продовжується, визначалася як вагітність, яка успішно тривала протягом 12 тижнів гестаційного віку. Підтримку лютеїнової фази здійснювали мікронізованим прогестероном. Після отримання позитивного результату тесту на вагітність продовжували прийом мікронізованого прогестерону до 12-го тижня гестації. При невдалому результаті першого переносу здійснювали трансфер вітрифікованих/відігрітих ембріонів, які залишилися.

При оцінці результатів розраховували кумулятивну частоту настання вагітності. Ембріологічні показники та частоту настання вагітності в жінок із безпліддям в програмах ДРТ аналізували в пацієток двох груп:

- з групи 2 частина пацієток була виділена в групу «А», яким проводилась контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда в яйцеклітину, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером, та вони приймали впродовж місяця до пункції препарат мелатоніну;

- з групи 3 частина пацієток була виділена в групу «Б», які отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїду в яйцеклітину, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером), але вони не приймали мелатонін.

Розподіл на групи «А» та «Б» обумовлений необхідністю аналізу вищезазначених показників саме в пацієток з безпліддям в програмах ДРТ з використанням або без використання мелатоніну. Відповідно, пацієнтки контрольної групи, тобто здорові жінки-донори ооцитів не враховувались. До групи «А» було відібрано 29 жінок, а до групи «Б» – 38.

Далі провели оцінку запропонованого нами алгоритму підготовки пацієток до контрольованої оваріальної стимуляції та пункції фолікулів. Оцінювали кількість фолікулів, які підлягали пункції, кількість та якість ооцитів, ефективність запліднення, розвиток ембріонів, здатність до заморожування/відтаювання, частоту настання вагітності та її розвиток.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету прикладних програм «Microsoft Excel 2010» (Microsoft Corporation, USA). Методи описової статистики для кількісних ознак включали оцінку середнього арифметичного ( $M$ ), похибки стандартного відхилення ( $\pm m$ ).

**Наукова новизна одержаних результатів.** У роботі наведено теоретичне узагальнення та нове рішення актуального завдання акушерства та гінекології, зокрема репродуктивної медицини, – підвищення ефективності відновлення репродуктивної функції в жінок із безпліддям при використанні ДРТ на основі вдосконаленої нами методики підготовки пацієток із безпліддям, із використанням препарату мелатоніну до пункції фолікулів та забору яйцеклітин.

Встановлено значимість визначення рівню мелатоніну в крові в жінок із безпліддям при підготовці до контрольованої оваріальної стимуляції в програмах ДРТ. Визначена складова гормонального профілю крові, даних овуляторного резерву, рівня мелатоніну в фолікулярній рідині, показників кількості та якості ооцитів, відповідно, ембріонів. Доведено, що включення мелатоніну в комплекс медикаментозної підготовки в програмах ДРТ сприяло підвищенню якості ооцитів та ембріонів і, відповідно, підвищенню ефективності лікування безпліддя з використанням ДРТ. Одержано нові дані щодо вмісту мелатоніну в сироватці крові та в фолікулярній рідині в пацієток із безпліддям при використанні ДРТ. Отримані дані дозволили науково обґрунтувати необхідність

вдосконалення алгоритму підготовки жінок із безпліддям до проведення контрольованої оваріальної стимуляції, пункції фолікулів та проведення запліднення.

**Практичне значення одержаних результатів.** Для практичної роботи акушерів-гінекологів та репродуктологів у якості алгоритму підготовки безплідних жінок до початку та під час проведення контрольованої оваріальної стимуляції, пункції фолікулів та забору яйцеклітин запропонований алгоритм, який включає призначення курсу препарату мелатоніну.

Результати дослідження впроваджені в клінічну практику КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя» (м. Чернівці), про що свідчать акти впровадження. Основні наукові і теоретичні положення дисертаційного дослідження використовуються в навчальному процесі на кафедрі акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету при підготовці студентів, лікарів-інтернів і лікарів-курсантів.

У дисертації узагальнено та по-новому вирішено науково-практичне завдання, що полягає у підвищенні ефективності лікування безпліддя шляхом оптимізації підготовки до контрольованої оваріальної стимуляції та пункції фолікулів із використанням препарату мелатоніну в протоколах допоміжних репродуктивних технологій.

Висновки проведеного дослідження:

1. Середній вік у обстежених нами пацієток із безпліддям склав 32 роки, а жінок контрольної групи – 27 років, що свідчить про пізнє звернення даних пацієток за кваліфікованою медичною допомогою, що, відповідно, негативно відобразилося на показниках ДРТ. Слід також врахувати, що частота первинного безпліддя перевищувала вторинне в 2,2 рази.

2. У обстежених нами жінок контрольної групи з відсутністю безпліддя, кількість антральних фолікулів в обох яєчниках була вірогідно в 1,3 рази вищою у порівнянні із пацієтками з безпліддям, а рівень АМГ практично не відрізнявся від вмісту даного гормону в сироватці крові в жінок із безпліддям. Тобто, оваріальний резерв у всіх обстежених нами жінок був у межах норми. Товщина



ендометрію у здорових жінок-донорів ооцитів склала, в середньому  $5,43 \pm 0,13$  мм, а в пацієток із безпліддям  $7,02 \pm 0,99$  мм, що не мало вірогідної різниці.

3. Ефективність ДРТ в пацієток із безпліддям склала  $60,6 \pm 8,25\%$  на трансфер та  $68,9 \pm 8,05\%$  у загальному, в той час як у контрольній групі вірогідно більше, відповідно,  $80,0 \pm 11,01\%$  та  $100,0\%$ .

4. Вміст мелатоніну в сироватці крові в жінок-донорів ооцитів та в жінок із безпліддям на час пункції фолікулів не різнився, в той час як у пацієток, які приймали мелатонін по запропонованій нами схемі, рівень мелатоніну був вірогідно вищим. Вміст мелатоніну в фолікулярній рідині в пацієток, які приймали мелатонін, був вірогідно меншим у порівнянні з жінками-донорами ооцитів та з пацієтками з безпліддям, які не приймали даний препарат.

5. Ембріологічні дані, які отримані нами після пункції та запліднення ооцитів у пацієток, що отримували мелатонін в процесі підготовки, засвідчили, що було більше якісних ембріонів.

6. Застосування препаратів мелатоніну в пацієток із безпліддям у схемі контрольованої оваріальної стимуляції показало свою ефективність, оскільки загальна частота настання вагітності склала  $86,2 \pm 6,41\%$ , що вірогідно більше у порівнянні із пацієтками, які не отримували препарат мелатоніну ( $76,3 \pm 6,95\%$ ).

**Ключові слова:** безпліддя, допоміжні репродуктивні технології, контрольована оваріальна стимуляція, мелатонін, яйцеклітини, ембріони, ефективність.

## ANNOTATION

*Yuzko V.O.* The peculiarities of assisted reproductive technologies in patients with infertility associated with the absence of ovulation. - Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the Doctor of Philosophy degree in the field of knowledge 22 Health Care, specialty 222 Medicine. – Higher Education Institution

"Bukovinian State Medical University" of the Ministry of Health of Ukraine, Chernivtsi, 2022.

The dissertation summarizes and deals with the scientific task in a new way, which is in increasing the effectiveness of infertility treatment in women using assisted reproductive technologies (ART) by applying a new approach to preparing and conducting controlled ovarian stimulation (COS) in fertilization cycles by intracytoplasmic sperm injection into the oocyte (ICSI) with the use of melatonin to improve the quality of the obtained oocytes and embryos.

According to Ukrainian and foreign scientists, the occurrence of infertility can be considered as direct reproductive losses. In Ukraine today, the frequency of female infertility is 60%, and male infertility is 40%. Traditional methods of diagnosis and treatment of infertility cannot always eliminate the problem [90]. The methods of assisted reproductive technologies, in particular in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection into the oocyte (ICSI), turned out to be more effective. Today, they have taken the main place in solving the problems of human reproduction. But even these technologies do not provide a full guarantee of overcoming infertility [104]. This is due to a number of factors that negatively influence their effectiveness, in particular, the age of the patient, the duration of the history of infertility and previously used treatment methods, ovulatory reserve, the correct selection of patients and the choice of the ovulation stimulation method and fertilization technology, the quality of oocytes and embryos, and many other components [101]. At the same time, assisted reproductive technologies are constantly improving [56].

The aim of this work was to increase the effectiveness of female infertility treatment using assisted reproductive technologies by optimizing preparation for controlled ovarian stimulation in cycles of intracytoplasmic sperm injection into the oocyte in order to improve the quality of the obtained oocytes and embryos.

Objectives of the study:

1. To evaluate the clinical picture in women with infertility who were treated with the use of assisted reproductive technologies and in women oocyte donors.

2. To find the peculiarities of the ovarian reserve and hormones of the reproductive panel in women with infertility who were treated with the use of assisted reproductive technologies and in women oocyte donors.

3. To carry out a retrospective analysis of assisted reproductive technologies effectiveness in women with infertility and in women oocyte donors.

4. To apply the preparation scheme using melatonin in the programs of assisted reproductive technologies and investigate the content of melatonin in blood serum and follicular fluid.

5. To analyze embryological parameters when using melatonin in the scheme of preparation for controlled ovarian stimulation

6. To evaluate the clinical results of using the proposed preparation scheme for ART in women with infertility

*The object of the study:* reproductive function in women with infertility who are treated using ART.

The design of our study is prospective, open, controlled in patients with infertility, which was performed in four steps. In the first step, patients were selected and divided into groups. 89 women were selected for the study, 76 of which were patients with infertility. Before initiating the ART protocol, all patients were divided into 3 groups:

– group 1 included 13 women who served as oocyte donors in follicle stimulation and puncture programs (control);

– group 2 (main group) included 33 women with a standard treatment scheme (controlled ovarian stimulation, oocyte collection, intracytoplasmic sperm injection into the oocyte, embryo freezing and thawing before embryo transfer) and melatonin medication for a month prior to the puncture;

– group 3 (comparison group) included 43 patients who received treatment according to the standard scheme (controlled ovarian stimulation, oocyte collection, intracytoplasmic sperm injection into the oocyte, embryo freezing and thawing before embryo transfer).

The distribution of infertility patients into groups was performed randomly: by

even or odd number of visits to the office for pre-gravid consultation, so odd numbered visits fell into the comparison group, and even numbered visits –into the main group.

The criteria for inclusion into the study: infertility, regardless of the form, and the presence of the woman's informed consent for inclusion in the study

The criteria for exclusion from the study: patients with cardiovascular diseases, diabetes, diseases of liver, thyroid gland, lungs, malignant neoplasms in the anamnesis, with alcohol and nicotine addiction, cognitive disorders, as well as with diseases of other organs and systems that could affect the result of the study, in particular, HIV infection, tuberculosis, syphilis, viral hepatitis B and C, acute infectious process during the study, etc. There were no women who worked at night among the patients.

In the second step of the study, an analysis of clinical and anamnestic characteristics, laboratory and instrumental studies, embryological indicators and the incidence of pregnancy in the three study groups was carried out. According to the indications, consultations of specialists of other specialties were given and additional instrumental methods of research were carried out.

In the third step, we developed and tested the methodology of using melatonin in patients with infertility.

The fourth step was the final one, in which we evaluated the embryological indicators and the effectiveness of pregnancy incidence in two groups of the study in patients with infertility, as well as the implementation of the research results in clinical practice.

Immunochemical methods were used to determine the levels of anti-Müllerian hormone (AMH), luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), prolactin (PRL), thyroid-stimulating hormone (TSH), estradiol (E<sub>2</sub>), progesterone (P), free testosterone (T<sub>f</sub>),  $\beta$ -chorionic human gonadotropin ( $\beta$ -hCG), serum tumor markers CA-125 and HE-4 in peripheral blood serum on the 2nd-3rd day of the menstrual cycle, using standard kits from Roche Diagnostics (Switzerland) on the Cobas 6000 analyzer (e 601 module). The level of melatonin in blood serum and follicular fluid was determined using Melatonin ELISA kits, manufactured by IBL, Germany. The basis of the research is immunoenzymatic interaction. An automatic enzyme-linked

immunosorbent analyzer StatFax 2000 thermoshaker was used for the investigation. Venous blood and follicular fluid were taken as the material for the study was.

Spectral analysis was used to assess the fertilizing ability of sperm on the AFS-500-2 sperm analyzer (BIOLA, CIS). Sperm parameters were evaluated according to WHO recommendations (2010).

Ultrasound examination of the pelvic organs was performed using the transvaginal technique. Ultrasound monitoring of follicle growth was first performed on the fifth day of controlled ovarian stimulation, then depending on the individual characteristics of follicle growth. Transvaginal puncture of follicles under ultrasound control was performed 35-36 hours after the introduction of the ovulation trigger. During ultrasound on the day of embryo transfer, the thickness (M-echo) and structure of the endometrium were evaluated.

Fertilization of germ cells was carried out using the ICSI technique.

The maturity of oocytes was determined: oocytes at the stage of metaphase II were considered mature (MII), metaphase I - immature (MI). 18-20 hours after fertilization, the efficiency of fertilization was evaluated by the presence of bipronuclear zygotes. Fertilization incidence was calculated as the ratio of zygotes with two pronuclei to the total number of zygotes. At the crushing stage the quality of embryos was assessed by the presence of cytoplasmic fragmentation as well as the number and symmetry of blastomeres.

Embryos suitable for embryo transfer were vitrified. Transfer of two or one (in the absence of another) vitrified/warmed embryos was carried out in a segmented cycle. The diagnostics of pregnancy was carried out by a biochemical method on the 14th day after the transfer of embryos into the uterine cavity. With a positive blood test for  $\beta$ -hCG, on the 21st day after the embryo transfer, an ultrasound diagnosis of the presence and state of the fertilized egg in the uterine cavity was performed. An ongoing clinical pregnancy was defined as a pregnancy that successfully continued through 12 weeks of gestational age. The support of the luteal phase was carried out with micronized progesterone. After receiving a positive pregnancy test result, micronized

progesterone was continued until the 12th week of gestation. If the first transfer failed, the remaining vitrified/warmed embryos were transferred.

When evaluating the results, the cumulative incidence of pregnancy was calculated. Embryological indicators and incidence of pregnancy in women with infertility in ART programs were analyzed in patients of two groups:

- from group 2, part of the patients were allocated to group "A", who underwent controlled ovarian stimulation, oocyte collection, intracytoplasmic injection of sperm into the oocyte, embryo freezing and thawing before embryo transfer, and they took melatonin for a month before the puncture;

- from group 3, part of the patients were allocated to group "B", who received treatment according to the standard scheme (controlled ovarian stimulation, oocyte collection, intracytoplasmic injection of sperm into the oocyte, embryo freezing and thawing before embryo transfer), but they did not take melatonin.

The division into groups "A" and "B" was due to the need to analyze the above indicators in patients with infertility in ART programs with or without the use of melatonin. Accordingly, patients of the control group, i.e. healthy female oocyte donors, were not taken into account. 29 women were selected for group "A" and 38 for group "B".

As a next step we evaluated our proposed algorithm for preparing patients for controlled ovarian stimulation and follicle puncture. The number of follicles to be punctured, the number and quality of oocytes, the efficiency of fertilization, the development of embryos, the ability to freeze/thaw, the incidence of pregnancy and its development were evaluated.

The statistical data processing was carried out using the "Microsoft Excel 2010" application program package (Microsoft Corporation, USA). Descriptive statistics methods for quantitative traits included the estimation of the arithmetic mean ( $M$ ), the error of standard deviation ( $\pm m$ ).

**The scientific novelty of the obtained results.** The work presents a theoretical generalization and a new solution to the current task of obstetrics and gynecology, in particular, reproductive medicine - increasing the effectiveness of reproductive

function restoring in women with infertility when using ART based on our improved method of preparing patients with infertility, using the preparation melatonin prior to puncture of follicles and sampling oocytes.

The significance of determining the level of melatonin in blood of women with infertility during preparation for controlled ovarian stimulation in ART programs has been established. The component of the hormonal profile of blood, the data of the ovulatory reserve, the level of melatonin in follicular fluid, the indicators of number and quality of oocytes, respectively, of embryos, were determined. It has been proven that the inclusion of melatonin in the complex of drug preparation in ART programs contributed to the improvement of the quality of oocytes and embryos and, accordingly, to the improvement of the effectiveness of infertility treatment using ART. New data were obtained on the content of melatonin in blood serum and in follicular fluid in patients with infertility when using ART. The obtained data made it possible to scientifically justify the need to improve the algorithm for preparing women with infertility for controlled ovarian stimulation, follicle puncture and fertilization.

**Practical significance of the obtained results.** For the practical work of obstetricians-gynecologists and reproductive specialists as an algorithm for the preparation of infertile women before and during controlled ovarian stimulation, follicle puncture and oocyte collection, an algorithm is proposed, which includes the administration of a course of melatonin.

The results of the study are implemented in the clinical practice of the Medical Center of Infertility Treatment (Chernivtsi), as evidenced by the acts of implementation. The main scientific and theoretical points of the dissertation research are used in the educational process at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Bukovinian State Medical University in the training of students, interns and trainee doctors.

The dissertation summarizes and solves the scientific and practical task in a new way, which consists in increasing the effectiveness of infertility treatment by optimizing preparation for controlled ovarian stimulation and follicle puncture using melatonin in the protocols of assisted reproductive technologies.

### Conclusions of the conducted research:

1. The average age of the patients with infertility examined by us was 32 years, and in the control group - 27 years old, which indicates that these patients called for qualified medical care late, which, accordingly, had a negative effect on the ART indicators. It should also be taken into account that the occurrence of primary infertility exceeded secondary infertility by 2.2 times.

2. In the women of the control group with the absence of infertility examined by us, the number of antral follicles in both ovaries was probably 1.3 times higher compared to patients with infertility, and the level of AMH practically did not differ from the content of this hormone in blood serum of women with infertility. That is, the ovarian reserve in all the women examined by us was within the normal range. The thickness of endometrium in healthy women oocyte donors healthy women women oocyte donors was, on average,  $5.43 \pm 0.13$  mm, and in patients with infertility  $7.02 \pm 0.99$  mm, which did not make a significant difference.

3. The effectiveness of ART in patients with infertility was  $60.6 \pm 8.25\%$  per transfer and  $68.9 \pm 8.05\%$  in general, while in the control group it was probably more, respectively,  $80.0 \pm 11.01\%$  and  $100.0\%$ .

4. The content of melatonin in blood serum of oocyte donor women and women with infertility at the time of follicular puncture did not differ, while the melatonin level was probably higher in patients who took melatonin according to our proposed scheme. The content of melatonin in the follicular fluid in patients who took melatonin was probably lower compared to female oocyte donors and to patients with infertility who did not take this drug.

5. Embryological data obtained by us after puncture and fertilization of oocytes in patients who received melatonin in the preparation process proved that there were more high-quality embryos.

6. The use of melatonin preparations in patients with infertility in the scheme of controlled ovarian stimulation showed its effectiveness, since the total incidence of pregnancy was  $86.2 \pm 6.41\%$ , which is probably more compared to patients who did not receive melatonin preparation ( $76.3 \pm 6.95\%$ ).



**Key words:** infertility, assisted reproductive technologies, controlled ovarian stimulation, melatonin, oocytes, embryos, efficiency.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

*Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:*

1. Юзько ВО. Рівень мелатоніну в крові та фолікулярній рідині в жінок із безпліддям у програмах допоміжних репродуктивних технологій та ефективність його застосування. Буковинський медичний вісник. 2021;25(2):117-22. doi: [10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19).

2. Юзько ВО, Юзько ОМ. Порівняльна характеристика пацієток із безпліддям при застосуванні мелатоніну в комплексній підготовці до програм допоміжних репродуктивних технологій. Буковинський медичний вісник. 2021;25(3):149-56. doi: [10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.23](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.23) *(Здобувач проводила дослідження, літературний пошук, набір та оброблення матеріалів, узагальнення й підготовка до друку, співавтор професор Юзько О.М. надав консультативну допомогу та здійснив редакційні правки висновків).*

3. Юзько ВО, Юзько ОМ. Результати запліднення in vitro в пацієток із безпліддям при використанні мелатоніну. Клінічна та експериментальна патологія. 2022;21(2):34-8. doi: [10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.06](https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.06) *(Здобувач проводила дослідження, літературний пошук, набір та оброблення матеріалів, узагальнення й підготовка до друку, співавтор професор Юзько О.М. надав консультативну допомогу щодо дизайну публікації та здійснив редакційні правки).*

4. Yuzko VO, Yuzko OM, Yuzko TA, Pryimak SH, Voloshynovych NS, Chobaniuk SI. Comparative characteristics of patients with infertility when applying melatonin in complex preparation for assisted reproductive technologies. Journal of Medicine and Life. 2022;15(8):1013-7. doi: [10.25122/jml-2022-0154](https://doi.org/10.25122/jml-2022-0154) *(Здобувачем самостійно сформульовано гіпотезу та ідею дослідження, поставлено мету та завдання, зібрано матеріал, здійснено аналіз матеріалу, статистичні обрахунки та оформлено роботу до друку, співавтор професор Юзько ОМ. надав*

консультативну допомогу щодо методичних основ дослідження, співавтор Юзько Т.А. проводила відбір даних для статистичного опрацювання, співавтор Приймак С.Г. надала допомогу щодо дизайну публікації та її структури, співавтор Волошинович Н.С. надала допомогу в проведенні літературного пошуку, співавтор Чобанюк С.І. здійснила редакційні правки).

5. Юзько ВО, Юзько ОМ, Юзько ТА, Чемьоркіна ІВ, Андрієць ОА. Ембріологічні показники та частота настання вагітності у жінок із безпліддям в програмах допоміжних репродуктивних технологій при застосуванні мелатоніну. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 2022; XII, 3(45):16-21. doi: 10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.2 (Здобувачем проведено дослідження, літературний пошук, узагальнення результатів дослідження й підготовка до друку, співавтор Юзько О.М. надав консультативну допомогу щодо дизайну публікації та її структури, співавтор Юзько Т.А. надала допомогу щодо графічного представлення результатів дослідження, співавтор Чемьоркіна надала допомогу щодо набору та оброблення матеріалів, співавтор професор Андрієць О.А. здійснила редакційні правки висновків).

*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

6. Юзько ОМ, Юзько ВО. Тонкий ендометрій – складності проблеми і підходи до лікування. Жіночий лікар. 2022; 4(102):6-12. <https://zhinochylikar.com/article/35/tonkij-endometrij-skladnosti-problemi-i-pidhodi-v-likuvanni/> (Здобувачем проведено літературний пошук, здійснено аналіз матеріалу, узагальнення результатів дослідження й підготовка до друку, співавтор Юзько О.М. здійснив редакційні правки висновків).

7. Yuzko VO. Study of melatonin in blood and follicular liquid in women with infertility in assisted reproductive technology programs. Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference I International scientific theoretical conference Formation of innovative potential of world science; 2021 May 7; Tel Aviv, State of Israel. SCIENTIA. 2021;2:94-6. doi: 10.36074/scientia-07.05.2021.

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

8. Юзько ВО. Оцінка оваріального резерву. В: Матеріали 101-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2020 Лют 10, 12, 17; Чернівці. Чернівці; 2020, с. 245. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-101/paper/view/21345>.

9. Юзько ВО. Синдром пустого фолікула. Клінічний випадок. В: Матеріали 102-ї підсумкової науково-практичної конференції з міжнародною участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2021 Лют 08, 10, 15; Чернівці. Чернівці; 2021, с. 241-2. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-102/paper/view/23420/12653>.

10. Yuzko VO. Comparative characteristics of patients with infertility when applying melatonin in complex preparation for assisted reproductive programs. В: Матеріали 103-ї підсумкової науково-практичної конференції з міжнародною участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2022 Лют 07, 09, 14; Чернівці. Чернівці; 2022, с. 238. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-103/paper/view/25749/14410>.

## ЗМІСТ

|  | стор. |
|--|-------|
| СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....  | 22    |
| ВСТУП.....   | 23    |
| Розділ 1 СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ<br>БЕЗПЛІДДЯ В ЖІНОК (огляд літератури).....            | 32    |
| 1.1 Безпліддя як медична та соціальна проблема.....  | 32    |
| 1.1.1 Соціальні аспекти безпліддя.....   | 32    |
| 1.1.2 Безпліддя як медична проблема.....   | 34    |
| 1.2 Основні принципи ефективного лікування безпліддя.....  | 36    |
| 1.2.1 Сучасні підходи до діагностики та лікування безпліддя.....   | 36    |
| 1.2.2 Допоміжні репродуктивні технології як сучасні методи лікування<br>безпліддя.....                       | 43    |
| 1.3 Застосування мелатоніну в програмах допоміжних репродуктивних<br>технологій при лікуванні безпліддя..... | 44    |
| 1.3.1 Обґрунтування застосування мелатоніну в медицині .....   | 49    |
| 1.3.2 Використання мелатоніну в програмах ДРТ.....   | 52    |
| Розділ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....  | 53    |
| 2.1 Методологічний підхід, дизайн та об'єм дослідження .....   | 53    |
| 2.2 Методи обстеження пацієнок із безпліддям .....   | 57    |
| 2.3 Методи визначення мелатоніну в сироватці крові та фолікулярній<br>рідині.....                            | 58    |
| 2.4 Ультразвуковий метод дослідження.....  | 59    |
| 2.5 Методика визначення статевих гормонів.....   | 60    |
| 2.6 Аналіз фолікулярної рідини яєчників .....  | 60    |
| 2.7 Методика ДРТ у пацієнок із безпліддям та оцінка запліднення .....  | 62    |
| 2.8 Оцінка розвитку ембріонів in vitro.....  | 63    |
| 2.9 Розморожування та трансфер ембріонів в порожнину матки .....   | 63    |
| 2.10 Статистичний аналіз результатів.....  | 64    |

|   |     |
|---|-----|
| Розділ 3 РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ АМБУЛАТОРНИХ МЕДИЧНИХ<br>КАРТ ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ, ЯКИМ ЗДІЙСНЮВАЛИ КОНТРОЛЬОВАНУ<br>ОВАРІАЛЬНУ СТИМУЛЯЦІЮ, ПУНКЦІЮ ФОЛІКУЛІВ ТА<br>ЗАМОРОЖУВАННЯ ЕМБРІОНІВ ..... | 65  |
| 3.1 Характеристика загальноклінічних даних жінок-донорів ооцитів та<br>пацієнток із безпліддям .....  | 65  |
| 3.2 Гормональний статус у обстежених жінок-донорів ооцитів та пацієнток<br>із безпліддям .....  | 69  |
| Розділ 4 РІВЕНЬ МЕЛАТОНІНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА<br>ФОЛІКУЛЯРНІЙ РІДИНІ В ОБСТЕЖЕНИХ ЖІНОК.....  | 74  |
| Розділ 5 ЕМБРІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА ЧАСТОТА НАСТАННЯ<br>ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ В ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ<br>РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ<br>МЕЛАТОНІНУ.....                  | 76  |
| 5.1 Розподіл пацієнток із безпліддям для проведення дослідження .....   | 76  |
| 5.2 Якість ооцитів та бластоцист у програмах запліднення в жінок із<br>безпліддям при використанні мелатоніну .....   | 77  |
| 5.3 Частота настання вагітності в пацієнток із безпліддям і програмах<br>запліднення в двох порівнювальних групах .....   | 78  |
| АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....  | 82  |
| ВИСНОВКИ.....   | 105 |
| ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....   | 107 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....   | 108 |
| ДОДАТОК А.....  | 147 |
| ДОДАТОК Б.....  | 149 |

## СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

а-ГнРГ – агоніст гонадотропін-релізинг-гормону

АМГ – антимюлерів гормон

ант-ГнРГ – антагоніст гонадотропін-релізинг-гормону

АФК – активні форми кисню

ГнРГ – гонадотропін-релізинг-гормон

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ДРТ – допоміжні репродуктивні технології

ЕТ – ембріотрансфер

ЗІВ – запліднення ін вітро

ICSI – intracytoplasmic sperm injection (внутрішньоцитоплазматичне введення сперматозоїда)

IVF – in vitro fertilisation (запліднення ін вітро)

КОС – контрольована оваріальна стимуляція

ЛГ – лютеїнізуючий гормон (лютропін)

ЛМГ – людський менопаузальний гонадотропін

МО – міжнародна одиниця активності

ОК – окислювальний стрес

ROS – reactive oxygen species (реактивні види кисню)

СГЯ – синдром гіперстимуляції яєчників

СПКЯ – синдром полікістозних яєчників

ФСГ – фолікулостимулювальний гормон (фолітропін)

ХГ – хоріонічний гонадотропін

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** У сучасному світі безпліддя залишається складною проблемою сучасної медицини, а частота його в шлюбі складає понад 10%. Традиційні методи діагностики та лікування безпліддя не завжди можуть ліквідувати проблему [90]. Більш ефективними виявились допоміжні репродуктивні технології (ДРТ). Сьогодні дані технології лікування безпліддя зайняли основне місце в репродукції людини. Але й вони не дають повної гарантії подолання безпліддя [104]. Це пов'язано з цілим рядом факторів, які негативно впливають на їх ефективність, зокрема, вік пацієнтки, тривалість анамнезу безпліддя та застосованих раніше методів лікування, овуляторного резерву, правильності відбору пацієток та вибору методу запліднення, якості яйцеклітин та ембріонів, багатьох інших складових [101]. В той же час, допоміжні репродуктивні технології постійно удосконалюються [56].

Зокрема, Захаренко І.Л., Сейлова А.І., Гріценко Г.С., 2016 [43], як і ряд інших дослідників стверджують, що саме овуляторний резерв яєчників відіграє вирішальну роль у ефективності програм запліднення, оскільки від нього залежить кількість отриманих яйцеклітин та їх якість, тобто життєздатність. А це, у свою чергу, напряду впливає на якість ембріонів, здатність до імплантації та розвиток вагітності [202].

Вважають, що надійними маркерами овуляторного резерву залишаються кількість антральних фолікулів (КАФ) [264], рівень антимюллерового гормону (АМГ) [83] та фолітропіну (фолікулостимулюючого гормону, ФСГ) [125] в крові. Останнім часом увагу провідних репродуктологів світу все більше привертає мелатонін, як можливий маркер покращення овуляторного резерву та ефективності запліднення в цілому. Відомо, що рівень мелатоніну у фолікулярній рідині перебуває у постійній кореляції з віком жінки, концентрацією АМГ та ФСГ в крові [11]. Варто враховувати, що АМГ не пов'язаний з якістю ембріонів, оскільки його передбачувальна здатність занадто обмежена, щоб мати клінічне значення [275]. Підвищений рівень ФСГ в крові

відображає кількісний, а не якісний характер яєчникового резерву [138]. Тобто, рівень мелатоніну в сироватці крові може виступати як можливий прогностичний маркер овуляторного резерву, а вміст його в фолікулярній рідині може корелювати з ефективністю запліднення ін вітро (ЗІВ). На жаль, точних маркерів, які б вірогідно могли б передбачити кількість та якість яйцеклітин немає [135].

Овуляторний резерв яєчників напряму залежить від віку жінки [28]. З віком він зменшується, як мінімум, в результаті двох процесів: ушкодження яйцеклітин в результаті накопичення активних форм кисню (АФК, реактивних видів кисню (Reactive oxygen species, ROS) в клітинах [95] і порушення антиоксидантного механізму захисту. Слід також врахувати, що не тільки процес старіння, а й стандартні процедури контрольованої оваріальної стимуляції (суперовуляція), заморожування - розморожування (кріоконсервація) ооцитів та ембріонів може також призводити до накопичення ROS [19]. Відомо, що надлишок ROS у фолікулярній рідині погіршує якість ооцитів [219]. Це відбувається внаслідок індукції апоптозу клітин ооцитів і гранульози [57]. В протидію шкідливим ефектам ROS, останні можуть інгібуватися системами внутрішньоклітинної антиоксидантної дії, такими як глутатіон (GSH) та аскорбінова кислота [207], а також баланс між виробництвом ROS та їхнім блокуванням.

Мікросередовище фолікулярної рідини має вирішальне значення для розвитку яйцеклітин [166]. Ооцити захищені і живляться фолікулярною рідиною *in vivo*. Надлишок ROS у фолікулярній рідині викликає старіння, отже, це життєво важливо, щоб отримати баланс між виробництвом ROS та їх детоксикацією. Стає зрозумілим, що детоксикація є важливою для якості яйцеклітин. Всі роки продовжувався пошук детоксикантів. Нещодавно, увагу вчених привернув «Мелатонін» (N-ацетил-5-метокситриптамін), відомий як потужний природній блокатор вільних радикалів та антиоксидант широкого спектру дії [121]. Мелатонін є поширеною природньою сполукою і функціонально різноманітною молекулою, здатною моделювати фізіологію та молекулярну біологію клітин за допомогою різних механізмів [55]. У людини



мелатонін є основним секреторним продуктом шишкоподібної залози, що бере участь у багатьох фізіологічних процесах [286]. Проведені дослідження впливу мелатоніну на репродуктивну діяльність ссавців [284]. Дослідження попередніх років показали, що мелатонін може впливати на репродуктивну активність мозку та гіпофізу шляхом активації рецепторів ділянки в межах гіпоталамо-гіпофізо-гонадної осі [148]. Водночас, є дані, що мелатонін немає прямого впливу на нейрони GnRH [13].

Стосовно яйцеклітин, то вони добре захищені і живляться оточуючою фолікулярною рідиною, яка розглядається як біологічне "вікно", що відображає метаболічний та гормональний процеси ооцитів і клітин гранульози [202]. Доведено, що концентрація мелатоніну в фолікулярній рідині людини майже втричі вище, ніж у сироватці крові [72,170]. Ці концентрації, ймовірно, підтримуються не тільки шляхом активного захоплення мелатоніну яєчниками [264] із крові, але також шляхом їх синтезу самими яєчниками [177]. Мелатонін, синтезований клітинами яєчників, наприклад, ооцитами щурів [239] та великої рогатої худоби [185], а також гранульозними клітинами людини [207], дифундує у фолікулярні рідини. Показано, що мелатонін має антиоксидантну здатність як прямий поглинач вільних радикалів і діє шляхом регулювання гену транскрипції антиоксидативних ферментів [18]. Тобто, мелатонін у фолікулярній рідині може захищати ооцити від окисного стресу [62] і виступати прямим модулятором якості яйцеклітин [72].

Як антиоксидант широкого спектру дії та потужний блокатор вільних радикалів, мелатонін може діяти проти надлишку ROS всередині клітини, викликаючи каскадну реакцію [158] та моделювання транскрипції генів антиоксидантів [68]. Клітини гранульози відіграють вирішальну роль у фолікулярному стероїдогенезі і беруть участь у створенні важливого мікросередовища для яйцеклітини. Дані дослідників свідчили про те, що мелатонін діяв як антиоксидант для захисту цілісності гранульози клітин і впливав на вироблення прогестерону та естрадіолу у свинок [273]. Вважається, що мелатонін як основний антиоксидант у фолікулярних рідинах може захищати

ооцити від окислення вільно-радикальними формами кисню через гасіння ROS і позитивно впливати на якість ооцитів [286].

Сьогодні, достатньо багато уваги приділяється вивченню впливу додавання мелатоніну до культурального середовища в експериментах на тваринах для захисту ооцитів *in vitro* [5] та на розвиток ембріону [259].

Дослідники показали добру кореляцію між рівнем мелатоніну в фолікулярній рідині та рівнем АМГ. Цей фактор синтезується виключно гранульозними клітинами вторинних, преантральних та малих антральних фолікулів [268]. Тобто, це ті самі клітини, де виробляється мелатонін в яєчнику. Кількість мелатоніну, який виробляється людською шишкоподібною залозою зменшується з настанням віку [14, 15]. Хоча механізм зниження рівня мелатоніну зі старінням до кінця не зрозумілий, все ж це пояснюють таким чином:

- 1) вторинні зміни в шишкоподібній залозі (наприклад, відкладення вапна);
- 2) зниження кількості  $\beta$ -адренорецепторів в мембрані піналоцитів, або недостатня реакція на норадреналін;
- 3) зниження рівня N-ацетилтрансферази в шишкоподібній залозі з віком;
- 4) вікові зміни в концентрації мелатонінових  $\alpha 1$ -рецепторів в гіпоталамусі;
- 5) підвищений кліренс мелатоніну [72].

Така ж тенденція була виявлена і в концентрації мелатоніну у фолікулярній рідині та при дослідженні сироваткового мелатоніну [177].

Рівень мелатоніну тісно пов'язаний з результатами IVF. Так, у пацієнтів з більш високим рівнем мелатоніну отримували більше яйцеклітин, збільшувалась кількість запліднених яйцеклітин, зиготи були вищої якості на D3, отримані ембріони на стадії бластоцисти більш придатні до імплантації [88]. Швидкість утворення бластоцисти – це показник компетентності розвитку яйцеклітин і їх якості. Тому рівень мелатоніну в фолікулярній рідині слід розцінювати важливим біохімічним маркером, який може слугувати для прогнозування яєчникового резерву та корелювати із якістю та кількістю ооцитів, а також результатами IVF. На відміну від інших маркерів яєчникового резерву, мелатонін - це стабільна сполука, що продукується ендогенно [239].

Повідомлялось, що не було виявлено побічних ефектів, коли 300 мг або один грам мелатоніну вводили добровольцям (людям) щодня, впродовж 30 днів [157, 294]. Але, не зважаючи на досягнення у вивченні ролі мелатоніну в репродуктивній медицині, цілий ряд питань залишається відкритим.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є частиною науково-дослідницької роботи кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету «Збереження та відновлення репродуктивного здоров'я жінок та дівчат при акушерській та гінекологічній патології» (№ державної реєстрації 0121U110020). Здобувач була співвиконавцем зазначеної теми.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність лікування безпліддя в жінок із використанням допоміжних репродуктивних технологій шляхом оптимізації підготовки до контрольованої оваріальної стимуляції в циклах інтраплазматичного введення сперматозоїда в яйцеклітину для покращення якості отриманих ооцитів та ембріонів.

**Завдання дослідження:**

1. Оцінити клінічну картину в жінок із безпліддям, які лікувались з використанням допоміжних репродуктивних технологій, та в жінок-донорів ооцитів.

2. Виявити особливості оваріального резерву та гормонів репродуктивної панелі в жінок із безпліддям, які лікувались з використанням допоміжних репродуктивних технологій та в жінок-донорів ооцитів.

3. Провести ретроспективний аналіз ефективності допоміжних репродуктивних технологій у жінок із безпліддям та у жінок-донорів ооцитів.

4. Застосувати схему підготовки з використанням мелатоніну в програмах допоміжних репродуктивних технологій та дослідити вміст мелатоніну в сироватці крові та фолікулярній рідині.

5. Проаналізувати ембріологічні показники при використанні в схемі підготовки до контрольованої стимуляції овуляції препарату мелатоніну.

6. Оцінити клінічні результати використання запропонованої схеми підготовки до ДРТ у жінок із безпліддям.

*Об'єкт дослідження:* репродуктивна функція в жінок із безпліддям, які лікуються з використанням ДРТ.

Дизайн проведеного нами дослідження – проспективне, відкрите, контрольоване в пацієнток із безпліддям, яке виконувалось у чотири кроки.

*Предмет дослідження:* клініко-анамнестичні дані; гормональний профіль; ехометричні дані органів малого тазу; біохімічні та ультразвукові показники оваріального резерву; рівень мелатоніну в фолікулярній рідині та в сироватці крові; ембріологічні та клінічні результати в жінок із безпліддям, які лікуються з використанням ДРТ.

**Методи дослідження:** клініко-анамнестичні – для вивчення скарг, гінекологічного, репродуктивного, соматичного та інфекційного анамнезу; ультразвукові – для біометричної оцінки ехоструктури і взаємовідносин органів малого тазу, підрахунку кількості антральних фолікулів, оцінки росту фолікулів і наявності вагітності, для проведення аспірації фолікулярної рідини; імунохемілюмінесцентні – для визначення гормонів та мелатоніну сироватки крові в фолікулярній рідині; мікроскопічні - аналізу для оцінки якості сперми; ембріологічні – для оцінки аспірованої фолікулярної рідини яєчників на предмет наявності ооцит-кумулюсних комплексів, запліднення ооцитів, стадії розвитку і якості ембріонів; цейтраферної мікроскопії (методика time-lapse) – для автоматичної динамічної оцінки розвитку ембріонів; статистичні – для аналізу результатів дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У роботі наведено теоретичне узагальнення та нове рішення актуального завдання акушерства та гінекології, зокрема репродуктивної медицини, – підвищення ефективності відновлення репродуктивної функції в жінок із безпліддям при використанні ДРТ на основі вдосконаленої нами методики підготовки пацієнток із безпліддям до пункції фолікулів та забору яйцеклітин.

Встановлено значимість визначення рівню мелатоніну в крові в жінок із безпліддям при підготовці до контрольованої оваріальної стимуляції в програмах ДРТ. Визначена складова гормонального профілю крові, даних овуляторного резерву, рівня мелатоніну в фолікулярній рідині, показників кількості та якості ооцитів, відповідно, ембріонів. Доведено, що включення мелатоніну в комплекс медикаментозної підготовки до контрольованої оваріальної стимуляції в програмах ДРТ сприяло підвищенню якості ооцитів та ембріонів і, відповідно, підвищенню ефективності лікування безпліддя з використанням ДРТ.

Одержано нові дані щодо вмісту мелатоніну в сироватці крові та в фолікулярній рідині в пацієток із безпліддям при використанні ДРТ. Визначено показання до застосування препаратів мелатоніну при підготовці жінок до ДРТ та при проведенні контрольованої стимуляції яєчників.

Отримані дані дозволили науково обґрунтувати необхідність вдосконалення алгоритму відбору та підготовки жінок із безпліддям до проведення контрольованої стимуляції яєчників, пункції фолікулів та проведення запліднення.

**Практичне значення одержаних результатів.** Для практичної роботи акушерів-гінекологів, репродуктологів у якості алгоритму підготовки безплідних жінок до проведення контрольованої стимуляції яєчників, пункції фолікулів та забору яйцеклітин запропонований алгоритм, який включає призначення курсу препаратів, що вміщують мелатонін.

Результати дослідження впроваджені в клінічну практику КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя» (м. Чернівці), про що свідчать акти впровадження.

Основні наукові і теоретичні положення дисертаційного дослідження використовуються в навчальному процесі на кафедрі акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету при підготовці студентів, лікарів-інтернів і лікарів-курсантів.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено аналіз літератури, клініко-лабораторне, ультразвукове обстеження, пункції та аспірації

яйцеклітин та фолікулярної рідини, забір біологічного матеріалу для лабораторних досліджень. Здобувач особисто проводила обстеження та підготовку всіх пацієнток до ДРТ. Самостійно провела накопичення, копіювання первинної документації, статистичну обробку даних, проаналізувала та інтерпретувала отримані результати дослідження, сформулювала висновки та розробила практичні рекомендації, підготувала наукові публікації, презентації виступів, а також забезпечила впровадження досягнутих результатів у практичну медицину.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації оприлюднено на: Пленумі Асоціації акушерів-гінекологів України та науково-практичній конференції з міжнародною участю «Репродуктивне здоров'я в Україні: тенденції, досягнення, виклики та пріоритети (до 90-річчя академіка Грищенко В.І.» Київ, 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Іноваційні технології в акушерстві та гінекології: від науки до практики» (Буковель, 2019 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сучасного акушерства» (Тернопіль, 2019 р.), Міжнародному симпозіумі «Теорія та практика репродукції людини» (Буковель, 2019 р.), Міжнародному симпозіумі онлайн «Теорія та практика репродукції людини» (Київ, 2021 р.), 11-й международной конференции мКАРМ «Краеугольные аспекты репродуктивной медицины» (Москва, 2021 г.), XIII Международном конгрессе КАРМ «Современные подходы к лечению бесплодия. ВРТ: Настоящее и будущее» (Алматы, Казахстан, 2021 г.), Міжнародному симпозіумі онлайн «Теорія та практика репродукції людини» (Чернівці, 2022 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 10 наукових робіт, чотири статті з яких в фахових журналах України, серед яких один журнал індексується в базі даних Scopus, одна стаття – в закордонному виданні, що індексується в базі даних Scopus.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 149 сторінках тексту (основний обсяг становить 107 сторінки) і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, опису матеріалу та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який включає 295 посилань (106 – кирилицею, 189 – латиницею). Робота ілюстрована 7 таблицями, 5 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ БЕЗПЛІДДЯ В ЖІНОК (огляд літератури)

### 1.1 Безпліддя як медична та соціальна проблема

#### 1.1.1 Соціальні аспекти безпліддя

На сьогодні безпліддя подружньої пари становить не тільки важливу медичну, але й соціальну проблему [30, 71]. Беручи до уваги, що частота безпліддя у шлюбі складає біля 20% у популяції, дану проблему слід вважати національною. Так, за середніми щомісячними даними Держстату легко простежити, як кожен місяць зменшується народжуваність. У 2019-му році щомісяця в середньому народжувалося 25,7 тисяч немовлят, у 2020-му році – 24,5 тисячі, у 2021-му – 22 тис зі зменшенням числа яйцеклітин в яєчниках. Вже з 27 років починається втрата ооцитів, а пік цього ячі, у першій половині 2022-го – 21,4 тис. новонароджених. Загалом, у 2021 році в Україні народилося 271 984 дитини, а це найгірша народжуваність, яка була зафіксована за останні 30 років [71].

Безпліддя негативно впливає на демографічні показники. Зменшення частоти безплідних шлюбів є одним із важливих резервів у підвищенні народжуваності, що підтверджує медико-демографічну важливість проблеми [126]. В свою чергу, низький рівень народжуваності, під впливом соціально-економічних чинників, віддзеркалює суттєві зміни в репродуктивній поведінці населення, що призводить до збільшення кількості одиноких жінок та зменшення подружніх пар, бажаючих мати дітей [132].

Частота безплідного шлюбу коливається в широких межах, але тенденції до зниження немає. Сьогодні біля 100 млн. подружніх пар у світі є безплідними. Кожен рік виявляється 10 млн. нових безплідних подружніх пар. Безплідний шлюб суттєво впливає на демографічні показники, у зв'язку з чим ця проблема набуває не тільки медико-біологічного, але й важливого соціального значення



[30, 135]. Соціологи стверджують, що при частоті 15%-20% та вище безплідний шлюб впливає на демографічні показники значно більше, ніж невиношування та перинатальні втрати разом [143, 168].

Соціальне значення проблеми безпліддя у шлюбі важко переоцінити, адже саме з цим нерідко пов'язані нестійкість сімейних стосунків, виникнення комплексу неповноцінності у подружжя, зниження соціальної активності [29, 86, 201]. Відсутність дітей у сім'ї зумовлює значний відсоток розлучень. За даними літератури, до 50% безплідних шлюбів зазнають розриву, тоді як у сім'ях з дітьми кількість розлучень складає всього 8% [150].

Соціально-психологічний аспект проблеми полягає в особистих переживаннях, частих сімейних конфліктах, позашлюбних зв'язках, потягу до вживання спиртних напоїв серед безплідних пар у шлюбі [141, 235]. У жінок із безпліддям спостерігається підвищена ступінь невротичних проявів, агресивності, лабільності настрою та зниження працездатності [153, 168].

Дані вітчизняної літератури свідчать про частоту безпліддя в поліклінічних закладах, яка досягає 29,1% [86, 113]. Слід врахувати, що в нашій країні ще не було проведено достовірних епідеміологічних досліджень, які б демонстрували реальну розповсюдженість безпліддя в певній місцевості, хоча важливість подібних досліджень незаперечна, враховуючи суттєву розбіжність даних епідеміологічних досліджень та реальної кількості звернень [32]. З віком збільшується вірогідність обмеження репродуктивного потенціалу. Так, 13% одружених жінок у віці 20-30 років та 32% жінок у віці 40-44 роки відмічають їх особисте бажання щодо обмеження фертильності [71, 128]. В Україні дедалі більше жінок виявляють бажання народжувати після реалізації кар'єри. Так, середній вік народження первістка наближається до 30 років. А кількість жінок, які вирішили відчувати материнство після 40, стало у два з половиною рази більше, ніж 20 років тому. Рівень безплідних шлюбів серед вікових груп жінок неоднозначний: у віці 15-24 років становить 4,1%, у віці 25-34 – 13,1%, у віці 35-44 – 21,4 % [128, 147]. Отже, аналіз літературних даних відносно розповсюдженості безпліддя свідчить про широку варіабельність результатів

навіть в межах однієї країни, що є не тільки показником популяційних відмінностей, але також відображає неадекватність та недосконалість існуючих методів дослідження. Тому подальше удосконалення організації медичної допомоги безплідним парам слід направляти не тільки на вивчення розповсюдженості безпліддя, але й на визначення взаємозв'язку його з комплексом чинників, що визначають умови життя, праці, побуту населення в різних географічних регіонах [201, 235].

### **1.1.2 Безпліддя як медична проблема**

Безпліддя – це патологічний стан, при якому з тих чи інших причин у жінки, чоловіка або обох партнерів вагітність не настає впродовж 12 місяців при регулярному статевому житті без використання будь-яких протизаплідних засобів за умови репродуктивного віку подружжя [4, 6, 132, 142].

Безпліддя належить до важливих показників стану репродуктивного здоров'я. При частоті від 10-15 % до 18-20 % можна говорити про прямі репродуктивні втрати. Саме тому проблема безпліддя залишається найбільш актуальною в гінекології. Частота безплідних шлюбів у багатьох країнах світу коливається від 8 до 29 % спостережень. В Європі безплідними є близько 10 %, в США – 15 %, в Канаді – 17 % подружніх пар, частка безплідних шлюбів на території України варіює від 8 до 20 % [22].

Причиною безплідного шлюбу в 40-50 % випадків є патологія в одного з подружжя, в 25-30 % – в обох, у 10-15 % випадків її встановити не вдається. В жінок у 50-82 % випадків діагностується поєднане безпліддя. Трубно-перитонеальна форма безпліддя, яка зумовлена анатомо-функціональним ураженням маткових труб і тазової очеревини з формуванням злукового процесу в малому тазі, посідає провідне місце в структурі жіночого безпліддя та становить 38-64 % [6, 7, 8, 10]. Проте, серед етіологічних чинників неплідності ще виокремлюють такі жіночі фактори, як: ендокринний (30-56%), та інші причини безпліддя, які включають зовнішній генітальний ендометріоз (1-6%),

матковий фактор (15%), шийковий фактор (1-4%) та чоловічі чинники різного генезу (32-45%); на частку ідіопатичного безпліддя припадає 5-10% [6, 34, 154].

Серйозний біологічний чинник проблеми полягає в тому, що тривале безпліддя сприяє більш ранньому настанню старіння у жінок, підвищується ризик розвитку злякисних новоутворень. Причини безпліддя, особливо нелікованого, ускладнюють перебіг патологічних процесів не тільки статевої системи, але й усього організму [39].

Більшість науковців відмічає тенденцію до зростання частоти безплідного шлюбу і пов'язує це з впливом на генеративну функцію людини різних чинників, таких як: радіація, умови життя, стреси, професійні шкідливості, екологія, тощо. [155]. Шкідливі звички, аборти, нераціональне застосування деяких медикаментів, зокрема застосування малоефективних засобів контрацепції також є серйозними чинниками у розвитку безпліддя [132]. В деяких публікаціях підкреслюється роль міста, як комплексного чинника зростання кількості безплідних шлюбів, особливо в країнах із високим рівнем урбанізації, що зумовлює збільшення кількості жінок, що мають професійні шкідливості та синдром хронічної втоми [197]. При забрудненні оточуючого середовища ксенобіотиками спостерігається порушення гормонального статусу, що клінічно проявляється у вигляді порушень овуляції та менструації. Доведений вплив шкідливого виробництва на гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникові співвідношення і на підвищення рівня пролактину крові [69, 101].

Протягом десятиліть вчені пов'язували зниження фертильності у жінок зі зменшенням числа яйцеклітин в яєчниках. Вже з 27 років починається втрата ооцитів, а пік цього незворотного процесу спостерігають в 35-37 років. У зв'язку з цим, лікування безпліддя необхідно здійснювати своєчасно за допомогою сучасних методів, що довели свою ефективність в швидкому і успішному досягненні вагітності [19, 166].

Ембріолог Андреа Юрісікова з науково-дослідного інституту Луненфельда-Таненбаума лікарні Маунт-Сінай роками вивчала як і чому знижується репродуктивна функція у жінок з віком та як цей процес уповільнити.

Її дослідження показали, що резерв яєчників регулюється генетично, але життя жінки, стреси, вплив радіації чи токсичних речовин, навіть ще до моменту її власного народження, визначають кількість фолікулів у подальшому житті [140].

## **1.2 Основні принципи ефективного лікування безпліддя**

### **1.2.1 Сучасні підходи до діагностики та лікування безпліддя**

Сучасні підходи до діагностики та лікування безпліддя засновані на знанні фундаментальних основ фізіології репродуктивної системи жінки, що припускають зниження репродуктивного потенціалу і здібності до зачаття із збільшенням віку [3, 5, 128].

Актуальність вдосконалення допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) обумовлена зростанням жіночого безпліддя та погіршенням демографічної ситуації. Найпоширенішою методикою визнане запліднення ін вітро (ЗІВ або IVF). Відомо, що однією з найважливіших умов для успішного проведення ЗІВ є ефективна контрольована оваріальна стимуляція (КОС) для отримання достатньої кількості зрілих яйцеклітин [99, 114].

Стрелко Г.В. та ряд інших науковців твердять, що низька відповідь яєчників у програмах ДРТ є важливою проблемою сучасної репродуктології через високу частоту і тенденцію зростання у міру збільшення частки «поганих відповідачів» серед жінок пізнього репродуктивного віку з безпліддям, що спричиняє зниження ефективності програм ДРТ [76, 77]. У літературі цей патологічний стан відомий також під назвою «бідна» відповідь яєчників. Засіданням спеціальної проблемної групи Європейського співтовариства репродукції людини та ембріології ERSHE, що відбулося в м. Болонья (Італія) у 2011 р., було створено вперше затвержене до практичного застосування єдине визначення «поганих відповідачів» (Болонські критерії):

1) пізній репродуктивний вік матері (40 років) або будь-який інший фактор ризику низької відповіді яєчників (оперативні втручання на яєчниках, синдром полікістозних яєчників, перенесені запальні захворювання тощо);

2) низька відповідь яєчників у попередньому циклі контрольованої оваріальної стимуляції (КОС) (3 ооцити у стандартному протоколі стимуляції);

3) низький тест оваріального резерву (ОРТ) (тобто чисті антральні фолікули (ЧАФ) < 5-7 або антимюллерів гормон (АМГ) < 0,5-1,1 нг/мл [104, 248].

Два епізоди низької відповіді яєчників після максимальної стимуляції більшість дослідників вважають достатніми для визначення «поганого відповідача» за відсутності пізнього репродуктивного віку матері або зниженого ОРТ [146, 152].

Відповідно до рекомендацій провідних професійних асоціацій і міжнародних організацій (ВОЗ, ESHRE, ASRM), слід запідозрити безпліддя і негайно розпочинати обстеження та лікування пацієнтів у наступних випадках:

1) за відсутності вагітності протягом 12 місяців активного статевого життя у пацієток до 35 років і протягом 6 місяців у пацієток після 35 років без застосування контрацепції; 2) ще до закінчення вищезгаданих термінів за наявності чинників, які знижують фертильність. До цих чинників відносяться:

1) трубні вагітності в анамнезі із залученням обох маткових труб або однієї маткової труби у поєднанні із запальними захворюваннями органів малого тазу; 2) резекції обох яєчників; 3) інші оперативні втручання на органах малого тазу або черевної порожнини; 4) аменорея; 5) випадки, коли оваріальний резерв знаходиться у стані, близькому до виснаження (у віці після 40 років, після променевого лікування або хіміотерапії у молодих жінок та ін.) [154].

Незалежно від причини і рівня пошкодження репродуктивної системи, формування безпліддя обумовлене наявністю основної або поєднанням декількох причин. Ключовими причинами слід вважати такі стани: 1) незрілі ооцити; 2) непрохідність маткових труб; 3) неспроможність ендометрію до імплантації ембріона; 4) недостатня кількість сперматозоїдів в порожнині матки

та маткових трубах, що необхідно для запліднення, зумовлена олігоспермією, порушенням властивостей шийкового слизу і т.ін.) [5, 34, 142].

Провідні репродуктологи світу вважають, що у випадку, коли тривалість лікування вже перевищує один рік, не слід застосовувати методи з невисокою ефективністю (наприклад, кломіфен цитрат, фізіотерапію, штучну інсемінацію без індукції овуляції), а одразу застосовувати методи з доведеною високою ефективністю (індукція овуляції гонадотропінами, штучна інсемінація з індукцією овуляції, лапароскопія з подальшою індукцією овуляції) [1, 6, 128].

Із закладених в яєчниках до моменту пологів біля 1 млн. ооцитів, впродовж життя жінки овулюють близько 400 фолікулів, інші підлягають атрезії на різних стадіях свого розвитку. Гормонально незалежний етап розвитку фолікула починається з переходу з примордіального в первинний фолікул і триває від 180 до 300 діб. Розвиток фолікулів на цьому етапі обумовлений внутрішньо яєчниковими чинниками. Кількість фолікулів, що «прокинулися», а також частка фолікулів, що піддаються атрезії, не залежить від індукторів овуляції і рівня гонадотропінів в крові. Ооцити з пулу, що пустилися в ріст, 30–300 фолікулів приречені або на атрезію, або на овуляцію. Механізми атрезії і апоптозу забезпечують виживання найбільш потенційних фолікулів і, можливо, селекцію найбільш генетично здорових ооцитів. Після досягнення частиною фолікулів селективної фази починається гормонально залежна фаза. Відбувається селекція і зростання домінантного фолікула, що залежить від концентрації ФСГ і інших гонадотропінів [28,43].

Таким чином, витрата запасу фолікулів і ооцитів відбувається за законами внутрішньо яєчничової регуляції і не залежить від застосування індукторів овуляції, які впливають тільки на зріючі фолікули, що дійшли до стадії селективних, не зачіпаючи примордіальних. Таким чином, індуктори овуляції не сприяють виснаженню фолікулярного резерву, зниженню фертильності, наближенню віку менопаузи та ін. [38]. Етапи фолікулогенезу та вибір домінантного фолікула можна представити у вигляді ряду послідовних фаз.

Проте, в цілому ряді аспектів фолікулогенезу вислови дослідників припустимі, і тонкі механізми цих процесів ще не вивчені повністю. Вважається, що в природньому циклі рівень ФСГ починає підвищуватися з середини лютеїнової фази попереднього менструального циклу. Далі, в природньому циклі, можливо, під дією інгібіну  $\beta$ , що виділяється доміантним фолікулом, відбувається зниження концентрації ФСГ і фолікули, що залишилися піддаються атрезії. Залишається один доміантний фолікул, чим забезпечується моноовуляторний цикл. Період підйому ФСГ, в якому селективний фолікул стає доміантним, називається «вікном ФСГ» [12, 75, 140].

У лікувальному циклі з використанням репродуктивних технологій, під дією фармацевтичних препаратів концентрація ФСГ підтримується на постійному або зростаючому рівні, вікно ФСГ розширюється, що призводить до росту декількох фолікулів [34, 46, 111]. Якщо за допомогою лікарських препаратів викликати значне підвищення концентрації ФСГ або забезпечити підвищення гонадотропіну без падіння його концентрації, то декілька селективних фолікулів продовжать ріст і відбудеться множинний ріст фолікулів і «суперовуляція». Зрілими вважаються фолікули, що досягли діаметру 18 мм, тому стимуляцію овуляції продовжують до досягнення доміантним фолікулом цього розміру [97, 98].

Фолікули діаметром більше 14 мм стають чутливими до ЛГ і у відповідь на пікоподібне підвищення концентрації лютеїнізуючого гормону можуть лютеїнізуватися. Під дією підйому ЛГ або введення ХГЛ у фолікулі відбуваються зміни, що ведуть до овуляції через 38-42 години, а також відбувається дозрівання ооцита (завершення першого ділення мейозу), що робить його готовим до запліднення. Для індукції кінцевого дозрівання фолікула використовуються препарати ХГЛ або агоністи ГнРГ, що викликають викид ендогенного ЛГ [9, 11, 114].

Оваріальний резерв – важлива складова репродуктивного потенціалу жінок, що полягає в можливості яєчників забезпечувати зростання повноцінних фолікулів, що містять здорові, здатні до запліднення яйцеклітини. Чим вище

оваріальний резерв, тим менші концентрації ФСГ необхідні для індукції одного домінантного фолікула, тим більше фолікулів може вирости під дією високих доз індукторів овуляції [44, 82]. У міру природньої витрати примордіальних фолікулів, фолікулярний резерв знижується з віком, наближаючись до критичного після 38 років. Крім віку, на стан оваріального резерву впливають наступні чинники: 1) генетичні; 2) операції на яєчниках; 3) деякі автоімунні захворювання (автоімунний тиреоїдит, діабет та ін.); 4) несприятливі екзогенні чинники (куріння, професійної шкідливості та ін.) [106].

Низький оваріальний резерв передбачається, якщо: вік пацієнтки перевищує 35 років; рівень ФСГ на 2-3 день менструального циклу більше 10 МО/л; число базальних фолікулів <10 мм в діаметрі на 2-3 день менструального циклу менше 5 в кожному яєчнику; об'єм яєчників менше 8 см<sup>3</sup> [106]. Таких пацієнток називають пацієнтками з потенційно «бідною відповіддю». Їм потрібні вищі дози гонадотропінів для індукції овуляції. У них не слід чекати множинного росту фолікулів. Частота настання вагітності знижена [76, 77].

Високий оваріальний резерв передбачається, якщо: вік пацієнтки менше 30 років; рівень ФСГ на 2-3 день менструального циклу менше 8 МО/л; число базальних фолікулів < 10 мм в діаметрі на 2-3 день менструального циклу більше 10 в кожному яєчнику; об'єм яєчника більше 12 см<sup>3</sup>. Таких пацієнток називають пацієнтками з хорошою відповіддю, яким потрібні низькі дози гонадотропінів для індукції росту. У них висока вірогідність множинного росту фолікулів і синдрому гіперстимуляції яєчників, якщо стартова доза виявиться завищеною. Найчастіше застосовується рекомбінантний фолікулостимулюючий гормон (рФСГ). Оскільки це мінімальна доза гонадотропінів, то при її застосуванні практично немає ризику розвитку СГЯ [138].

Чим менший оваріальний резерв, тим менша популяція фолікулів. З кожним роком життя жінки знижується якість ооцитів і збільшується число хромосомної та іншої генетичної патології в яйцеклітинах [35]. Частота генетичної патології визначає вірогідність настання вагітності при овуляції, що відбулася, і залежить, головним чином, від віку. Тому важливо не відкладати



лікування, особливо у пацієток після 30 років [106, 140]. Критичне виснаження оваріального резерву може відбутися і раніше, якщо пацієтка піддавалася оперативним втручанням на яєчниках з видаленням (пошкодженням) паренхіми (клиновидна резекція, декортикація і ін.), променевої дії і хіміотерапії, а також з ідіопатичних (генетичних) причин [64, 82].

Багато аспектів лікувальної тактики у жінок із низькою відповіддю яєчників залишаються нез'ясованими. Практично єдиним методом корекції низької відповіді яєчників вважається модифікація протоколів КОС [292]. З метою покращення яєчничкової відповіді у пацієток із низьким ОРТ застосовують різні схеми стимуляції: використання коротких протоколів, зменшення дози агоністів гонадотропін-рилізинг-гормону (а-гнРг), прийом антагоністів гонадотропін-рилізинг-гормону (ант-гнРг) та ін. Проте, основною ланкою цих модифікованих протоколів є збільшення дози гонадотропіну, тобто більш агресивна стимуляція яєчників. Результативність цих стратегій викликає певні сумніви [49].

У циклах стимуляції овуляції використовується декілька класів препаратів, якими досягаються наступна мета: стимуляція росту і розвитку фолікулів; індукція фінального дозрівання ооцита і овуляція (тригери овуляції); підтримка функції жовтого тіла. Для стимуляції росту і розвитку фолікулів використовуються прямі і непрямі індуктори. Прямі індуктори – гонадотропіни, що безпосередньо діють на фолікул: рекомбінантні гонадотропіни (доза – 100 МО в ампулі і в картриджах по 600 МО і 300 МО); людські сечові гонадотропіни (доза – 75МО ФСГ, 75 МО ЛГ в ампулі) [6, 8].

Непрямі індуктори овуляції – препарати, що підвищують власну продукцію ендогенного ФСГ гіпофізом: неселективні модулятори естрогенових рецепторів (кломіфена цитрат і ін.); інгібітори ароматази (летрозол, анестрозол і ін) [92, 99].

Форми препаратів, що містять 75 МО ФСГ або 100 МО ФСГ із-за великої дози в ампулі і неможливості ділення дози, більше призначені для використання в програмах ДРТ, де проводиться індукція суперовуляції [112].

Гонадотропіни є прямими індукторами овуляції. Найбільш вираженою та селективною стимулюючою дією володіє гормон ФСГ [46, 69, 119]. Тому еволюція гонадотропінів йшла від застосування препаратів людського менопаузального гонадотропіна (ЛМГ), що містить суміш ФСГ і ЛГ в рівному співвідношенні (по 75 МО), а також домішку ХГ, потім до препаратів сечового ФСГ і, нарешті, до препаратів чистого рекомбінатного ФСГ [92, 169, 218].

Сечові гонадотропіни отримують шляхом очищення сечі жінок, що знаходяться в постменопаузі. Технологічні обмеження дозволяють досягти чистоти, що не перевищує 5%, інші 95% препарату складають домішки, зокрема біологічно активні. До складу препаратів входять крім ФСГ, гормони ЛГ і ХГ. В зв'язку з проходженням через кисле середовище сечі біологічна активність ФСГ понижена, при цьому можливі коливання вмісту активного компонента в різних серіях препарату [254]. Це призводить до не завжди прогнозованої відповіді при застосуванні препарату, підвищеному ризику багатопліддя і синдрому гіперстимуляції яєчників. Не можна виключити інфікування препарату. Тому, з появою рекомбінантних гонадотропінів ряд компаній відмовилися від подальшого виробництва ЛМГ. Рекомбінантний ФСГ був отриманий методом генної інженерії, шляхом впровадження генів альфа і бета субодиниць в культуру клітин китайського хом'яка. Це дозволило отримувати чистий ФСГ, позбавлений домішок, що має високу постійність активності [101, 125].

Тригери овуляції – препарати, що імітують або стимулюють викид ЛГ, забезпечують фінальне дозрівання ооцита в домінантному фолікулі і овуляцію. Тригери овуляції вводять після досягнення фолікулом зрілості і використовують у всіх протоколах стимуляції, незалежно від того, які індуктори застосовувалися [280]. Найбільш поширено використання людського хоріонічного гонадотропіна, який по механізму дії співпадає з дією ЛГ, але довше циркулює в крові.

При проведенні індукції овуляції використовується принцип диференційованого вибору між препаратами ФСГ і кломіфена цитратом. Якщо прогноз ефективності кломіфена цитрата сприятливий, препарат

використовують протягом трьох циклів стимуляції в дозах від 50 до 100 міліграм. При кломіфен-резистентності або відсутності вагітності після 3 циклів, а також при початковому прогнозі низької ефективності кломіфена цитрата використовують препарати ФСГ [163, 164].

Після прогнозу ефективності кломіфена цитрата визначають тактику лікування. Застосовувати кломіфена цитрат більш, ніж протягом трьох циклів недоцільно, зважаючи на прогресуюче зниження шансів на настання вагітності [171, 221].

Застосування препаратів гонадотропінів не вимагає перерви між циклами стимуляції за винятком випадків, коли перед індукцією використовуються оральні контрацептиви для досягнення ребаунд-ефекту [45, 46, 172].

### **1.2.2 Допоміжні репродуктивні технології як сучасні методи лікування безпліддя**

Чинники безпліддя по-різному впливають на настання й результат вагітності після програм запліднення ін вітро (ЗІВ)/інтраплазматичного введення сперматозоїда (ICSI). Наявність декількох факторів може знижувати ймовірність успішного результату в циклах ЗІВ [48, 49, 162, 261]. При успішному лікуванні пацієнок з виявленими чинниками безпліддя часто вдається відновити фертильність, не вдаючись до допомоги ДРТ [137, 150]. У разі відсутності ефекту від комплексу проведених оперативних і консервативних заходів при лікуванні безпліддя необхідно рекомендувати подружній парі методи допоміжної репродукції для досягнення вагітності [126, 128].

Сутність методу ЗІВ полягає в тому, що після проведення контрольованої оваріальної стимуляції з декількох преовуляторних фолікулів шляхом пункції отримують зрілі яйцеклітини [164, 171]. Далі проводять їх запліднення *in vitro* й отримані ембріони на стадії 8 бластомірів, морули або бластоцисти переносять у маткову порожнину [71, 175].

Ефективність застосування методів ДРТ висока і досягає в кращих центрах світу 30-40% у розрахунку на одне перенесення ембріонів, що набагато перевищує ефективність природного зачаття. За даними європейського консорціуму з IVF-моніторингу при Європейській Асоціації Репродукції Людини і ембріології (ESHRE) за 2010 рік частота настання вагітності в програмах ЗІВ/ICSI коливається від 24,1% до 48,1% [65, 188]. У розвинених країнах світу не менше 3% пологів відбуваються в результаті програм ЗІВ/ICSI [162, 210].

Пацієнтки з багаторазовими невдалими програмами допоміжних репродуктивних технологій становлять близько 30% від усіх пацієнток, які лікуються з використанням цих методів. Це пов'язано з великою різноманітністю факторів, що впливають на результат імплантації після перенесення ембріона у маткову порожнину [51, 52, 81, 203].

### **1.3 Застосування мелатоніну в програмах допоміжних репродуктивних технологій при лікуванні безпліддя**

Пошук причин і розроблення методів підвищення ефективності ДРТ є одним із актуальних завдань сучасної медицини. Підвищення результативності циклів ЗІВ є головною метою клініцистів, що опікуються лікуванням безпліддя, що забезпечується поліпшенням якості перенесених ембріонів і рецептивності ендометрію [59, 79]. Морфологічні характеристики ембріона і його відповідність динамічним показникам при культивуванні визначають якість ембріона [11, 37, 78, 115].

У сучасній репродуктивній медицині велика увага приділяється вивченню балансу між прооксидантами та антиоксидантами, тому що рівновага цієї системи підтримує нормальне функціонування ооцитів, а дисбаланс призводить до виникнення окислювального стресу [62, 72, 207].

На сьогодні підтверджено негативний вплив окислювального стресу на репродуктивну функцію. Так, встановлено, що надмірна кількість активних форм кисню (АФК) являється причиною поганої якості ооцитів [62].

Згідно з останніми дослідженнями при дозріванні яйцеклітини у фолікулярній рідині відбувається активація окислювальних процесів, при індукції суперовуляції перекисне окислення ліпідів і білків збільшується в десятки разів. В даний час відомо, що окислювальний стрес (ОС) супроводжується руйнівною цитотоксичною дією, активацією апоптозу [284].

Загальновідомим маркером ОС є 8-ізопростан, що виробляється кисневими радикалами при окисненні фосфоліпідів тканин. Генерація вільних радикалів навіть при мінімальних проявах ОС є мембранопорушуючим фактором [18]. Тому, вкрай важливо при проведенні оваріальної стимуляції забезпечити високий рівень антиоксидантного захисту організму. Для оцінки роботи антиоксидантної системи використовують різноманітні критерії, при проведенні КОС найбільший інтерес викликає вивчення рівнів мелатоніну в сироватці крові та фолікулярній рідині [55, 95].

Передбачається, що АФК інгібують продукцію прогестерону лютеїновими клітинами за допомогою інгібування стероїдогенних ферментів і внутрішньоклітинних білків-носіїв, що регулюють перенесення холестерину в мітохондрії [20, 21]. АФК також порушують плазматичну мембрану лютеїнових клітин внаслідок перекисного окислення ліпідів, що призводить до регресу жовтого тіла [65, 131, 134].

Рівні АФК відіграють важливу роль у процесах фолікулогенезу, дозрівання ооцитів, овуляції та інволюції жовтого тіла. Високий рівень АФК може негативно впливати на цитоскелет ооцитів, знижувати їх якість, провокувати хромосомні анеуплоїдії та призводити до порушення розвитку ембріона як при спонтанній вагітності, так і в ході ЗІВ [19, 57, 138]. Не варто забувати про деякий негативний вплив гонадотропних гормонів на оогенез у ході стимуляції суперовуляції. В пробірці ризик розвитку оксидативного стресу є більшим, ніж у природних умовах. Його негативний вплив може бути посилений за рахунок

відсутності фізіологічних механізмів захисту, відсутності природних антиоксидантів та наявності деяких потенційних джерел АФК з гамет або з екзогенних чинників навколишнього середовища [282, 283].

Різноманітні групи антиоксидантів давно й успішно застосовуються в практиці акушерів-гінекологів та репродуктологів [192, 268]. Мелатонін (від лат. *melas* – чорний) – локальний антиоксидант, який синтезується в мітохондріях. Це гормон фотоперіодичності, що виробляється переважно вночі, тому його ще називають гормоном темряви [4, 13, 63, 65]. Синтез припиняється завдяки імпульсам, що надходять із сітківки ока. Пінеальна секреція мелатоніну має циркадний ритм, який контролюється супрахіазматичним ядром, і характеризується низьким рівнем продукції в денний час і високою швидкістю виробництва в протягом ночі; максимальна вона, зазвичай, в 2-4 години ночі, в подальшому плавно знижується. З 7-8 ранку і до 8 вечора, в середньому, концентрація цього індоламін в крові мінімальна. Доведено, що це потужний ендогенний адаптоген, який чинить імуномодуючу та мембраностабілізуючу дію, нормалізує проникність судинної стінки, покращує мікроциркуляцію та порушений функціональний стан ендотелію, нормалізує гемодинамічні процеси [18, 157, 158].

На додаток до опосередкованого рецепторного впливу, активно вивчається дія мелатоніну в якості прямого інгібітора вільних радикалів, що значно розширює розуміння його механізмів дії, які приносять користь репродуктивній фізіології. Новітні дослідження повідомляють, що під час проведення КОС вміст мелатоніну у фолікулярній рідині у декілька разів перевищує його рівень у сироватці крові [14], що обумовлює протекторний вплив на зріючу яйцеклітину, зменшуючи рівень ОС, і потребує подальшого вивчення [15].

Мелатонін зменшує наслідки окисного стресу за рахунок нейтралізації вільних радикалів [68, 148]. Антиоксидантні властивості гормону перевершують інші антиокислювачі: глутатіон, манітол і вітамін Е [95]. Мелатонін є ефективним нейтралізатором вільних радикалів токсичних реагентів на основі кисню, гідроксильних радикалів, азотистих сполук. Він збільшує ефективність

переходу електронів між мітохондріальними дихальними комплексами, які є основними областями виникнення вільних радикалів [88]. Крім того, він надає непряму дію за рахунок стимуляції утворення антиоксидантних ферментів і важливого інтрацелюлярного антиокислювача – глутатіону. Кілька метаболітів мелатоніну, які утворюються в процесі нейтралізації ушкоджують агентів, самі є акцепторами вільних радикалів [121, 140].

Мелатонін синтезується з незамінної амінокислоти триптофану, яка входить до складу білків всіх живих організмів. У біосинтез мелатоніну залучено щонайменше чотири ферменти, серед яких N-ацетилтрансфераза серотоніну вважається ферментом, що обмежує швидкість синтезу [148].

Крім пінеалоцитів мелатонін в організмі жінки синтезується в багатьох тканинах, в тому числі в органах репродуктивної системи: яєчниках, матці та плаценті [157]. Для його синтезу використовуються ті ж ферментні системи, що і в пінеалоцитах, при цьому виробництво не залежить від фази день-ніч, синтезом цього процесу керує індоламін в цих органах. Існують дані, що мелатонін, що продукується екстрапінеально, діє паракринно й аутокринно [60, 61, 286].

Перше свідчення синтезу цього гормону саме в яєчнику, було надано Itoh M.T. в 1997 році [286]. За допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії від щурів *virgo* протягом дня були отримані екстракти яєчників, в яких було виявлено індоламін. Біохімічний аналіз виявив активність ферментів, необхідних для перетворення серотоніну в мелатонін. Константи дисоціації ферментсубстратного комплексу були еквівалентні всім показникам в шишкоподібної залози. З огляду на ці дані, Itoh M.T. спершу дійшов висновку, що яєчник здатний виробляти гормон, а також те, що його можливо отримати з крові. Пізніше вони довели наявність синтезу мелатоніну в яєчниках людини [239, 286].

З пінеалоцитів мелатонін потрапляє в кров, а далі в інші рідкі середовища організму: спинномозкову рідину, слину, жовч, амніотичну рідину, фолікулярну рідину яєчників. Період напіввиведення гормону варіює від 30 до 60 хвилин. 70% сироваткового мелатоніну пов'язано з альбуміном, а решта 30% дифундують в

навколишні тканини. Мелатонін катаболізується до 6-сульфатоксимелатоніну печінкової монооксигенази P450 [161, 177].

«Гормон сну» має суттєвий вплив на репродуктивну систему: він необхідний для фолікулогенезу, впливає на синтез стероїдів в гранульозних клітинах і зміни клітинних сигналів в тканинах-мішенях [121, 148]. Ймовірно, він регулює час початку статевого дозрівання і овуляції, сприяє збереженню вагітності, грає роль в процесах перебудови організму в менопаузі [18].

Гормон контролює експресію мРНК лютеїнізуючого гормону (ЛГ), продукцію регуляторів апоптозу – Bcl2 і протеїнази Casp3, активність інсуліноподібного фактору росту (ІФР) і фактору зростання TGF- $\beta$ , а також експресію гена рецептора ЛГ і експресію гена рецептора гонадотропіну-релізинг-гормону в гранульозних і лютеїнової клітинах [69, 125, 209].

Останнім часом відбувається вивчення мелатоніну як регулятора генів. Накопичений величезний обсяг даних про механізм генної регуляції, яка не впливає на послідовність ДНК [35]. Ця так звана епігенетична регуляція тепер розглядається як фундаментальний регуляторний процес в експресії або придушенні генів. Епігенетичні модифікації ДНК, нуклеосомні і хромосомні зміни, які в сукупності змінюють профілі експресії генів і фенотип, або збільшують, або зменшують доступність декількох факторів до генетичного матеріалу клітини. Частина ДНК, що транскрибуються, можуть бути включені або виключені, в залежності від епігенетичних модифікацій, фізично діючих в даному конкретному локусі генома [19].

Мелатонін може викликати епігенетичні зміни в ооцитах, пригнічуючи ДНК-метилтрансферазу, шляхом маскування мішені або блоку активної ділянки ферменту [170]. Результати досліджень свідчать про те, що цей гормон індукує епігенетичні модифікації, впливаючи на свої ядерні рецептори, які, в свою чергу, можуть змінювати надструктуру ДНК [239]. Таким чином, мелатонін, мабуть, є медіатором, який передає екологічні стимули ооцитів і забезпечує взаємодії між факторами навколишнього середовища і епігенетичною системою спадковості [161, 286].



### 1.3.1 Обґрунтування застосування мелатоніну в медицині

Важливу роль мелатонін відіграє у дозріванні фолікулів та процесі овуляції [171, 185]. При вивченні експериментів особливостей щодо розподілу мелатоніну в організмі виявилось, що концентрація гормону у фолікулярній рідині в 3 рази вище, ніж в одночасно зібраному зразку крові [72, 170]. З наближенням овуляції його рівень в фолікулі підвищується, хоча в загальний кровоток він не потрапляє, при цьому концентрація вище в рідині великих фолікулів, ніж дрібних фолікулах, – це дозволяє зробити припущення, що підвищення гормону в преовуляторних ооцитах може сприяти овуляції [135, 140].

Доведено, що мелатонін моделює синтез прогестерону після овуляції, стабілізує рівень естрадіолу, пролактину, тестостерону [131, 134]. Однак овуляція – хімічний, а не механічний процес. Розривання стінки фолікула є локальною запальною реакцією. Для її ініціювання потрібні високий рівень простагландинів та цитокінів, активна робота протеолітичних ферментів. Це супроводжується посиленням клітинного дихання та підвищенням концентрації вільних радикалів за рахунок роботи макрофагів та нейтрофілів. Завдяки сукупності цих реакцій ооцит отримує можливість вийти з фолікула [98, 99]. Для збереження генетичного матеріалу ооцита та захисту від вільних радикалів необхідна злагоджена робота антиоксидатної системи та наявність мелатоніну [18, 72, 207]. Рівні активних форм кисню (АФК) відіграють важливу роль у процесах фолікулогенезу, дозрівання ооцитів, овуляції та інволюції жовтого тіла [166]. Не варто забувати про деякий негативний вплив гонадотропних гормонів на оогенез у ході стимуляції суперовуляції. В пробірці ризик розвитку оксидативного стресу є більшим, ніж у природних умовах. Його негативний вплив може бути посилений за рахунок відсутності фізіологічних механізмів захисту, відсутності природних антиоксидантів та наявності деяких потенційних

джерел АФК з гамет або з екзогенних чинників навколишнього середовища. [43, 111, 125].

І хоча доказова база ефективності мелатоніну в терапії жіночого неплоддя тільки формується, позитивні результати багатьох рандомізованих досліджень доводять раціональність його застосування у жінок з безпліддям.

Останніми роками приділяється увага негативному впливу окисного стресу через надлишок вільних радикалів на якість ооцитів під час циклу ЗІВ [282, 283]. Вільні радикали представлені активними формами кисню (АФК) і відіграють подвійну роль, як шкідливу, так і корисну. Фізіологічно вільні радикали підтримують баланс у клітинах, який називається «окисно-відновним», відповідно до їхнього вироблення та антиоксидантної здатності клітини [62]. Вони представлені як ферментативними антиоксидантними захистами, такими як супероксиддисмутаза (SOD), глутатіонпероксидаза (GPx), каталаза (CAT), так і неферментативними антиоксидантними захистами, такими як аскорбінова кислота,  $\alpha$ -токоферол, глутатіон (GSH), каротиноїди, флавоноїди [77] та інші молекули, такі як мелатонін [65,105].

Однією з фізіологічних функцій, у яких АФК відіграє фундаментальну роль, є репродуктивна фізіологія, включаючи розвиток фолікулів, дозрівання яйцеклітини, овуляцію, функцію жовтого тіла та атрезію фолікулів [38, 82]. Деякі автори порівнювали овуляцію із запальною реакцією, з виробленням цитокінів і вільних радикалів [148, 207]. Фолікулярна рідина, отримана з антрального відділу фолікулів Граафа, має вищу концентрацію мелатоніну, ніж зразок плазми, зібраний одночасно [15]. Ймовірно, це пов'язано з необхідністю захисту яйцеклітини від вільних радикалів, що утворюються під час дозрівання яйцеклітини, та збереження якості яйцеклітини [135, 202]. Як підтвердження, одне дослідження вказало, що знижений рівень антиоксидантного ферменту був зареєстрований у фолікулярній рідині у жінок з нез'ясованим безпліддям [197].

Сьогодні відомо, що мелатонін зв'язує свої рецептори в супрахіазматичних ядрах головного мозку і в *pars tuberalis* в гіпофізі, щоб модулювати репродуктивну функцію. Наявність рецепторів мелатоніну виявляється в

багатьох інших тканинах репродуктивної системи (придатках яєчок, сім'яносних протоків, простати, яєчника та молочної залози) [16, 57] та інші тканини, включаючи шкіру, шлунково-кишковий тракт, печінку, нирки, селезінку та клітини імунної системи. У більшості цих тканин виявлено ферменти, які беруть участь у синтезі мелатоніну. Ці висновки можуть стосуватися гіпотези про безліч функцій, які виконує мелатонін (антиоксидантні, протизапальні властивості, геномні стабілізуючі ефекти та модулятор мітохондріального гомеостазу) [95, 166].

Мелатонін діє безпосередньо як поглинаючий вільний радикал [87] або зв'язуючись з його рецепторами [178], щоб запобігти пошкодженню клітин і тканин. Антиоксидантний механізм мелатоніну відрізняється від інших антиоксидантів, оскільки після реакції з вільними радикалами в «каскадній реакції очищення» він утворює кілька стабільних кінцевих антиоксидантних продуктів. Він не сприяє окисленню ні за яких обставин, оскільки це припиняє його властивості як антиоксиданту. Крім того, мелатонін синергує з іншими неферментативними антиоксидантами [45, 184], а також стимулює синтез антиоксидантного ферменту, зв'язуючи його мембранні рецептори з цитозольними або ядерними ділянками зв'язування [156, 186].

Під час ЗІВ яйцеклітини та ембріони можуть піддаватися впливу високого рівня супероксидних вільних радикалів, розпочатих під час протоколу стимуляції, в якому маніпуляції з яйцеклітиною змінюють рівень ендогенних поглиначів кисню [63, 72]. Фолікулярна рідина, багата антиоксидантами, відсутня у культурах середовища ооцитів, включаючи мелатонін, який захищає ооцит від окисного стресу. Крім того, рівень ROS вищий під час ЗІВ через високий рівень концентрації кисню в інкубаторах і передачу протягом усього процесу ЗІВ [124]. Зі збільшенням «оксидативного стресу» під час ЗІВ мелатонін з його властивостями поглиначів знаходить своє належне застосування.

### **1.3.2 Використання мелатоніну в програмах ДРТ**

Було помічено, що додавання мелатоніну в мишачі культури ооцитів призвело до того, що 54% запліднених ооцитів досягли стадії бластоцисти порівняно з 29% без мелатоніну [64]. Інші автори вивчали культури ооцитів свиней і виявили, що додавання мелатоніну до середовища для вирощування яйцеклітин призводить до значно нижчого рівня АФК і більшої частки зрілих ооцитів (МІІ). Останні дані свідчать про те, що концентрація мелатоніну в культурі ооцитів повинна бути у вузькому діапазоні від  $10^{-6}$  до  $10^{-9}$  нМ для досягнення найкращих результатів [135, 185].

Деякі автори виявили, що у людей прийом добавок з низькою дозою мелатоніну покращував дозрівання ядра яйцеклітини, і, навпаки, спостерігалось зниження дозрівання ядра при високій дозі [106, 296]. Діапазон від  $10^{-5}$  до  $10^{-9}$  нМ покращував дозрівання яйцеклітини при додаванні до дозрівання яйцеклітини *in vitro* (IVM), а також збільшував швидкість імплантації під час ЗІВ-ЕТ, збільшуючи частоту вагітності у жінок із СПКЯ, хоча в деяких випадках збільшення не було значним [84, 197].

Крім того, Тамура та ін. показали, що пероральний прийом мелатоніну підвищував концентрацію мелатоніну в фолікулярній рідині, і ця більша концентрація була обернено пов'язана з клітинним окислювальним стресом, вимірним рівнем 8-OHdG. Зокрема, вони досліджували пацієнтів, які перенесли невіддале ЗІВ, розділивши пацієнтів на дві групи: перша отримувала мелатонін перорально (3 мг/добу), а друга – без терапії [34]. Розглянувши їхній аналіз даних, вони виявили, що перша група мала вищий рівень запліднення, ніж друга група [264]. Інші автори продемонстрували, що швидкість запліднення покращувалася при додаванні мелатоніну як у тих, хто мав нижчий рівень запліднення під час попереднього циклу ЗІВ, так і у тих, хто пройшов процедуру ICSI [78, 262].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Методологічний підхід, дизайн та об'єм дослідження

Робота виконувалася впродовж 2019-2022 років у Буковинському державному медичному університеті (ректор університету – д.мед.н., професор Т.М.Бойчук, з 2022 року в.о.ректора – д.мед.н., професор О.А.Андрієць), на кафедрі акушерства та гінекології (завідувач кафедри д.мед.н., професор О.М.Юзько). Всі клінічні, лабораторні та функціональні методи дослідження проводились на базі КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя» м. Чернівці (директор – к.мед.н., доцент Т.А.Юзько). Визначення показників імуноферментного аналізу здійснювалось у лабораторії ПП «Перша соціальна медична лабораторія «Ескулаб» (сертифікат на систему управління якості №000027 від 25.01.2021 р.).

Дизайн дослідження – проспективне, відкрите, контрольоване в пацієнок із безпліддям, яке виконувалось у чотири кроки:

##### **Крок один**

На даному етапі дослідження було проведено вибірку пацієнок для груп дослідження з 89 жінок, з яких 76 були пацієнтки із безпліддям, які проходили обстеження та лікування із застосуванням ДРТ у період з вересня 2019 р. по вересень 2021 р. Встановлення діагнозу, обстеження та лікування проводилось згідно чинних наказів МОЗ України: №787 від 09.09.2013 «Про затвердження Порядку застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні», №417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні» та № 1030/102 від 29.11.2013 «Про удосконалення системи планування сім'ї та охорони репродуктивного здоров'я в Україні». Інші 13 жінок не мали безпліддя.

Згідно мети та завдань дослідження перед ініціацією протоколу ДРТ всі пацієнтки були розподілені на 3 групи:

– до 1 групи увійшло 13 жінок, які в програмах стимуляції та пункції фолікулів слугували донорами ооцитів (контрольна);

– до 2 групи (основна група) увійшло 33 жінки зі стандартною схемою лікування (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером) та прийомом впродовж місяця до пункції препарату мелатоніну;

– до 3 групи (група порівняння) увійшло 43 пацієнтки, які отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером).

Розподіл пацієток із безпліддям на групи виконувався рандомізовано: шляхом парності чи непарності візиту у кабінет для прегравідарного консультування, так до групи порівняння потрапили непарні візити, до основної – парні.

Відповідно мети та поставлених задач пацієнтів долучали згідно критеріїв включення/виключення.

Критерії включення до дослідження: безпліддя незалежно від форми та наявність інформованої згоди жінки на включення в дослідження.

Критерії виключення з дослідження: пацієнтки з серцево-судинними захворюваннями, цукровим діабетом, захворюваннями печінки, щитоподібної залози, легень, злоякісні новоутворення в анамнезі, з алкогольною та ніотиною залежністю, когнітивними порушеннями, також з хворобами інших органів та систем, які могли б вплинути на результат дослідження, зокрема, ВІЛ-інфекція, туберкульоз, сифіліс, вірусні гепатити В та С, гострий інфекційний процес впродовж дослідження, тощо. Серед пацієток не було жінок, які працювали вночі.

### **Крок два**

На даному етапі дослідження було проведено: аналіз клініко-анамнестичної характеристики, лабораторних та інструментальних досліджень,

ембріологічних показників та частоти настання вагітності. За показаннями здійснювались консультації фахівців інших спеціальностей та проводились додаткові інструментальні методи дослідження. Середній вік 13 жінок-донорів ооцитів (контрольна група) склав  $33,4 \pm 1,3$  року, у 33 пацієток основної групи –  $31,4 \pm 1,3$  року та у 43 пацієток групи порівняння –  $32,3 \pm 1,1$  року.

Жінки були проконсультовані профільними фахівцями, за необхідності. Пацієнтки не мали протипоказань до методик ДРТ та призначення запропонованої нами медикаментозної підготовки до пункції фолікулів.

Всім пацієнткам з 2-ї та 3-ї груп було проведено:

- опитування та заповнення анкет для уточнення скарг, анамнезу хвороби та життя, огляд попередньої медичної документації;
- оцінку акушерсько-гінекологічного анамнезу, а саме: кількість вагітностей, пологів, абортів, мимовільних викиднів, ектопічних вагітностей, початок менархе, регулярність та тривалість менструального циклу та ДРТ в анамнезі;
- вимірювання маси тіла, зросту та індексу маси тіла, фізикальний огляд;
- гінекологічне дослідження, що включало: огляд зовнішніх статевих органів, шийки матки в дзеркалах, бімануальне дослідження за стандартною методикою із визначенням положення, розмірів, щільності, рухливості матки та придатків, глибини склепінь і характеру виділень;
- просту та розширену кольпоскопію;
- визначення показників загального аналізу крові, групи крові та Rh-фактору, загального аналізу сечі, основних біохімічних показників, коагулограми (фібриноген, АЧТЧ, МНВ, Д-димер), гормонального профілю (АМГ, ФСГ, ЛГ, індексу вільного тестостерону, пролактину, кортизолу, ТТГ, Т3, Т4);
- дослідження рівня антитіл (IgG) до хламідійного білку за допомогою непрямого твердофазного імуоферментного аналізу;
- визначення перенесених інфекційних захворювань, що передаються статевим шляхом (хламідіоз, мікоплазмоз, токсоплазмоз, трихомоніаз,

уреаплазмоз);

- оцінка можливих аномалій розвитку органів розвитку репродуктивної системи, порожнини матки, оваріальної недостатності, синдрому Ашермана, ендометріозу, аденоміозу, оваріальних кіст або пельвіо–перитонеальних зрощень, синдрому полікістозних яєчників, лейоміоми матки, поліпів ендометрію;

- за необхідності гістологічний аналіз біоптату тканин у разі хірургічного лікування;

- інструментальні методи дослідження та/або лікування, а саме: УЗД, кольпоскопія, гістероскопія, лапароскопія, гістерорезектоскопія за стандартними методиками.

### **Крок три**

На даному етапі нами була розроблена методологія застосування мелатоніну в пацієток із безпліддям.

### **Крок чотири**

На даному етапі нами була проведена оцінка ембріологічних показників та ефективності настання вагітності, а також впровадження результатів дослідження в клінічну практику.

Дослідження проводились з обов'язковим забезпеченням прав та свобод пацієнтів, що передбачені положенням Гельсінської декларації (Declaration of Helsinki 1964-2000), Міжнародної конференції з гармонізації (ICH) та дотриманням стандартів належної клінічної практики (GCP), наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і типового положення про комісії з питань етики». Протокол дослідження та форми первинної документації затверджено Комісією з медичної етики при Буковинському державному медичному університеті протокол № 2 від 20.10.2022 року. Порушень морально-етичних норм при проведенні дослідження не виявлено. Збір персональних даних та всі процедури проводились на основі підписання поінформованої добровільної згоди пацієнтками. Дизайн



дослідження наведено на рис. 2.1.



Рис. 2.1 Дизайн дослідження

## 2.2 Методи обстеження пацієнток із безпліддям

Збір анамнестичних даних проводився з метою визначення гінекологічної і соматичної патології шляхом опитування. Враховували особливості менструального циклу, сексуальний анамнез, перенесені гінекологічні захворювання та операції на органах малого тазу, кількість вагітностей, наявність викиднів та позаматкових вагітностей. Описувалась форма безпліддя, його тривалість, методи лікування та кількість програм ДРТ. Пацієнтки за необхідності були оглянуті терапевтом та профільними спеціалістами.

Оглядали стан зовнішніх статевих органів та тип оволосіння. Піхву та шийку матки досліджували за допомогою стерильних одноразових

гінекологічних дзеркал. Оцінювали об'єм піхви, складчастість, колір слизової оболонки та характер виділень. Фіксували стан шийки матки: наявність чи відсутність ерозій, форму та структуру шийки матки. За допомогою бімануального обстеження внутрішніх статевих органів визначали положення, розмір, рухомість, болючість при пальпації, форму та консистенцію матки, наявність патологічних утворів матки та придатків матки. Описували розмір яєчників, їхню консистенцію, симетричність, наявність чи відсутність спайкового процесу в органах малого таза та особливості будови.

### **2.3 Методи визначення мелатоніну в сироватці крові та фолікулярній рідині**

У своїх дослідженнях ми використовували набори Melatonin ELISA, виробництва IBL, Німеччина.

Основа дослідження – імуноферментна взаємодія. Тобто, антитіла до мелатоніну адсорбовані на мікролунках, а сам мелатонін в біологічних та стандартних зразках зв'язується з адсорбованими антитілами. Додаваний біотин-кон'югат зв'язується з первинно-зв'язаними антитілами. В подальшому після етапу інкубації не зв'язані антитіла вимиваються, а ті, що залишилися, зв'язуються з HPR-стрептавідин-комплексом (HPR – horseradish peroxidase, пероксидаза хрому), останній після інкубації теж вимивається та додається розчин субстрату. Пропорційно до кількості мелатоніну відбувається забарвлення продукту. Додаванням стоп-розчину ферментна реакція зупиняється. Оптична щільність вимірюється при довжині світлової хвилі 450 нм, відбудовується калібрувальна крива, за допомогою якої визначається концентрація мелатоніну в досліджуваних біологічних зразках. Для дослідження використовувався автоматичний імуноферментний аналізатор-термошейкер StatFax 2000. Матеріалом для дослідження були венозна кров і фолікулярна рідина.

## 2.4 Ультразвуковий метод дослідження

Ультразвукове дослідження (УЗД) органів малого таза пацієнткам проводили на апараті «Voluson E8 Expert», причому, як при первинному, так і при кожному наступному їх прийомі в процесі КСЯ. Усі виміри здійснювали при спорожненому сечовому міхурі у першій половині доби. Дослідження проводили за допомогою трансвагінального датчика, на який наносили ехопрозорий гель та поміщали в презерватив. При ультразвуковому дослідженні в першу фазу попереднього менструального циклу описували структуру та розміри тіла матки: довжину, ширину та передньо-задній розмір, враховували об'єм та можливі патологічні утвори, вади розвитку матки, стан ендометрія, його товщину та структуру.

Фіксували розміри яєчників, діагностували наявність патологічних утворень, оцінювали стан фолікулярного апарату, оваріальний резерв оцінювали за кількістю антральних фолікулів. В кожному яєчнику підраховували кількість фолікулів розміром від 2 до 10 мм. Об'єм яєчників визначали за загальноприйнятою формулою:

$$0,5236 \times L \times W \times T \text{ (см}^3\text{)},$$

де L - довжина,

W - ширина,

T - товщина яєчника.

У протоколі КСЯ ультразвукове дослідження проводили з 2-3 дня менструального циклу. Оцінювали структуру та розмір ендометрія, кількість і розмір антральних фолікулів перед початком протоколу. Це давало можливість визначити початкову дозу гонадотропінів у протоколах КСЯ. Наступне УЗД проводилось на 5-6 дні менструального циклу та надалі з інтервалом в 1-3 дні для оцінки кількості та розмірів фолікулів. Кожний фолікул вимірювали в двох розмірах, проведених перпендикулярно один до одного, враховували середній

діаметр кожного фолікула. Тобто, розмір 18 мм визначали як критерій зрілості фолікула та вважали показанням для призначення тригера овуляції.

Пункцію фолікулів та аспірацію фолікулярної рідини проводили в умовах пункційної під контролем трансвагінального датчика голками «COOK» (США) через 36 год після введення тригера овуляції.

Для підтвердження прогресуючої маткової вагітності при умові позитивного результату на Р-ХГЛ, через 28 днів після переносу ембріонів у порожнину матки проводили УЗД.

## **2.5 Методика визначення статевих гормонів**

Рівень гонадотропіну та гормонів репродуктивної системи визначали імуноферментним методом у лабораторії ПП «Перша соціальна медична лабораторія «Ескулаб» (сертифікат на систему управління якості № 000027 від 25.01.2021 р.). Вихідні рівні фолітропіну (ФСГ), лютропіну (ЛГ), естрадіолу (Е2), індексу вільного тестостерону (ІВТ), антимюлерового гормону (АМГ), прогестерону (П) та пролактину (ПРЛ) визначали на 2-3 день від початку менструації. Рівень гормонів у сироватці крові визначали за допомогою тест-системи «Diagnostic Systems Laboratories, Inc.» (США) з використанням імуноферментного аналізатора «StatFax». Усі зразки були досліджені двічі. Одиниці вимірювання гормонів у сироватці крові: ФСГ, ЛГ - МО/л, пролактину - мкг/л, прогестерону - нг/л, тестостерону та АМГ - нмоль/л, естрадіолу - пг/мл.

## **2.6 Аналіз фолікулярної рідини яєчників**

Аспірацію вмісту кожного фолікула проводили під контролем вагінального УЗ датчика із застосуванням спеціальної пункційної голки. У ламінарній шафі досліджували вміст фолікулярної рідини у чашках Петрі під світловим мікроскопом з метою оцінки кумулюс-ооцитних комплексів.

Верифіковані ооцити одразу переносили до живильного середовища, а далі їх поміщали в інкубатор.

## **2.7 Методика ДРТ у пацієнток із безпліддям та оцінка запліднення**

Стимуляцію яєчників проводили в протоколі з використанням антагоністів гонадотропін-релізінг-гормону з 2-3-го дня менструального циклу з використанням рекомбінантних та/або сечових гонадотропінів у добовій дозі 150-300 МО. Овуляцію ініціювали введенням тригера овуляції. Ооцити отримували в результаті трансвагінальної пункції фолікулів під контролем ультразвукового дослідження через 34-36 годин після введення овуляторної дози тригера овуляції. Пункцію фолікулів виконували під внутрішньовенним наркозом.

Рухливі сперматозоїди відбирали шляхом обробки в 2-ступінчастому градієнті щільності в середовищі Sil-Selectpeus («Ferti Pro», Бельгія), після чого для відбору сперматозоїдів використовували метод «swim up».

Для запліднення ооцитів застосовували процедуру ICSI. Клітини кумулюса видаляли м'яким піпетуванням (Flexipet Cook) через 3-4 год після забору ооцитів, використовуючи розчин гіалуронідази (Hyaluronidase in Ferticult Fluhing Medium, Бельгія). Процедура ICSI виконувалась через 1-2 години після денудації на інвертованому мікроскопі Nikon Eclipse Ti («Wild Leitz GmbH», Німеччина) з використанням системи хоффманівського модуляційного контрасту та комплекту мікроманіпуляторів Narishige («Narishige», Японія).

Культивування ембріонів здійснювали в CO<sub>2</sub>-інкубаторі при температурі 37<sup>0</sup>C у зволоженій атмосфері з 5,8% CO<sub>2</sub>. Ембріони-сібси культивували в середовищі Global («LifeGlobal Group», Бельгія). Ембріони культивували індивідуально у мікрокраплях під шаром мінеральної олії. На 3 добу після запліднення проводили заміну середовища на аналогічне свіже. Оцінювали частоту розвитку ембріонів до 4-8 клітинної стадії, компактизації та формування бластоцист у період з 2-го по 6-й день ембріонального розвитку. Зиготи та

ембріони індивідуально оцінювали під мікроскопом через 18, 45, 72 та 96 год після запліднення для оцінки їх розвитку та якості. На 5-6-ту добу розвитку проводили оцінку якості бластоцист, що сформувалися, за D. Gardner [36].

За даними ультразвукового та гормонального моніторингу визначали тривалість КОС та введення доз препаратів, а також введення тригера овуляції. В якості тригера використовували агоніст ГнРГ «Диферелін» по 0,2 мг/мл одноразово. Всі пацієнтки основної групи отримували впродовж одного місяця до пункції фолікулів препарат «Віта-мелатонін» по 3 мг внутрішньо на ніч за 30 хвилин до сну. Узагальнені протоколи стимуляції пацієток із безпліддям та в контрольній групі, а також алгоритм застосування мелатоніну представлені на рисунку 2.2.



Рис. 2.2 Схема застосування мелатоніну в пацієток у програмах контрольованої оваріальної стимуляції та пункції фолікулів

Зрілість яйцеклітин оцінювали перед заплідненням. Для запліднення використовували метод ICSI: незрілий ооцит на стадії профазі першого мейотичного поділу – GV, незрілий ооцит на стадії метафазі першого мейотичного поділу – MI, зрілий ооцит на стадії метафазі другого мейотичного поділу – MII. Через 120 год після ICSI оцінювали ефективність запліднення. Частоту запліднення вираховували як відношення зигот із двома пронуклеусами до загального числа зигот. На стадії дроблення якість ембріонів оцінювали за наявністю фрагментації цитоплазми і за кількістю бластомерів.

## **2.8 Оцінка розвитку ембріонів in vitro**

Через 48, 96, 120 годин після запліднення оцінювали якість ембріонів. Враховували показники швидкості дроблення ембріонів, симетричність бластомерів, кількість ядер і ступінь цитоплазматичної фрагментації (об'єм ембріона, який займають без'ядерні фрагменти цитоплазми). Ембріони класифікували на основі морфологічної характеристики на 4 групи, де А і В - ембріони високого класу:

- А – ембріони не містять фрагментації;
- В – ембріони мають незначну фрагментацію (до 10 %);
- С – ембріони мають виражену фрагментацію (до 50 %);
- Д – фрагментація ембріона складає більше 50 %.

Кріоконсервування ембріонів у всіх порівнюваних групах проводили з використанням набору для вітрифікації *Vitrification Media* (Kitazato Corporation, Японія), а розморожування з використанням набору *Thawing Media* (Kitazato Corporation, Японія). Процедури виконували згідно з протоколами фірми-виробника.

## **2.9 Розморожування та трансфер ембріонів в порожнину матки**

Розморожування кріоконсервованих ембріонів проводили безпосередньо в день ембріотрансферу (ЕТ).

Ультразвуковий контроль використовували при всіх ембріотрансферах в порожнину матки. Перенесли 1 або 2 ембріони в порожнину матки за допомогою катетера Cook. В подальшому пацієнткам призначали препарати прогестерону до отримання позитивного результату на Р-ХГЛ. При позитивному результаті на вагітність підтримку продовжували до 10-12 тижнів. Через 28 днів після перенесення ембріонів у порожнину матки робили УЗД органів малого таза з метою візуалізації плідного яйця в порожнині матки та наявності серцебиття плода.

Клінічну вагітність визначали при ультразвуковому дослідженні на 5-му тижні після ЕТ за наявності плідного яйця в порожнині матки, куприко-тімєнному розмірі ембріона 2-4 мм та реєстрації серцебиття.

## **2.10 Статистичний аналіз результатів**

Статистичний аналіз результатів дослідження здійснювали за допомогою комп'ютерного забезпечення з використанням програм «Microsoft Office Excel» та «Statistica 7.0». Вибір методу аналізу одержаних даних базувався на кількості груп, які включались в обстеження, правильності розподілу величин у них, а також рівностях дисперсій [181].

При проведенні аналізу у всіх випадках розрахунки проводились для двосторонньої критичної області, критичний рівень значимості прийнятий рівним 0,05.



### РОЗДІЛ 3

## РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ АМБУЛАТОРНИХ МЕДИЧНИХ КАРТ ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ, ЯКИМ ЗДІЙСНЮВАЛИ КОНТРОЛЬОВАНУ ОВАРІАЛЬНУ СТИМУЛЯЦІЮ, ПУНКЦІЮ ФОЛІКУЛІВ ТА ЗАМОРОЖУВАННЯ ЕМБРІОНІВ

Згідно мети та завдань дослідження перед ініціацією протоколу ДРТ всі пацієнтки були розподілені на 3 групи:

– до 1 групи увійшло 13 жінок, які в програмах стимуляції та пункції фолікулів слугували донорами ооцитів (контрольна);

– до 2 групи (основна група) увійшло 33 жінки зі стандартною схемою лікування (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером) та прийомом впродовж місяця до пункції препарату мелатоніну;

– до 3 групи (група порівняння) увійшло 43 пацієнтки, які отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером), але не приймали мелатонін.

У цьому розділі проведено аналіз загальноклінічних даних жінок контрольної групи та з безпліддям в програмах ДРТ.

### **3.1 Характеристика загальноклінічних даних жінок-донорів ооцитів та пацієнток із безпліддям**

Середній вік жінок першої (контрольної) групи становив  $27,08 \pm 12,38$  років, другої (приймали мелатонін) –  $33,12 \pm 8,18$  років, третьої (не приймали мелатонін) –  $30,95 \pm 7,07$  років ( $p > 0,05$ ), тобто за віком пацієнтки обстежених груп були паритетні.

Як свідчать дані табл. 3.1, частота первинного безпліддя в другій групі склала  $72,72 \pm 7,75\%$ , а в третій –  $62,79 \pm 7,35\%$  ( $p > 0,05$ ), тобто різниці ми не виявили. Частота вторинного безпліддя в другій групі ( $27,27 \pm 7,75\%$ ) в порівнянні з третьою ( $37,21 \pm 7,35\%$ ) також не мала достовірної різниці ( $p > 0,05$ ). Слід відмітити, що в обстежених нами пацієнток обох груп частота первинного безпліддя перевищувала вторинне в 2,7 рази в другій групі ( $p < 0,05$ ) та в 1,7 рази в третій групі ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.1

**Частота первинного та вторинного безпліддя в обстежених жінок**

| Безпліддя, % | Група 2, n=33    | Група 3, n=43    |
|--------------|------------------|------------------|
| Первинне     | $72,72 \pm 7,75$ | $62,79 \pm 7,35$ |
| Вторинне     | $27,27 \pm 7,75$ | $37,21 \pm 7,35$ |

Таблиця 3.2

**Причини, за якими пацієнткам із безпліддям проводилось запліднення in vitro, %**

| Причини безпліддя            | Група 2, n=33    | Група 3, n=43    |
|------------------------------|------------------|------------------|
| Ендометріоз                  | $9,09 \pm 5,03$  | $16,28 \pm 5,74$ |
| Трубний фактор               | $21,21 \pm 7,11$ | $37,21 \pm 7,45$ |
| Чоловічий фактор             | $15,15 \pm 6,35$ | $23,26 \pm 6,53$ |
| Звичне невиношування         | $6,06 \pm 4,14$  | $2,33 \pm 2,24$  |
| Синдром полікістозу яєчників | $12,12 \pm 5,75$ | $11,63 \pm 4,94$ |
| Неясного генезу              | $12,12 \pm 5,73$ | $4,65 \pm 3,23$  |
| Знижений резерв              | $18,18 \pm 6,74$ | $4,65 \pm 3,25$  |
| Донорська сперма             | $3,03 \pm 3,01$  | -                |
| Матковий фактор              | $3,03 \pm 3,02$  | -                |

Якщо розглянути чинники безпліддя, що зумовили застосування запліднення in vitro в обстежених пацієнток (табл. 3.2), слід констатувати, що в третій групі, жінки, якої не приймали мелатонін, в 1,8 рази частіше спостерігався

ендометріоз, в 1,75 раза – трубний фактор, в 1,5 раза – чоловічий фактор, в той час як у другій групі, пацієнтки якої приймали мелатонін, в 2,6 рази частіше спостерігалось звичне невиношування та безпліддя неясного походження, у 3,9 рази – знижений оваріальний резерв, але різниця недостовірна ( $p > 0,05$ ). При синдромі полікістозу яєчників різниці між групами не було. Донорська сперма застосовувалась в однієї пацієнтки другої групи, також у однієї пацієнтки цієї групи причиною безпліддя в програмі запліднення *in vitro* був матковий фактор.

Таблиця 3.3

**Супутня екстрагенітальна патологія в обстежених пацієнток, %**

| Показники                                | Група 2, n=33 | Група 3, n=43 |
|--|---------------|---------------|
| Патологія щитоподібної залози:           |               |               |
| аутоімунний тиреоїдит                    | 6,06 ± 4,13   | -             |
| гіпотиреоз                               | 3,03 ± 3,03   | -             |
| зоб                                      | 15,15 ± 6,31  | 6,98 ± 3,92   |
| гіпертиреоз                              | 3,03 ± 3,01   | -             |
| Патологія сечовидільної системи:         |               |               |
| пієлонефрит                              | 15,15 ± 6,33  | 4,65 ± 3,24   |
| цистит                                   | 3,03 ± 3,02   | -             |
| Ожиріння                                 | 15,15 ± 6,32  | 2,33 ± 2,24   |
| Серцево-судинна патологія                | 6,06 ± 4,13   | 9,30 ± 4,54   |
| Патологія шлунково-кишкового тракту      | 6,06 ± 4,12   | 4,65 ± 3,23   |
| Холецистит                               | 3,03 ± 3,01   | 4,65 ± 3,24   |
| Варикозне розширення вен нижніх кінцівок | 3,03 ± 3,02   | 2,33 ± 2,25   |

Як свідчать дані табл. 3.3, кількість супутньої екстрагенітальної патології, в основному, суттєво за групами не відрізнялась, за винятком зобу в пацієнток другої групи, який зустрічався частіше в 2,2 раза, а пієлонефрит – у 3,3 раза, хоча різниця була недостовірною ( $p > 0,05$ ).

Оцінюючи результати ультразвукового дослідження яєчників, товщини ендометрію, слід відмітити (табл. 3.4). що кількість антральних фолікулів (КАФ) у жінок контрольної групи в правому яєчнику склала  $11,34 \pm 0,47$ , що вірогідно більше ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з КАФ в правому яєчнику в пацієнок другої групи ( $6,92 \pm 1,05$ ) та третьої групи ( $7,74 \pm 0,91$ ). Аналогічна ситуація була з КАФ в лівому яєчнику. Що стосується товщини ендометрію, то в жінок контрольної групи вона була меншою ( $5,43 \pm 0,13$  мм) у порівнянні з товщиною ендометрію в пацієнок другої ( $7,13 \pm 1,06$  мм) та третьої ( $6,92 \pm 0,92$  мм) груп. Хоча різниця була недостовірною ( $p > 0,05$ ).

Слід відмітити, що в жінок контрольної групи, з відсутністю безпліддя, вірогідно більшою була кількість антральних фолікулів як в правому ( $11,34 \pm 0,47$ ), так і в лівому ( $11,25 \pm 0,47$ ) яєчниках у порівнянні з групою 2 та групою 3, тобто, з жінками, які мали безпліддя, відповідно,  $6,92 \pm 1,05$  та  $7,24 \pm 1,06$ ,  $7,74 \pm 0,91$  та  $7,93 \pm 0,91$ . Що стосується товщини ендометрія, то вірогідної різниці по групам ми не знайшли: група 1 –  $5,43 \pm 0,13$  мм, група 2 –  $7,13 \pm 1,06$  мм, група 3 –  $6,92 \pm 0,92$  мм.

Таблиця 3.4

**Показники ультразвукового дослідження (М ± m)**

| Показник   | Група 1, n=13      | Група 2, n=33   | Група 3, n=43   |
|--|--------------------|-----------------|-----------------|
| <u>Кількість антральних фолікулів у яєчнику:</u> |                    |                 |                 |
| правий   | $11,34 \pm 0,47^*$ | $6,92 \pm 1,05$ | $7,74 \pm 0,91$ |
| лівий  | $11,25 \pm 0,47^*$ | $7,24 \pm 1,06$ | $7,93 \pm 0,91$ |
| Ендометрій, мм                                   | $5,43 \pm 0,13$    | $7,13 \pm 1,06$ | $6,92 \pm 0,92$ |

Примітка: \* – достовірною різниця між групами 1 і 2, 1 і 3 ( $p < 0,05$ )

### 3.2 Гормональний статус у обстежених жінок-донорів ооцитів та пацієток із безпліддям

Таблиця 3.5

#### Вміст гормонів у крові обстежених пацієток (M ± m)

| Показник     | Група 1, n=13 | Група 2, n=33 | Група 3, n=43 |
|--------------|---------------|---------------|---------------|
| ФСГ, мМО/мл  | 4,54 ± 0,69*  | 7,45 ± 0,56   | 8,01 ± 0,63   |
| ЛГ, мОд/мл   | 5,82 ± 0,83   | 19,63 ± 0,75* | 8,75 ± 0,58   |
| Е2, пг/мл    | 46,33 ± 6,64  | 66,21 ± 7,31  | 52,74 ± 4,12  |
| Прл, нг/мл   | 12,45 ± 1,68  | 17,99 ± 1,49  | 18,78 ± 1,48  |
| П, нг/мл     | -             | 0,59 ± 0,052  | 0,39 ± 0,047  |
| АМГ, нг/мл   | 4,21 ± 0,57   | 3,30 ± 0,29   | 8,35 ± 0,26*  |
| ТТГ, нмоль/л | -             | 1,82 ± 0,16   | 1,51 ± 0,11   |
| Т4, нмоль/л  | -             | 2,48 ± 0,40   | 2,52 ± 0,24   |

Примітка: \* – достовірна різниця ( $p < 0,05$ )

Щодо вивчення гормонального стану слід відмітити (табл. 3.5), що суттєвої різниці в показниках вмісту гормонів у крові обстежених нами жінок ми не виявили. В той же час ми відмітили вірогідно менший вміст ФСГ в сироватці крові у пацієток групи 1 ( $4,54 \pm 0,69$  мМО/мл) у порівнянні з пацієтками групи 2 ( $7,45 \pm 0,56$  мМО/мл) та групи 3 ( $8,01 \pm 0,63$  мМО/мл) ( $p < 0,05$ ). Вірогідно, ( $p > 0,05$ ) більшим був вміст ЛГ в сироватці крові в пацієток групи 2 ( $19,63 \pm 0,75$  мОд/мл) в порівнянні з групою 1 ( $5,82 \pm 0,83$  мОд/мл) та групою 3 ( $8,45 \pm 0,58$  мОд/мл). Вірогідно, ( $p < 0,05$ ) більшим був вміст АМГ в сироватці крові в пацієток групи 3 ( $8,35 \pm 0,26$  нг/мл) в порівнянні з групою 1 ( $4,21 \pm 0,57$  нг/мл) та групою 2 ( $3,30 \pm 0,29$  нг/мл).

Вміст гормонів у крові в здорових жінок-донорів ооцитів в цілому не відрізнявся від пацієток груп 2 та 3, за виключенням вмісту ФСГ у них, який був, вірогідно, меншим, відповідно,  $4,54 \pm 0,69$  мМо/мл,  $7,45 \pm 0,56$  мМо/мл та  $8,01 \pm 0,63$  мМо/мл.

Обстежені нами жінки контрольної групи, а також пацієнтки з безпліддям, які за два тижні до очікуваної менструації та під час стимуляції овуляції отримували препарат мелатонін, та пацієнтки з безпліддям, які в аналогічних програмах не отримували даний препарат, не відрізнялись за віком, частотою первинного та вторинного безпліддя, за чинником, що призвів до безпліддя, супутньою екстрагенітальною патологією, показниками оварального резерву та рівнем гормонів репродуктивної панелі. Тобто, були паритетними в проведеному нами дослідженні.

В контрольній групі була прослідкована ефективність по настанню вагітності в жінок-реципієнтів донорських ооцитів. Жінкам контрольної групи була проведена стандартна процедура контрольованої оваріальної стимуляції з подальшою пункцією фолікулів та забором яйцеклітин. В подальшому отримані ооцити були запліднені, прослідковано розвиток ембріонів, в подальшому вони були кріоконсервовані, розморожені за необхідності, та проведено ембріотрансфер жінкам-реципієнтам.

Жінки з безпліддям в групі порівняння також отримували за стандартною схемою контрольовану стимуляцію яєчників, проведено забір ооцитів, процедура ICSI, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером. Різниця була в тому, що в контрольній групі отримані ембріони були перенесені іншим жінкам, а в групі порівняння тим, у яких і були отримані ембріони.

Результат настання вагітності в даних групах представлений в таблиці 3.6.

*Таблиця 3.6*

**Частота настання вагітності в жінок обстежених груп (M ± m)**

| Показник                   | Контрольна група,<br>n=13 | Група порівняння,<br>n=43 |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Вагітність на трансфер, %  | 80,0 ± 11,01              | 60,6 ± 8,25*              |
| Вагітність у загальному, % | 100,0                     | 68,9 ± 8,05*              |

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , вірогідна різниця

Отримані нами дані свідчать, що у здорових жінок контрольної групи частота настання вагітності була, вірогідно, вищою ( $p < 0,05$ ) як на трансфер, так і в цілому: відповідно, в групі контрольній  $80,0 \pm 11,01\%$  та  $100,0\%$ , в групі порівняння  $60,6 \pm 8,25\%$  та  $68,9 \pm 8,05\%$ . Тобто, ми отримали кращі показники по настанню вагітності з ооцитами та ембріонами, які отримані від здорових безпліддя жінок, враховуючи, що ембріотрансфер проводили жінкам-реципієнтам, які страждали на безпліддя.

На основі наведених у розділі 3 даних можна зробити наступні висновки:

1. Аналіз особливостей, соматичної та репродуктивної функцій у обстежених жінок із безпліддям засвідчив:

1.1. Частота первинного безпліддя достовірно перевищувала вторинне в 2,7 рази в другій групі та в 1,7 рази в третій групі.

1.2. В третій групі, жінки якої не приймали мелатонін, в 1,8 рази частіше спостерігався ендометріоз, в 1,75 рази – трубний фактор, в 1,5 рази – чоловічий фактор, в той час як у другій групі, пацієнтки якої приймали мелатонін, в 2,6 рази частіше спостерігалось звичне невиношування та безпліддя неясного походження, у 3,9 рази – знижений оваріальний резерв, але різниця була недостовірною.

1.3. Кількість супутньої екстрагенітальної патології, в основному, суттєво за групами не відрізнялась, за винятком зобу в пацієнток другої групи, який зустрічався частіше в 2,2 рази, а пієлонефрит – у 3,3 рази, хоча різниця була недостовірною.

1.4. Кількість антральних фолікулів (КАФ) у жінок контрольної групи в правому яєчнику склала  $11,34 \pm 0,47$ , що вірогідно більше в порівнянні з КАФ в правому яєчнику в пацієнток другої групи ( $6,92 \pm 1,05$ ) та третьої групи ( $7,74 \pm 0,91$ ). Аналогічна ситуація була з КАФ в лівому яєчнику.

1.5. Товщина ендометрію в жінок контрольної групи була меншою ( $5,43 \pm 0,13$  мм) в порівнянні з товщиною ендометрію в пацієнток другої ( $7,13 \pm 1,06$  мм) та третьої ( $6,92 \pm 0,92$  мм) груп, хоча різниця була недостовірною.

2. Вивчення гормонального стану показало, що суттєвої різниці в показниках вмісту гормонів у крові обстежених нами жінок ми не виявили, за виключенням достовірної різниці щодо вмісту в сироватці крові ФСГ, ЛГ та АМГ між першою, другою та третьою групами.

**Матеріали даного розділу відображено в роботах:**

1. Юзько ВО, Юзько ОМ. Порівняльна характеристика пацієток із безпліддям при застосуванні мелатоніну в комплексній підготовці до програм допоміжних репродуктивних технологій. Буковинський медичний вісник. 2021;25(3):149-56. doi: [10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.23](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.23)

2. Yuzko VO, Yuzko OM, Yuzko TA, Pryimak SH, Voloshynovych NS, Chobaniuk SI. Comparative characteristics of patients with infertility when applying melatonin in complex preparation for assisted reproductive technologies. Journal of Medicine and Life. 2022;15(8):1013-7. doi: [10.25122/jml-2022-0154](https://doi.org/10.25122/jml-2022-0154)

3. Юзько ОМ, Юзько ВО. Тонкий ендометрій – складності проблеми і підходи до лікування. Жіночий лікар. 2022; 4(102):6-12. <https://zhinochylikar.com/article/35/tonkij-endometrij-skladnosti-problemi-i-pidhodi-v-likuvanni/>.

4. Юзько ВО. Оцінка оваріального резерву. В: Матеріали 101-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2020 Лют 10, 12, 17; Чернівці. Чернівці; 2020, с. 245. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-101/paper/view/21345>.

5. Юзько ВО. Синдром порожнього фолікула. Клінічний випадок. В: Матеріали 102-ї підсумкової науково-практичної конференції з міжнародною участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2021 Лют 08, 10, 15; Чернівці. Чернівці; 2021, с. 241-2. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-102/paper/view/23420/12653>.

6. Yuzko VO. Comparative characteristics of patients with infertility when applying melatonin in complex preparation for assisted reproductive programs. В: Матеріали 103-ї підсумкової науково-практичної конференції з міжнародною



участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2022 Лют 07, 09, 14; Чернівці. Чернівці; 2022, с. 238.  
<http://conference.bsmu.edu.ua/conf-103/paper/view/25749/14410>.

## РОЗДІЛ 4

### РІВЕНЬ МЕЛАТОНІНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА ФОЛІКУЛЯРНІЙ РІДИНІ В ОБСТЕЖЕНИХ ЖІНОК

Як свідчать дані, наведені у табл. 4.1, рівень мелатоніну в крові у жінок першої (контрольної) групи (жінки-донори ооцитів) становив  $130,85 \pm 16,91$  пг/мл, а в жінок другої групи, які за два тижні до та під час стимуляції овуляції приймали препарат мелатоніну, склав  $143,06 \pm 14,87$  пг/мл, а в жінок третьої групи, які не приймали препарат мелатоніну та стимулювались по аналогічній схемі, склав  $123,40 \pm 12,65$  пг/мл, що, вірогідно, менше ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з другою групою, жінки якої приймали мелатонін. В третій групі рівень мелатоніну в крові не відрізнявся від показників першої (контрольної) групи ( $p > 0,05$ ).

*Таблиця 4.1*

#### Рівні мелатоніну (пг/мл) в крові та фолікулярній рідині обстежених жінок ( $M \pm m$ )

| Показник                        | Група 1, n=13      | Група 2, n=33        | Група 3, n=43      |
|---------------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Мелатонін у крові               | $130,85 \pm 16,91$ | $143,06 \pm 14,87$ * | $123,40 \pm 12,65$ |
| Мелатонін у фолікулярній рідині | $97,15 \pm 8,69$   | $39,46 \pm 4,52$ *   | $62,34 \pm 3,94$   |

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , між групами 2 і 3

Рівень мелатоніну в фолікулярній рідині (табл. 4.1) у жінок першої (контрольної) групи склав  $97,15 \pm 8,69$  пг/мл, другої –  $39,46 \pm 4,52$  пг/мл, що суттєво менше ( $p < 0,05$ ). В третій групі, жінки якої не приймали мелатонін, його рівень в фолікулярній рідині становив  $62,34 \pm 3,94$  пг/мл, що майже вдвічі більше ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з жінками, які приймали мелатонін, але менше ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з першою (контрольною) групою.

На основі наведених у розділі 4 даних можна зробити наступні висновки:

1. Ми знайшли, що рівень мелатоніну в сироватці крові у жінок другої групи (приймали препарат мелатоніну) був, вірогідно, більшим в порівнянні з групою 1 (контрольна) та групою 3 (не приймали препарат мелатоніну). В третій групі рівень мелатоніну в крові не відрізнявся від показників першої (контрольної) групи.

2. Рівень мелатоніну у фолікулярній рідині у жінок другої групи (приймали мелатонін) був достовірно меншим у порівнянні з першою та третьою групами, жінки яких не приймали мелатонін.

3. Отриманий нами низький рівень мелатоніну в фолікулярній рідині в жінок, які проходили стимуляцію овуляції в програмах ДРТ при лікуванні безпліддя, потребує подальшого дослідження та наукового трактування.

#### **Матеріали даного розділу відображено в роботах:**

1. Юзько ВО. Рівень мелатоніну в крові та фолікулярній рідині в жінок із безпліддям у програмах допоміжних репродуктивних технологій та ефективність його застосування. Буковинський медичний вісник. 2021;25(2):117-22. doi: [10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19)

2. Yuzko VO. Study of melatonin in blood and follicular liquid in women with infertility in assisted reproductive technology programs. Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference I International scientific theoretical conference Formation of innovative potential of world science; 2021 May 7; Tel Aviv, State of Israel. SCIENTIA. 2021;2:94-6. doi: [10.36074/scientia-07.05.2021](https://doi.org/10.36074/scientia-07.05.2021).

## РОЗДІЛ 5

### ЕМБРІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА ЧАСТОТА НАСТАННЯ ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ В ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ МЕЛАТОНІНУ

#### 5.1 Розподіл пацієток із безпліддям для проведення дослідження

В даному розділі ми проаналізували ембріологічні показники та частоту настання вагітності в жінок із безпліддям в програмах ДРТ при застосуванні мелатоніну в пацієток із двох груп:

- в групі 2 (основна група) пацієтки отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером) та приймали впродовж місяця до пункції препарат мелатоніну, яка в подальшому означалась як група «А»;

- в групі 3 (група порівняння) пацієтки отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером) та не приймали мелатонін, яка в подальшому означалась як група «Б».

Розподіл на групи «А» та «Б» обумовлений необхідністю аналізу вищезазначених показників, саме в пацієток із безпліддям в програмах ДРТ, з використанням або без використання мелатоніну. Відповідно, пацієтки контрольної групи, тобто здорові жінки-донори ооцитів не враховувались. До групи «А» було відібрано 29 жінок, а до групи «Б» – 38.

## 5.2 Якість ооцитів та бластоцист у програмах запліднення в жінок із безпліддям при використанні мелатоніну

Після пункції фолікулів у пацієток групи «А» ми отримали 451 яйцеклітину, а в групі «Б» – 616. Результати дослідження їх зрілості наведені в рис. 5.1. Як свідчать отримані дані, у пацієток групи «А» зрілих яйцеклітин було  $83,4 \pm 6,9\%$  від усіх отриманих, а в пацієток групи «Б» –  $81,5 \pm 6,3\%$ , що дещо менше, але вірогідної різниці ми не знайшли ( $p > 0,05$ ).

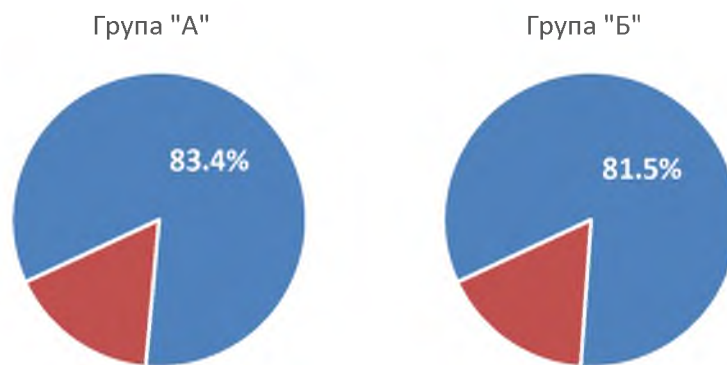


Рис. 5.1 Зрілість отриманих яйцеклітин

В рис. 5.2 представлені результати дослідження отриманих зрілих яйцеклітин.

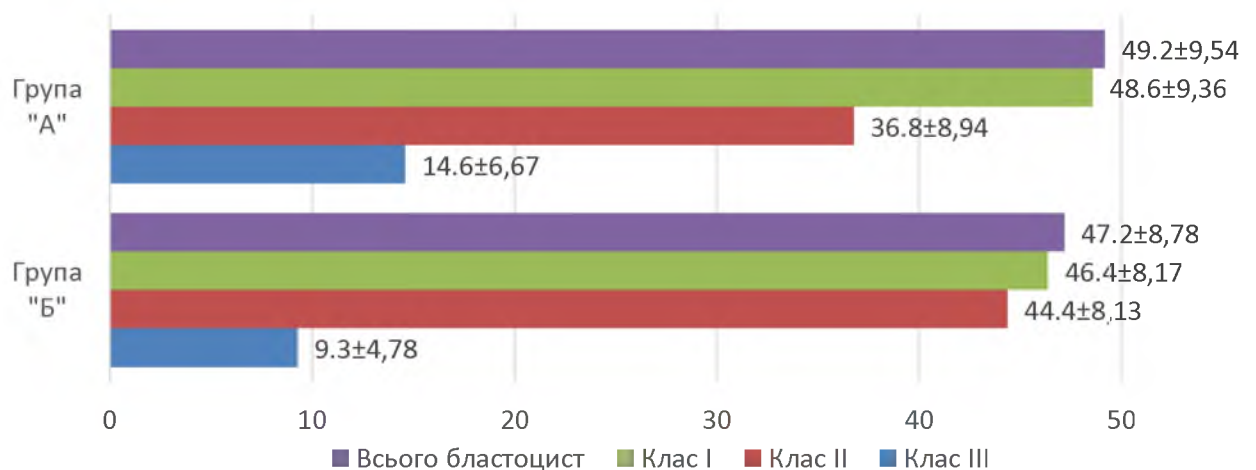


Рис. 5.2 Кількість та якість отриманих бластоцист

Так, в процесі інкубації в пацієток групи «А» ми отримали 185 бластоцист, що склало  $49,2 \pm 9,5\%$ , а в пацієток групи «Б» – 237 ( $47,2 \pm 8,7\%$ ),

що дещо менше в порівнянні з групою «А», але достовірної різниці нами не було виявлено ( $p > 0,05$ ). Якщо розглянути якість отриманих бластоцист від всіх зрілих яйцеклітин по класам, картина наступна: клас I в пацієток групи «А» склав  $48,6 \pm 9,3\%$ , а в пацієток групи «Б» –  $46,4 \pm 8,1\%$ , тобто дещо менше, але вірогідної різниці не було ( $p > 0,05$ ), відповідно, клас II –  $36,8 \pm 8,9\%$  та  $44,4 \pm 8,1\%$ , клас III –  $14,6 \pm 6,6\%$  та  $9,3 \pm 4,7\%$ . Тобто у пацієток групи «А» утворилось дещо менше бластоцист класу II, але більше класу III в порівнянні з пацієтками групи «Б», але різниця була не достовірною ( $p > 0,05$ ).

### 5.3 Частота настання вагітності в пацієток із безпліддям і програмах запліднення в двох порівнювальних групах

Результати дослідження по частоті настання вагітності наведені в рис. 4.3.

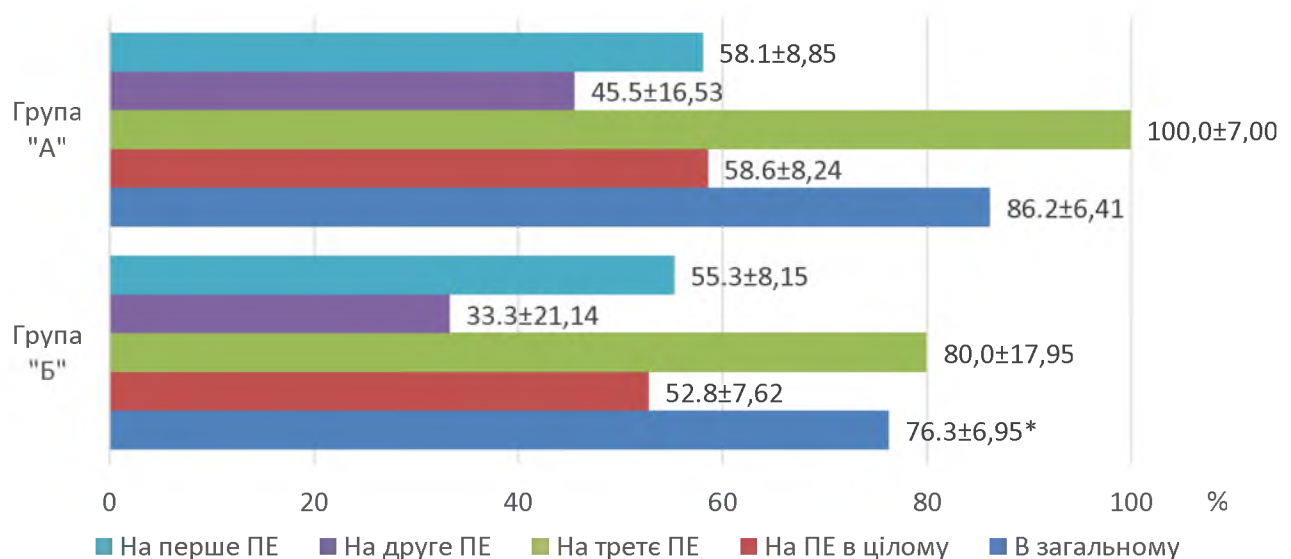


Рис. 5.3 Частота настання вагітності на перенесення ембріонів по їх послідовності та в цілому, а також вагітність в загальному

Примітка: \* – вірогідна різниця,  $p < 0,05$

Так, частота настання вагітності на перше перенесення ембріонів у пацієток групи «А» була  $56,1 \pm 8,85\%$ , що дещо більше в порівнянні з даним показником у пацієток групи «Б» ( $55,3 \pm 8,15\%$ ), але різниця була не достовірною ( $p > 0,05$ ). Аналогічна ситуація спостерігалась з частотою настання

вагітності на друге перенесення ембріонів (відповідно,  $45,5 \pm 16,53\%$  та  $33,3 \pm 21,14\%$ ) та третє –  $100,0 \pm 7,00\%$  та  $80,0 \pm 17,95\%$ , хоча при всіх трьох перенесеннях ембріонів ми не змогли відмітити вірогідність різниці по групам ( $p > 0,05$ ). Частота настання вагітності на всі перенесення ембріонів в цілому в групі «А» була  $56,8 \pm 8,24\%$ , а в групі «Б» –  $52,8 \pm 7,62\%$ , що дещо менше в порівнянні з групою «А», але без вірогідної різниці ( $p > 0,05$ ). А от що стосується загальної частоти настання вагітності, то в групі «А» вона склала  $86,2 \pm 6,41\%$ , що, вірогідно, ( $p < 0,05$ ) більше у порівнянні з даним показником в групі «Б» ( $76,3 \pm 6,95\%$ ).

Таким чином, за результатами проведеного нами дослідження по кількості зрілих яйцеклітин та отриманих з них якісних бластоцист слід визнати, що застосування мелатоніну може бути корисним для покращення ембріологічних показників в програмах ДРТ при лікуванні безпліддя. Дозрівання яйцеклітин у фолікулярній рідині супроводжується активацією окислювальних процесів, а при індукції суперовуляції перекисне окислення ліпідів і білків збільшується в десятки разів. Сам окислювальний стрес (ОС) має руйнівну цитотоксичною дію та активує апоптоз [43].

Природні антиоксиданти традиційно з успіхом застосовуються в медицині [44, 45]. Мелатонін (від лат. *melas* – чорний) – локальний антиоксидант, який синтезується в мітохондріях. По суті, це гормон фотоперіодичності, що виробляється переважно вночі [46, 47, 48, 49]. Мелатонін є потужним ендogenousним адаптогеном, що має імуномодулюючу та мембраностабілізуючу дію, нормалізує проникність стінки судин, покращує мікроциркуляцію ендотелію, нормалізує гемодинамічні процеси [50, 51, 52].

В останні десятиліття активно вивчається роль мелатоніну як прямого інгібітора вільних радикалів у репродуктивній фізіології. Повідомлялось, що під час проведення стимуляції суперовуляції вміст мелатоніну в фолікулярній рідині у декілька разів перевищує його рівень у сироватці крові [53]. Тобто, мова йде про протекторний вплив на зріючу яйцеклітину за рахунок зменшення ОС [54] напевно, за рахунок нейтралізації вільних радикалів [18, 55], оскільки

антиоксидантні властивості гормону перевершують інші антиокислювачі, такі як глутатіон, манітол і вітамін Е [56]. Мелатонін є ефективним нейтралізатором вільних радикалів токсичних реагентів на основі кисню, гідроксильних радикалів та азотистих сполук, збільшує ефективність переходу електронів між мітохондріальними дихальними комплексами, які є основними продуцентами вільних радикалів [57]. Мелатонін має непряму дію за рахунок стимуляції утворення антиоксидантних ферментів і глутатіону як важливого інтрацелюлярного антиокислювача. Кілька метаболітів мелатоніну, які утворюються в процесі нейтралізації ушкоджуючих агентів, самі є акцепторами вільних радикалів [17, 58].

І хоча доказова база ефективності застосування мелатоніну тільки формується, позитивні результати захисту яйцеклітин від вільних радикалів для збереження їх якості відомі [59, 60, 61]. Аналіз частоти настання вагітності у пацієток, які отримували мелатонін, також засвідчив, що вона була вищою. Це корелює з результатами досліджень інших авторів [35, 41, 62, 63].

Отримані нами результати дослідження, що висвітлені в розліді 5, свідчать про наступне:

1. У пацієток групи «А» тобто, які приймали мелатонін, зрілих яйцеклітин було  $83,4 \pm 6,9\%$  від усіх отриманих, а в пацієток групи «Б» –  $81,5 \pm 6,3\%$ , що дещо менше, але вірогідної різниці ми не знайшли.

2. Що стосується якості отриманих нами в процесі запліднення бластоцист від всіх зрілих яйцеклітин по класам, то слід підкреслити, що в пацієток групи «А» ми отримали дещо менше бластоцист класу II, але більше класу III в порівнянні з пацієтками групи «Б», але різниця була не достовірною.

3. Частота настання вагітності на перше перенесення ембріонів у пацієток групи «А» була дещо більшою в порівнянні з даним показником у пацієток групи «Б», але різниця була не достовірною. Аналогічна ситуація спостерігалась з частотою настання вагітності на друге та третє перенесення ембріонів, хоча при всіх трьох перенесеннях ембріонів ми не змогли відмітити вірогідної різниці.



Частота настання вагітності на всі перенесення ембріонів в цілому в групі «А» була більшою в порівнянні з групою «Б», але без вірогідної різниці.

4. Загальна частота настання вагітності в групі «А» була вірогідно більшою в порівнянні з даним показником в групі «Б».

5. По кількості зрілих яйцеклітин та отриманих з них якісних бластоцист за результатами проведеного нами дослідження слід визнати, що застосування препаратів мелатоніну, які використовують пацієнтки з безпліддям перед та під час проведення контрольованої оваріальної стимуляції в програмах ДРТ, може бути корисним для покращення ембріологічних показників.

6. Застосування препаратів мелатоніну в програмах підготовки пацієнток з безпліддям до проведення контрольованої оваріальної стимуляції показало свою ефективність щодо настання вагітності.

#### **Матеріали даного розділу відображено в роботах:**

1. Юзько ВО, Юзько ОМ. Результати запліднення *in vitro* в пацієнток із безпліддям при використанні мелатоніну. Клінічна та експериментальна патологія. 2022;21(2):34-8. doi: [10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.06](https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.06)

2. Юзько ВО, Юзько ОМ, Юзько ТА, Чемьоркіна ІВ, Андрієць ОА. Ембріологічні показники та частота настання вагітності у жінок із безпліддям в програмах допоміжних репродуктивних технологій при застосуванні мелатоніну. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 2022; XII, 3(45):16-21. doi: [10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.2](https://doi.org/10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.2)

## АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

В ХХІ сторіччі безпліддя подружньої пари є не тільки важливою медичною, але й соціальною проблемою [30]. Народжуваність в Україні постійно зменшується. Так у 2019-му році щомісяця в середньому народжувалося 25,7 тисяч немовлят, у 2020-му році – 24,5 тисячі, у 2021-му – 22 тисячі, у першій половині 2022-го – 21,4 тис. Загалом, у 2021 році в Україні народилося 271984 дитини, а це найгірша народжуваність, яка була зафіксована за останні роки [71].

Зменшення частоти безплідних шлюбів є одним із важливих резервів у підвищенні народжуваності, що підтверджує медико-демографічну важливість проблеми [126]. Відомо, що при частоті 15%-20% та вище, безплідний шлюб впливає на демографічні показники значно більше, ніж невиношування та перинатальні втрати разом [143, 168]. Частота безпліддя в поліклінічних закладах досягає 29,1% [86, 113]. Слід врахувати, що з віком збільшується вірогідність вагітності та пологів. Так, 13% одружених жінок у віці 20-30 років та 32% жінок у віці 40-44 роки відмічають їх особисте бажання щодо обмеження фертильності [71,128]. В Україні середній вік народження первістка наближається до 30 років. А кількість жінок, які вирішили відчути материнство після 40, стало у два з половиною рази більше, ніж 20 років тому. Рівень безплідних шлюбів серед вікових груп жінок неоднозначний: у віці 15-24 років становить 4,1%, у віці 25-34 – 13,1%, у віці 35-44 – 21,4% [128, 147]. Отже, аналіз літературних даних відносно розповсюдженості безпліддя свідчить про широкую варіабельність результатів навіть в межах однієї країни, що є не тільки показником популяційних відмінностей, але також відображає неадекватність та недосконалість існуючих методів дослідження.

Причиною безплідного шлюбу в 40-50% випадків є патологія в одного з подружжя, в 25-30% – в обох, у 10-15% випадків її встановити не вдається. У жінок у 50-82% випадків діагностується поєднане безпліддя. Трубно-перитонеальна форма безпліддя, яка зумовлена анатомо-функціональним ураженням маткових труб і тазової очеревини з формуванням злукового процесу

в малому тазі, посідає провідне місце в структурі жіночого безпліддя та становить 38-64 % [ 7, 8, 10]. Проте, серед етіологічних чинників неплідності ще виокремлюють такі жіночі фактори, як: ендокринний (30-56%), та інші причини безпліддя, які включають зовнішній генітальний ендометріоз (1-6%), матковий фактор (15%), шийковий фактор (1-4%) та чоловічі чинники різного генезу (32-45%); на частку ідіопатичного безпліддя припадає 5-10% [6, 34, 154].

Впродовж десятиліть вчені пов'язували зниження фертильності у жінок зі зменшенням числа яйцеклітин в яєчниках. Вже з 27 років починається втрата ооцитів, а пік цього незворотнього процесу спостерігають в 35-37 років. У зв'язку з цим, лікування безпліддя необхідно здійснювати своєчасно за допомогою сучасних методів, що довели свою ефективність в швидкому і успішному досягненні вагітності [19, 166].

Сучасні підходи до діагностики та лікування безпліддя засновані на знанні фундаментальних основ фізіології репродуктивної системи жінки, що припускають зниження репродуктивного потенціалу і здібності до зачаття із збільшенням віку [3, 5, 128]. Незалежно від причини і рівня пошкодження репродуктивної системи, формування безпліддя обумовлене наявністю основної або поєднанням декількох причин. Ключовими причинами слід вважати такі стани: 1) незрілі ооцити; 2) непрохідність маткових труб; 3) неспроможність ендометрію до імплантації ембріона; 4) недостатня кількість сперматозоїдів в порожнині матки та маткових трубах, що необхідно для запліднення, зумовлена олігоспермією, порушенням властивостей шийкового слизу) [5, 34, 142].

Тенденції останніх десятиліть наступні: у випадку, коли тривалість лікування вже перевищує один рік, не слід застосовувати методи з невисокою ефективністю (наприклад, кломіфен цитрат, фізіотерапію, штучну інсемінацію без індукції овуляції), а одразу застосовувати методи з доведеною високою ефективністю (контрольована індукція овуляції гонадотропінами та IVF, штучна інсемінація з індукцією овуляції, лапароскопія з подальшою індукцією овуляції) [1, 6, 128]. У лікувальному циклі з використанням репродуктивних технологій, під дією фармацевтичних препаратів концентрація ФСГ підтримується на

постійному або зростаючому рівні, вікно ФСГ розширюється, що призводить до росту декількох фолікулів [34, 46, 111]. Фолікули діаметром більше 14 мм стають чутливими до ЛГ і у відповідь на пікоподібне підвищення концентрації лютеїнізуючого гормону можуть лютеїнізуватися. Під дією тригера овуляції у фолікулі відбуваються зміни, що ведуть до його зрілості через 38-42 години, а також відбувається дозрівання ооцита (завершення першого ділення мейозу), що робить його готовим до запліднення. Для індукції кінцевого дозрівання фолікула використовуються препарати ХГЛ або агоністи ГнРГ, що викликають викид ендогенного ЛГ [9, 11, 114].

Оваріальний резерв – важлива складова репродуктивного потенціалу жінок, що полягає в можливості яєчників забезпечувати зростання повноцінних фолікулів, що містять здорові, здатні до запліднення яйцеклітини. Чим вище оваріальний резерв, тим менші концентрації ФСГ необхідні для індукції одного доміантного фолікула, тим більше фолікулів може вирости під дією високих доз індукторів овуляції [44, 82].

У міру природньої втрати примордіальних фолікулів, фолікулярний резерв знижується з віком, наближаючись до критичного після 38 років. Крім віку, на стан оваріального резерву впливають наступні чинники: 1) генетичні; 2) операції на яєчниках; 3) деякі автоімунні захворювання (автоімунний тиреоїдит, діабет та ін.); 4) несприятливі екзогенні чинники (куріння, професійної шкідливості та ін.) [106].

Низький оваріальний резерв передбачається, якщо: вік пацієнтки перевищує 35 років; рівень ФСГ на 2-3 день менструального циклу більше 10 МО/Л; число базальних фолікулів < 10 мм в діаметрі на 2-3 день менструального циклу менше 5 в кожному яєчнику; об'єм яєчників менше 8 см<sup>3</sup> [106]. Таких пацієнток називають пацієнтками з потенційно «бідною відповіддю». Їм потрібні вищі дози гонадотропінів для індукції овуляції. У них не слід чекати множинного росту фолікулів. Частота настання вагітності знижена [76, 77].

Високий оваріальний резерв передбачається, якщо: вік пацієнтки менше 30 років; рівень ФСГ на 2-3 день менструального циклу менше 8 МО/л; число

базальних фолікулів <10 мм в діаметрі на 2-3 день менструального циклу більше 10 в кожному яєчнику; об'єм яєчника більше 12 см<sup>3</sup>. Таких пацієток називають пацієтками з хорошою відповіддю, яким потрібні низькі дози гонадотропінів для індукції росту. У них висока вірогідність множинного росту фолікулів і синдрому гіперстимуляції яєчників, якщо стартова доза виявиться завищеною. Найчастіше застосовується рекомбінантний фолікулостимулюючий гормон (рФСГ). Оскільки використовується мінімальна доза гонадотропінів, то при її застосуванні практично немає ризику розвитку СГЯ [138].

Чим менший оваріальний резерв, тим менша популяція фолікулів. З кожним роком життя жінки знижується якість ооцитів і збільшується число хромосомної та інших генетичних патологій в яйцеклітинах [35].

З метою покращення яєчничкової відповіді у пацієток із низьким ОРТ застосовують різні схеми стимуляції: використання коротких протоколів, зменшення дози агоністів гонадотропін-рилізинг-гормону (а-гнРг), прийом антагоністів гонадотропін-рилізинг-гормону (ант-гнРг) та ін. [292]. Проте, основною ланкою цих модифікованих протоколів є збільшення дози гонадотропіну (гТ), тобто більш агресивна стимуляція яєчників. Результативність цих стратегій викликає певні сумніви [49]. Гонадотропіни є прямими індукторами овуляції. Найбільш вираженою та селективною стимулюючою дією володіє гормон ФСГ [46, 69, 119]. Тому еволюція гонадотропінів йшла від застосування препаратів людського менопаузального гонадотропіна (ЛМГ), що містить суміш ФСГ і ЛГ в рівному співвідношенні (по 75 МО), а також домішку ХГ, потім до препаратів сечового ФСГ і, нарешті, до препаратів чистого рекомбінатного ФСГ [92, 169, 218].

Тригери овуляції – препарати, що імітують або стимулюють викид ЛГ, забезпечують фінальне дозрівання ооцита в домінантному фолікулі і овуляцію. Вони вводяться після досягнення фолікулом зрілості і використовуються у всіх протоколах стимуляції, незалежно від того, які індуктори застосовувалися [280].

Чинники безпліддя по-різному впливають на настання й результат вагітності після програм запліднення ін-вітро (ЗІВ) / інтраплазматичного

введення сперматозоїда (ICSI). Наявність декількох факторів може знижувати ймовірність успішного результату в циклах ЗІВ [48, 49, 162, 261]. При успішному лікуванні пацієнток з виявленими чинниками безпліддя часто вдається відновити фертильність, не вдаючись до допомоги ДРТ [137, 150]. У разі відсутності ефекту від комплексу проведених оперативних і консервативних заходів при лікуванні безпліддя необхідно рекомендувати подружній парі методи допоміжної репродукції для досягнення вагітності [126, 128].

Ефективність застосування методів ДРТ висока і досягає в кращих центрах світу 30-40% у розрахунку на одне перенесення ембріонів, що набагато перевищує ефективність природного зачаття. За даними європейського консорціуму з IVF-моніторингу при Європейській Асоціації Репродукції Людини і ембріології (ESHRE) за 2010 рік частота настання вагітності в програмах ЗІВ/ICSI коливається від 24,1% до 48,1% [65, 188]. У розвинених країнах світу не менше 3% пологів відбуваються в результаті програм ЗІВ/ICSI [162, 210].

Пацієнтки з багаторазовими невдалими програмами допоміжних репродуктивних технологій становлять близько 30% від усіх пацієнток, які лікуються з використанням цих методів. Це пов'язано з великою різноманітністю факторів, що впливають на результат імплантації після перенесення ембріона у маткову порожнину [51, 52, 81, 203].

Пошук причин і розроблення методів підвищення ефективності ДРТ є одним із актуальних завдань сучасної медицини. Підвищення результативності циклів ЗІВ/ICSI є головною метою клініцистів при лікуванні безпліддя. Успіх напряду пов'язують з поліпшенням якості перенесених ембріонів і рецептивності ендометрію [59, 79]. В свою чергу морфологічні характеристики ембріона і його відповідність динамічним показникам при культивуванні визначають якість ембріона [11, 37, 78, 115].

Сучасна репродуктивна медицина велику увагу приділяє вивченню балансу між прооксидантами та антиоксидантами. Рівновага цієї системи підтримує нормальне функціонування ооцитів, а дисбаланс призводить до

виникнення окислювального стресу [62, 72, 207]. При дозріванні яйцеклітини в фолікулярній рідині відбувається активація окислювальних процесів, а при контрольованій індукції овуляції перекисне окислення ліпідів і білків збільшується в десятки разів. Слід врахувати, що окислювальний стрес (ОС) супроводжується руйнівною цитотоксичною дією та активацією апоптозу [284]. Генерація вільних радикалів навіть при мінімальних проявах ОС є мембранопорушуючим фактором [18]. Тому вкрай важливо при проведенні контрольованої оваріальної стимуляції забезпечити високий рівень антиоксидантного захисту організму. Для оцінки роботи антиоксидантної системи використовують різноманітні критерії. Так, при проведенні КОС певний інтерес викликає вивчення рівнів мелатоніну у сироватці крові та фолікулярній рідині [55, 95].

Передбачається, що активні форми кисню (АФК) інгібують продукцію прогестерону лютеїновими клітинами за допомогою блокування стероїдогенних ферментів і внутрішньоклітинних білків-носіїв, що регулюють перенесення холестерину в мітохондрії [20, 21], також порушують плазматичну мембрану лютеїнових клітин внаслідок перекисного окислення ліпідів, що призводить до регресу жовтого тіла [65, 131, 134].

Рівні АФК відіграють важливу роль у процесах фолікулогенезу, дозрівання ооцитів, овуляції та інволюції жовтого тіла. Їх високий рівень може негативно впливати на цитоскелет ооцитів, знижувати їх якість, провокувати хромосомні анеуплоїдії та призводити до порушення розвитку ембріона як при спонтанній вагітності, так і в ході ЗІВ/ICSI [19, 57, 138]. Не варто забувати про певний негативний вплив гонадотропінів на оогенез у ході контрольованої стимуляції овуляції. В пробірці ризик розвитку оксидативного стресу є більшим, ніж у природних умовах. Його негативний вплив може бути посилений за рахунок відсутності фізіологічних механізмів захисту, природних антиоксидантів та наявності деяких потенційних джерел АФК з гамет або з екзогенних чинників навколишнього середовища [282, 283].

Різноманітні групи антиоксидантів давно й успішно застосовуються в практиці акушерів-гінекологів та репродуктологів [192, 268]. Мелатонін (від лат. *melas* – чорний) – локальний антиоксидант, який синтезується в мітохондріях. Це гормон фотоперіодичності, що виробляється переважно вночі, тому його ще називають гормоном темряви [4, 13, 63, 65]. Синтез припиняється завдяки імпульсам, що надходять із сітківки ока. Пінеальна секреція мелатоніну має циркадний ритм, який контролюється супрахіазматичним ядром, характеризується низьким рівнем продукції в денний час і високою швидкістю продукції впродовж ночі з піком в 2-4 години ночі. З 7-8 ранку і до 8 вечора, в середньому, концентрація цього гормону в крові мінімальна. Доведено, що це потужний ендогенний адаптоген, який чинить імуномодулюючу та мембраностабілізуючу дію, нормалізує проникність судинної стінки, покращує мікроциркуляцію та порушений функціональний стан ендотелію, нормалізує гемодинамічні процеси [18, 157, 158].

Активно вивчається дія мелатоніну в якості прямого інгібітора вільних радикалів. Дослідники повідомляють, що під час проведення КОС вміст мелатоніну у фолікулярній рідині у декілька разів перевищує його рівень у сироватці крові [14], що обумовлює протекторний вплив на зріючу яйцеклітину, зменшуючи рівень ОС, але гіпотеза потребує подальшого вивчення [15].

Мелатонін нейтралізує негативні наслідки окисного стресу за рахунок нейтралізації вільних радикалів [68, 148]. Антиоксидантні властивості гормону перевершують інші антиокислювачі: глутатіон, манітол і вітамін Е [95]. Мелатонін є ефективним нейтралізатором вільних радикалів токсичних реагентів на основі кисню, гідроксильних радикалів, азотистих сполук. Він збільшує ефективність переходу електронів між мітохондріальними дихальними комплексами, які є основними продуцентами вільних радикалів [88]. Крім того, мелатонін має непряму дію за рахунок стимуляції утворення антиоксидантних ферментів і важливого інтрацелюлярного антиокислювача - глутатіону. Кілька метаболітів мелатоніну, які утворюються в процесі нейтралізації ушкоджуючих агентів, самі є акцепторами вільних радикалів [121, 140].



Мелатонін синтезується з незамінної амінокислоти триптофану, яка входить до складу білків всіх живих організмів. У біосинтез мелатоніну залучено щонайменше чотири ферменти, серед яких N-ацетилтрансфераза серотоніну вважається ферментом, що обмежує швидкість синтезу [148]. Крім пінеалоцитів мелатонін в організмі жінки синтезується в багатьох тканинах, в тому числі в органах репродуктивної системи: яєчниках, матці та плаценті [157]. Для його синтезу використовуються ті ж ферментні системи, що і в пінеалоцитах незалежно від фази день-ніч, під контролем індоламіну в цих органах. Повідомляють, що мелатонін, який продукується екстрапінеально, діє паракринно й аутокринно [60, 61, 286].

Перше свідчення синтезу цього гормону саме в яєчнику було надано Itoh M.T. в 1997 році [286]. За допомогою високоефективної рідинної хроматографії від щурів *virgo* протягом дня були отримані екстракти яєчників, в яких було виявлено індоламін. Біохімічний аналіз виявив активність ферментів, необхідних для перетворення серотоніну в мелатонін. Константи дисоціації ферментсубстратного комплексу були еквівалентні всім показникам в шишкоподібної залози. З огляду на ці дані, Itoh M.T. спершу дійшов висновку, що яєчник здатний виробляти гормон, а також те, що його можливо отримати з крові. Пізніше вони довели наявність синтезу мелатоніну в яєчниках людини [239, 286].

З пінеалоцитів мелатонін потрапляє в кров, а далі в інші рідкі середовища організму: спинномозкову рідину, слину, жовч, амніотичну рідину, фолікулярну рідину яєчників. Період напіввиведення гормону варіює від 30 до 60 хвилин. Більша частина (70%) сироваткового мелатоніну зв'язується з альбуміном, а решта дифундує в навколишні тканини. Мелатонін катаболізується до 6-сульфатоксимелатоніну печінкової монооксигенази P450 [161, 177].

«Гормон сну» має суттєвий вплив на репродуктивну систему: він необхідний для фолікулогенезу, впливає на синтез стероїдів в гранульозних клітинах і зміни клітинних сигналів в тканинах-мішенях [121, 148]. Імовірно, він регулює час початку статевого дозрівання і овуляції, сприяє збереженню

вагітності, грає роль в процесах перебудови організму в менопаузі [18]. Гормон контролює експресію мРНК лютеїнізуючого гормону (ЛГ), продукцію регуляторів апоптозу – Bcl2 і протеїнази Casp3, активність інсуліноподібний фактор росту (ІФР) і фактора зростання TGF- $\beta$ , а також експресію гена рецептора ЛГ і експресію гена рецептора гонадотропіну-релізінг-гормону в гранульозних і лютеїнових клітинах [69, 125, 209].

Вивчається роль мелатоніну як регулятора генів. Накопичений величезний обсяг даних про механізм генної регуляції, яка не впливає на послідовність ДНК [35]. Ця так звана епігенетична регуляція тепер розглядається як фундаментальний регуляторний процес в експресії або пригніченні генів. Епігенетичні модифікації ДНК, нуклеосомні і хромосомні зміни, які в сукупності змінюють профілі експресії генів і фенотип, або збільшують, або зменшують доступність декількох факторів до генетичного матеріалу клітини. Частина ДНК, що транскрибуються, можуть бути включені або виключені, в залежності від епігенетичних модифікацій, фізично діючих в даному конкретному локусі генома [19].

Мелатонін може викликати епігенетичні зміни в ооцитах, пригнічуючи ДНК-метилтрансферазу, шляхом маскування мішені або блоку активної ділянки ферменту [170]. Результати досліджень свідчать про те, що цей гормон індукує епігенетичні модифікації, впливаючи на свої ядерні рецептори, які, в свою чергу, можуть змінювати надструктуру ДНК [239]. Таким чином, мелатонін, мабуть, є медіатором, який передає екологічні стимули ооцитів і забезпечує взаємодію між факторами навколишнього середовища і епігенетичною системою спадковості [161, 286].

Важливу роль мелатонін відіграє у дозріванні фолікулів та процесі овуляції [171, 185]. Вивчення в експерименті розподілу мелатоніну в організмі показало, що концентрація гормону в фолікулярній рідині в 3 рази вище, ніж в одночасно зібраному зразку крові [72, 170]. З наближенням овуляції його рівень в фолікулі підвищується, хоча в загальний кровотік він не потрапляє, при цьому концентрація вище в рідині великих фолікулів, ніж дрібних, - це дозволяє

зробити припущення, що підвищення гормону в преовуляторних ооцитах може сприяти овуляції [135, 140].

Доведено, що мелатонін моделює синтез прогестерону після овуляції, стабілізує рівень естрадіолу, пролактину, тестостерону [131, 134]. Однак овуляція – хімічний, а не механічний процес. Руйнування стінки фолікула є локальною запальною реакцією. Для її ініціювання потрібні високий рівень простагландинів та цитокінів, активна робота протеолітичних ферментів. Це супроводжується посиленням клітинного дихання та підвищенням концентрації вільних радикалів за рахунок роботи макрофагів та нейтрофілів. Завдяки сукупності цих реакцій ооцит отримує можливість вийти з фолікула [98, 99]. Для збереження генетичного матеріалу ооцита та захисту від вільних радикалів необхідна злагоджена робота антиоксидатної системи та наявність мелатоніну [18, 72, 207]. Рівні активних форм кисню (АФК) відіграють важливу роль у процесах фолікулогенезу, дозрівання ооцитів, овуляції та інволюції жовтого тіла [166]. Не варто забувати про певний негативний вплив гонадотропних гормонів на оогенез у ході контрольованої стимуляції овуляції. В пробірці ризик розвитку оксидативного стресу є більшим, ніж у природних умовах. Його негативний вплив може бути посилений за рахунок відсутності фізіологічних механізмів захисту, відсутності природних антиоксидантів та наявності деяких потенційних джерел АФК з гамет або з екзогенних чинників навколишнього середовища [43, 111, 125].

Останніми роками приділяється увага негативному впливу окисного стресу через надлишок вільних радикалів на якість ооцитів під час циклу ЗІВ/ICSI [282, 283]. Вільні радикали представлені активними формами кисню (АФК) і відіграють подвійну роль, як шкідливу, так і корисну. Фізіологічно вільні радикали підтримують баланс у клітинах, який називається «окисно-відновним» відповідно до їхнього вироблення та антиоксидантної здатності клітини [62]. Вони представлені як ферментативними антиоксидантними захистами, такими як супероксиддисмутаза (SOD), глутатіонпероксидаза (GPx), каталаза (CAT), так і неферментативними антиоксидантними захистами, такими

як аскорбінова кислота,  $\alpha$ -токоферол, глутатіон (GSH), каротиноїди, флавоноїди [77] та інші молекули, такі як мелатонін [65,105].

Однією з фізіологічних функцій, у яких АФК відіграє фундаментальну роль, є репродуктивна фізіологія, включаючи розвиток фолікулів, дозрівання яйцеклітини, овуляцію, функцію жовтого тіла та атрезію фолікулів [38, 82]. Деякі автори порівнювали овуляцію із запальною реакцією, з виробленням цитокінів і вільних радикалів [148, 207]. Фолікулярна рідина, отримана з антрального відділу фолікулів Граафа, має вищу концентрацію мелатоніну, ніж зразок плазми, зібраний одночасно [15]. Ймовірно, це пов'язано з необхідністю захисту яйцеклітини від вільних радикалів, що утворюються під час дозрівання яйцеклітини, та збереження якості яйцеклітини [135, 202]. Як підтвердження, одне дослідження вказало, що знижений рівень антиоксидантного ферменту був зареєстрований у фолікулярній рідині у жінок з нез'ясованим безпліддям [197].

Сьогодні відомо, що мелатонін зв'язує свої рецептори в супрахіазматичних ядрах головного мозку і в *pars tuberalis* в гіпофізі, щоб модулювати репродуктивну функцію. Наявність рецепторів мелатоніну виявляється в багатьох тканинах репродуктивної системи (придатках яєчок, сім'яносних протоках, простаті, яєчниках та молочній залозі) [16, 57] та інших тканин, включаючи шкіру, шлунково-кишковий тракт, печінку, нирки, селезінку та клітини імунної системи. У більшості цих тканин виявлено ферменти, які беруть участь у синтезі мелатоніну. Ці висновки можуть стосуватися гіпотези про безліч функцій, які виконує мелатонін (антиоксидантні, протизапальні властивості, геномні стабілізуючі ефекти та модулятор мітохондріального гомеостазу) [ 95, 166].

Мелатонін діє безпосередньо як поглинаючий вільний радикал [87] або зв'язуючись з його рецепторами [178], щоб запобігти пошкодженню клітин і тканин. Антиоксидантний механізм мелатоніну відрізняється від інших антиоксидантів, оскільки після реакції з вільними радикалами в «каскадній реакції очищення» він утворює кілька стабільних кінцевих антиоксидантних продуктів. Він не сприяє окисленню ні за яких обставин, оскільки це припиняє

його властивості як антиоксиданту. Крім того, мелатонін синергує з іншими неферментативними антиоксидантами [45, 184], а також стимулює синтез антиоксидантного ферменту, зв'язуючи його мембранні рецептори з цитозольними або ядерними ділянками зв'язування [156, 186].

Під час ЗІВ/ІСІ яйцеклітини та ембріони можуть піддаватися впливу високого рівня супероксидних вільних радикалів, розпочатих під час протоколу стимуляції, в якому маніпуляції з яйцеклітиною змінюють рівень ендогенних поглиначів кисню [63, 72]. Фолікулярна рідина, багата антиоксидантами, відсутня у культурах середовища ооцитів, включаючи мелатонін, який захищає ооцит від окисного стресу. Крім того, рівень ROS вищий під час ЗІВ/ІСІ через високий рівень концентрації кисню в інкубаторах і передачу впродовж усього процесу запліднення [124]. Зі збільшенням «оксидативного стресу» під час ЗІВ/ІСІ мелатонін з його властивостями поглиначів знаходить своє належне застосування.

Було помічено, що додавання мелатоніну в мишачі культури ооцитів призвело до того, що 54% запліднених ооцитів досягли стадії бластоцисти порівняно з 29% без мелатоніну [64]. Інші автори вивчали культури ооцитів свиней і виявили, що додавання мелатоніну до середовища для вирощування яйцеклітин призводить до значно нижчого рівня АФК і більшої частки зрілих ооцитів (МІІ). Останні дані свідчать про те, що концентрація мелатоніну в культурі ооцитів повинна бути у вузькому діапазоні від  $10^{-6}$  до  $10^{-9}$  нМ для досягнення найкращих результатів [135, 185].

Деякі автори виявили, що у людей прийом добавок з низькою дозою мелатоніну покращував дозрівання ядра яйцеклітини, і, навпаки, спостерігалось зниження дозрівання ядра при високій дозі [106, 296]. Діапазон від  $10^{-5}$  до  $10^{-9}$  нМ покращував дозрівання яйцеклітини при додаванні до дозрівання яйцеклітини *in vitro* (IVM), а також збільшував швидкість імплантації під час ЗІВ/ІСІ - ЕТ, збільшуючи частоту вагітності у жінок із СПКЯ, хоча в деяких випадках збільшення не було значним [84, 197].

Крім того, Н. Tamura, et al. (2021) показали, що пероральний прийом мелатоніну підвищував концентрацію мелатоніну в фолікулярній рідині, і ця більша концентрація була обернено пов'язана з клітинним окислювальним стресом, виміряним рівнем 8-OHdG. Зокрема, вони досліджували пацієнтів, які перенесли невіддале ЗІВ/ICSI, розділивши пацієнтів на дві групи: перша отримувала мелатонін перорально (3 мг/добу), а друга – без терапії [34]. Розглянувши їхній аналіз даних, вони виявили, що перша група мала вищий рівень запліднення, ніж друга група [264]. Інші автори продемонстрували, що швидкість запліднення покращувалася при додаванні мелатоніну як у тих, хто мав нижчий рівень запліднення під час попереднього циклу ЗІВ, так і у тих, хто пройшов процедуру ICSI [78, 262].

І хоча доказова база ефективності мелатоніну в терапії жіночого неплоддя тільки формується, позитивні результати деяких досліджень доводять раціональність його застосування у жінок з безпліддям.

Метою нашого дослідження було підвищити ефективність лікування безпліддя в жінок в програмах допоміжних репродуктивних технологій шляхом оптимізації підготовки до контрольованої оваріальної стимуляції з використанням препарату мелатоніну.

Робота виконувалася впродовж 2019-2022 років у Буковинському державному медичному університеті (ректор університету – д.мед.н., професор Т.М.Бойчук, з 2022 року в.о.ректора – д.мед.н., професор О.А.Андрієць), на кафедрі акушерства та гінекології (завідувач кафедри д.мед.н., професор О.М.Юзько). Всі клінічні, лабораторні та функціональні методи дослідження проводились на базі КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя» м. Чернівці (директор – к.мед.н., доцент Т.А.Юзько). Визначення показників імуноферментного аналізу здійснювалось у лабораторії ПП «Перша соціальна медична лабораторія «Ескулаб» (сертифікат на систему управління якості № 000027 від 25.01.2021 р.).

Дизайн дослідження – проспективне, відкрите, контрольоване в пацієнок із безпліддям, яке виконувалось чотири кроки:

При першому кроці дослідження було проведено розподіл 89 пацієток по групам дослідження, які проходили обстеження та лікування із застосуванням ДРТ у період з вересня 2019 р. по вересень 2021 р. Встановлення діагнозу, обстеження та лікування проводилось згідно чинних наказів МОЗ України: №787 від 09.09.2013 «Про затвердження Порядку застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні», №417 від 15.07.2011 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні» та № 1030/102 від 29.11.2013 «Про удосконалення системи планування сім'ї та охорони репродуктивного здоров'я в Україні».

Згідно мети та завдань дослідження перед ініціацією протоколу ДРТ всі пацієтки були розподілені на 3 групи:

– до 1 групи увійшло 13 жінок, які в програмах стимуляції та пункції фолікулів слугували донорами ооцитів (контрольна);

– до 2 групи (основна група) увійшло 33 жінки зі стандартною схемою лікування (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером) та прийомом впродовж місяця до пункції препарату мелатоніну;

– до 3 групи (група порівняння) увійшло 43 пацієтки, які отримували лікування за стандартною схемою (контрольована оваріальна стимуляція, забір ооцитів, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером).

Розподіл пацієток із безпліддям на групи виконувався рандомізовано: шляхом парності чи непарності візиту у кабінет для прегравідарного консультування, так до групи порівняння потрапили непарні візити, до основної – парні.

Відповідно мети та поставлених задач пацієнтів долучали згідно критеріїв включення/виключення.

Критерії включення до дослідження: безпліддя незалежно від форми та наявності інформованої згоди жінки на включення в дослідження.

Критерії виключення з дослідження: пацієнтки з серцево-судинними захворюваннями, цукровим діабетом, захворюваннями печінки, щитоподібної залози, легень, злоякісні новоутворення в анамнезі, з алкогольною та ніотиною залежністю, когнітивними порушеннями, також з хворобами інших органів та систем, які могли б вплинути на результат дослідження, зокрема, ВІЛ-інфекція, туберкульоз, сифіліс, вірусні гепатити В та С, гострий інфекційний процес впродовж дослідження, тощо. Серед пацієток не було жінок, які працювали вночі.

При другому кроці дослідження було проведено: аналіз клініко-анамнестичної характеристики, лабораторних та інструментальних досліджень, ембріологічних показників та частоти настання вагітності. За показаннями здійснювались консультації фахівців інших спеціальностей та проводились додаткові інструментальні методи дослідження. Середній вік 13 жінок-донорів ооцитів (контрольна група) склав  $33,4 \pm 1,3$  року, у 33 пацієток основної групи –  $31,4 \pm 1,3$  року та у 43 пацієток групи порівняння –  $32,3 \pm 1,1$  року, тобто, суттєво не різнився.

Жінки були проконсультовані профільними фахівцями, за необхідності. Пацієнтки не мали протипоказань до методик ДРТ та призначення запропонованої нами медикаментозної підготовки.

Всім пацієткам з 2-ї та 3-ї груп було проведено:

- опитування та заповнення анкет для уточнення скарг, анамнезу хвороби та життя, огляд попередньої медичної документації;
- оцінку акушерсько-гінекологічного анамнезу, а саме: кількість вагітностей, пологів, абортів, мимовільних викиднів, ектопічних вагітностей, початок менархе, регулярність та тривалість менструального циклу та ДРТ в анамнезі;
- вимірювання маси тіла, зросту та індексу маси тіла, фізикальний огляд;
- гінекологічне дослідження, що включало: огляд зовнішніх статевих органів, шийки матки в дзеркалах, бімануальне дослідження за стандартною методикою із визначенням положення, розмірів, щільності, рухливості матки та



придатків, глибини склепінь і характеру виділень;

- просту та розширену кольпоскопію;
- визначення показників загального аналізу крові, групи крові та Rh-фактору, загального аналізу сечі, основних біохімічних показників, коагулограми (фібриноген, АЧТЧ, МНВ, Д-димер), гормонального профілю (АМГ, ФСГ, ЛГ, індексу вільного тестостерону, пролактину, кортизолу, ТТГ, Т3, Т4);
- дослідження рівня антитіл (IgG) до хламідійного білку за допомогою непрямого твердофазного імуноферментного аналізу;
- визначення перенесених інфекційних захворювань, що передаються статевим шляхом (хламідіоз, мікоплазмоз, токсоплазмоз, трихомоніаз, уреоплазмоз);
- оцінка можливих аномалій розвитку органів розвитку репродуктивної системи, порожнини матки, оваріальної недостатності, синдрому Ашермана, ендометріозу, аденоміозу, оваріальних кіст або пельвіо-перитонеальних зрощень, синдрому полікістозних яєчників, лейоміоми матки, поліпів ендометрію;
- за необхідності, гістологічний аналіз біоптату тканин у разі хірургічного лікування;
- інструментальні методи дослідження та/або лікування, а саме: УЗД, кольпоскопія, гістероскопія, лапароскопія, гістерорезектоскопія за стандартними методиками.

На третьому кроці була запроваджена методологія застосування мелатоніну в пацієток із безпліддям у програмах підготовки та під час стимуляції з наступним проведенням технології ICSI та заморожування ембріонів.

На четвертому кроці була проведена оцінка ембріологічних показників та ефективності настання вагітності при використанні мелатоніну в пацієток із безпліддям. Результати дослідження впроваджені в клінічну практику, розроблені практичні рекомендації.

Дослідження проводились з обов'язковим забезпеченням прав та свобод пацієнтів, що передбачені положенням Гельсінської декларації (Declaration of Helsinki 1964-2000), Міжнародної конференції з гармонізації (ICH) та дотриманням стандартів належної клінічної практики (GCP), наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і типового положення про комісії з питань етики». Протокол дослідження та форми первинної документації затверджено Комісією з медичної етики при Буковинському державному медичному університеті протокол № 2 від 20.10.2022 року. Порушень морально-етичних норм при проведенні дослідження не виявлено. Збір персональних даних та всі процедури проводились на основі підписання поінформованої добровільної згоди пацієнтками.

Аналіз особливостей, соматичної та репродуктивної функцій в обстежених жінок із безпліддям засвідчив, що частота первинного безпліддя в порівнянні з вторинним достовірно перевищувала вторинне в 2,7 рази в другій групі та в 1,7 рази в третій групі. В третій групі, жінки якої не приймали мелатонін, в 1,8 рази частіше спостерігався ендометріоз, в 1,75 рази – трубний фактор, в 1,5 рази – чоловічий фактор, в той час як у другій групі, пацієнтки якої приймали мелатонін, в 2,6 рази частіше спостерігалось звичне невиношування та безпліддя неясного походження, у 3,9 рази – знижений оваріальний резерв, але різниця була недостовірною. Кількість супутньої екстрагенітальної патології, в основному, суттєво за групами не відрізнялась, за винятком зобу в пацієнток другої групи, який зустрічався частіше в 2,2 рази, а пієлонефрит – у 3,3 рази, хоча різниця була недостовірною. Кількість антральних фолікулів (КАФ) у жінок контрольної групи в правому яєчнику склала  $11,34 \pm 0,47$ , що, вірогідно, більше в порівнянні з КАФ в правому яєчнику в пацієнток другої групи ( $6,92 \pm 1,05$ ) та третьої групи ( $7,74 \pm 0,91$ ), аналогічна ситуація була з КАФ в лівому яєчнику. Товщина ендометрію в жінок контрольної групи була меншою ( $5,43 \pm 0,13$  мм) в порівнянні з товщиною ендометрію в пацієнток другої ( $7,13 \pm 1,06$  мм) та третьої ( $6,92 \pm 0,92$  мм) груп, хоча різниця була недостовірною. В той же час ми

відмітили вірогідно менший вміст ФСГ в сироватці крові у пацієнток групи 1 ( $4,54 \pm 0,69$  мМО/мл) в порівнянні з пацієнками групи 2 ( $7,45 \pm 0,56$  мМО/мл) та групи 3 ( $8,01 \pm 0,63$  мМО/мл) ( $p < 0,05$ ). Вірогідно, ( $p > 0,05$ ) більшим був вміст ЛГ в сироватці крові в пацієнток групи 2 ( $19,63 \pm 0,75$  мОд/мл) в порівнянні з групою 1 ( $5,82 \pm 0,83$  мОд/мл) та групою 3 ( $8,45 \pm 0,58$  мОд/мл). Вірогідно, ( $p < 0,05$ ) більшим був вміст АМГ в сироватці крові в пацієнток групи 3 ( $8,35 \pm 0,26$  нг/мл) в порівнянні з групою 1 ( $4,21 \pm 0,57$  нг/мл) та групою 2 ( $3,30 \pm 0,29$  нг/мл).

Стимуляцію яєчників проводили в протоколі з використанням антагоністів гонадотропін-рилізінг-гормону з 2-3-го дня менструального циклу з використанням рекомбінантних та/або сечових гонадотропінів у добовій дозі 150-300 МО. Овуляцію ініціювали введенням тригера овуляції. Ооцити отримували в результаті трансвагінальної пункції фолікулів під контролем ультразвукового дослідження через 34-36 годин після введення овуляторної дози тригера овуляції. Пункцію фолікулів виконували під внутрішньовенним наркозом.

Рухливі сперматозоїди відбирали шляхом обробки в 2-ступінчастому градієнті щільності в середовищі Sil-Selectpeus («Ferti Pro», Бельгія), після чого для відбору сперматозоїдів використовували метод «swim up».

Для запліднення ооцитів застосовували процедуру ICSI. Клітини кумулюса видаляли м'яким піпетуванням (Flexipet Cook) через 3-4 год після забору ооцитів, використовуючи розчин гіалуронідази (Hyaluronidase in Fercult Fluhing Medium, Бельгія). Процедура ICSI виконувалась через 1-2 години після денудації на інвертованому мікроскопі Nikon Eclipse Ti («Wild Leitz GmbH», Німеччина) з використанням системи хофманівського модуляційного контрасту та комплекту мікроманіпуляторів Narishige («Narishige», Японія).

Культивування ембріонів здійснювали в CO<sub>2</sub>-інкубаторі при температурі 37<sup>0</sup>С у зволоженій атмосфері з 5,8% CO<sub>2</sub>. Ембріони-сібси культивували в середовищі Global («LifeGlobal Group», Бельгія). Ембріони культивували індивідуально у мікрокраплях під шаром мінеральної олії. На 3 добу після запліднення проводили заміну середовища на аналогічне свіже. Оцінювали

частоту розвитку ембріонів до 4-8 клітинної стадії, компактизації та формування бластоцист у період з 2-го по 6-й день ембріонального розвитку. Зиготи та ембріони індивідуально оцінювали під мікроскопом через 18, 45, 72 та 96 год після запліднення для оцінки їх розвитку та якості. На 5-6-ту добу розвитку проводили оцінку якості бластоцист, що сформувалися, за D. Gardner [36].

Кріоконсервування ембріонів у всіх порівнюваних групах проводили з використанням набору для вітрифікації Vitrification Media (Kitazato Corporation, Японія), а розморожування з використанням набору Thawing Media (Kitazato Corporation, Японія). Процедури виконували згідно з протоколами фірми-виробника.

Розморожування кріоконсервованих ембріонів проводили безпосередньо в день перенесення ембріона. Клінічну вагітність визначали при ультразвуковому дослідженні на 5-му тижні після перенесення ембріона за наявності плідного яйця в порожнині матки, куприко-тіменному розмірі ембріона 2-4 мм та реєстрації серцебиття.

За даними ультразвукового та гормонального моніторингу визначали тривалість КОС та введення доз препаратів, а також введення тригера овуляції. В якості тригера використовували агоніст ГнРГ «Диферелін» по 0,2 мг/мл одноразово..

Всі пацієнтки основної групи отримували впродовж одного місяця до пункції фолікулів препарат «Віта-мелатонін» по 3 мг внутрішньо на ніч за 30 хвилин до сну.

Всі обстежені нами жінки не відрізнялись за віком, а пацієнтки з безпліддям основної групи та групи порівняння за частотою первинного та вторинного безпліддя, чинником, що призвів до безпліддя, супутньою екстрагенітальною патологією, показниками оварального резерву та рівнем гормонів репродуктивної панелі. Тобто, були паритетними в проведеному нами дослідженні.

Як свідчать отримані нами дані, рівень мелатоніну в крові у жінок першої (контрольної) групи (жінки-донори ооцитів) становив  $130,85 \pm 16,91$  пг/мл, а в

жінок другої групи, які за два тижні до та під час стимуляції овуляції приймали препарат мелатоніну, склав  $143,06 \pm 14,87$  пг/мл, а в жінок третьої групи, які не приймали препарат мелатоніну та стимулювались по аналогічній схемі, склав  $123,40 \pm 12,65$  пг/мл, що, вірогідно, менше в порівнянні з другою групою, жінки якої приймали мелатонін. В третій групі рівень мелатоніну в крові не відрізнявся від показників першої (контрольної) групи.

Рівень мелатоніну у фолікулярній рідині у жінок першої (контрольної) групи склав  $97,15 \pm 8,69$  пг/мл, другої –  $39,46 \pm 4,52$  пг/мл, що, вірогідно, менше. В третій групі, жінки якої не приймали мелатонін, його рівень в фолікулярній рідині становив  $62,34 \pm 3,94$  пг/мл, що майже вдвічі, вірогідно, більше у порівнянні з жінками, які приймали мелатонін, але все ж таки менше у порівнянні з першою (контрольною) групою.

Тобто, наші дослідження засвідчили, що рівень мелатоніну в сироватці крові у жінок другої групи (приймали препарат мелатоніну) був, вірогідно, більшим в порівнянні з групою 1 (контрольна) та групою 3 (не приймали препарат мелатоніну). В третій групі рівень мелатоніну в крові не відрізнявся від показників першої (контрольної) групи. Рівень мелатоніну у фолікулярній рідині у жінок другої групи був, вірогідно, суттєво меншим у порівнянні з третьою групою, жінки якої не приймали мелатонін, майже вдвічі вірогідно більше, але вірогідно менше у порівнянні з першою (контрольною) групою.

Отриманий нами низький рівень мелатоніну в фолікулярній рідині в жінок, які проходили контрольовану індукцію овуляції в програмах ДРТ при лікуванні безпліддя, потребує подальшого дослідження та наукового трактування.

Ми проаналізували ембріологічні показники та частоту настання вагітності у жінок із безпліддям в програмах ДРТ при застосуванні мелатоніну в пацієнток основної групи та групи порівняння:

- з групи 2 (основна група), пацієнткам якої проводили контрольовану оваріальну стимуляцію, забір ооцитів, інтрацитоплазматичну ін'єкцію сперматозоїдів, заморожування ембріонів та розморожування перед

ембріотрансфером), а також призначали впродовж місяця до пункції фолікулів і забору ооцитів препарат мелатоніну, в подальшому вибрали групу «А»;

- з групи 3 (група порівняння), пацієнткам якої також проводили за стандартною схемою контрольовану оваріальну стимуляцію, забір ооцитів, інтрацитоплазматичну ін'єкцію сперматозоїдів, заморожування ембріонів та розморожування перед ембріотрансфером, але вони не приймали мелатонін, в подальшому вибрали групу «Б».

Відбір до груп «А» та «Б» був обумовлений необхідністю аналізу вищезазначених показників саме в пацієток із безпліддям в програмах ДРТ з використанням або без використання мелатоніну. Відповідно, пацієнтки контрольної групи, тобто здорові жінки-донори ооцитів не враховувались. До групи «А» було відібрано 29 жінок з основної групи, а до групи «Б» – 38 із групи порівняння.

Після пункції фолікулів у пацієток групи «А» ми отримали 451 яйцеклітину, а в групі «Б» – 616. Як свідчать отримані дані, у пацієток групи «А» зрілих яйцеклітин було  $83,4 \pm 6,9\%$  від усіх отриманих, а в пацієток групи «Б» –  $81,5 \pm 6,3\%$ , що дещо менше, але вірогідної різниці ми не знайшли. В процесі інкубації в пацієток групи «А» ми отримали 185 бластоцист, що склало  $49,2 \pm 9,5\%$ , а в пацієток групи «Б» – 237 ( $47,2 \pm 8,7\%$ ), що дещо менше в порівнянні з групою «А», але вірогідної різниці нами не було виявлено. Якщо розглянути якість отриманих бластоцист від всіх зрілих яйцеклітин по класам, картина наступна: клас I в пацієток групи «А» склав  $48,6 \pm 9,3\%$ , а в пацієток групи «Б» –  $46,4 \pm 8,1\%$ , тобто дещо менше, але вірогідної різниці не було, відповідно, клас II –  $36,8 \pm 8,9\%$  та  $44,4 \pm 8,1\%$ , клас III –  $14,6 \pm 6,6\%$  та  $9,3 \pm 4,7\%$ . Тобто у пацієток групи «А» утворилось дещо менше бластоцист класу II, але більше класу III у порівнянні з пацієнтками групи «Б», але різниця була не вірогідною.

Частота настання вагітності на перше перенесення ембріонів у пацієток групи «А» була  $56,1 \pm 8,85\%$ , що дещо більше у порівнянні з даним показником у пацієток групи «Б» ( $55,3 \pm 8,15\%$ ), але різниця була не вірогідною. Аналогічна

ситуація спостерігалась з частотою настання вагітності на друге перенесення ембріонів (відповідно,  $45,5 \pm 16,53\%$  та  $33,3 \pm 21,14\%$ ) та третє –  $100,0 \pm 7,00\%$  та  $80,0 \pm 17,95\%$ , хоча при всіх трьох перенесеннях ембріонів ми не змогли відмітити вірогідність різниці по групам. Частота настання вагітності на всі перенесення ембріонів в цілому в групі «А» була  $56,8 \pm 8,24\%$ , а в групі «Б» –  $52,8 \pm 7,62\%$ , що дещо менше в порівнянні з групою «А», але без вірогідної різниці. А от що стосується загальної частоти настання вагітності, то в групі «А» вона склала  $86,2 \pm 6,41\%$ , що, вірогідно, більше в порівнянні з даним показником в групі «Б» ( $76,3 \pm 6,95\%$ ).

Таким чином, за результатами проведеного нами дослідження по кількості зрілих яйцеклітин та отриманих з них якісних бластоцист слід визнати, що застосування мелатоніну може бути корисним для покращення ембріологічних показників в програмах ДРТ при лікуванні безпліддя.

Дозрівання яйцеклітин у фолікулярній рідині супроводжується активацією окислювальних процесів, а при індукції суперовуляції перекисне окислення ліпідів і білків збільшується в десятки разів. Сам окислювальний стрес (ОС) має руйнівну цитотоксичною дію та активує апоптоз [43]. Природні антиоксиданти традиційно з успіхом застосовуються в медицині [44, 45]. Мелатонін (від лат. *melas* – чорний) – локальний антиоксидант, який синтезується в мітохондріях. По суті, це гормон фотоперіодичності, що виробляється переважно вночі [46, 47, 48, 49]. Мелатонін є потужним ендogenousним адаптогеном, що має імуномодулюючу та мембраностабілізуючу дію, нормалізує проникність стінок судин, покращує мікроциркуляцію ендотелію, нормалізує гемодинамічні процеси [50, 51, 52].

В останні десятиліття активно вивчалась роль мелатоніну як прямого інгібітора вільних радикалів у репродуктивній фізіології. Повідомлялось, що під час проведення стимуляції суперовуляції вміст мелатоніну в фолікулярній рідині у декілька разів перевищує його рівень у сироватці крові [53]. Тобто, мова йде про протекторний вплив на зріючу яйцеклітину за рахунок зменшення ОС [54], напевно, за рахунок нейтралізації вільних радикалів [18, 55], оскільки

антиоксидантні властивості гормону перевершують інші антиокислювачі, такі як глутатіон, манітол і вітамін Е [56]. Мелатонін є ефективним нейтралізатором вільних радикалів токсичних реагентів на основі кисню, гідроксильних радикалів та азотистих сполук, збільшує ефективність переходу електронів між мітохондріальними дихальними комплексами, які є основними продуцентами вільних радикалів [57]. Мелатонін має непряму дію за рахунок стимуляції утворення антиоксидантних ферментів і глутатіону як важливого інтрацелюлярного антиокислювача. Кілька метаболітів мелатоніну, які утворюються в процесі нейтралізації ушкоджуючих агентів, самі є акцепторами вільних радикалів [17, 58].

І хоча доказова база ефективності застосування мелатоніну тільки формується, позитивні результати захисту яйцеклітин від вільних радикалів для збереження їх якості відомі [59, 60, 61]. Результати проведених нами досліджень, а саме аналіз частоти настання вагітності у пацієнок, які приймали мелатонін, також засвідчує, що вона була вищою. Це корелює з результатами досліджень інших авторів [35, 41, 62, 63].

Основним висновком роботи було: загальна частота настання вагітності в групі «А», пацієнки якої впродовж місяця до пункції фолікулів отримували препарат мелатоніну, була, вірогідно, більшою в порівнянні з даним показником в групі «Б», пацієнки якої не отримували препарат мелатоніну. По кількості зрілих яйцеклітин та отриманих з них якісних бластоцист за результатами проведеного нами дослідження слід визнати, що застосування препаратів мелатоніну, які використовують пацієнки з безпліддям перед та під час проведення контрольованої оваріальної стимуляції в програмах ДРТ, може бути корисним для покращення ембріологічних показників, а застосування препаратів мелатоніну в програмах підготовки пацієнок з безпліддям до проведення контрольованої оваріальної стимуляції показало свою ефективність щодо настання вагітності.



## ВИСНОВКИ

У дисертації узагальнено та по-новому вирішено науково-практичне завдання, що полягає у підвищенні ефективності лікування безпліддя шляхом оптимізації підготовки до контрольованої стимуляції овуляції та пункції фолікулів із використанням препаратів мелатоніну в протоколах допоміжних репродуктивних технологій.

1. Середній вік у обстежених нами пацієнток із безпліддям склав 32 роки, а жінок контрольної групи – 27 років, що свідчить про пізні звернення даних пацієнток за кваліфікованою медичною допомогою, що, відповідно, негативно відобразилося на показниках ДРТ. Слід також врахувати, що частота первинного безпліддя перевищувала вторинне в 2,2 рази.

2. У обстежених нами жінок контрольної групи з відсутністю безпліддя, кількість антральних фолікулів в обох яєчниках була вірогідно в 1,3 рази вищою у порівнянні із пацієнтками з безпліддям, а рівень АМГ практично не відрізнявся від вмісту даного гормону в сироватці крові в жінок із безпліддям. Тобто, оваріальний резерв у всіх обстежених нами жінок був у межах норми. Товщина ендометрію у здорових жінок-донорів ооцитів склала, в середньому  $5,43 \pm 0,13$  мм, а в пацієнток із безпліддям  $7,02 \pm 0,99$  мм, що не мало вірогідної різниці.

3. Ефективність ДРТ в пацієнток із безпліддям склала  $60,6 \pm 8,25\%$  на трансфер та  $68,9 \pm 8,05\%$  у загальному, в той час як у контрольній групі вірогідно більше, відповідно,  $80,0 \pm 11,01\%$  та  $100,0\%$ .

4. Вміст мелатоніну в сироватці крові в жінок-донорів ооцитів та в жінок із безпліддям на час пункції фолікулів не різнився, в той час як у пацієнток, які приймали мелатонін по запропонованій нами схемі, рівень мелатоніну був вірогідно вищим. Вміст мелатоніну в фолікулярній рідині в пацієнток, які приймали мелатонін, був вірогідно меншим у порівнянні з жінками-донорами ооцитів та з пацієнтками з безпліддям, які не приймали даний препарат.

5. Ембріологічні дані, які отримані нами після пункції та запліднення ооцитів у пацієток, що отримували мелатонін в процесі підготовки, засвідчили, що було більше якісних ембріонів.

6. Застосування препаратів мелатоніну в пацієток із безпліддям у схемі контрольованої оваріальної стимуляції показало свою ефективність, оскільки загальна частота настання вагітності склала  $86,2 \pm 6,41\%$ , що вірогідно більше у порівнянні із пацієтками, які не отримували препарат мелатоніну ( $76,3 \pm 6,95\%$ ).

## **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

При плануванні програми ICSI у пацієнок із безпліддям доцільно призначати препарат мелатоніну по 3 мг внутрішньо на ніч за 30 хвилин до сну впродовж місяця, з урахуванням двох тижнів до початку менструації та двох тижнів під час контрольованої стимуляції яєчників до пункції фолікулів з метою забору ооцитів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авраменко НВ, Барковський ДЄ, Кабаченко ОВ, Грідіна ІБ. Тактика підготовки ендометрію пацієнток у програмі допоміжних репродуктивних технологій для підвищення ефективності лікування. *Acta Medica Leopoliensia*. 2018;24(1):23-31. doi: [10.25040/aml2018.01.023](https://doi.org/10.25040/aml2018.01.023)
2. Авраменко НВ, Кабаченко ОВ, Барковський ДЄ, Серих КВ. Сучасні аспекти менеджменту пацієнток із синдромом полікістозу яєчників. *Запорізький медичний журнал*. 2020;22(6):865-73. doi: [10.14739/2310-1210.2020.6.218474](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2020.6.218474)
3. Айзятуллова ЕМ. Запліднення ін вітро (ЗІВ): персоніфіковане проведення; патогенез, діагностика та профілактика ускладнень [автореферат]. Харків; 2016. 40 с.
4. Айзятуллова ЕМ. Особливості багатоплідних вагітностей після запліднення ін вітро (ЗІВ). *Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України*. 2016;2:14-7.
5. Айзятуллова ЕМ. Розробка комплексного підходу щодо зниження ускладнень при проведенні запліднення ін вітро. *Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України*. 2018;1:14-9. doi: [10.35278/2664-0767.2\(42\).2018.172799](https://doi.org/10.35278/2664-0767.2(42).2018.172799)
6. Багатько ОВ, Данкович НО. Ефективність лікування трубно-перитонеальної форми безплідності у програмах допоміжних репродуктивних технологій залежно від протоколу стимуляції суперовуляції. *Здоров'я жінки*. 2017;9:114-6. doi: [10.15574/HW.2017.125.114](https://doi.org/10.15574/HW.2017.125.114)
7. Багатько ОВ. Ретроспективний аналіз анамнезу жінок із трубно-перитонеальною формою безпліддя. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*. 2018;4:5-10. doi: [10.11603/1681-2786.2018.4.10018](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2018.4.10018)
8. Багатько ОВ. Результати контрольованої стимуляції овуляції у пацієнток репродуктивного віку з трубно-перитонеальною безплідністю в залежності від препарату, що використовувався. *Здоров'я жінки*. 2019;2:49-52. doi: [10.15574/HW.2019.138.49](https://doi.org/10.15574/HW.2019.138.49)

9. Багатько ОВ. Удосконалення протоколів стимуляції суперовуляції у жінок з трубно-перитонеальним фактором в програмах запліднення *in vitro* [дисертація]. Київ; 2020. 197 с.

10. Багатько ОВ. Якість життя пацієнтів із трубно-перитонеальним безпліддям у процесі лікування. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019;1:55-9. doi: [10.11603/24116-4944.2019.1.10153](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2019.1.10153)

11. Багатько ОВ, Данкович НО. Ефективність лікування трубно-перитонеальної форми безплідності у програмах допоміжних репродуктивних технологій залежно від протоколу стимуляції суперовуляції. Здоров'я жінки. 2017;9:114-6. doi: [10.15574/HW.2017.125.114](https://doi.org/10.15574/HW.2017.125.114)

12. Бакун ОВ, Юзько ОМ. Концентрація гіпофізарних гормонів у крові жінок з ендометріозом, асоційованим із безпліддям. Акушерство. Гінекологія. Генетика. 2016;2(2):52-5.

13. Бербець АМ, Коньков ДГ, Булашенко ОВ, Таран ОА, Бакун ОВ. Мелатонін, плацентарний фактор росту та гормони плаценти при плацентарній недостатності. Клітинна та органна трансплантологія. 2019;7(2):98-102. doi: [10.22494/cot.v7i2.100](https://doi.org/10.22494/cot.v7i2.100)

14. Бербець АМ. Мелатонін, прозапальні цитокіни та плацентарна недостатність. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2018;2:24-6. doi: [10.11603/24116-4944.2018.2.8942](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2018.2.8942)

15. Бербець АМ. Плацентарна недостатність, мелатонін, про-та протизапальні цитокіни. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2018;1:37-40. doi: [10.11603/24116-4944.2018.1.7502](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2018.1.7502)

16. Бойчук ОГ, Бойчук-Товста ОГ, Кишакевич ІТ, Римарчук МІ. Стан судинного гомеостазу в жінок із непліддям після використання допоміжних репродуктивних технологій. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2017;1:29-32. doi: [10.11603/24116-4944.2017.1.7462](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2017.1.7462)

17. Бойчук ОГ. Прогнозування неефективності допоміжних репродуктивних технологій у жінок з безплідністю та патологією печінки. Здоров'я жінки. 2016;4:171-4. doi: [10.15574/HW.2016.110.171](https://doi.org/10.15574/HW.2016.110.171)

18. Бородай ІС, Богдан АС. Мелатонін та його застосування в акушерстві. В: Матеріали XVII Міжнар. наук. конф. студентів, молодих вчених та фахівців Актуальні питання сучасної медицини; 2020 Бер 26-27; Харків. Харків; 2020, с. 46.

19. Бударецька НО, Петрушко МП. Ооцити як альтернатива ембріонам при кріоконсервуванні для використання у допоміжних репродуктивних технологіях. Проблеми кріобіології і кріомедицини. 2016;26(4):375-382. doi: [10.15407/CRYO26.04.375](https://doi.org/10.15407/CRYO26.04.375)

20. Булавенко ОВ, Коцюбська Ю. Клінічна ефективність терапевтичних режимів прогестерону в програмі ЕКЗ в жінок із трубно-перитонеальним фактором безпліддя. Репродуктивна ендокринологія. 2016;6:64-8. doi: [10.18370/2309-4117.2016.32.64-68](https://doi.org/10.18370/2309-4117.2016.32.64-68)

21. Булавенко ОВ, Коцюбська Ю. Клінічна ефективність терапевтичних режимів прогестерону в програмі екстракорпорального запліднення у жінок з трубно-перитонеальним фактором безпліддя. Вісник морфології. 2016;22(2):292-6.

22. Булавенко ОВ, Коцюбська Ю. Оцінка ролі гемодинамічного забезпечення матки в генезі трубно-перитонеальної форми безпліддя в жінок із ожирінням у програмах допоміжних репродуктивних технологій. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2017;1:37-41. doi: [10.11603/24116-4944.2017.1.7582](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2017.1.7582)

23. Вдовиченко СЮ, Інсарова КС. Родинно-орієнтовані технології у жінок із безпліддям в анамнезі. Репродуктивне здоров'я жінки. 2020;3:21-3. doi: [10.30841/2708-8731.3.2020.215005](https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2020.215005)

24. Вигівська ЛМ, Майданник ІВ, Усевич ІА, Олешко ВФ, Манжула ЛВ. Стан матково-плацентарної гемодинаміки в II триместрі у вагітних в результаті використання допоміжних репродуктивних технологій. Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. 2020;2:14-9. doi: [10.35278/2664-0767.2\(46\).2020.219467](https://doi.org/10.35278/2664-0767.2(46).2020.219467)

25. Вигівська ЛМ, Никонюк ТР. Етіопатогенетичні аспекти перебігу I триместра вагітності у жінок після застосування допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2017;4:98-101. doi: [10.15574/HW.2017.120.98](https://doi.org/10.15574/HW.2017.120.98)

26. Голяновський ОВ, Зукін ВД, Шемякіна НМ, Рубінштейн АМ. Особливості перебігу вагітності, пологів та післяпологового періоду на тлі застосування допоміжних репродуктивних технологій. Репродуктивне здоров'я жінки. 2021;9-10:79-87. doi: [10.30841/2708-8731.9-10.2021.252598](https://doi.org/10.30841/2708-8731.9-10.2021.252598)

27. Горovenко НГ, Россоха ЗІ, Кир'яченко СП, Шейко ЛП, Брішевац ЛІ. Особливості міжгенної та ген-факторної взаємодії у чоловіків із подружніх пар з безпліддям та репродуктивними втратами. Український медичний часопис. 2018;2(5):1-4.

28. Граділь ОГ. Оваріальний резерв та його гормональна корекція при використанні програм допоміжних репродуктивних технологій [дисертація]. Харків; 2015. 144 с.

29. Гурженко ЮМ, Куценко АО. Загальна характеристика чоловіків із безпліддям, які скористалися допоміжними репродуктивними технологіями для запліднення *in vitro*. Здоров'я чоловіка. 2016;2:147-53. doi: [10.30841/2307-5090.2\(57\).2016.82979](https://doi.org/10.30841/2307-5090.2(57).2016.82979)

30. Гурженко ЮМ, Куценко АО. Значення факторів ризику у безплідних чоловіків щодо вибору допоміжних репродуктивних технологій для відновлення фертильності подружньої пари. Здоров'я жінки. 2016;10:136-9. doi: [10.15574/HW.2016.116.136](https://doi.org/10.15574/HW.2016.116.136)

31. Гурженко ЮМ, Куценко АО. Особливості порушень сперматогенезу чоловіків із безпліддям залежно від застосованих методик допоміжних репродуктивних технологій. Сімейна медицина. 2016;5:132-7. doi: [10.30841/2307-5112.5.2016.248839](https://doi.org/10.30841/2307-5112.5.2016.248839)

32. Гурженко ЮМ, Куценко АО. Фактори ризику відновлення фертильності подружньої пари з чоловічим безпліддям при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я чоловіка. 2016;3:170-3. doi: [10.30841/2307-5090.3\(58\).2016.104880](https://doi.org/10.30841/2307-5090.3(58).2016.104880)

33. Давидова ЮВ, Лиманська АЮ. Ентеросорбція як терапія супроводу раннього токсикозу у вагітних після допоміжних репродуктивних технологій на тлі закрєпів. Український журнал Перинатологія і Педіатрія. 2021;1:42-6. doi:

34. Данкович НО, Бабенко ОМ. Терапевтичні можливості підготовки жінок із безпліддям до ЕКЗ. Репродуктивна ендокринологія. 2017;2:53-6. doi: [10.18370/2309-4117.2017.34.53-56](https://doi.org/10.18370/2309-4117.2017.34.53-56)

35. Дарій ОС. Оптимізація тактики використання допоміжних репродуктивних технологій у подружніх пар з обтяженим генетичним анамнезом. Здоров'я жінки. 2018;8:103-6. doi: [10.15574/HW.2018.134.103](https://doi.org/10.15574/HW.2018.134.103)

36. Дроздовська ЮБ. Аналіз факторів порушення репродуктивної функції в жінок із безпліддям на фоні лейоміоми матки в програмах допоміжних репродуктивних технологій. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2020;4:91-6. doi: [10.11603/1681-2786.2020.4.11916](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2020.4.11916)

37. Дроздовська ЮБ. Оцінка оваріального резерву в жінок із безпліддям на фоні лейоміоми матки в програмах допоміжних репродуктивних технологій. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2020;2:86-91. doi: [10.11603/24116-4944.2020.2.11844](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2020.2.11844)

38. Дубініна ВГ, Носенко ОМ, Чужик ОІ, Гриценко ГС. Оваріальний резерв у безплідних жінок репродуктивного віку з неоперованими ендометріозами яєчників. Здоров'я жінки. 2016;6:165-8. doi: [10.15574/HW.2016.112.165](https://doi.org/10.15574/HW.2016.112.165)

39. Жабченко ІА, Сюдмак ОР, Бондаренко ОМ. Особливості стану соматичного та репродуктивного здоров'я у вагітних жінок після застосування екстракорпорального запліднення на фоні ожиріння (за даними ретроспективного аналізу). Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. 2018;1:70-6. doi: [10.35278/2664-0767.1\(41\).2018.171766](https://doi.org/10.35278/2664-0767.1(41).2018.171766)

40. Жабченко ІА, Сюдмак ОР. Особливості перебігу вагітності та пологів у жінок після застосування допоміжних репродуктивних технологій на тлі



ожиріння (За даними ретроспективного аналізу). Здоров'я жінки. 2018;6:122-6. doi: [10.15574/HW.2018.132.122](https://doi.org/10.15574/HW.2018.132.122)

41. Жук СІ, Воробей-Вихівська ВМ. Динаміка показників системи гемостазу як прогностичний критерій наслідків програм допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2016;5:165-70. doi: [10.15574/HW.2016.111.165](https://doi.org/10.15574/HW.2016.111.165)

42. Заліська ОМ, Стасів ХОЯ, Максимович НМ. Оцінка доступності допоміжних репродуктивних технологій в Україні та світі. Фармацевтичний журнал. 2020;76(4):49-59. doi: [10.32352/0367-3057.4.20.05](https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.20.05)

43. Захаренко ІЛ, Сейлова АІ, Гріценко ГС. Наш досвід проведення запліднення ін вітро (ЗІВ) у пацієток з низьким оваріальним резервом. Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. 2016;2:202-7.

44. Ішак ОМ, Семків МР, Хміль МС. Вплив хірургічного втручання на пацієток з апоплексією яєчника в аспекті збереження оваріального резерву та поліпшення ефективності допоміжних репродуктивних технологій. Вісник наукових досліджень. 2018;3:66-70. doi: [10.11603/2415-8798.2018.3.9404](https://doi.org/10.11603/2415-8798.2018.3.9404)

45. Камінський ВВ, Суменко ВВ, Коломійченко ТВ, Бойчук ОГ. Гормональний гомеостаз жінок із безпліддям та функціональними порушеннями гепатобіліарної системи. Репродуктивна ендокринологія. 2016;5:8-11. doi: [10.18370/2309-4117.2016.31.8-11](https://doi.org/10.18370/2309-4117.2016.31.8-11)

46. Камінський ВВ, Шалько МН, Малишева ІВ, Мудра ЮС. Застосування пероральних естрогенів у жінок із трубно-перитонеальним фактором безпліддя в циклах ДРТ. Репродуктивна ендокринологія. 2017;4:90-4. doi: [10.18370/2309-4117.2017.36.90-94](https://doi.org/10.18370/2309-4117.2017.36.90-94)

47. Камінський ВВ, Шалько МН, Малишева ІВ, Важливість діагностики TORCH-інфекцій перед проведенням програм допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2018;5:20-2. doi: [10.15574/HW.2018.131.20](https://doi.org/10.15574/HW.2018.131.20)

48. Капустін ЕВ, Геревич ГЙ. Місце та роль допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) у лікуванні непліддя та збереження фертильності. Акушерство. Гінекологія. Генетика. 2016;2(2):30-3.

49. Козуб ММ, Ольховська ВМ. Допоміжні репродуктивні технології у жінок із безпліддям після хірургічного лікування трубної вагітності. Міжнародний медичний журнал. 2015;4:42-6.

50. Коцабин НВ, Макачук ОМ. Анамнестичні фактори, які формують репродуктивне здоров'я жінок із неодноразовими невдалими спробами запліднення *in vitro*. Здоров'я жінки. 2016;8:140-3. doi: [10.15574/HW.2016.114.140](https://doi.org/10.15574/HW.2016.114.140)

51. Коцабин НВ. Диференційований підхід до покращення імплантаційного потенціалу ендометрію у жінок із невдалими спробами запліднення *in vitro* в анамнезі [дисертація]. Івано-Франківськ; 2017. 224 с.

52. Коцюбська Ю. Удосконалення підготовки ендометрія в програмах допоміжних репродуктивних технологій у жінок з трубно-перитонеальним фактором безпліддя [дисертація]. Вінниця; 2017. 155 с.

53. Литвин НВ. Імунологічні взаємодії організму у жінок із безплідністю, включених у програму IVF. Здоров'я жінки. 2017;6:136-9. doi: [10.15574/HW.2017.122.132](https://doi.org/10.15574/HW.2017.122.132)

54. Макаренко МВ, Говсеев ДО, Мартинова ЛІ, Берестовий ВО, Ворона РМ. Допоміжні репродуктивні технології та внутрішньоматкова патологія як фактори ризику передлежання плаценти. Здоров'я жінки. 2016;10:140-2. doi: [10.15574/HW.2016.116.136](https://doi.org/10.15574/HW.2016.116.136)

55. Малачинська МЙ, Вереснюк НС. Вплив мелатоніну на овуляцію та якість ооцитів на етапі планування вагітності. Ліки України. 2019;7:67-70. doi: [10.37987/1997-9894.2019.7\(233\).187012](https://doi.org/10.37987/1997-9894.2019.7(233).187012)

56. Мандрикова АС. Оптимізація тактики ведення вагітності та ранніх передчасних пологів у жінок після застосування допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2018;5:104-7. doi: [10.15574/HW.2018.131.104](https://doi.org/10.15574/HW.2018.131.104)

57. Маслій ЮВ, Судома ІО, Мазур ПС, Микитенко ДО, Осадчук СВ. Досвід проведення циклів допоміжних репродуктивних технологій з розморожуванням, біопсією, генетичним обстеженням та рефрізингом

ембріонів у пацієнок з багаторазовими невдалими імплантаціями. Здоров'я жінки. 2016;7:166-70. doi: [10.15574/HW.2016.113.166](https://doi.org/10.15574/HW.2016.113.166)

58. Німенький МВ. Порівняльні аспекти допоміжних репродуктивних технологій після різних методів лікування патології яєчників та маткових труб. Здоров'я жінки. 2018;8:107-10. doi: [10.15574/HW.2018.134.107](https://doi.org/10.15574/HW.2018.134.107)

59. Онисько ОВ, Корчинська ОО, Андрашчікова С, Жултакова С. Хронічний ендометрит як фактор невдалих спроб в допоміжних репродуктивних технологіях. Лікарська справа. 2019;7-8:13-21. doi: [10.31640/JVD.7-8.2019\(2\)](https://doi.org/10.31640/JVD.7-8.2019(2))

60. Орлова ВВ. Ефективність використання екзогенного мелатоніну при безплідді трубного походження. Вісник наукових досліджень. 2019;1:79-83. doi: [10.11603/2415-8798.2019.1.9956](https://doi.org/10.11603/2415-8798.2019.1.9956)

61. Орлова ВВ. Оптимізація прегравідарної підготовки та схем стимуляції овуляції в жінок з трубно-перитонеальним фактором безпліддя в програмах допоміжних репродуктивних технологій [дисертація]. Київ; 2019. 167 с.

62. Орлова ВВ. Стан про/антиоксидантної системи в репродуктивному тракті жінок з трубно-перитонеальним безпліддям. Медицина сьогодні і завтра. 2018;78(1):65-71.

63. Орлова ВВ, Суслікова ЛВ. Роль мелатоніну у репродуктивній реалізації жінок з безплідністю. Здоров'я жінки. 2017;8:99-104. doi: [10.15574/HW.2017.124.99](https://doi.org/10.15574/HW.2017.124.99)

64. Орлова ВВ, Суслікова ЛВ, Орлова ОА, Дмитрієнко ДВ. Рівень фрагментованої ДНК ендометрію та фолікулярної рідини при трубно-перитонеальному безплідді. Експериментальна і клінічна медицина. 2018;81(4):58-62.

65. Палига ІЄ. Профілактика невдалих спроб застосування допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2017;3:110-2. doi: [10.15574/HW.2017.119.110](https://doi.org/10.15574/HW.2017.119.110)

66. Педаченко НЮ, Шушкевич ОБ. Синдром полікістозних яєчників: у фокусі – своєчасна профілактика онкоризиків. За матеріалами конференції. Здоров'я України. Акушерство. Гінекологія. Репродуктологія. 2021;5:14-5.

67. Поворознюк МВ. Трубно-перитонеальне неплоддя: а чи здорові чоловіки? Медичні аспекти здоров'я жінки. 2020;1:54-8.

68. Свиридова НК, Белкіна ІО, Карпенко НО. Особливості застосування мелатоніну в сучасних умовах – успішний досвід і нові можливості. Український терапевтичний журнал. 2021;3:47-59. doi: [10.30978/UTJ2021-3-47](https://doi.org/10.30978/UTJ2021-3-47)

69. Семенина ГБ. Ендокринні та обмінно-метаболічні порушення в жінок із синдромом полікістозних яєчників і нові можливості їхньої корекції. Репродуктивна ендокринологія. 2016;6:69-76. doi: [10.18370/2309-4117.2016.32.69-76](https://doi.org/10.18370/2309-4117.2016.32.69-76)

70. Семенюк ЛМ, Юзвенко ТВ, Ларіна ОВ. Особливості вуглеводного обміну у жінок раннього репродуктивного віку із склерополікістозом яєчників. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018;14(3):229-34. doi: [10.22141/2224-0721.14.3.2018.136417](https://doi.org/10.22141/2224-0721.14.3.2018.136417)

71. Ситнікова ВО, Петренко ОО. Тенденції застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні. Одеський медичний журнал. 2017;1:67-9.

72. Соловійова НВ. Антиоксидантна активність мелатоніну і глутатіону на основі порівняльного аналізу результатів квантовохімічних та електрохімічних досліджень. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2015;15(1):190-4.

73. Стасів ХОЯ, Заліська ОМ, Максимович НМ. Аналіз системи фармацевтичного забезпечення допоміжних репродуктивних технологій в Україні та світі. Соціальна фармація в охороні здоров'я. 2018;4(4):28-35. doi: [10.24959/sphhcj.18.129](https://doi.org/10.24959/sphhcj.18.129)

74. Страховецька ЮВ. Тактика допоміжних репродуктивних технологій після оперативного лікування жінок з ендометріомами яєчників. Здоров'я жінки. 2016;8:144-6. doi: [10.15574/HW.2016.114.144](https://doi.org/10.15574/HW.2016.114.144)

75. Стрелко ГВ. Нові тенденції в клініці екстракорпорального запліднення, медичні переваги контрольованої оваріальної стимуляції з антагоністами

гонадотропін-релізінг-гормону та корифолітропіном альфа. Здоров'я України. Гінекологія. Акушерство. Репродуктологія. 2017;4:17-8.

76. Стрелко ГВ. Особливості перебігу вагітності та перинатальні результати у жінок зі зниженою відповіддю на стимуляцію у програмах допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2018;10:96-100. doi: [10.15574/HW.2018.136.96](https://doi.org/10.15574/HW.2018.136.96)

77. Стрелко ГВ, Уланова ВВ, Фесай ОА. Донація ооцитів як метод лікування безплідності у поганих відповідачів у клініці допоміжних репродуктивних технологій. Здоров'я жінки. 2018;8:111-6. doi: [10.15574/HW.2018.134.111](https://doi.org/10.15574/HW.2018.134.111)

78. Суслікова ЛВ, Сербенюк АВ. Аналіз випадків невдалих спроб лікування трубно-перитонеальної безплідності методами допоміжних репродуктивних технологій. Сімейна медицина. 2018;2:16-21. doi: [10.30841/2307-5112.2.2018.145203](https://doi.org/10.30841/2307-5112.2.2018.145203)

79. Суслікова ЛВ, Сербенюк АВ. Аналіз ефективності використання естрогенів для корекції стану ендометрія у програмах лікування методами ДПР. Здоров'я жінки. 2018;2:103-8. doi: [10.15574/HW.2018.128.103](https://doi.org/10.15574/HW.2018.128.103)

80. Суслікова ЛВ, Сербенюк АВ. Оптимізація прегравідарної підготовки ендометрія перед наступним циклом лікування методами допоміжних репродуктивних технологій у пацієток з трубно-перитонеальною безплідністю шляхом застосування процедури ін'єкційного скретчингу. Здоров'я жінки. 2018;4:87-91. doi: [10.15574/HW.2018.130.87](https://doi.org/10.15574/HW.2018.130.87)

81. Суслікова ЛВ, Сербенюк АВ. Оптимізація циклів лікування методами допоміжних репродуктивних технологій у пацієнтів з трубно-перитонеальною безплідністю шляхом застосування процедури ін'єкційного скретчингу аутоплазмою. Здоров'я жінки. 2018;5:97-103. doi: [10.15574/HW.2018.131.97](https://doi.org/10.15574/HW.2018.131.97)

82. Сюсюка ВГ, Сергієнко МЮ, Макуріна ГІ, Єршова ОА, Чорненька АС. Синдром полікістозних яєчників: клініко-патогенетичні аспекти мультидисциплінарної проблеми. Репродуктивне здоров'я жінки. 2021;2:7-14. doi: [10.30841/2708-8731.2.2021.232513](https://doi.org/10.30841/2708-8731.2.2021.232513)

83. Татарчук ТФ, Калугіна ЛВ. Перспективи використання інозитолів у корекції інсулінорезистентності у жінок із синдромом полікістозних яєчників. Здоров'я України. Гінекологія. Акушерство. Репродуктологія. 2018;1:5-6.

84. Толстанова ГО. Патологія ендометрія у жінок з нереалізованою репродуктивною функцією: діагностика і тактика лікування безплідності. Здоров'я жінки. 2018;5:108-10. doi: [10.15574/HW.2018.131.108](https://doi.org/10.15574/HW.2018.131.108)

85. Туманова ЛЄ, Коломієць ОВ. Мікробіоциноз піхви у вагітних з різними видами безплідності в анамнезі. Український журнал Перинатологія і Педіатрія. 2020;2:68-75. doi: [10.15574/PP.2020.82.68](https://doi.org/10.15574/PP.2020.82.68)

86. Туманова ЛЄ, Коломієць ОВ. Особливості психоемоційного стану вагітних із різними видами безплідності в анамнезі. Репродуктивне здоров'я жінки. 2022;1:52-8. doi: [10.30841/2708-8731.1.2022.258139](https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2022.258139)

87. Туманова ЛЄ, Коломієць ОВ. Показники вітаміну D у динаміці вагітності у жінок з різними видами безплідності в анамнезі. Репродуктивне здоров'я жінки. 2021;9-10:23-7. doi: [10.30841/2708-8731.9-10.2021.252580](https://doi.org/10.30841/2708-8731.9-10.2021.252580)

88. Турчина СІ. Мелатонін та становлення репродуктивної системи у підлітків з нейроендокринним ожирінням. Проблеми ендокринної патології. 2018;1:56-61. doi: [10.21856/i-PEP.2018.1.07](https://doi.org/10.21856/i-PEP.2018.1.07)

89. Урбанович АМ. Синдром полікістозних яєчників у щоденній практиці. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018;14(1):40-5. doi: [10.22141/2224-0721.14.1.2018.127090](https://doi.org/10.22141/2224-0721.14.1.2018.127090)

90. Феськов ВО. Сучасні підходи до лікування безпліддя у жінок, хворих на ендометріоз яєчників, з використанням екстракорпорального запліднення. Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science». 2017;7:39-43. doi: [10.15587/2519-4798.2017.107739](https://doi.org/10.15587/2519-4798.2017.107739)

91. Феськов ВО, Тучкіна ІО, Лазуренко ВВ. Перебіг та закінчення вагітності у жінок із ендометріозом яєчників після застосування допоміжних репродуктивних технологій. Міжнародний медичний журнал. 2018;24(1):47-50.

92. Хміль МС. Прегравідарна підготовка та вибір оптимального протоколу контрольованої оваріальної стимуляції у пацієнок зі синдромом полікістозних яєчників. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2020;2:60-4. doi: [10.11603/1681-2786.2020.2.11412](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2020.2.11412)

93. Хміль СВ, Дроздовська ЮБ, Хміль МС, Чудійович НЯ. Ефективність гістерорезектомії у жінок з безпліддям на фоні лейоміоми матки в програмах допоміжних репродуктивних технологій. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2018;4:51-5. doi: [10.11603/1681-2786.2018.4.10030](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2018.4.10030)

94. Хміль СВ, Корда ІВ, Дроздовська ЮБ, Хміль МС, Чудійович НЯ. Лейоміома матки і безпліддя (огляд літератури). Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2017;4:96-103. doi: [10.11603/1681-2786.2017.4.8661](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2017.4.8661)

95. Хміль СВ, Кулик П, Микула РП. Антиоксидантна терапія у жінок із безпліддям на фоні ендометріозу. Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2018;4:56-63. doi: [10.11603/1681-2786.2018.4.10031](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2018.4.10031)

96. Хміль СВ, Кулик П, Микула РП. Комплексна терапія у жінок з ендометріозасоційованим безпліддям у програмах допоміжних репродуктивних технологій. Вісник наукових досліджень. 2018;4:103-7. doi: [10.11603/2415-8798.2018.4.9814](https://doi.org/10.11603/2415-8798.2018.4.9814)

97. Хміль СВ, Хміль МС. Ефективність застосування прегравідарної підготовки у пацієнок із синдромом полікістозних яєчників у програмах допоміжних репродуктивних технологій при використанні протоколів контрольованої оваріальної стимуляції з антагоністами та тригером агоністом. Вісник наукових досліджень. 2017;4:73-6. doi: [10.11603/2415-8798.2017.4.8436](https://doi.org/10.11603/2415-8798.2017.4.8436)

98. Хміль СВ, Хміль МС. Оптимізація комплексної прегравідарної підготовки та протоколів контрольованої стимуляції овуляції в пацієнтів із синдромом полікістозних яєчників у програмах допоміжних репродуктивних технологій. Вісник наукових досліджень. 2018;4:108-13. doi: [10.11603/2415-8798.2018.4.9814](https://doi.org/10.11603/2415-8798.2018.4.9814)

99. Хміль МС, Хміль СВ. Оцінка ефективності контрольованої оваріальної стимуляції за довгим протоколом у жінок із безпліддям на фоні синдрому полікістозних яєчників. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019;2:143-8. doi: [10.11603/24116-4944.2019.2.10934](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2019.2.10934)

100. Хміль МС, Хміль-Досвальд АС, Хміль СВ, Підгайна ІЯ. Перспективи використання інозитулу в жінок із синдромом полікістозних яєчників (огляд літератури). Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2018;4:82-9. doi: [10.11603/1681-2786.2018.4.10035](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2018.4.10035)

101. Хміль МС, Хміль СВ, Чудійович НЯ, Хміль-Досвальд АС. Порівняльна характеристика протоколів стимуляції овуляції з використанням агоністів та антагоністів гонадотропін-рилізинг-гормонів у програмах допоміжних репродуктивних технологій (огляд літератури). Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. 2018;4:90-6. doi: [10.11603/1681-2786.2018.4.10036](https://doi.org/10.11603/1681-2786.2018.4.10036)

102. Хміль СВ, Чудійович НЯ. Хронічний ендометрит як один із факторів невдалих спроб імплантації ембріонів у програмах допоміжних репродуктивних технологій. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019;2:111-7. doi: [10.11603/24116-4944.2019.2.10930](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2019.2.10930)

103. Шиянова СВ. Тактика допоміжних репродуктивних технологій у жінок з вродженими аномаліями розвитку матки. Здоров'є жінчини. 2017;8:96-8. doi: [10.15574/HW.2017.124.96](https://doi.org/10.15574/HW.2017.124.96)

104. Щербина МО, Граділь ОГ. Ад'ювантна мелатонін-гормонотерапія як метод покращення оваріальної відповіді у «поганих відповідачів» в циклах екстракорпорального заплідження. Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. 2015;2:277-8.

105. Щербина МО, Лазуренко ВВ, Щедров АО. Сучасні підходи до лікування ускладнень вагітності після застосування ДРТ. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2015;1:199-201. doi: [10.11603/24116-4944.2015.1.4722](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2015.1.4722)



106. Щербина МО, Ліпко ОП, Граділь ОГ. Методика покращення оваріальної відповіді при знижених показниках оваріального резерву. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2015;2:193-6. doi: [10.11603/24116-4944.2015.2.4822](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2015.2.4822)

102. Adda-Herzog E, Poulain M, de Ziegler D, Ayoubi JM, Fanchin R. Premature progesterone elevation in controlled ovarian stimulation: to make a long story short. *Fertil Steril*. 2018;109(4):563-70. doi: [10.1016/j.fertnstert.2018.02.132](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.132)

108. Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, Cho CL, Henkel R, Vij S, et al. Male infertility. *Lancet*. 2021;397(10271):319-33. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)32667-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2)

109. Allan HT, Mounce G, Crespo E, Shawe J. Preconception care for infertile couples: Nurses' and midwives' roles in promoting better maternal and birth outcomes. *J Clin Nurs*. 2018;27(23-24):4411-8. doi: [10.1111/jocn.14586](https://doi.org/10.1111/jocn.14586)

110. Almasi-Hashiani A, Omani-Samani R, Mohammadi M, Amini P, Navid B, Alizadeh A, et al. Assisted reproductive technology and the risk of preeclampsia: an updated systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. 2019[cited 2022 Jan 17];19(1):149. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6498659/pdf/12884\\_2019\\_Article\\_2291.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6498659/pdf/12884_2019_Article_2291.pdf) doi: [10.1186/s12884-019-2291-x](https://doi.org/10.1186/s12884-019-2291-x)

111. Alviggi C, Conforti A, Santi D, Esteves SC, Andersen CY, Humaidan P, et al. Clinical relevance of genetic variants of gonadotrophins and their receptors in controlled ovarian stimulation: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2018;24(5):599-614. doi: [10.1093/humupd/dmy019](https://doi.org/10.1093/humupd/dmy019)

112. Amaral MEB, Ejzenberg D, Wajman DS, Monteleone PAA, Serafini P, Soares JM Jr, et al. Risk factors for inadequate response to ovarian stimulation in assisted reproduction cycles: systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(1):19-28. doi: [10.1007/s10815-018-1324-0](https://doi.org/10.1007/s10815-018-1324-0)

113. Amor H, Shelko N, Hamad MF, Zeyad A, Hammadeh ME. An additional marker for sperm DNA quality evaluation in spermatozoa of male partners of couples undergoing assisted reproduction technique (IVF/ICSI): Protamine ratio. *Andrologia*

[Internet]. 2019[cited 2021 Dec 24];51(10):e13400. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/and.13400> doi: [10.1111/and.13400](https://doi.org/10.1111/and.13400)

114. Andersen ST, Pors SE, Poulsen LC, Colmorn LB, Macklon KT, Ernst E, et al. Ovarian stimulation and assisted reproductive technology outcomes in women transplanted with cryopreserved ovarian tissue: a systematic review. *Fertil Steril*. 2019;112(5):908-21. doi: [10.1016/j.fertnstert.2019.07.008](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.07.008)

115. Ballesta-Castillejos A, Gomez-Salgado J, Rodriguez-Almagro J, Ortiz-Esquinas I, Hernández-Martínez A. Obstetric and perinatal complications associated with assisted reproductive treatment in Spain. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(12):2435-45. doi: [10.1007/s10815-019-01631-6](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01631-6)

116. Becatti M, Fucci R, Mannucci A, Barygina V, Mugnaini M, Criscuoli L, et al. A Biochemical Approach to Detect Oxidative Stress in Infertile Women Undergoing Assisted Reproductive Technology Procedures. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018[cited 2022 Jan 19];19(2):592. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5855814/pdf/ijms-19-00592.pdf> doi: [10.3390/ijms19020592](https://doi.org/10.3390/ijms19020592)

117. Belan M, Harnois-Leblanc S, Laferrère B, Baillargeon JP. Optimizing reproductive health in women with obesity and infertility. *CMAJ*. 2018;190(24):E742-5. doi: [10.1503/cmaj.171233](https://doi.org/10.1503/cmaj.171233)

118. Bellver J, Bosch E, Espinós JJ, Fabregues F, Fontes J, García-Velasco J, et al. Second-generation preimplantation genetic testing for aneuploidy in assisted reproduction: a SWOT analysis. *Reprod Biomed Online*. 2019;39(6):905-15. doi: [10.1016/j.rbmo.2019.07.037](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.07.037)

119. Bergandi L, Canosa S, Carosso AR, Paschero C, Gennarelli G, Silvagno F, et al. Human Recombinant FSH and Its Biosimilars: Clinical Efficacy, Safety, and Cost-Effectiveness in Controlled Ovarian Stimulation for In Vitro Fertilization. *Pharmaceuticals (Basel)* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 14];13(7):136. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7407829/pdf/pharmaceuticals-13-00136.pdf> doi: [10.3390/ph13070136](https://doi.org/10.3390/ph13070136)

120. Bernabeu A, Lledo B, Díaz MC, Lozano FM, Ruiz V, Fuentes A, et al. Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(10):2111-9. doi: [10.1007/s10815-019-01564-0](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01564-0)

121. Bhattacharya K, Sengupta P, Dutta S. Role of melatonin in male reproduction. *Asian Pac J Reprod.* 2019;8:211-9. doi: [10.4103/2305-0500.268142](https://doi.org/10.4103/2305-0500.268142)

122. Boutari C, Pappas PD, Mintziori G, Nigdelis MP, Athanasiadis L, Goulis DG, et al. The effect of underweight on female and male reproduction. *Metabolism* [Internet]. 2020[cited 2022 Feb 06];107:154229. Available from: [https://www.metabolismjournal.com/article/S0026-0495\(20\)30093-7/fulltext](https://www.metabolismjournal.com/article/S0026-0495(20)30093-7/fulltext) doi: [10.1016/j.metabol.2020.154229](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2020.154229)

123. Broi MGD, Ferriani RA, Navarro PA. Ethio-pathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility. *JBRA Assist Reprod.* 2019;23(3):273-80. doi: [10.5935/1518-0557.20190029](https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190029)

124. Budani MC, Fensore S, Di Marzio M, Tiboni GM. Cigarette smoking impairs clinical outcomes of assisted reproductive technologies: A meta-analysis of the literature. *Reprod Toxicol.* 2018;80:49-59. doi: [10.1016/j.reprotox.2018.06.001](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.06.001)

125. Bulletti C, Allegra A, Mignini Renzini M, Vaiarelli A. How fixed versus variable gonadotropin dose during controlled ovarian stimulation could influence the management of infertility patients undergoing IVF treatment: a national Delphi consensus. *Gynecol Endocrinol.* 2021;37(3):255-63. doi: [10.1080/09513590.2020.1770214](https://doi.org/10.1080/09513590.2020.1770214)

126. Burfoot A. *Encyclopedia Of Reproductive Technologies*. Routledge; 2019. 424 p.

127. Campbell S. Ultrasound Evaluation in Female Infertility: Part 2, the Uterus and Implantation of the Embryo. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2019;46(4):697-713. doi: [10.1016/j.ogc.2019.08.002](https://doi.org/10.1016/j.ogc.2019.08.002)

128. Campo-Engelstein L, Burcher P, editors. *Reproductive Ethics II. New Ideas and Innovations* [Internet]. Springer Cham; 2018[cited 2022 Feb 14]. 193 p. Available from: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-89429-4>

129. Cao H, You D, Yuan M, Xi M. Hysteroscopy after repeated implantation failure of assisted reproductive technology: A meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018;44(3):365-73. doi: [10.1111/jog.13571](https://doi.org/10.1111/jog.13571)

130. Cariati F, D'Argenio V, Tomaiuolo R. The evolving role of genetic tests in reproductive medicine. *J Transl Med [Internet].* 2019[cited 2021 Dec 26];17(1):267. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6694655/pdf/12967\\_2019\\_Article\\_2019.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6694655/pdf/12967_2019_Article_2019.pdf) doi: [10.1186/s12967-019-2019-8](https://doi.org/10.1186/s12967-019-2019-8)

131. Carosso A, Revelli A, Gennarelli G, Canosa S, Cosma S, Borella F, et al. Controlled ovarian stimulation and progesterone supplementation affect vaginal and endometrial microbiota in IVF cycles: a pilot study. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(9):2315-26. doi: [10.1007/s10815-020-01878-4](https://doi.org/10.1007/s10815-020-01878-4)

132. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA.* 2021;326(1):65-76. doi: [10.1001/jama.2021.4788](https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788)

133. Chen Y, Zhi X. Roles of Vitamin D in Reproductive Systems and Assisted Reproductive Technology. *Endocrinology [Internet].* 2020[cited 2022 Feb 17];161(4):bqaa023. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article/161/4/bqaa023/5739616?login=false> doi: [10.1210/endo/bqaa023](https://doi.org/10.1210/endo/bqaa023)

134. Child T, Leonard SA, Evans JS, Lass A. Systematic review of the clinical efficacy of vaginal progesterone for luteal phase support in assisted reproductive technology cycles. *Reprod Biomed Online.* 2018;36(6):630-45. doi: [10.1016/i.rbmo.2018.02.001](https://doi.org/10.1016/i.rbmo.2018.02.001)

135. Christianson MS, Bellver J. Innovations in assisted reproductive technologies: impact on contemporary donor egg practice and future advances. *Fertil Steril.* 2018;110(6):994-1002. doi: [10.1016/i.fertnstert.2018.09.020](https://doi.org/10.1016/i.fertnstert.2018.09.020)

136. Chu J, Gallos I, Tobias A, Tan B, Eapen A, Coomarasamy A. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2018;33(1):65-80. doi: [10.1093/humrep/dex326](https://doi.org/10.1093/humrep/dex326)

137. Coco R. Genetic counseling prior to Assisted Reproductive Technology procedures in the era of cytogenomics. *JBRA Assist Reprod*. 2018;22(4):375-80. doi: [10.5935/1518-0557.20180050](https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180050)
138. Colaco S, Sakkas D. Paternal factors contributing to embryo quality. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(11):1953-68. doi: [10.1007/s10815-018-1304-4](https://doi.org/10.1007/s10815-018-1304-4)
139. Cunha A, Povia AM. Infertility management in women with polycystic ovary syndrome: a review. *Porto Biomed J [Internet]*. 2021[cited 2022 Jan 21];6(1):e116. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7846416/pdf/pj9-6-e116.pdf> doi: [10.1097/i.pbj.0000000000000116](https://doi.org/10.1097/i.pbj.0000000000000116)
140. Da Broi MG, Jordão AA Jr, Ferriani RA, Navarro PA. Oocyte oxidative DNA damage may be involved in minimal/mild endometriosis-related infertility. *Mol Reprod Dev*. 2018;85(2):128-36. doi: [10.1002/mrd.22943](https://doi.org/10.1002/mrd.22943)
141. De Geyter C. Assisted reproductive technology: Impact on society and need for surveillance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33(1):3-8. doi: [10.1016/j.beem.2019.01.004](https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.01.004)
142. DeAngelis AM, Martini AE, Owen CM. Assisted Reproductive Technology and Epigenetics. *Semin Reprod Med*. 2018;36(3-04):221-32. doi: [10.1055/s-0038-1675780](https://doi.org/10.1055/s-0038-1675780)
143. Dishuck CF, Perchik JD, Porter KK, Gunn DD. Advanced Imaging in Female Infertility. *Curr Urol Rep [Internet]*. 2019[cited 2021 Dec 27];20(11):77. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11934-019-0942-0> doi: [10.1007/s11934-019-0942-0](https://doi.org/10.1007/s11934-019-0942-0)
144. Drakopoulos P, Garcia-Velasco J, Bosch E, Blockeel C, de Vos M, Santos-Ribeiro S, et al. ICSI does not offer any benefit over conventional IVF across different ovarian response categories in non-male factor infertility: a European multicenter analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(10):2067-76. doi: [10.1007/s10815-019-01563-1](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01563-1)

145. Du YJ, Xin X, Cui N, Jiang L, Yang AM, Hao GM, et al. Effects of controlled ovarian stimulation on thyroid stimulating hormone in infertile women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;234:207-12. doi: [10.1016/j.ejogrb.2019.01.025](https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.01.025)

146. Eftekhara M, Mirhashemia ES, Tabibnejad N. Outcome of assisted reproductive technology in different subgroups of poor ovarian responders fulfilling the POSEIDON criteria. *Middle East Fertility Society Journal.* 2018;23(4):399-403. doi: [10.1016/j.mefs.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.mefs.2018.06.002)

147. Elhoussein OG, Ahmed MA, Suliman SO, Yahya LI, Adam I. Epidemiology of infertility and characteristics of infertile couples requesting assisted reproduction in a low-resource setting in Africa, Sudan. *Fertil Res Pract [Internet].* 2019[cited 2021 Dec 28];5:7. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6637545/pdf/40738\\_2019\\_Article\\_60.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6637545/pdf/40738_2019_Article_60.pdf) doi: [10.1186/s40738-019-0060-1](https://doi.org/10.1186/s40738-019-0060-1)

148. Espino J, Macedo M, Lozano G, Ortiz Á, Rodríguez C, Rodríguez AB, et al. Impact of Melatonin Supplementation in Women with Unexplained Infertility Undergoing Fertility Treatment. *Antioxidants (Basel) [Internet].* 2019[cited 2022 Jan 17];8(9):338. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6769719/pdf/antioxidants-08-00338.pdf> doi: [10.3390/antiox8090338](https://doi.org/10.3390/antiox8090338)

149. Espinós JJ, Fabregues F, Fontes J, García-Velasco JA, Llácer J, Requena A, et al. Impact of chronic endometritis in infertility: a SWOT analysis. *Reprod Biomed Online.* 2021;42(5):939-51. doi: [10.1016/j.rbmo.2021.02.003](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.02.003)

150. Esteves SC, Humaidan P, Roque M, Agarwal A. Female infertility and assisted reproductive technology. *Panminerva Med.* 2019;61(1):1-2. doi: [10.23736/S0031-0808.18.03553-X](https://doi.org/10.23736/S0031-0808.18.03553-X)

151. Esteves SC. Are specialized sperm function tests clinically useful in planning assisted reproductive technology? *Int Braz J Urol.* 2020;46(1):116-23. doi: [10.1590/S1677-5538.IBJU.2020.01.03](https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IBJU.2020.01.03)

152. Fabregues F, González-Foruria I, Peñarrubia J, Carmona F. Ovarian response is associated with anogenital distance in patients undergoing controlled

ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod.* 2018;33(9):1696-704. doi: [10.1093/humrep/dev244](https://doi.org/10.1093/humrep/dev244)

153. Faddy MJ, Gosden MD, Gosden RG. A demographic projection of the contribution of assisted reproductive technologies to world population growth. *Reprod Biomed Online.* 2018;36(4):455-8. doi: [10.1016/j.rbmo.2018.01.006](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.01.006)

154. Farquhar C, Marjoribanks J. Assisted reproductive technology: an overview of Cochrane Reviews. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2018[cited 2022 Dec 16];8(8):CD010537. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6953328/pdf/CD010537.pdf> doi: [10.1002/14651858.CD010537](https://doi.org/10.1002/14651858.CD010537)

155. Feng J, Wang J, Zhang Y, Zhang Y, Jia L, Zhang D, et al. The Efficacy of Complementary and Alternative Medicine in the Treatment of Female Infertility. *Evid Based Complement Alternat Med* [Internet]. 2021[cited 2022 Feb 12];2021:6634309. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8093064/pdf/ECAM2021-6634309.pdf> doi: [10.1155/2021/6634309](https://doi.org/10.1155/2021/6634309)

156. Ferlin A, Dipresa S, Delbarba A, Maffezzoni F, Porcelli T, Cappelli C, et al. Contemporary genetics-based diagnostics of male infertility. *Expert Rev Mol Diagn.* 2019;19(7):623-33. doi: [10.1080/14737159.2019.1633917](https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1633917)

157. Fernando S, Biggs SN, Horne RSC, Vollenhoven B, Lolatgis N, Hope N, Wong M, et al. The impact of melatonin on the sleep patterns of women undergoing IVF: a double blind RCT. *Hum Reprod Open* [Internet]. 2018[cited 2022 Feb 17];2017(4):hox027. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6276665/pdf/hox027.pdf> doi: [10.1093/hropen/hox027](https://doi.org/10.1093/hropen/hox027)

158. Fernando S, Wallace EM, Vollenhoven B, Lolatgis N, Hope N, Wong M, et al. Melatonin in Assisted Reproductive Technology: A Pilot Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *Front Endocrinol* [Internet]. 2018[cited 2022 Jan 5];9:545. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6157331/pdf/fendo-09-00545.pdf>

doi: [10.3389/fendo.2018.00545](https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00545)

159. Furuya S, Kubonoya K, Yamaguchi T. Incidence and risk factors for velamentous umbilical cord insertion in singleton pregnancies after assisted reproductive technology. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021;47(5):1772-9. doi: [10.1111/jog.14727](https://doi.org/10.1111/jog.14727)

160. Gadalla MA, Wang R, van Wely M, Mol BWJ. How should we report outcomes in reproductive medicine? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(1):7-9. doi: [10.1002/uog.18969](https://doi.org/10.1002/uog.18969)

161. Genario R, Morello E, Bueno AA, Santos HO. The usefulness of melatonin in the field of obstetrics and gynecology. *Pharmacol Res [Internet].* 2019[cited 2022 Feb 3];147:104337. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661819302889> doi: [10.1016/j.phrs.2019.104337](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104337)

162. González-Foruria I, Soldevila PB, Rodríguez I, Rodríguez-Purata J, Pardos C, García S, et al. Do ovarian endometriomas affect ovarian response to ovarian stimulation for IVF/ICSI? *Reprod Biomed Online.* 2020;41(1):37-43. doi: [10.1016/i.rbmo.2020.03.013](https://doi.org/10.1016/i.rbmo.2020.03.013)

163. Guo YC, Chen PY, Li TT, Jia L, Sun P, Zhu WS, et al. Different progestin-primed ovarian stimulation protocols in infertile women undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: an analysis of 1188 cycles. *Arch Gynecol Obstet.* 2019;299(4):1201-12. doi: [10.1007/s00404-019-05065-4](https://doi.org/10.1007/s00404-019-05065-4)

164. Haahr T, Esteves SC, Humaidan P. Individualized controlled ovarian stimulation in expected poor-responders: an update. *Reprod Biol Endocrinol [Internet].* 2018[cited 2021 Dec 18];16(1):20. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5845159/pdf/12958\\_2018\\_Article\\_342.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5845159/pdf/12958_2018_Article_342.pdf) doi: [10.1186/s12958-018-0342-1](https://doi.org/10.1186/s12958-018-0342-1)

165. Halvaei I, Litzky J, Esfandiari N. Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol [Internet].* 2020[cited 2022 Jan 28];18(1):110. Available from:



<https://rbej.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12958-020-00668-y.pdf> doi:  
[10.1186/s12958-020-00668-y](https://doi.org/10.1186/s12958-020-00668-y)

166. Hassani F, Oryan S, Eftekhari-Yazdi P, Bazrgar M, Moini A, Nasiri N, et al. Association between The Number of Retrieved Mature Oocytes and Insulin Resistance or Sensitivity in Infertile Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Fertil Steril*. 2019;12(4):310-5. doi: [10.22074/ijfs.2019.5422](https://doi.org/10.22074/ijfs.2019.5422)

167. Hilbert SM, Gunderson S. Complications of Assisted Reproductive Technology. *Emerg Med Clin North Am*. 2019;37(2):239-49. doi: [10.1016/j.emc.2019.01.005](https://doi.org/10.1016/j.emc.2019.01.005)

168. Hoffnung M. The History and Politics of Infertility Treatment in the United States. *Women's Reprod Helth*. 2020;7(4):294-6. doi: [10.1080/23293691.2020.1820237](https://doi.org/10.1080/23293691.2020.1820237)

169. Howie R, Kay V. Controlled ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Br J Hosp Med*. 2018;79(4):194-9. doi: [10.12968/hmed.2018.79.4.194](https://doi.org/10.12968/hmed.2018.79.4.194)

170. Hu KL, Ye X, Wang S, Zhang D. Melatonin Application in Assisted Reproductive Technology: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials. *Front Endocrinol [Internet]*. 2020[cited 2022 Feb 07];11:160. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7118201/pdf/fendo-11-00160.pdf> doi: [10.3389/fendo.2020.00160](https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00160).

171. Huang J, Lu X, Xie Q, Lin J, Cai R, Kuang Y. Timing of frozen-thawed embryo transfer after controlled ovarian stimulation in a non-elective freeze-all policy. *Ann Transl Med [Internet]*. 2019[cited 2022 Jan 24];7(23):752. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6990002/pdf/atm-07-23-752.pdf> doi: [10.21037/atm.2019.11.74](https://doi.org/10.21037/atm.2019.11.74)

172. Hussein RS, Elnashar I, Amin AF, Abou-Taleb HA, Abbas AM, Abdelmageed AM, et al. Revisiting debates of premature luteinization and its effect on assisted reproductive technology outcome. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(11):2195-206. doi: [10.1007/s10815-019-01598-4](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01598-4)

173. Ichiyama T, Kuroda K, Nagai Y, Urushiyama D, Ohno M, Yamaguchi T, et al. Analysis of vaginal and endometrial microbiota communities in infertile women

with a history of repeated implantation failure. *Reprod Med Biol.* 2021;20(3):334-44. doi: [10.1002/rmb2.12389](https://doi.org/10.1002/rmb2.12389)

174. Immediata V, Patrizio P, Parisen Toldin MR, Morengi E, Ronchetti C, Cirillo F, et al. Twenty-one year experience with intrauterine inseminations after controlled ovarian stimulation with gonadotropins: maternal age is the only prognostic factor for success. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(5):1195-201. doi: [10.1007/s10815-020-01752-3](https://doi.org/10.1007/s10815-020-01752-3)

175. Ishihara O, Jwa SC, Kuwahara A, Katagiri Y, Kuwabara Y, Hamatani TY, et al. Assisted reproductive technology in Japan: A summary report for 2018 by the Ethics Committee of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. *Reprod Med Biol.* 2020;20(1):3-12. doi: [10.1002/rmb2.12358](https://doi.org/10.1002/rmb2.12358)

176. Ishii R, Shoda A, Kubo M, Okazaki S, Suzuki M, Okawa R, et al. Identifying a possible factor for the increased newborn size in singleton pregnancies after assisted reproductive technology using cryopreserved embryos, in comparison with fresh embryos. *Reprod Med Biol.* 2018;17(3):307-14. doi: [10.1002/rmb2.12206](https://doi.org/10.1002/rmb2.12206)

177. Ivanov D, Mazzoccoli G, Anderson G, Linkova N, Dyatlova A, Mironova E, et al. Melatonin, Its Beneficial Effects on Embryogenesis from Mitigating Oxidative Stress to Regulating Gene Expression. *Int J Mol Sci [Internet].* 2021[cited 2022 Feb 28];22(11):5885. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8198864/pdf/ijms-22-05885.pdf> doi: [10.3390/ijms22115885](https://doi.org/10.3390/ijms22115885)

178. Iwami N, Kawamata M, Ozawa N, Yamamoto T, Watanabe E, Moriwaka O, et al. New trial of progestin-primed ovarian stimulation using dydrogesterone versus a typical GnRH antagonist regimen in assisted reproductive technology. *Arch Gynecol Obstet.* 2018;298(3):663-71. doi: [10.1007/s00404-018-4856-8](https://doi.org/10.1007/s00404-018-4856-8)

179. Jeon H, Min J, Kim DK, Seo H, Kim S, Kim YS. Women with Endometriosis, Especially Those Who Conceived with Assisted Reproductive Technology, Have Increased Risk of Placenta Previa: Meta-analyses. *J Korean Med Sci [Internet].* 2018[cited 2021 Dec 18];33(34):e234. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6097069/pdf/jkms-33-e234.pdf> doi: [10.3346/jkms.2018.33.e234](https://doi.org/10.3346/jkms.2018.33.e234)

180. Jesus AR, Silva-Soares S, Silva J, Severo M, Barros A, Dória S. Reproductive success of assisted reproductive technology in couples with chromosomal abnormalities. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(7):1471-9. doi: [10.1007/s10815-019-01486-x](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01486-x)

181. Jeyendran RS, Caroppo E, Rouen A, Anderson A, Puscheck E. Selecting the most competent sperm for assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2019;111(5):851-63. doi: [10.1016/j.fertnstert.2019.03.024](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.03.024)

182. Jiang Y, Shi H, Liu Y, Zhao S, Zhao H. Applications of Melatonin in Female Reproduction in the Context of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2021[cited 2022 Jan 15];2021:6668365. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8342146/pdf/OMCL2021-6668365.pdf> doi: [10.1155/2021/6668365](https://doi.org/10.1155/2021/6668365)

183. Jin B, Niu Z, Xu B, Chen Q, Zhang A. Comparison of clinical outcomes among dual ovarian stimulation, mild stimulation and luteal phase stimulation protocols in women with poor ovarian response. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34(8):694-7. doi: [10.1080/09513590.2018.1435636](https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1435636)

184. Kawwass JF, Badell ML. Maternal and Fetal Risk Associated With Assisted Reproductive Technology. *Obstet Gynecol.* 2018;132(3):763-72. doi: [10.1097/AOG.0000000000002786](https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002786)

185. Khan HL, Bhatti S, Abbas S, Kaloglu C, Qurat-Ul-Ain Zahra S, et al. Melatonin levels and microRNA (miRNA) relative expression profile in the follicular ambient microenvironment in patients undergoing in vitro fertilization process. *J Assist Reprod Genet.* 2021;38(2):443-59. doi: [10.1007/s10815-020-02010-2](https://doi.org/10.1007/s10815-020-02010-2)

186. Khizroeva J, Nalli C, Bitsadze V, Lojacono A, Zatti S, Andreoli L, et al. Infertility in women with systemic autoimmune diseases. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2019[cited 2021 Dec 17];33(6):101369. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521690X19301204> doi: [10.1016/j.beem.2019.101369](https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101369)

187. Khmil SV, Chudiiiovych NYa, Khmil-Dosvald AS. PRP-therapy of endometrium: the latest methods in the field of assisted reproductive technologies. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2020;1:116-20. doi: [10.11603/24116-4944.2020.1.11495](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2020.1.11495)

188. Khmil SV, Terletska NYu. Tubal factor as one of the leading factors of female infertility. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2020;1:127-31. doi: [10.11603/24116-4944.2020.1.11497](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2020.1.11497)

189. Khmil MS, Ventskivskyi BV, Khmil SV. Modern approaches to the treatment of infertility in women with polycystic ovarian syndrome in assisted reproductive technology programs. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2020;1:108-15. doi: [10.11603/24116-4944.2020.1.11494](https://doi.org/10.11603/24116-4944.2020.1.11494)

190. Kiani AK, Paolacci S, Scanzano P, Michelini S, Capodicasa N, D'Agruma L, et al. Complications related to in vitro reproductive techniques support the implementation of natural procreative technologies. *Acta Biomed* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 18];91(13-S):e2020018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8023144/pdf/ACTA-91-18.pdf> doi: [10.23750/abm.v91i13-S.10525](https://doi.org/10.23750/abm.v91i13-S.10525)

191. Kissin DM, Adamson GD, Chambers G, De Geyter C. *Assisted Reproductive Technology Surveillance*. Cambridge University Press; 2019. 264p.

192. Klitzman R. *Designing Babies: How Technology Is Changing the Ways We Create Children*. Oxford Univ Press; 2019. 344 p.

193. Kohn TP, Kohn JR, Lamb DJ. Role of Sperm Morphology in Deciding Between Various Assisted Reproduction Technologies. *Eur Urol Focus*. 2018;4(3):311-3. doi: [10.1016/j.euf.2018.07.029](https://doi.org/10.1016/j.euf.2018.07.029)

194. Kudesia R, Kuokkanen S. Thin endometrium after radiation therapy as an unresolved treatment challenge: a case report. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(9):701-3. doi: [10.1080/09513590.2016.1177813](https://doi.org/10.1080/09513590.2016.1177813)

195. Kudesia R, Wu H, Hunter Cohn K, Tan L, Lee JA, Copperman AB, Yurttas Beim P. The effect of female body mass index on in vitro fertilization cycle outcomes:

a multi-center analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35(11):2013-23. doi: [10.1007/s10815-018-1290-6](https://doi.org/10.1007/s10815-018-1290-6)

196. Kuroda K, Ezoe K, Kato K, Yabuuchi A, Segawa T, Kobayashi T, et al. Infertility treatment strategy involving combined freeze-all embryos and single vitrified-warmed embryo transfer during hormonal replacement cycle for in vitro fertilization of women with hypogonadotropic hypogonadism. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018;44(5):922-8. doi: [10.1111/jog.13597](https://doi.org/10.1111/jog.13597)

197. La Rosa VL, Barra F, Chiofalo B, Platania A, Di Guardo F, Conway F, et al. An overview on the relationship between endometriosis and infertility: the impact on sexuality and psychological well-being. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 2020;41(2):93-7. doi: [10.1080/0167482X.2019.1659775](https://doi.org/10.1080/0167482X.2019.1659775)

198. Latif Khan H, Bhatti S, Latif Khan Y, Abbas S, Munir Z, Rahman Khan Sherwani IA, et al. Cell-free nucleic acids and melatonin levels in human follicular fluid predict embryo quality in patients undergoing in-vitro fertilization treatment. *J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet].* 2020[cited Dec 14];49(1):101624. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784719300649> doi: [10.1016/i.iogoh.2019.08.007](https://doi.org/10.1016/i.iogoh.2019.08.007)

199. Lavie I, Lavie M, Doyev R, Fouks Y, Azem F, Yogev Y. Pregnancy outcomes in women with inflammatory bowel disease who successfully conceived via assisted reproduction technique. *Arch Gynecol Obstet.* 2020;302(3):611-8. doi: [10.1007/s00404-020-05644-w](https://doi.org/10.1007/s00404-020-05644-w)

200. Lei LL, Lan YL, Wang SY, Feng W, Zhai ZJ. Perinatal complications and live-birth outcomes following assisted reproductive technology: a retrospective cohort study. *Chin Med J.* 2019;132(20):2408-16. doi: [10.1097/CM9.0000000000000484](https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000484)

201. Leone D, Borghi L, Del Negro S, Becattini C, Chelo E, Costa M, et al. Doctor-couple communication during assisted reproductive technology visits. *Hum Reprod.* 2018;33(5):877-86. doi: [10.1093/humrep/dev069](https://doi.org/10.1093/humrep/dev069)

202. Levi-Setti PE, Cirillo F, Scolaro V, Morengi E, Heilbron F, Girardello D, et al. Appraisal of clinical complications after 23,827 oocyte retrievals in a large

assisted reproductive technology program. *Fertil Steril*. 2018;109(6):1038-43. doi: [10.1016/j.fertnstert.2018.02.002](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.02.002)

203. Li MC, Mínguez-Alarcón L, Arvizu M, Chiu YH, Ford JB, Williams PL, et al. Waist circumference in relation to outcomes of infertility treatment with assisted reproductive technologies. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2019[cited 2021 Dec 17];220(6):578. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6545132/pdf/nihms-1521268.pdf> doi: [10.1016/j.ajog.2019.02.013](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.02.013)

204. Lytvyn N. The Role of Endothelial Dysfunction Markers in Pregnant Women with Chorion Detachment, Included in the Program of Auxiliary Reproductive Technologies. *Галицький лікарський вісник*. 2017;24(3):11-4. doi: [10.21802/gmj.2017.3.5](https://doi.org/10.21802/gmj.2017.3.5)

205. Li YH, Li HR, Wang PH. Parameters to predict the pregnancy in assisted reproductive technology. *J Chin Med Assoc*. 2019;82(4):249-50. doi: [10.1097/JCMA.0000000000000060](https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000060)

206. Likes CE, Cooper LJ, Efirid J, Forstein DA, Miller PB, Savaris R, et al. Medical or surgical treatment before embryo transfer improves outcomes in women with abnormal endometrial BCL6 expression. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(3):483-90. doi: [10.1007/s10815-018-1388-x](https://doi.org/10.1007/s10815-018-1388-x)

207. Lin X, Dai Y, Tong X, Xu W, Huang Q, Jin X, et al. Excessive oxidative stress in cumulus granulosa cells induced cell senescence contributes to endometriosis-associated infertility. *Redox Biol* [Internet]. 2020[cited 2022 Feb 14];30:101431. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231719314995> doi: [10.1016/i.redox.2020.101431](https://doi.org/10.1016/i.redox.2020.101431)

208. Liu W, Sha T, Huang Y, Guo Z, Yan L, Ma J. Factors Influencing the Live Birth Rate Following Fresh Embryo Transfer Cycles in Infertile Women After Endometrioma Cystectomy. *Front Med* [Internet]. 2021[cited 2022 Feb 25];8:622087. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7947290/pdf/fmed-08-622087.pdf> doi: [10.3389/fmed.2021.622087](https://doi.org/10.3389/fmed.2021.622087)

209. Liu X, Bai H, Xie J, Shi J. Growth hormone co-treatment on controlled ovarian stimulation in normal ovarian response women can improve embryo quality. *Gynecol Endocrinol.* 2019;35(9):787-91. doi: [10.1080/09513590.2019.1590545](https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1590545)
210. Louis CM, Erwin A, Handayani N, Polim AA, Boediono A, Sini I. Review of computer vision application in in vitro fertilization: the application of deep learning-based computer vision technology in the world of IVF. *J Assist Reprod Genet.* 2021;38(7):1627-39. doi: [10.1007/s10815-021-02123-2](https://doi.org/10.1007/s10815-021-02123-2)
211. Maignien C, Santulli P, Bourdon M, Korb D, Marcellin L, Lamau MC, et al. Deep Infiltrating Endometriosis: a Previous History of Surgery for Endometriosis May Negatively Affect Assisted Reproductive Technology Outcomes. *Reprod Sci.* 2020;27(2):545-54. doi: [10.1007/s43032-019-00052-1](https://doi.org/10.1007/s43032-019-00052-1)
212. Mani S, Ghosh J, Coutifaris C, Sapienza C, Mainigi M. Epigenetic changes and assisted reproductive technologies. *Epigenetics.* 2020;15(1-2):12-25. doi: [10.1080/15592294.2019.1646572](https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1646572)
213. Mann M. *Psychoanalytic Aspects of Assisted Reproductive Technology.* Routledge; 2018. 144 p.
214. Meister TA, Rimoldi SF, Soria R, von Arx R, Messerli FH, Sartori C, et al. Association of Assisted Reproductive Technologies With Arterial Hypertension During Adolescence. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(11):1267-74. doi: [10.1016/j.jacc.2018.06.060](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.06.060)
215. Michau A, El Hachem H, Galey J, Le Parco S, Perdigao S, Guthauser B, et al. Predictive factors for pregnancy after controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination: A retrospective analysis of 4146 cycles. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2019;48(10):811-5. doi: [10.1016/j.iogoh.2019.05.006](https://doi.org/10.1016/j.iogoh.2019.05.006)
216. Mol BW, Tjon-Kon-Fat R, Kamphuis E, van Wely M. Unexplained infertility: Is it over-diagnosed and over-treated? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;53:20-9. doi: [10.1016/j.bpobgyn.2018.09.006](https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.09.006)
217. Monteleone PA, Petersen PG, Peregrino PF, Miorin J, Gomes AP, Fujii MG, et al. Should single embryo transfer be used in patients with any kind of infertility

factor? Preliminary outcomes. *JBRA Assist Reprod.* 2019;23(3):200-4. doi: [10.5935/1518-0557.20190006](https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190006)

218. Montoya-Botero P, Polyzos NP. The endometrium during and after ovarian hyperstimulation and the role of segmentation of infertility treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(1):61-75. doi: [10.1016/j.beem.2018.09.003](https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.09.003)

219. Mustafa AA, Ali AH, Mustafa MA, Samarraie MQA. Physiological and hormonal study of women infertility. *Science Arhives.* 2020;1(3):160-5. doi: [10.47587/SA.2020.1314](https://doi.org/10.47587/SA.2020.1314)

220. Navarrete FA, Aguila L, Martin-Hidalgo D, Tourzani DA, Luque GM, Ardestani G, et al. Transient Sperm Starvation Improves the Outcome of Assisted Reproductive Technologies. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2019[cited 2021 Nov 25];7:262. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6848031/pdf/fcell-07-00262.pdf> doi: [10.3389/fcell.2019.00262](https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00262)

221. Nayan M, Punjani N, Grober E, Lo K, Jarvi K. The use of assisted reproductive technology before male factor infertility evaluation. *Transl Androl Urol.* 2018;7(4):678-85. doi: [10.21037/tau.2018.06.08](https://doi.org/10.21037/tau.2018.06.08)

222. Ozturk Inal Z, Yilmaz N, Inal HA, Hancerliogullari N, Coskun B. Are there any differences between antagonist administration on days <6 and ≥6 of Controlled Ovarian Hyperstimulation on assisted reproductive technique outcomes? *J Chin Med Assoc.* 2018;81(1):53-7. doi: [10.1016/j.icma.2017.01.011](https://doi.org/10.1016/j.icma.2017.01.011)

223. Perkhulyn OM, Pakharenko IV. Cervical elastograhya in patients with cervical insufficiency and a history of anovulatory infertility. *Репродуктивне здоров'я жінки.* 2021;3:34-6. doi: [10.30841/2708-8731.3.2021.234240](https://doi.org/10.30841/2708-8731.3.2021.234240)

224. Pan MM, Hockenberry MS, Kirby EW, Lipshultz LI. Male Infertility Diagnosis and Treatment in the Era of In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Med Clin North Am.* 2018;102(2):337-47. doi: [10.1016/j.mcna.2017.10.008](https://doi.org/10.1016/j.mcna.2017.10.008)



225. Panner Selvam MK, Agarwal A. A systematic review on sperm DNA fragmentation in male factor infertility: Laboratory assessment. *Arab J Urol*. 2018;16(1):65-76. doi: [10.1016/j.aju.2017.12.001](https://doi.org/10.1016/j.aju.2017.12.001)
226. Parks JC, McCallie BR, Patton AL, Al-Safi ZA, Polotsky AJ, Griffin DK, et al. The impact of infertility diagnosis on embryo-endometrial dialogue. *Reproduction*. 2018;155(6):543-52. doi: [10.1530/REP-17-0566](https://doi.org/10.1530/REP-17-0566)
227. Pedro J, Frederiksen Y, Schmidt L, Ingerslev HJ, Zachariae R, Martins MV. Comparison of three infertility-specific measures in men and women going through assisted reproductive technology treatment. *J Health Psychol*. 2019;24(6):738-49. doi: [10.1177/1359105316678669](https://doi.org/10.1177/1359105316678669)
228. Petersen SH, Bergh C, Gissler M, Åsvold BO, Romundstad LB, Tiitinen A, et al. Time trends in placenta-mediated pregnancy complications after assisted reproductive technology in the Nordic countries. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(2):226. doi: [10.1016/j.ajog.2020.02.030](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.02.030)
229. Piché ML, Babineau V, Robitaille J, Lachance É, Ruchat SM. Lifestyle-Related Factors Associated with Reproductive Health in Couples Seeking Fertility Treatments: Results of A Pilot Study. *Int J Fertil Steril*. 2018;12(1):19-26. doi: [10.22074/ijfs.2018.5135](https://doi.org/10.22074/ijfs.2018.5135)
230. Pinto S, Carrageta DF, Alves MG, Rocha A, Agarwal A, Barros A, et al. Sperm selection strategies and their impact on assisted reproductive technology outcomes. *Andrologia* [Internet]. 2021[cited 2022 Jan 17];53(2):e13725. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/and.13725> doi: [10.1111/and.13725](https://doi.org/10.1111/and.13725)
231. Pleş L, Alexandrescu C, Ionescu CA, Arvătescu CA, Vladareanu S, Moga MA. Three-dimensional scan of the uterine cavity of infertile women before assisted reproductive technology use. *Medicine* [Internet]. 2018[cited 2021 Dec 27];97(41):e12764. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6203555/pdf/medi-97-e12764.pdf> doi: [10.1097/MD.00000000000012764](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012764)

232. Poppe K, Autin C, Veltri F, Sitoris G, Kleynen P, Praet JP, et al. Thyroid Disorders and *In Vitro* Outcomes of Assisted Reproductive Technology: An Unfortunate Combination? *Thyroid*. 2020;30(8):1177-85. doi: [10.1089/thy.2019.0567](https://doi.org/10.1089/thy.2019.0567)
233. Poppe K, Bisschop P, Fugazzola L, Minziori G, Unuane D, Weghofer A. 2021 European Thyroid Association Guideline on Thyroid Disorders prior to and during Assisted Reproduction. *Eur Thyroid J*. 2021;9(6):281-95. doi: [10.1159/000512790](https://doi.org/10.1159/000512790)
234. Pozza A, Dèttore D, Coccia ME. Depression and Anxiety in Pathways of Medically Assisted Reproduction: The Role of Infertility Stress Dimensions. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*. 2019;15:101-9. doi: [10.2174/1745017901915010101](https://doi.org/10.2174/1745017901915010101)
235. Smoking and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2018;110(4):611-8. doi: [10.1016/j.fertnstert.2018.06.016](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.016)
236. Purewal S, Chapman SCE, van den Akker OBA. Depression and state anxiety scores during assisted reproductive treatment are associated with outcome: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2018;36(6):646-57. doi: [10.1016/j.rbmo.2018.03.010](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.03.010)
237. Quaas AM, Legro RS. Pharmacology of medications used for ovarian stimulation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33(1):21-33. doi: [10.1016/j.beem.2018.10.002](https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.10.002)
238. Racca A, Drakopoulos P, Neves AR, Polyzos NP. Current Therapeutic Options for Controlled Ovarian Stimulation in Assisted Reproductive Technology. *Drugs*. 2020;80(10):973-94. doi: [10.1007/s40265-020-01324-w](https://doi.org/10.1007/s40265-020-01324-w)
239. Rai S, Ghosh H. Modulation of human ovarian function by melatonin. *Front Biosci*. 2021;13(1):140-57. doi: [10.2741/875](https://doi.org/10.2741/875)
240. Ranisavljevic N, Raad J, Anahory T, Grynberg M, Sonigo C. Embryo transfer strategy and therapeutic options in infertile patients with thin endometrium: a systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(11):2217-31. doi: [10.1007/s10815-019-01576-w](https://doi.org/10.1007/s10815-019-01576-w)

241. Ranjbar F, Warmelink JC, Gharacheh M. Prenatal attachment in pregnancy following assisted reproductive technology: a literature review. *J Reprod Infant Psychol.* 2020;38(1):86-108. doi: [10.1080/02646838.2019.1705261](https://doi.org/10.1080/02646838.2019.1705261)

242. Remião MH, Segatto NV, Pohlmann A, Guterres SS, Seixas FK, Collares T. The Potential of Nanotechnology in Medically Assisted Reproduction. *Front Pharmacol* [Internet]. 2018[cited 2022 Jan 14];8:994. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5768623/pdf/fphar-08-00994.pdf> doi: [10.3389/fphar.2017.00994](https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00994)

243. Reyes-Muñoz E, Sathyapalan T, Rossetti P, Shah M, Long M, Buscema M, et al. Polycystic Ovary Syndrome: Implication for Drug Metabolism on Assisted Reproductive Techniques-A Literature Review. *Adv Ther.* 2018;35(11):1805-15. doi: [10.1007/s12325-018-0810-1](https://doi.org/10.1007/s12325-018-0810-1)

244. Riemma G, De Franciscis P, Torella M, Narciso G, La Verde M, Morlando M, et al. Reproductive and pregnancy outcomes following embryo transfer in women with previous cesarean section: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(11):1949-60. doi: [10.1111/aogs.14239](https://doi.org/10.1111/aogs.14239)

245. Riemma G, Vitale SG, Manchanda R, Rathore A, Török P, De Angelis C, et al. The role of hysteroscopy in reproductive surgery: Today and tomorrow. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* [Internet]. 2022[cited 2022 Apr 17];51(4):102350. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784722000423> doi: [10.1016/i.iogoh.2022.102350](https://doi.org/10.1016/i.iogoh.2022.102350)

246. Riesche L, Bartolomei MS. Assisted Reproductive Technologies and the Placenta: Clinical, Morphological, and Molecular Outcomes. *Semin Reprod Med.* 2018;36(3-04):240-8. doi: [10.1055/s-0038-1676640](https://doi.org/10.1055/s-0038-1676640)

247. Riviere E, Rossi SP, Tavalieri YE, Muñoz de Toro MM, Ponzio R, et al. Melatonin daily oral supplementation attenuates inflammation and oxidative stress in testes of men with altered spermatogenesis of unknown aetiology. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 15];515:110889. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720720301891> doi:  
[10.1016/j.mce.2020.110889](https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110889)

248. Rizzuto I, Behrens RF, Smith LA. Risk of ovarian cancer in women treated with ovarian stimulating drugs for infertility. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2019[cited 2022 Feb 1];6(6):CD008215. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6457641/pdf/CD008215.pdf> doi: [10.1002/14651858.CD008215.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD008215.pub2)

249. Roozitalab S, Rahimzadeh M, Mirmajidi SR, Ataee M, Esmaelzadeh Saeieh S. The Relationship Between Infertility, Stress, and Quality of Life with Posttraumatic Stress Disorder in Infertile Women. *J Reprod Infertil*. 2021;22(4):282-8. doi: [10.18502/jri.v22i4.7654](https://doi.org/10.18502/jri.v22i4.7654)

250. Rydze RT, Gibbons WE. Optimizing hormone therapy in fresh embryo transfers. *Fertil Steril*. 2019;112(3):467-8. doi: [10.1016/j.fertnstert.2019.05.023](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.05.023)

251. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ASRM Guideline PART II. *J Urol*. 2021;205(1):44-51. doi: [10.1097/JU.0000000000001520](https://doi.org/10.1097/JU.0000000000001520)

252. Seifer DB, Simsek B, Wantman E, Kotlyar AM. Status of racial disparities between black and white women undergoing assisted reproductive technology in the US. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2020[cited 2022 Jan 16];18(1):113. Available from: <https://rbej.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12958-020-00662-4.pdf> doi: [10.1186/s12958-020-00662-4](https://doi.org/10.1186/s12958-020-00662-4)

253. Sharma RS, Saxena R, Singh R. Infertility & assisted reproduction: A historical & modern scientific perspective. *Indian J Med Res*. 2018;148(Suppl):S10-4. doi: [10.4103/ijmr.IJMR\\_636\\_18](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_636_18)

254. Sheriff DS. Infertility, Assisted Reproductive Technologies and Hormone Assays. Hocaoglu C. Chapter 5. The psychsocial aspect of infertility. *BoD*; 2019. 90p.

255. Siddiqui QUA, Anjum S, Zahra F, Yousuf SM. Ovarian reserve parameters and response to controlled ovarian stimulation in infertile patients. *Pak J Med Sci*. 2019;35(4):958-62. doi: [10.12669/pjms.35.4.753](https://doi.org/10.12669/pjms.35.4.753)

256. Stanhiser J, Steiner AZ. Psychosocial Aspects of Fertility and Assisted Reproductive Technology. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2018;45(3):563-74. doi: [10.1016/j.ogc.2018.04.006](https://doi.org/10.1016/j.ogc.2018.04.006)

257. Steiner N, Ates S, Shaulov T, Tannus S, Dahan MH. Effect of uterine dimensions on live birth rates after single embryo transfer in infertile women. *Reprod Biomed Online.* 2020;41(4):663-70. doi: [10.1016/j.rbmo.2020.07.007](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.07.007)

258. Strauss JF III, Barbieri RL, editors. Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology (Eighth Edition). Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management. Elsevier; 2019. Fauser BCJM. Chapter 30. Medical Approaches to Ovarian Stimulation for Infertility. p. 743-78. doi: [10.1016/B978-0-323-47912-7.00030-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47912-7.00030-5)

259. Şükür YE, Ulubaşoğlu H, İlhan FC, Berker B, Sönmezer M, Atabekoğlu CS, et al. Dual trigger in normally-responding assisted reproductive technology patients increases the number of top-quality embryos. *Clin Exp Reprod Med.* 2020;47(4):300-5. doi: [10.5653/cerm.2020.03804](https://doi.org/10.5653/cerm.2020.03804)

260. Sun TC, Zhang Y, Li HT, Liu XM, Yi DX, Tian L, et al. Sperm DNA fragmentation index, as measured by sperm chromatin dispersion, might not predict assisted reproductive outcome. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2018;57(4):493-8. doi: [10.1016/i.tiog.2018.06.003](https://doi.org/10.1016/i.tiog.2018.06.003)

261. Sun XY, Lan YZ, Liu S, Long XP, Mao XG, Liu L. Relationship Between Anti-Müllerian Hormone and *In Vitro* Fertilization-Embryo Transfer in Clinical Pregnancy. *Front Endocrinol [Internet].* 2020[cited 2021 Dec 24];11:595448. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7746804/pdf/fendo-11-595448.pdf> doi: [10.3389/fendo.2020.595448](https://doi.org/10.3389/fendo.2020.595448)

262. Suslikova LV, Kaminskyi VV, Chayka KV, Kaminskyi AV, Serbeniuk AV, Zhykharskyi RV, et al. Effect of endometrial injection scratching in cycles of treatment by assisted reproductive technology methods. *Репродуктивна ендокринологія.* 2020;3:49-54. doi: [10.18370/2309-4117.2020.53.49-54](https://doi.org/10.18370/2309-4117.2020.53.49-54)

263. Takhar J, Houston HR. Forty years of assisted reproductive technologies (ARTs): the evolution of a marketplace icon. *Consumption Markets & Culture*. 2021;24(5):468-78. doi: [10.1080/10253866.2019.1687088](https://doi.org/10.1080/10253866.2019.1687088)

264. Tamura H, Jozaki M, Tanabe M, Shirafuta Y, Mihara Y, Shinagawa M, et al. Importance of Melatonin in Assisted Reproductive Technology and Ovarian Aging. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 12];21(3):1135. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7036809/pdf/ijms-21-01135.pdf> doi: [10.3390/ijms21031135](https://doi.org/10.3390/ijms21031135)

265. Teixeira DM, Barbosa MAP, Navarro PA, Raine-Fenning N, Nastri CO, et al. Regular (ICSI) versus ultra-high magnification (IMSI) sperm selection for assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 14];2(2):CD010167. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD010167.pub3/full> doi: [10.1002/14651858.CD010167](https://doi.org/10.1002/14651858.CD010167)

266. Tomaiuolo R, Veneruso I, Cariati F, D'Argenio V. Microbiota and Human Reproduction: The Case of Female Infertility. *High Throughput* [Internet]. 2020[cited 2021 Nov 2];9(2):12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7349014/pdf/high-throughput-09-00012.pdf> doi: [10.3390/ht9020012](https://doi.org/10.3390/ht9020012)

267. Tomassetti C, D'Hooghe T. Endometriosis and infertility: Insights into the causal link and management strategies. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;51:25-33. doi: [10.1016/j.bpobgyn.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.06.002)

268. Turner KA, Rambhatla A, Schon S, Agarwal A, Krawetz SA, Dupree JM, et al. Male Infertility is a Women's Health Issue-Research and Clinical Evaluation of Male Infertility Is Needed. *Cells* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 28];9(4):990. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7226946/pdf/cells-09-00990.pdf> doi: [10.3390/cells9040990](https://doi.org/10.3390/cells9040990)

269. Tyc KM, Wong A, Scott RT Jr, Tao X, Schindler K, Xing J. Analysis of DNA variants in miRNAs and miRNA 3'UTR binding sites in female infertility patients. *Lab Invest*. 2021;101(4):503-12. doi: [10.1038/s41374-020-00498-x](https://doi.org/10.1038/s41374-020-00498-x)

270. Upadhyay Y, Chhabra A, Nagar J. A Women Infertility: An Overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 2020;8(2):99-106. doi: [10.22270/ajprd.v8i2.654](https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i2.654)
271. Vassard D, Schmidt L, Pinborg A, Petersen GL, Forman JL, Hageman I, et al. Mortality in Women Treated With Assisted Reproductive Technology-Addressing the Healthy Patient Effect. *Am J Epidemiol*. 2018;187(9):1889-95. doi: [10.1093/aje/kwy085](https://doi.org/10.1093/aje/kwy085)
272. Velez MP, Hamel C, Hutton B, Gaudet L, Walker M, Thuku M, et al. Care plans for women pregnant using assisted reproductive technologies: a systematic review. *Reprod Health [Internet]*. 2019[cited 2021 Dec 17];16(1):9. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6352361/pdf/12978\\_2019\\_Article\\_667.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6352361/pdf/12978_2019_Article_667.pdf) doi: [10.1186/s12978-019-0667-z](https://doi.org/10.1186/s12978-019-0667-z)
273. von Versen-Höynck F, Häckl S, Tierney ESS, Conrad KP, Baker VL, Winn VD. Maternal Vascular Health in Pregnancy and Postpartum After Assisted Reproduction. *Hypertension*. 2020;75(2):549-60. doi: [10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13779](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13779)
274. von Wolff M, Haaf T. In Vitro Fertilization Technology and Child Health. *Dtsch Arztebl Int*. 2020;117(3):23-30. doi: [10.3238/arztebl.2020.0023](https://doi.org/10.3238/arztebl.2020.0023)
275. Vuong LN, Ho TM, Gilchrist RB, Smitz J. The Place of In Vitro Maturation in Assisted Reproductive Technology. *Fertility & Reproduction*. 2019;1(1):11-5. doi: [10.1142/S2661318219300022](https://doi.org/10.1142/S2661318219300022)
276. Vygivska LM, Nykoniuk TR, Oleshko VF. The optimization ways of pregnancy and labor management tactics in women after application of assisted reproductive technologies. *Здоров'я жінки*. 2017;9:111-3.
277. Wadhwa L, Mishra M. Therapeutic Efficacy of Endometrial Scratching in Repeated Controlled Ovarian Stimulation (COS) Failure Cycles. *J Hum Reprod Sci*. 2018;11(1):59-71. doi: [10.4103/jhrs.JHRS\\_130\\_17](https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_130_17)
278. Wang ET, Ramos L, Vyas N, Bhasin G, Simmons CF, Pisarska MD. Maternal and neonatal outcomes associated with infertility. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019;32(17):2820-3. doi: [10.1080/14767058.2018.1449826](https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1449826)

279. Wee BA, Thomas M, Sweeney EL, Frentiu FD, Samios M, Ravel J, et al. A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2018;58(3):341-8. doi: [10.1111/ajo.12754](https://doi.org/10.1111/ajo.12754)
280. Whittaker A, Inhorn MC, Shenfield F. Globalised quests for assisted conception: Reproductive travel for infertility and involuntary childlessness. *Glob Public Health*. 2019;14(12):1669-88. doi: [10.1080/17441692.2019.1627479](https://doi.org/10.1080/17441692.2019.1627479)
281. Wilson RD. Choosing Pre-conception Planning for Women/Families: Counselling and Informed Consent (Part 2) - Pre-conception Reproductive Planning, Lifestyle, Immunization, and Psychosocial Issues. *J Obstet Gynaecol Can*. 2019;41(5):666-78. doi: [10.1016/j.jogc.2017.08.037](https://doi.org/10.1016/j.jogc.2017.08.037)
282. Xiao Y, Jiang L, Tong Y, Luo X, He J, Liu L, et al. Evaluation of the quality of guidelines for assisted reproductive technology using the RIGHT checklist: A cross-sectional study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019;241:42-8. doi: [10.1016/j.ejogrb.2019.07.039](https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2019.07.039)
283. Yang H, Li G, Jin H, Guo Y, Sun Y. The effect of sperm DNA fragmentation index on assisted reproductive technology outcomes and its relationship with semen parameters and lifestyle. *Transl Androl Urol*. 2019;8(4):356-65. doi: [10.21037/tau.2019.06.22](https://doi.org/10.21037/tau.2019.06.22)
284. Yang L, Xu H, Chen Y, Miao C, Zhao Y, Xing Y, et al. Melatonin: Multi-Target Mechanism Against Diminished Ovarian Reserve Based on Network Pharmacology. *Front Endocrinol [Internet]*. 2021[cited 2022 Feb 11];12:630504. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8095380/pdf/fendo-12-630504.pdf> doi: [10.3389/fendo.2021.630504](https://doi.org/10.3389/fendo.2021.630504)
285. Yilmaz T, Yazici S, Benli T. Factors associated with infertility distress of infertile women: a cross-sectional study. *J Psychosom Obstet Gynaecol*. 2020;41(4):275-81. doi: [10.1080/0167482X.2019.1708318](https://doi.org/10.1080/0167482X.2019.1708318)
286. Yong W, Ma H, Na M, Gao T, Zhang Y, Hao L, et al. Roles of melatonin in the field of reproductive medicine. *Biomed Pharmacother [Internet]*. 2021[cited 2022 Jan 17];144:112001. Available from:



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332221007848?via%3Dihub>  
doi: [10.1016/j.biopha.2021.112001](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112001)

287. Younis JS, Naoum I, Salem N, Perlitz Y, Izhaki I. The impact of unilateral oophorectomy on ovarian reserve in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *BJOG*. 2018;125(1):26-35. doi: [10.1111/1471-0528.14913](https://doi.org/10.1111/1471-0528.14913)

288. Yu CM, Dai XL, Wang YF, Gao TT, Cao F, Xia XY, et al. Progestin-primed ovarian stimulation improves the outcomes of IVF/ICSI cycles in infertile women with diminished ovarian reserve. *J Chin Med Assoc*. 2019;82(11):845-8. doi: [10.1097/JCMA.000000000000177](https://doi.org/10.1097/JCMA.000000000000177)

289. Zaat T, Zagers M, Mol F, Goddijn M, van Wely M, Mastenbroek S. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2021[cited 2022 Jan 19];2(2):CD011184. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8095009/pdf/CD011184.pdf> doi: [10.1002/14651858.CD011184.pub3](https://doi.org/10.1002/14651858.CD011184.pub3)

290. Zacchini F, Sampino S, Stankiewicz AM, Haaf T, Ptak GE. Assessing the epigenetic risks of assisted reproductive technologies: a way forward. *Int J Dev Biol*. 2019;63(3-4-5):217-22. doi: [10.1387/ijdb.180402gp](https://doi.org/10.1387/ijdb.180402gp)

291. Zargar M, Dehdashti S, Najafian M, Choghakabodi PM. Pregnancy outcomes following in vitro fertilization using fresh or frozen embryo transfer. *JBRA Assist Reprod*. 2021;25(4):570-4. doi: [10.5935/1518-0557.20210024](https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210024)

292. Zhao F, Lan Y, Chen T, Xin Z, Liang Y, Li Y, et al. Live birth rate comparison of three controlled ovarian stimulation protocols for in vitro fertilization-embryo transfer in patients with diminished ovarian reserve after endometrioma cystectomy: a retrospective study. *J Ovarian Res* [Internet]. 2020[cited 2021 Dec 12];13(1):23. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7049193/pdf/13048\\_2020\\_Article\\_622.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7049193/pdf/13048_2020_Article_622.pdf) doi: [10.1186/s13048-020-00622-x](https://doi.org/10.1186/s13048-020-00622-x)

293. Zolfaroli I, Ferriol GA, Mora JH, Cano A. Impact of progestin ovarian stimulation on newborn outcomes: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37(5):1203-12. doi: [10.1007/s10815-020-01755-0](https://doi.org/10.1007/s10815-020-01755-0)

294. Zolton JR, Lindner PG, Terry N, DeCherney AH, Hill MJ. Gonadotropins versus oral ovarian stimulation agents for unexplained infertility: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2020;113(2):417-25. doi: [10.1016/j.fertnstert.2019.09.042](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.09.042)

295. Zurlo MC, Cattaneo Della Volta MF, Vallone F. Infertility-Related Stress and Psychological Health Outcomes in Infertile Couples Undergoing Medical Treatments: Testing a Multi-dimensional Model. *J Clin Psychol Med Settings*. 2020;27(4):662-76. doi: [10.1007/s10880-019-09653-z](https://doi.org/10.1007/s10880-019-09653-z)

## ДОДАТОК А

### Список опублікованих праць за темою дисертації

1. Юзько ВО. Рівень мелатоніну в крові та фолікулярній рідині в жінок із безпліддям у програмах допоміжних репродуктивних технологій та ефективність його застосування. Буковинський медичний вісник. 2021;25(2):117-22. doi: [10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19)
2. Юзько ВО, Юзько ОМ. Порівняльна характеристика пацієнок із безпліддям при застосуванні мелатоніну в комплексній підготовці до програм допоміжних репродуктивних технологій. Буковинський медичний вісник. 2021;25(3):149-56. doi: [10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.23](https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXV.3.99.2021.23)
3. Юзько ВО, Юзько ОМ. Результати запліднення *in vitro* в пацієнок із безпліддям при використанні мелатоніну. Клінічна та експериментальна патологія. 2022;21(2):34-8. doi: [10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.06](https://doi.org/10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022.06)
4. Yuzko VO, Yuzko OM, Yuzko TA, Pryimak SH, Voloshynovych NS, Chobaniuk SI. Comparative characteristics of patients with infertility when applying melatonin in complex preparation for assisted reproductive technologies. Journal of Medicine and Life. 2022;15(8):1013-7. doi: [10.25122/jml-2022-0154](https://doi.org/10.25122/jml-2022-0154)
5. Юзько ВО, Юзько ОМ, Юзько ТА, Чемьоркіна ІВ, Андрієць ОА. Ембріологічні показники та частота настання вагітності у жінок із безпліддям в програмах допоміжних репродуктивних технологій при застосуванні мелатоніну. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 2022; XII, 3(45):16-21. doi: [10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.2](https://doi.org/10.24061/2413-4260.XII.3.45.2022.2)
6. Юзько ОМ, Юзько ВО. Тонкий ендометрій – складності проблеми і підходи до лікування. Жіночий лікар. 2022; 4(102):6-12. <https://zhinochylikar.com/article/35/tonkij-endometrij-skladnosti-problemi-i-pidhodi-v-likuvanni/>.
7. Yuzko VO. Study of melatonin in blood and follicular liquid in women with infertility in assisted reproductive technology programs. Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference International scientific theoretical

conference Formation of innovative potential of world science; 2021 May 7; Tel Aviv, State of Israel. SCIENTIA. 2021;2:94-6. doi: 10.36074/scientia-07.05.2021.

8. Юзько ВО. Оцінка оваріального резерву. В: Матеріали 101-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2020 Лют 10, 12, 17; Чернівці. Чернівці; 2020, с. 245. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-101/paper/view/21345>.

9. Юзько ВО. Синдром пустого фолікула. Клінічний випадок. В: Матеріали 102-ї підсумкової науково-практичної конференції з міжнародною участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2021 Лют 08, 10, 15; Чернівці. Чернівці; 2021, с. 241-2. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-102/paper/view/23420/12653>.

10. Yuzko VO. Comparative characteristics of patients with infertility when applying melatonin in complex preparation for assisted reproductive programs. В: Матеріали 103-ї підсумкової науково-практичної конференції з міжнародною участю професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету; 2022 Лют 07, 09, 14; Чернівці. Чернівці; 2022, с. 238. <http://conference.bsmu.edu.ua/conf-103/paper/view/25749/14410>.

## ДОДАТОК Б

### Відомості про апробацію результатів дисертації:

- Пленум Асоціації акушерів-гінекологів України та науково-практична конференція з міжнародною участю «Репродуктивне здоров'я в Україні: тенденції, досягнення, виклики та пріоритети (до 90-річчя академіка Грищенка В.І.)» (Київ, 2018 р.) *(усна доповідь)*;
- Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Іноваційні технології в акушерстві та гінекології: від науки до практики» (Буковель, 2019 р.) *(усна доповідь)*;
- Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сучасного акушерства» (Тернопіль, 2019 р.) *(усна доповідь)*;
- Міжнародний симпозіум «Теорія та практика репродукції людини» (Буковель, 2019 р.) *(усна доповідь)*;
- Міжнародний симпозіум онлайн «Теорія та практика репродукції людини» (Київ, 2021 р.) *(усна доповідь)*;
- 11-й международной конференции мКАРМ «Краеугольные аспекты репродуктивной медицины» (Москва, 2021 г.) *(усна доповідь)*;
- XIII Международном конгрессе КАРМ «Современные подходы к лечению бесплодия. ВРТ: Настоящее и будущее» (Алматы, Казахстан, 2021 г.) *(усна доповідь)*;
- Міжнародний симпозіум онлайн «Теорія та практика репродукції людини» (Чернівці, 2022 р.) *(усна доповідь)*.