

Эффективность вспомогательного хетчинга замороженных–оттаянных эмбрионов

В. А. Питько¹, А. Ю. Щербаков², О. А. Логинова², Н. Н. Синоло¹, Е. Е. Нипот³,
Я. О. Черкашина³, И. В. Павлов¹

¹ГУ «Украинский медицинский центр акушерства, гинекологии и репродуктологии МЗ Украины», г. Харьков, Украина,

²Харьковская медицинская академия последиplomного образования, Украина, ³Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков, Украина

Ключевые слова:

эмбрионы, витрификация, зона пеллюцида, эмбриотрансфер, беременность.

Запорожский медицинский журнал. – 2018. – Т. 20, № 2(107). – С. 226–230

DOI: 10.14739/2310-1210.2018.2.125274

E-mail: login_olya@ukr.net

Цель работы – оценить результаты клинического исследования эффективности вспомогательного хетчинга криоконсервированных эмбрионов.

Материалы и методы. Для участия в исследовании отобраны пациенты, у которых были неудачные циклы IVF/ICSI в 2014–2016 гг. с переносом свежих эмбрионов. Пациентов случайным образом поделили на группы эксперимента и контроля. Учитывали результаты эмбриотрансфера одного или двух замороженных–оттаянных эмбрионов. Эмбрионы были криоконсервированы на стадии бластоциты, через 5 дней после извлечения ооцитов с помощью метода витрификации. Процедуру оттаивания проводили утром в день эмбриотрансфера по инструкциям производителя сред для витрификации Cryotech (Япония). Вспомогательный хетчинг проводили при помощи микропипеток Holding Pipette Cook Medical (Австралия) и Assisted Hatching/Zona Drilling Pipette Cook Medical (Австралия). Обработанные эмбрионы культивировали до повторной оценки морфологии перед переносом. Перенос эмбрионов проводили стандартным методом при помощи катетера для атравматичного переноса эмбриона Sydney IVF Cook Medical (Австралия). Количество перенесенных эмбрионов – 1 или 2.

Результаты. Проведено 100 переносов криоконсервированных эмбрионов, которые были случайным образом отнесены либо в группу со вспомогательным хетчингом, либо в контрольную группу без такого. Проанализировали ряд параметров пациентов обеих групп: возраст на момент оттаивания эмбрионов, продолжительность, причины бесплодия, количество предыдущих неудачных циклов IVF/ICSI. Никаких существенных различий у пациентов по данным параметрам не обнаружили. Также не отметили существенных различий по количеству размороженных эмбрионов, выживаемости эмбрионов, количеству эмбрионов, перенесенных пациенткам. Вместе с тем показатели положительных результатов тестов на ХГЧ (42 % против 27 %) и количество клинических беременностей (35 % против 24 %) были достоверно выше в группе со вспомогательным хетчингом, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,004$, $p < 0,001$ соответственно).

Выводы. Анализируя данные научной литературы и проведенных исследований можно сделать вывод, что при подборе оптимальных условий замораживания, последующего культивирования и профессионального проведения процедуры механического надсечения зоны пеллюцида достоверно улучшаются показатели имплантации перенесенных эмбрионов и число клинических беременностей.

Ключові слова:

ембріони, вітрифікація, зона пелюциду, ембріотрансфер, вагітність.

Запорізький медичний журнал. – 2018. – Т. 20, № 2(107). – С. 226–230

Ефективність допоміжного хетчингу заморожених–відталих ембріонів

В. А. Питько, А. Ю. Щербаков., О. О. Логинова, Н. М. Синоло, О. Є. Нипот, Я. О. Черкашина, І. В. Павлов

Мета роботи – оцінити результати клінічного дослідження ефективності допоміжного хетчингу криоконсервованих ембріонів.

Матеріали та методи. Для участі в дослідженні відібрані пацієнти, в яких були невдалі цикли IVF/ICSI в 2014–2016 рр. із перенесенням свіжих ембріонів. Пацієнтів випадковим чином поділили на групи експерименту та контролю. Враховували результати ембріотрансфера одного чи двох заморожених–відталих ембріонів. Ембріони криоконсервовані на стадії бластоцити, через 5 днів після отримання ооцитів за допомогою методу вітрифікації. Процедуру відтавання виконали вранці в день ембріотрансферу за інструкціями виробника середовищ для вітрифікації Cryotech (Японія). Допоміжний хетчинг виконали за допомогою мікропипеток Holding Pipette Cook Medical (Австралія) і Assisted Hatching/Zona Drilling Pipette Cook Medical (Австралія). Підготовлені ембріони культивували до повторного оцінювання морфології перед ембріотрансфером. Перенесення ембріонів здійснили стандартним методом за допомогою катетера для атравматичного перенесення Sydney IVF Cook Medical (Австралія). Кількість перенесених ембріонів – 1 чи 2.

Результати. Виконали 100 перенесень криоконсервованих ембріонів, які випадковим чином включили або у групу з допоміжним хетчингом, або в контрольну групу без такого. Проаналізували ряд параметрів пацієнтів: вік на момент відтавання ембріонів, тривалість, причини безпліддя, кількість попередніх невдалих циклів IVF/ICSI. Істотних відмінностей між пацієнтами двох груп за цими параметрами не виявили. Не було суттєвих відмінностей за кількістю разморожених ембріонів, виживаністю ембріонів, кількістю ембріонів, які перенесли пацієнткам. Поряд з тим показники позитивних результатів тестів на ХГЧ (42 % проти 27 %) і кількість клінічних вагітностей (35 % проти 24 %) були вірогідно вищі у групі з допоміжним хетчингом, ніж у контрольній групі ($p < 0,004$; $p < 0,001$ відповідно).

Висновки. Анализуєчи відомості фахової літератури та результати власних досліджень, можна зробити висновок: при підборі оптимальних умов заморожування, наступного культивування та професійного проведення процедури механічного надсечення зони пелюциду достовірно поліпшуються показники імплантації перенесених ембріонів і число клінічних вагітностей.

Efficiency of assisted hatching of the cryopreserved–melted embryos

V. A. Pitko, A. Yu. Shcherbakov, O. A. Lohinova, N. N. Sinilo, E. Ye. Nipot, Ya. O. Cherkashina, I. V. Pavlov

Purpose. To measure outcomes of clinical research of efficiency of assisted hatching of cryopreserved embryos.

Materials and methods. Patients who had un successful cycles IVF/ICSI with transfer of fresh embryos have been selected for participation in the research between 2014 and 2016 years. Patients were distributed in a random way for participation in the experiment and control groups. Results of embryos transfer of one or two cryopreserved and melted embryos were considered only. Embryos were cryopreserved at a stage of blastocyst, 5 days after extraction of oocytes by method of vitrification. Melting procedure was conducted in the morning of a day of embryos transfer following the instructions of the vitrification medium producer Cryotech (Japan). Assisted hatching was conducted with use of micropipettes of Holding Pipette Cook Medical (Australia) and Assisted Hatching/Zona Drilling Pipette Cook Medical (Australia). The treated embryos were cultivated up to a repeated estimation of morphology of embryos before transfer. Transfer of embryos has been conducted by a standard method with the use of catheter for non-invasive transfer of embryo Sydney IVF Cook Medical (Australia). The quantity of the transferred embryos varied from one to two.

Results. 100 cryopreserved embryos were transferred which have been distributed in a random way either to the group with the assisted hatching or to the control group (without assisted hatching). A number of parameters of patients from both groups was analyzed, i.e. age of the patient at the time of melting of embryos, duration of infertility, causes of infertility, quantity of previous unsuccessful cycles IVF/ICSI. Any essential differences between patients within two groups based on the aforementioned parameters were not revealed. Also, there were no essential differences in number of the melted embryos, survival rate of embryos, quantity of the embryos transferred to patients. However, at the same time, parameters of positive results of tests on HCG (human chorionic gonadotropin) (42 % against 27 %) and quantity of clinical pregnancy (35 % against 24 %) were statistically higher in the group with assisted hatching comparatively to the control group ($P < 0.004$; $P < 0.001$ accordingly).

Conclusions. Implantation of the transferred embryos and number of clinical pregnancies were statistically improved due to selection of the optimum freezing conditions and subsequent cultivation and conducting of procedure of mechanical incision of ZP.

Key words: embryos, vitrification, pellucida zona, embryo transfer, pregnancy.

Zaporozhye medical journal
2018; 20 (2), 226–230

Увеличение количества успешных имплантаций эмбрионов является одной из важнейших задач современной репродуктологии. Помимо внутренних аномалий, невозможность эмбриона выйти из зоны пеллюцида (ЗП) также может частично объяснить низкую скорость имплантации в циклах искусственного оплодотворения IVF/ICSI [7, 10]. Считается, что успешный процесс освобождения эмбрионов из своей «оболочки» является ключевым событием в процессе имплантации. Во время естественного развития эмбриона наблюдается истончение ЗП, и на 5–7 день после оплодотворения происходит так называемый хетчинг бластоцисты [5]. Хетчинг – одно из ключевых событий преимплантационного развития, после завершения которого эмбрион входит в прямой контакт с эндометрием матки. Аномалии зоны пеллюцида бластоцисты могут быть одним из многих факторов, которые препятствуют имплантации эмбриона и ограничивают репродуктивную эффективность человека.

Вспомогательный хетчинг (ВХ) определяется как искусственное нарушение ЗП и впервые был введен в клинику вспомогательных репродуктивных технологий Cohen et al. (1990) в качестве искусственного средства для облегчения выхода эмбрионов из ЗП, чтобы улучшить вероятность клинической беременности [6]. С тех пор было разработано несколько методов: механический (частичная зональная диссекция) при помощи стеклянной микроиглы, химический с помощью подкисленных растворов или протеиназ, лазерный или с использованием пьезомикроманипулятора [6–8, 10]. Все они широко используются в практике, однако клиническая значимость вспомогательного хетчинга остается противоречивой. Некоторые исследования показали, что ВХ может увеличить показатели имплантации и беременности, особенно у женщин с плохим прогнозом, таким как возраст старше 37 лет, повторные неудачи, эмбрионы низкого качества или криоконсервированные эмбрионы [6, 7, 10]. Другие исследования демонстриру-

ют, что ВХ не увеличивал показатели имплантации и клинической беременности не только у среднестатистических бесплодных пар, но и у пациентов с плохим прогнозом и в циклах переноса замороженных эмбрионов [4]. Эти противоречивые результаты могут быть получены вследствие различий в экспериментальных образцах, характеристик пациента, выбора критерия оценивания или вследствие разных вспомогательных инкубационных методов. Таким образом, выяснение истинных эффектов ВХ на пациентах с различными характеристиками и его влияния на результат переноса эмбрионов поможет улучшить клинические результаты тех пациентов, которые испытывают сложности в процессе проведения процедуры искусственного оплодотворения.

Цель работы

Оценить результаты клинического исследования эффективности вспомогательного хетчинга криоконсервированных эмбрионов.

Материалы и методы исследования

Для участия в исследовании отобраны пациенты, у которых были неудачные циклы IVF/ICSI в 2014–2016 гг. с переносом свежих эмбрионов. Пациентов случайным образом поделили на группы эксперимента и контроля. Первой группе (контроль) перенос эмбрионов проводили без вспомогательного хетчинга. Второй группе (эксперимент) перенос эмбрионов проводили с вспомогательным хетчингом. Учитывали результаты эмбриотрансфера одного или двух замороженных-оттаянных эмбрионов.

Замораживание эмбрионов. Эмбрионы были криоконсервированы на стадии бластоцисты, через 5 дней после извлечения ооцитов, с помощью метода витрификации. Метод витрификации использован как

Таблица 1. Сравнение характеристик пациентов, подвергающихся циклам переноса криоконсервированных эмбрионов с применением или без применения вспомогательного хетчинга

Характеристика	ВХ	без ВХ
Количество переносов	50	50
Возраст пациентов на момент переноса эмбрионов (лет)	34,8 ± 1,5	33,6 ± 2,4
Продолжительность бесплодия (лет)	5,4 ± 2,7	5,3 ± 3,1
Причина бесплодия – мужской фактор	32 % (16)	26 % (13,0)
Трубное бесплодие	46 % (23)	52 % (26,0)
Причина бесплодия Смешанный фактор	12 % (6)	14 % (7)
Необъясненные причины	10 % (5)	8 % (4)
Предыдущие неудачные циклы IVF/ICSI	1,3 ± 0,7	1,4 ± 0,6

Таблица 2. Сравнение результатов в циклах переноса криоконсервированных эмбрионов с применением или без применения вспомогательного хетчинга

Исходные данные	ВХ	без ВХ
Количество переносов	50	50
Размороженные эмбрионы	120 (2,4 ± 0,6)	125 (2,5 ± 0,5)
Выживаемость эмбрионов	89 (74,2 %)	96 (76,8 %)
Перенесенные эмбрионы на пациента	1,78 ± 0,67	1,92 ± 0,7
Положительные тесты ХГЧ	42 % (32,0) *	27 % (17,0) *
Клиническая беременность	35 % (25,0) *	24 % (14,0) *

*: достоверно по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$.

более эффективный для сохранности эмбрионов по сравнению с медленным замораживанием [3]. Для криоконсервации отобраны только ооциты хорошего качества с <50 % фрагментацией.

Процедура оттаивания эмбрионов. Эмбрионы оттаивали утром в день эмбриотрансфера по инструкциям производителя сред для витрификации Cryotech (Япония). Все эмбриологические параметры замороженных-оттаиваемых эмбрионов эмбриолог оценивал сразу же после оттаивания и повторно через 3 часа культивирования *in vitro*. Зарегистрировано общее количество эмбрионов, наличие лизированных и жизнеспособных эмбрионов.

Процедура вспомогательного хетчинга. Вспомогательный хетчинг проводили при помощи микропипеток Holding Pipette Cook Medical (Дания) и Assisted Hatching/ Zona Drilling Pipette Cook Medical (Австралия) через полчаса после размораживания. Для этой процедуры чашку Петри диаметром 35 мм готовили путем добавления 100 мкл универсального буфера для гамет Gametbuffer Cook Medical (Австралия), по одной капле для каждого эмбриона, подлежащего хетчингу. Для избежания испарения среды капли покрывали культуральным минеральным маслом Culturaloil Cook Medical (Австралия). Эмбрион был прочно прикреплен к удерживающей пипетке всасыванием, в положении, при котором зона, наиболее удобная для проведения надсечения, находилась в положении 12 часов. После этого с помощью иглы для хетчинга проводили надсечение ЗП. Обработанные эмбрионы культивировали до повторной оценки морфологии перед переносом.

Перенос эмбрионов проведен стандартным методом при помощи катетера для атравматичного переноса эмбриона Sydney IVF Cook Medical (Австралия). Количество перенесенных эмбрионов – 1 или 2.

Результаты между контрольной и экспериментальной группами сравнивали с использованием t-критерия Стьюдента. Анализировали результаты тестов по определению хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и количеству клинических беременностей. $P < 0,05$ считали статистически значимым.

Результаты и их обсуждение

Проведено 100 переносов криоконсервированных эмбрионов, которых случайным образом поделили на группу с вспомогательным хетчингом и контрольную группу без такового. Проанализировали ряд параметров пациентов из обеих групп: возраст на момент оттаивания эмбрионов, продолжительность, причины бесплодия, количество предыдущих неудачных циклов IVF/ICSI.

Существенных различий между пациентами двух групп по данным параметрам не обнаружено (табл. 1).

Также не было существенных различий в количестве размороженных эмбрионов, выживаемости эмбрионов, количестве эмбрионов, перенесенных пациенткам (табл. 2). Вместе с тем показатели положительных результатов тестов на ХГЧ (42 % против 27 %) и количество клинических беременностей (35 % против 24 %) были достоверно выше в группе со вспомогательным хетчингом, чем в контрольной группе ($p < 0,004$, $p < 0,001$ соответственно) (табл. 2).

Хорошо известно, что одной из важных причин низкой скорости имплантации эмбрионов в циклах IVF/ICSI является невозможность выхода бластоцисты из ее внешнего слоя, который известен как зона пеллюцида. В работах [1,2,5] высказано предположение, что вспомогательный хетчинг может увеличить скорость имплантации эмбриона. Существует три возможных механизма, с помощью которого вспомогательный хетчинг может улучшить имплантацию эмбрионов. Во-первых, неоптимальные условия культивирования или криоконсервации могут привести к уплотнению ЗП, что затрудняет выход бластоцисты [10]. В этом случае создание искусственного надсечения оболочки помогает эмбриону избавиться от нее. Во-вторых, исследования [3] обнаружили, что ВХ приводит к более раннему выходу бластоцисты, чем в случае естественно развивающихся эмбрионов. Это может быть особенно важно, если учитывать, что восприимчивость эндометрия сдвинута на 1–2 дня раньше в циклах искусственного оплодотворения со стимуляцией яичников по сравнению с естественными циклами. В-третьих, искусственное надсечение может служить каналом для обмена метаболитами, факторами роста и другими биологически активными веществами между эмбрионом и эндометрием [6].

Несмотря на множество преимуществ, клинические результаты по применению хетчинга все еще противоречивы. Некоторые авторы сообщают, что вспомогательный хетчинг эмбрионов увеличивает имплантацию и частоту беременности [6,8,10]. Другие исследователи не нашли существенного преимущества с точки зрения скорости имплантации, уровня клинических беременностей и коэффициента рождаемости [4]. Это может быть вызвано отсутствием разделения в процессе анализа циклов IVF/ICSI с использованием свежих и криоконсер-

вированных эмбрионов, а также различным статусом пациента с точки зрения возраста и истории бесплодия. Даже в случае, если пациенты были выбраны с теми же основными характеристиками, отличия в исследованиях могут быть обусловлены разными схемами стимуляции, использованием центрами оплодотворения различных эмбриональных культуральных сред, кроме того при эмбриотранфере может использоваться различное количество эмбрионов. Дополнительным вариативным фактором, влияющим на исследования, является человеческий фактор. Специалисты могут иметь разные уровни квалификации, что может повлиять на результаты, поскольку процедура вспомогательного хетчинга может быть связана с конкретными осложнениями, не зависящими от протокола IVF/ICSI, включая летальный ущерб и повреждение отдельных бластомеров с уменьшением жизнеспособности эмбрионов [2,9].

Что касается исследований, проведенных только на криоконсервированных эмбрионах, основным фактором, приводящим к разногласиям в полученных результатах, являются отличия в принципах отбора эмбрионов для дальнейшего криоконсервирования. Некоторые центры замораживают все излишки эмбрионов, другие – только наилучшего качества [7]. Кроме того, отличается степень зрелости: в одних клиниках криоконсервирование производится только на стадии бластоцисты, в других – эмбрионы на более ранних стадиях развития тоже используются [1,2,10]. Важным фактором является время культивирования до проведения хетчинга и переноса, а также техника проведения процедуры вспомогательного хетчинга. Хотя в отдельных исследованиях при использовании одной и той же техники получены противоположные результаты. Так, исследование [4] не смогло показать улучшения при имплантации или беременности после лазерного хетчинга криоконсервированных эмбрионов по сравнению с контрольными. В то же время авторы работ [5,7] показали, что надсечение ЗП с использованием лазера значительно увеличило уровень имплантации и беременности по сравнению с контролем.

Выводы

1. Вспомогательный хетчинг криоконсервированных эмбрионов облегчает их дальнейшую имплантацию, достоверно увеличивая количество положительных результатов тестов на ХГЧ (42 % против 27 %) и количество клинических беременностей (35 % против 24 %).

2. Анализируя данные научной литературы и проведенных нами исследований можно сделать вывод, что процедура механического надсечения ЗП замороженных-оттаянных эмбрионов помогает улучшить клинические результаты тех пациентов, которые испытывают сложности в процессе проведения процедуры искусственного оплодотворения.

Перспективы дальнейших исследований. Сравнение различных методик вспомогательного хетчинга позволит разработать оптимальный протокол подготовки замороженных-оттаянных эмбрионов к переносу в полость матки для получения максимального количества клинических беременностей.

Список литературы

- [1] Assisted hatching in assisted reproduction: a state of the art / M.E. Hammadeh, C. Fischer-Hammadeh, K.R. Ali // *J Assist Reprod Genet.* – 2011. – №28. – С. 119–128.
- [2] Assisted hatching: trends and pregnancy outcomes, United States, 2000–2010 / D.M. Kissin, J.F. Kawwass, M. Monsour et al. // *Fertility and Sterility.* – 2014. – №102(3). – P. 795–801.
- [3] Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study / Z. Li, Y.A. Wang, W. Ledger et al. // *Human Reproduction.* – 2014. – №29(12). – P. 2794–2801.
- [4] Ghobara T. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer / T. Ghobara, T.A. Gelbaya, R.O. Ayeleke // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* – 2017. – №7. – С. 1–102.
- [5] Impact of assisted hatching on fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles: a prospective, randomized study / H.S. Ge, W. Zhou, W. Zhang, J.J. Lin // *Reproductive BioMedicine Online.* – 2008. – №4. – С. 589–596.
- [6] Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisted hatching using micromanipulation / J. Cohen, C. Elsner, H. Kort et al. // *Human Reprod.* – 1990. – №5. – P. 7–13.
- [7] Laser-assisted hatching of cryopreserved-thawed embryos by thinning one quarter of the zona / C.G. Petersen, A.L. Mauri, R.L. Baruffi, et al. // *Reproductive BioMedicine Online.* – 2006. – №13(5). – P. 795–801.
- [8] Mechanically expanding the zona pellucida of human frozen thawed embryos: a new method of assisted hatching / C. Fang, T. Li, B.Y. Miao, et al. // *Fertility and Sterility.* – 2010. – №94(4). – P. 1302–1307.
- [9] Risk of major congenital anomalies after assisted hatching: analysis of three-year data from the national assisted reproduction registry in Japan / J. Jwa, C. Seung, A. Jwa, et al. // *Fertility and Sterility.* – 2015. – №104(1). – P. 71–78.
- [10] The impact of laser-assisted hatching on the outcome of frozen human embryo transfer cycles / K. Kanyo, J. Zeke, R. Kriston, et al. // *Zygote.* – 2016. – №24(5). – P. 742–747.

References

- [1] Hammadeh, M. E., Fischer-Hammadeh, C., & Ali, K. R. (2011) Assisted hatching in assisted reproduction: a state of the art. *J Assist Reprod Genet.*, 28(2), 119–128. doi: 10.1007/s10815-010-9495-3.
- [2] Kissin, D. M., Kawwass, J. F., Monsour, M., Boulet, S. L., Session D. R., Jamieson D. J., et al. (2014) Assisted hatching: trends and pregnancy outcomes, United States, 2000–2010. *Fertility and Sterility*, 102(3), 795–801. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.013.
- [3] Li, Z., Wang, Y., Ledger, W., Edgar, D., & Sullivan, E. (2014). Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study. *Human Reproduction*, 29(12), 2794–2801. doi: 10.1093/humrep/deu246.
- [4] Ghobara, T., Gelbaya, T. A., & Ayeleke, R. O. (2017) Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 7, 1–102. doi: 10.1002/14651858.CD003414.pub3.
- [5] Ge, H., Zhou, W., Zhang, W., & Lin, J. (2008). Impact of assisted hatching on fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles: a prospective, randomized study. *Reproductive Bio Medicine Online*, 16(4), 589–596. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60466-x.
- [6] Cohen, J., Elsner, C., Kort, H., Malter, H., Massey, J., Mayer, M., & Wiemer, K. (1990). Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisting hatching using micromanipulation. *Human Reproduction*, 5(1), 7–13. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a137044.
- [7] Petersen, C. G., Mauri, A. L., Baruffi, R. L., Oliveira, J. B., Felipe, V., Massaro, F. C., & Franco, J. G. (2006) Laser-assisted hatching of cryopreserved-thawed embryos by thinning one quarter of the zona. *Reproductive Bio Medicine Online*, 13(5), 668–675. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60657-8.
- [8] Fang, C., Li, T., Miao, B., Zhuang, G., & Zhou, C. (2010). Mechanically expanding the zona pellucida of human frozen thawed embryos: a new method of assisted hatching. *Fertility and Sterility*, 94(4), 1302–1307. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.08.014.
- [9] Jwa, J., Jwa, S., Kuwahara, A., Yoshida, A., & Saito, H. (2015). Risk of major congenital anomalies after assisted hatching: analysis of three-year data from the national assisted reproduction registry in Japan. *Fertility and Sterility*, 104(1), 71–78. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.029.
- [10] Kanyo, K., Zeke, J., Kriston, R., Szűcs, Z., Cseh, S., Somoskoi, B., & Konc, J. (2016). The impact of laser-assisted hatching on the outcome of frozen human embryo transfer cycles. *Zygote*, 24(5), 742–747. doi: 10.1017/S0967199416000058.

Сведения об авторах:

Питько В. А., д-р мед. наук, профессор, директор
 ГУ «Украинский медицинский центр акушерства, гинекологии
 и репродуктологии МЗ Украины», г. Харьков, Украина.

Шербаков А. Ю., д-р мед. наук, профессор,
зав. каф. акушерства и гинекологии № 1, Харьковская
медицинская академия последипломного образования,
Украина.

Логина О. А., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства
и гинекологии № 1, Харьковская медицинская академия
последипломного образования, Украина.

Синило Н. Н., зав. отделением вспомогательных
и репродуктивных технологий, «Украинский медицинский центр
акушерства, гинекологии и репродуктологии МЗ Украины»,
г. Харьков, Украина.

Нипот Е. Е., канд. биол. наук, старший научный сотрудник,
Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков, Украина.

Черкашина Я. О., канд. биол. наук, старший научный сотрудник,
Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков, Украина.

Павлов И. В., биолог, ГУ «Украинский медицинский центр
акушерства, гинекологии и репродуктологии МЗ Украины»,
г. Харьков, Украина.

Відомості про авторів:

Пітько В. А., д-р мед. наук, професор, директор ДЗ «Український
медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології
МОЗ України», м. Харків, Україна.

Шербаков А. Ю., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства
та гінекології № 1, Харківська медична академія
післядипломної освіти, Україна.

Логінова О. О., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства
та гінекології № 1, Харківська медична академія
післядипломної освіти, м. Харків, Україна.

Синіло Н. М., зав. відділення допоміжних та репродуктивних
технологій, «Український медичний центр акушерства,
гінекології та репродуктології МОЗ України», м. Харків, Україна.

Ніпот О. Є., канд. біол. наук, старший науковий співробітник,
Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України,
м. Харків, Україна.

Черкашина Я. О., канд. біол. наук, старший науковий
співробітник, Інститут проблем криобіології і криомедицини
НАН України, м. Харків, Україна.

Павлов І. В., біолог, ДЗ «Український медичний центр
акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України»,
м. Харків, Україна.

Information about authors:

Pitko V. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Government
institution "Ukrainian Medical Center of Obstetrics, Gynecology
and Reproductology Ukrainian Ministry of Health", Kharkiv,
Ukraine.

Shcherbakov A. Yu., MD, PhD, DSc, Professor, Head
of the Department of Obstetrics and Gynecological, Kharkiv
Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

Lohinova O. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department
of Obstetrics and Gynecological, Kharkiv Medical Academy
of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine.

Sinilo N. N., Head of the Department of Art and Reproductive
Technologies, Government institution "Ukrainian Medical Center
of Obstetrics, Gynecology and Reproductology Ukrainian Ministry
of Health", Kharkiv, Ukraine.

Nipot E. Ye., PhD, Senior Researcher, Institute of Problems
of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine, Kharkiv.

Cherkashina Ya. O., PhD, Senior Researcher, Institute of Problems
of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine, Kharkiv.

Pavlov I. V., Biologist, Government Institution "Ukrainian Medical
Center of Obstetrics, Gynecology and Reproductology Ukrainian
Ministry of Health", Kharkiv, Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 19.10.2017

Після доопрацювання / Revised: 26.10.2017

Прийнято до друку / Accepted: 20.11.2017