

Культивування ембріонів в одноступеневих і послідовних середовищах: вплив на морфологію та імплантаційний потенціал бластоцист

В. А. Питько^{1,A,F}, А. Ю. Щербаков^{2,A,E}, О. О. Логінова^{2,C,E}, Н. М. Сініло^{1,B,C},
В. М. Кучков^{*4,B,C,D}, Я. О. Черкашина^{3,B,D}, І. В. Павлов^{1,B}

¹ДЗ «Український медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України», м. Харків, ²Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, ³Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, ⁴Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – оцінити вплив одноступеневого та послідовних середовищ культивування на морфологію, частоту імплантації бластоцист.

Матеріали та методи. У 2017–2018 рр. дослідили 514 ембріонів, що одержані заплідненням шляхом ICSI, від пацієнтів віком 30–35 років. Пул ембріонів кожної жінки довільно ділили на дві групи: ембріони першої культивували з використанням послідовних середовищ, другої – одноступеневих. Оцінювання впливу здійснювали шляхом порівняння якості отриманих бластоцист, що культивувалися в одноступеневих і послідовних середовищах. Морфологію бластоцист оцінювали за модифікованою шкалою D. K. Gardner. Статистичне опрацювання даних здійснили з використанням U-критерію Манна–Уїтні та критерію χ^2 Пірсона з поправкою Йейтса. Статистично значущими вважали відмінності між вибірками при $p < 0,05$.

Результати. Дослідження дали можливість встановити, що використання одноступеневого середовища Origio® 1-Step на етапі культивування поліпшує морфологічну якість бластоцист порівняно з ембріонами, які культивовані в послідовних середовищах Origio® Sequential Cleav™/Sequential Blast™. Статистично значущої різниці за частотою настання вагітності і частотою імплантації бластоцист, які одержали культивуванням в одноступеневому чи в послідовних середовищах, не виявили.

Висновки. Пріоритетним щодо отримання більшої кількості бластоцист високої якості з високим імплантаційним потенціалом є використання одноступеневого середовища для культивування ембріонів.

Ключові слова:
ембріони, частота імплантації, ембріотрансфер.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 5(116). – С. 625–630

DOI:
10.14739/2310-1210.2019.5.179426

***E-mail:**
vkuchkov@yahoo.com

Культивирование эмбрионов в одноступенчатой и последовательных средах: влияние на морфологию и имплантационный потенциал бластоцист

В. А. Питько, А. Ю. Щербаков, О. А. Логінова, Н. Н. Синило, В. Н. Кучков, Я. О. Черкашина, И. В. Павлов

Цель работы – оценка влияния одноступенчатого и последовательных сред культивирования на морфологию и частоту имплантации бластоцист.

Материалы и методы. В период с 2017 по 2018 г. исследовали 514 эмбрионов, полученных оплодотворением путем ICSI, от пациенток в возрасте 30–35 лет. Пул эмбрионов каждой женщины произвольно делили на две группы: эмбрионы первой культивировали с использованием последовательных сред, второй – одноступенчатых. Оценку влияния сред осуществляли путем сравнения качества полученных бластоцист, которые культивировались в одноступенчатых и последовательных средах. Морфологию бластоцист оценивали по модифицированной шкале D. K. Gardner. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни и критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Статистически значимыми считали различия между выборками при $p < 0,05$.

Результаты. Проведенные исследования позволили установить, что использование одноступенчатой среды Origio® 1-Step на этапе культивирования улучшает морфологическое качество полученных бластоцист по сравнению с эмбрионами, культивируемыми в последовательных средах Origio® Sequential Cleav™/Sequential Blast™. Статистически значимой разницы в частоте наступления беременности и частоте имплантации бластоцист, полученных культивированием в одноступенчатой или в последовательных средах, не обнаружено.

Выводы. Приоритетным с точки зрения получения большего количества бластоцист высокого качества с высоким имплантационным потенциалом является использование одноступенчатой среды для культивирования эмбрионов.

Ключевые слова:
эмбрионы, частота имплантации, эмбриотрансфер.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 5(116). – С. 625–630

Embryo culture in step single and sequential media: influence on morphology and implantation potential of blastocysts

V. A. Pitko, A. Yu. Shcherbakov, O. O. Lohinova, N. M. Sinilo, V. M. Kuchkov, Ya. O. Cherkashyna, I. V. Pavlov

Purpose. To assess the impact of step single and sequential culture media on the morphology and frequency of blastocyst implantation.

Materials and methods. In total, 514 embryos obtained from patients aged 30 to 35 years and fertilized by ICSI were studied (2017 to 2018). The pool of embryos from each woman was randomly divided into two groups: the first group was cultured in

Key words:
embryos, frequency implantation, embryotransfer.

Zaporozhye medical journal
2019; 21 (5), 625–630

the sequential media and the second – in the single ones. Evaluation of the effect was carried out by comparing the obtained blastocysts quality cultured in the single and sequential media. Blastocyst morphology was assessed using the modified Gardner D. K. scale. Statistical analysis was performed by Mann–Whitney U-test and Pearson's chi-squared test with Yates' correction. Statistically significant differences between the compared groups were considered at $P < 0.05$.

Results. The studies found that the use of single Origio® 1-Step medium at embryo culture phase improves the morphological quality of the resulting blastocyst compared to embryos cultured in sequential Origio® Sequential Cleav™ / Sequential Blast™ media. No statistically significant difference in the pregnancy and implantation rate of blastocysts obtained after embryo cultivation in the step single or sequential media was detected.

Conclusions. The priority in terms of obtaining a large number of high quality blastocysts with high implantation potential is to use a step single medium for the embryo cultivation.

Сьогодні у світовій ембріологічній практиці є декілька підходів, що спрямовані на поліпшення потенціалу імплантації ембріонів людини [1,2]. Одним із найважливіших чинників, що визначає дальший розвиток ембріона, є середовище культивування. Незважаючи на різноманітність комерційних середовищ, повноцінного аналога природним біологічним рідинам жіночої репродуктивної системи натепер немає. Раніше, не маючи середовищ, які здатні підтримувати розвиток ембріонів до стадії бластоцисти, ембріотрансфер проводили на ранніх стадіях розвитку ембріонів. У зв'язку з цим досліджували ефективність імплантації, частоту настання вагітності (ЧНВ) і живородіння (ЧЖ) дво- або триденних ембріонів [3] і морул [4]. З появою середовищ, що здатні забезпечити культивування до стадії бластоцист (5–6 день), стали схилитися до проведення ембріотрансферу саме на цих стадіях розвитку [5]. Але є праці, де показана відсутність вірогідних відмінностей за ЧНВ між морулами та бластоцистами [6]. Зважаючи на це, зрозуміли, що успіх імплантації ембріонів залежить не стільки від стадії розвитку, на якій проводять ембріотрансфер, скільки від інших умов культивування. Серед чинників, що визначають успіх нормального розвитку та імплантації ембріона, найбільшу увагу приділяють таким критично важливим: склад середовища культивування, коливання температури, рН, газова складова атмосфери, що оточує ембріони.

З появою послідовних середовищ якості отриманих бластоцист, їхній імплантацийний потенціал, а поряд з ним частота настання вагітності (ЧНВ) помітно зросли [7]. Сучасні тенденції удосконалення процесу культивування спрямовані на розвиток як одноступеневих, так і послідовних середовищ. Одноступеневі мають низку технологічних переваг, зокрема спрощення процесу культивування шляхом мінімізації стресових навантажень на ембріони від заміни середовища. Однак проблема вибору середовищ з погляду якості отриманих ембріонів залишається не вирішеною. Автори деяких робіт свідчать на користь одноступеневих середовищ [8,9], інші схиляються у бік послідовних [10,11].

Мета роботи

Оцінити вплив одноступеневого (SAGE 1-Step, Origio®) та послідовних (Sequential Cleav™/Sequential Blast™, Origio®) середовищ культивування на морфологію, частоту імплантації бластоцист.

Матеріали і методи

Дослідження проведено на 514 ембріонах, що отримані від 38 жінок віком 30–35 років (середній вік – $33,4 \pm 1,9$),

з січня 2017 до листопада 2018 р. Стимуляцію та ембріотрансфер виконали згідно з протоколом наказу МОЗ України №787 від 09.09.2013 р. «Про затвердження Порядку застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні».

Зрілі яйцеклітини, що отримані від кожної жінки, запліднювали методом ICSI. Нормально запліднені (двопронуклеарні (2PN)) зиготи довільно поділили на дві групи. У першій групі ($n = 256$) культивування здійснювали в послідовних середовищах Sequential Cleav™ (24–72 год) і Sequential Blast™ (72–120 год). Ембріони другої групи ($n = 258$) культивували в одноступеневому середовищі SAGE 1-Step (24–120 год). Перед ембріотрансфером оцінювали морфологію отриманих бластоцист і порівнювали групи за кількістю та якістю ембріонів. Частоту імплантації оцінювали за рівнем хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) на 14 день після ембріотрансферу. Імплантацію вважали успішною, коли рівень ХГЛ був не нижче ніж 20 мЕд/мл. Частоту настання вагітності визначали як відношення кількості жінок, які завагітніли, до кількості ембріотрансферів. Перенесення ембріонів у порожнину матки виконали на 5 день розвитку стандартним методом із використанням атраumaticного катетера Sydney IVF Cook Medical (Австралія). Кількість перенесених ембріонів у всіх програмах не перевищувала 2.

Морфологічні показники ембріонів оцінювали на стадії бластоцисти за допомогою інвертованого мікроскопа з об'єктивом Гофмана (Olympus XI 71, Японія), за модифікованою шкалою D. K. Gardner et al. [12]. Згідно з цією шкалою, запис морфологічного оцінювання бластоцист представляли у вигляді цифри та двох літер, наприклад, 3AB. Цифра від 1 до 6 вказувала на ступінь експансії порожнини бластоцисти:

1 – порожнина бластоцисти не перевищує 50 % ембріона (рання бластоциста);

2 – порожнина бластоцисти становить 50–60 % ембріона (середня бластоциста);

3 – порожнина бластоцисти становить майже весь об'єм ембріона (повна бластоциста);

4 – порожнина бластоцисти становить весь об'єм ембріона, блискача оболонки стає тонкою, розмір бластоцисти збільшений в 1,3–1,5 раза (розширена бластоциста);

5 – трофектодерма проникає крізь блискачу оболонку;

6 – бластоциста повністю вийшла з блискачої оболонки.

Перша літера вказує на стан внутрішньоклітинної маси:

A – велика кількість щільно упакованих клітин;

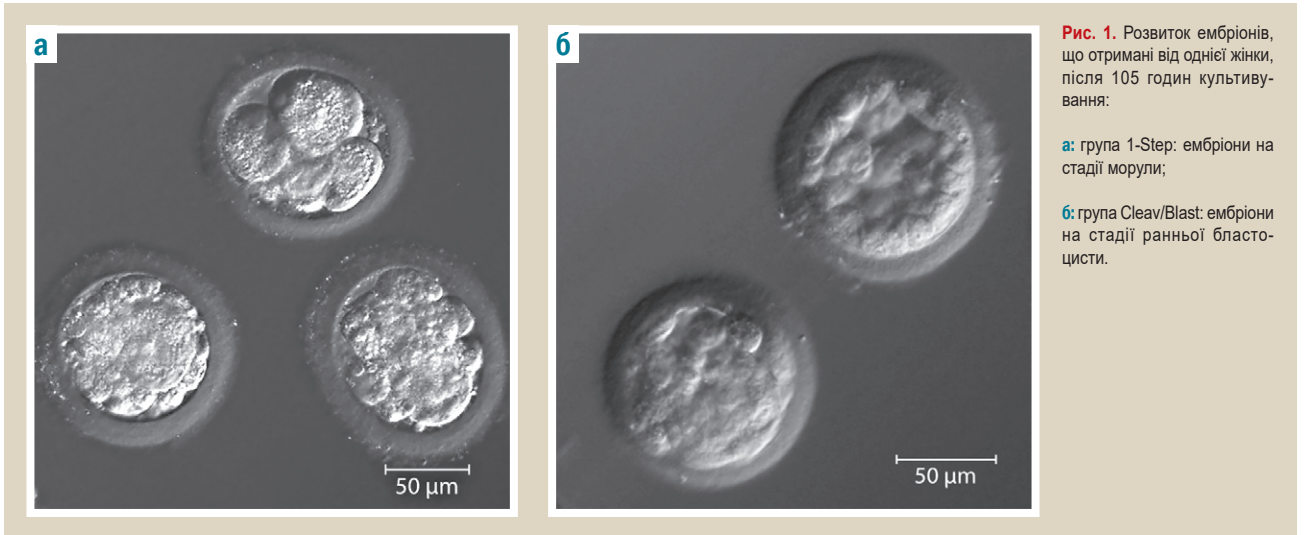


Рис. 1. Розвиток ембріонів, що отримані від однієї жінки, після 105 годин культивування:

а: група 1-Step: ембріони на стадії морули;

б: група Cleav/Blast: ембріони на стадії ранньої бластоцисти.

В – середня кількість нещільно упакованих клітин;
С – незначна кількість клітин, що розташовані некомпактно.

Друга літера показує стан трофектодерми:

А – велика кількість клітин, що формують безперервний епітеліальний шар;

В – незначна кількість клітин (дещо витягнутих), що формують нещільний епітеліальний шар;

С – мала кількість клітин.

Для перенесення відбирали бластоцисти якості не нижче ніж 4ВВ. Культивували в інкубаторах Thermo Scientific Heracell 150 при температурі 37 °С в атмосфері з вмістом CO₂ 6 %. Підготовку ооцитів (денудацию) виконали в середовищі для запліднення Sequential Fert™. Як одноступеневе середовище використали SAGE 1-Step™, послідовними обрані Sequential Cleav™ і Sequential Blast™. Склад середовищ, згідно з даними виробника, наведений у таблиці 1.

Статистичне опрацювання даних, що одержали, здійснили за допомогою програмного пакета Microsoft Excel 2010 (Microsoft, USA) методами непараметричної статистики (U-критерій Манна-Уїтні та критерій χ² Пірсона з поправкою Йейтса). Статистично значущими вважали відмінності між показниками при $p < 0,05$.

Результати

Порівняльний аналіз двох груп ембріонів, що культивувалися в послідовних (група «Cleav/Blast») та одноступеневому (група «1-Step») середовищах, показав: незважаючи на своєчасний розвиток ембріонів обох груп, спостерігали відставання групи 1-Step від Cleav/Blast на 2–4 години (рис. 1). Різницю за розвитком спостерігали вже після 105 годин культивування. Виявили, що ембріони, які культивувалися в одноступеневих середовищах, перебували на стадії морули. Водночас у групі з використанням послідовних середовищ спостерігали початок кавітації та ранні бластоцисти. Однак не для кожного пула ембріонів, які отримані від однієї жінки, зберігалася така тенденція. У середньому після 120 годин культивування 72,3 ± 2,2 % ембріонів дозріли до стадії бластоцисти в одноступеневому середовищі. У випадку послідовних середовищ цей показник

Таблиця 1. Склад середовищ культивування, що використані в роботі

Речовини, що входять до складу середовищ	Sequential Fert™	Sequential Cleav™	Sequential Blast™	SAGE 1-Step™
Магнію сульфат	+	+	+	+
Кальцію хлорид	+			
Кальцію піруват	+	+	+	
Кальцію пантотенат	+	+	+	
Кальцій-L-лактат				+
Калію хлорид	+	+		+
Калію фосфат				+
Калію сульфат			+	
Натрію хлорид	+	+	+	+
Натрію дигідрофосфат дигідрат	+	+	+	
Натрію піруват	+	+	+	+
Натрію бікарбонат	+	+	+	+
Три-натрію цитрат дигідрат	+	+	+	
Гіалуронат натрію		+	+	+
Таурін	+	+		
Амінокислоти	замінні	замінні та незамінні	замінні та незамінні	+
L-аланіл-L-глутамин	+	+	+	+
Фолієва кислота	+	+	+	
D-(+)-глюкози	+	+	+	+
ЕДТА	+	+	+	+
Гентаміцин	+	+	+	+
SSR™			+	
Феноловий червоний				+
Альбумін сироватковий людський	+	+	+	+
Холін			+	
D-Біотин			+	
Інозитол			+	
Ніацинамід			+	
Піридоксин HCl			+	
Рибофлавін			+	
Тіаміну гідрохлорид			+	

вірогідно не відрізнявся від першої групи та становив 73,3 ± 2,3 %. В окремих пулах ембріонів спостерігали зворотну тенденцію, коли відсоток бластоцист, що отримали культивуванням у одноступеневому середовищі, перевищував такий для послідовних середовищ (60,2 ± 4,4 % проти 41,8 ± 6,2 %). Протилежний результат може бути зумовлений не тільки чинником середовища,

Таблиця 2. Морфологічні показники якості бластоцист, що отримані культивуванням в одноступеневому та послідовних середовищах

Якість бластоцист	Група Cleav/Blast (n = 256), кількість ембріонів, %	Група 1-Step (n = 258), кількість ембріонів %	p
4AA	16,8 (43/256)	22,5 (58/258)	p < 0,05
4AB	18,4 (47/256)	26,0 (67/258)	p < 0,01
4BA	10,5 (27/256)	15,1 (39/258)	p < 0,05
4BB	7,4 (19/256)	12,4 (32/258)	p < 0,05
4CB	4,7 (12/256)	5,0 (13/258)	НД
4BC	5,1 (13/256)	4,3 (11/258)	НД
Інші*	37,1 (95/256)	14,7 (38/258)	–

*: ембріони зі ступенем експансії порожнини нижче ніж 4, якості CC і нижче, або ті, що зупинилися в розвитку; **НД**: статистично значущі відмінності не виявили.

Таблиця 3. Показники вагітності залежно від середовища культивування

Показник, % (абс. од.)	Cleav/Blast	1-Step	p < 0,05
Біохімічна вагітність	63,2 (12 / 19)	73,7 (14 / 19)	НД
Частота імплантації ^a	51,4 (18 / 35)	54,5 (18 / 33)	НД
Частота настання вагітності ^b	36,8 (7 / 19)	36,8 (7 / 19)	НД
Позаматкова вагітність	0	0	–
Завмерла вагітність	5	6	НД
Мимовільний викидень	0	1	НД
Одноплідна вагітність (перенос однієї бластоцисти)	8,3 (1 / 12)	14,3 (2 / 14)	НД
Одноплідна вагітність (перенесення двох бластоцист)	33,3 (4 / 12)	21,4 (3 / 14)	НД
Двоплідна вагітність	16,6 (2 / 12)	14,3 (2 / 14)	НД
Частота живонародження	36,8 (7 / 19)	36,8 (7 / 19)	НД

a: частота імплантації визначалася як відношення кількості гестаційних мішків, що візуалізовані методом УЗД після 5 тижня вагітності, до загальної кількості перенесених ембріонів; **b**: частота настання вагітності оцінювалася як відношення кількості жінок, які завагітніли, до кількості перенесень; **НД**: недостовірна різниця.

але і морфологічними [13], генетичними [14], іншими аномаліями розвитку [15].

Морфологічні показники трофктодерми та внутрішньої клітинної маси (ВКМ) бластоцист п'ятого дня культивування наведені в *таблиці 2*. Порівнюючи значення відсотка ембріонів за класами якості, виявили, що у групі 1-Step отримано більше бластоцист середньої та вищої якості.

З обох груп відібрано 68 бластоцист якості не нижче ніж 4BB (по 34 з кожної) та перенесено 38 жінкам (по 19 жінок на кожну групу). Загальна кількість перенесень – 38. Всім пацієнткам (3 із групи 1-Step та 5 із Cleav/Blast) здійснили ембріотрансфер однієї бластоцисти, іншим – дві.

Показники вагітності пацієнтів наведені в *таблиці 3*. Відзначили невірогідне підвищення частоти імплантації (ЧІ) бластоцист у групі 1-Step порівняно з ембріонами групи Cleav/Blast. Статистично значущої різниці за частотою настання вагітності і частотою живонародження (ЧЖ) між групами не виявили.

Зафіксували випадок мимовільного викидня у групі 1-Step на 6 тижні вагітності. Незважаючи на перенесення двох ембріонів, в обох групах кількість випадків одноплідної вагітності перевищувала таку для двоплідної.

Обговорення

Виявлене незначне відставання в розвитку ембріонів, що культивувалися в одноступеневому середовищі

(група 1-Step), від тих, які пройшли послідовну заміну середовищ (група Cleav/Blast), не знизило відсоток отриманих бластоцист вищої якості (4AA). Навпаки, в цій групі отримали більше морфологічно якісніших бластоцист (58 проти 43). Відомо, що ембріони, які розвиваються швидше на перших стадіях дроблення, формують якісніші бластоцисти, котрі мають вищий потенціал до імплантації, ніж ті, що розвивалися своєчасно [16]. Зважаючи на те, що затримка була відносною та обидві групи ембріонів розвивалися своєчасно, не можна стверджувати, що досліджувані середовища культивування відрізняються за способом впливу на частоту бластуляції. Відомо, що остання знижується зі зростанням рівня амонію, який накопичується в середовищі [17]. Враховуючи той факт, що одноступеневе середовище у групі 1-Step не замінювалося на свіже протягом всього часу культивування ембріонів, не виключено, що саме амоній, накопичений за цей період, гальмував початок кавітації. Підвищена концентрація амонію також істотно знижує частоту імплантації ембріонів [18]. У цьому відношенні послідовні середовища завдяки частішому оновленню мають перевагу перед одноступеневими. З іншого боку, перенесення ембріонів з одного культурального середовища в інше може викликати в них осмотичний, метаболічний, окисний, рН і температурний стрес. Знижені показники морфологічної розвиненості ембріонів групи Cleav/Blast порівняно з групою 1-Step можуть бути наслідком стресу, що викликаний перекладанням ембріонів з одного послідовного середовища в інше, пов'язаного зі стрибкоподібною зміною концентрації деяких компонентів останнього. Дані, що отримали, показують: використання одноступеневого середовища дає можливість культивувати більше бластоцист із добре сформованими клітинами трофктодерми та ВКМ порівняно з ембріонами, які пройшли такі самі стадії розвитку в послідовних середовищах, що є інтегральним показником культивування, який поєднує в собі всі названі фактори.

Серед чинників, що зумовлюють успішну імплантацію ембріонів із дальшим їхнім розвитком і народженням здорової дитини, вагому частку становлять ембріональний та ендометріальний. Вважається, що морфологія ембріона визначає результат перших днів вагітності, тоді як її продовження залежить від маткових факторів [19]. Відомо, що рецептивність ендометрію може визначати до 64 % успіху імплантації [20]. Такий внесок зумовлений низкою молекулярних взаємодій між ембріоном і клітинами ендометрія. У цьому каскаді реакцій беруть участь і маркери харчування, як-от лептин, а також фактори, що регулюються інсуліном. Тому в дослідження не включали жінок із цукровим діабетом та індексом маси тіла понад 24.

Високий відсоток біохімічної вагітності та спостережуваної ЧІ в обох групах є наслідком відбору для ембріотрансферу життєздатних ембріонів вищої та середньої якості. Наявність інших чинників, що поліпшують імплантаційний потенціал, не виключається. На жаль, отримані випадки одноплідної вагітності за умов перенесення двох бластоцист указують на втрату одного з ембріонів і недосконале імплантування, незважаючи на високі морфологічні показники. Отже, морфологія бластоцист, що одержали, не є визначальним чинником

успішної вагітності, яка завершиться народженням живої дитини.

Відсутність статистично значущої різниці показників вагітності та живонародження пацієнток, яких досліджували, є свідченням впливу багатьох різних за механізмом дії чинників, серед них середовище культивування не є визначальним.

Висновки

1. Культивування ембріонів в одноступеневому середовищі Origio® 1-Step дає змогу отримати бластоцисти з високим показником частоти імплантації та морфологічної якості порівняно з послідовними середовищами Origio® Sequential Cleav™ і Sequential Blast™.

2. Відсутність статистично значущої різниці за ЧІ, ЧНВ, ЧЖ між групами не дає можливості обрати та рекомендувати використання одного з досліджуваних середовищ культивування в нативних циклах ЕКЗ. Але більша кількість бластоцист якості 4AA, 4BA, 4AB, 4BB, що отримані в одноступеневому середовищі, дає змогу підвищити кількість спроб завагітніти у протоколах криоємбріотрансферу, що робить пріоритетним використання середовища Origio® 1-Step перед послідовними Origio® Sequential Cleav™ і Sequential Blast™.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 24.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 04.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 08.04.2019

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.

Щербаків 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, Україна.

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

Кучков В. М., канд. біол. наук, доцент каф. молекулярної та медичної біофізики, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

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

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

Сведения об авторах:

Пітько В. А., д-р мед. наук, професор, директор ГУ «Український медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України», г. Харьков, Украина.

Щербаків А. Ю., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології № 1, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Логінова О. А., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології № 1, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Синіло Н. М., зав. відділенням допоміжних і репродуктивних технологій, «Український медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України», г. Харьков, Украина.

Кучков В. М., канд. біол. наук, доцент каф. молекулярної та медичної біофізики, Харьковський національний університет ім. В.Н. Каразіна, Украина.

Черкашина Я. О., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, г. Харьков, Украина.

Павлов І. В., біолог, ГУ «Український медичний центр акушерства, гінекології та репродуктології МОЗ України», г. Харьков, Украина.

Information about authors:

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

Shcherbakov A. Yu., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv.

Lohinova O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv.

Sinilo N. M., MD, Head of the Department of Assisted and Reproductive Technologies, State institution "Ukrainian Medical Center of Obstetrics, Gynecology and Reproductology of the Ministry of Health of Ukraine", Kharkiv.

Kuchkov V. M., PhD, Associate Professor of the Department of Molecular and Medical Biophysics, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Cherkashyna Ya. O., PhD, Senior Researcher, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, NAS of Ukraine.

Pavlov I. V., Biologist, State institution "Ukrainian Medical Center of Obstetrics, Gynecology and Reproductology of the Ministry of Health of Ukraine", Kharkiv.

Список літератури

- [1] Approaches for prediction of the implantation potential of human embryos / G. Stamenov, et al. *J. BioSci. Biotech.* 2013. Vol. 2(2). P. 79–88. doi: 10.3897/http://www.jbb.uni-plovdiv.bg/2013-2-2-79-88?inheritRedirect=true
- [2] Hatimaz S., Pektas M. K. Day 3 embryo transfer versus day 5 blastocyst transfers: A prospective randomized controlled trial. *Turk. J. Obstet. Gynecol.* 2017. Vol. 14. Issue 2. P. 82–88. doi: 10.4274/tjod.99076
- [3] Efficacy of embryo transfer on day 2 versus day 3 according to maternal age in patients with normal ovarian response / J. W. Lee, et al. *Clin Exp Reprod Med.* 2017. Vol. 44. №3. P. 141–145. doi: 10.5653/cerm.2017.44.3.141
- [4] Day 4 good morula embryo transfer provided compatible live birth rate with day 5 blastocyst embryo in fresh IVF/ET cycles / R.-S. Li, et al. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology.* 2018. Vol. 57. Issue 1. P. 52–57. doi: 10.1016/j.tjog.2017.12.008
- [5] Pregnancy outcome after blastocyst transfer as compared to early cleavage stage embryo transfer / P. Schwarzler, et al. *Human Reproduction.* 2004. Vol. 19. P. 2097–2102. doi: 10.1093/humrep/deh398
- [6] Clinical outcomes of elective single morula embryo transfer versus elective single blastocyst embryo transfer in IVF-ET / S. M. Kang, et al. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2012. Vol. 29. №5. P. 423–428. doi: 10.1007/s10815-012-9736-8
- [7] Yao T., Asayama, Y. Human preimplantation embryo culture media: past, present, and future. *J. Mamm. Ova Res.* 2016. Vol. 33. №1. P. 17–34. doi: 10.1274/jmor.33.17
- [8] Blastocyst development in a single medium compared to sequential media: a prospective study with sibling oocytes / I. A. Sfontouris, et al. *Reprod Sci.* 2017. Vol. 24. Issue 9. P. 1312–1318. doi: 10.1177/1933719116687653
- [9] Comparison of embryo development and pregnancy rates in continuous single and sequential media cultures of sibling embryos / A. Takashima et al. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies.* 2017. Vol. 3. Issue 3. P. 147–154.
- [10] Does Embryo Culture Medium Influence the Health and Development of Children Born after In Vitro Fertilization? / C. Bouillon, et al. *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11. Issue 3. P. 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0150857
- [11] Sequential versus Monophasic Media Impact Trial (SuMMIT): a paired randomized controlled trial comparing a sequential media system to a monophasic medium / M. D. Werner, et al. *Fertil Steril.* 2016. Vol. 105. Issue 5. P. 1215–1221. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.01.005

- [12] A prospective randomized trial of sequential blastocyst culture and transfer in *in-vitro* sequential fertilization / D. K. Gardner, et al. *Hum. Reprod.* 1999. Vol. 13. Issue 12. P. 3434–3440. doi: 10.1093/humrep/13.12.3434
- [13] Ivec M., Kovacic B., Vlaisavljevic V. Prediction of human blastocyst development from morulas with delayed and/or incomplete compaction. *Fertil Steril.* 2011. Vol. 96. Issue 6. P. 1473–1478. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.015
- [14] Arrested human embryos are more likely to have abnormal chromosomes than developing embryos from women of advanced maternal age / S. T. Qi, et al. *J. Ovarian Res.* 2014. Vol. 7. P. 65. doi: 10.1186/1757-2215-7-65
- [15] Are cleavage anomalies, multinucleation, or specific cell cycle kinetics observed with time-lapse imaging predictive of embryo developmental capacity or ploidy? / N. Desai, et al. *Fertility and Sterility.* 2018. Vol. 109. Issue 4. P. 665–674. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.12.025
- [16] Cleavage speed and implantation potential of early-cleavage embryos in IVF or ICSI cycles / M.-J. Lee, et al. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2012. Vol. 29. Issue 8. P. 745–750. doi: 10.1007/s10815-012-9777-z
- [17] Medium without Ammonium Accumulation Supports the Developmental Competence of Human Embryos / S. Hashimoto, et al. *Journal of Reproduction and Development.* 2008. Vol. 54. Issue 5. P. 370–374. doi: 10.1262/jrd.20012
- [18] Ammonium Concentration of Spent Medium Provides a Noninvasive Assessment of Embryonic Developmental Potential in IVF / Q. Li, et al. *Reproductive Sciences.* 2013. Vol. 20. Issue 11. P. 1316–1320. doi: 10.1177/1933719113483016
- [19] Factors determining early pregnancy loss in singleton and multiple implantations / M. J. Lambers, et al. *Human Reproduction.* 2006. Vol. 22. Issue 1. P. 275–279. doi: 10.1093/humrep/del367
- [20] Aghajanova L., Hamilton A. E., Giudice L. C. Uterine receptivity to human embryonic implantation: Histology, biomarkers, and transcriptomics. *Seminars in Cell & Developmental Biology.* 2008. Vol. 19. Issue 2. P. 204–211. doi: 10.1016/j.semcdb.2007.10.008
- [10] Bouillon, C., Leandri, R., Desch L., Ernst, A., Bruno, C., Cerf, C., et al. (2016). Does Embryo Culture Medium Influence the Health and Development of Children Born after In Vitro Fertilization? *PLOS ONE*, 11(3), 1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0150857
- [11] Werner, M. D., Hong, K. H., Franasiak, J. M., Forman, E. J., Reda, C. V., Molinaro, T. A., et al. (2016). Sequential versus Monophasic Media Impact Trial (SuMMIT): a paired randomized controlled trial comparing a sequential media system to a monophasic medium. *Fertility and Sterility*, 105(5), 1215–1221. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.01.005
- [12] Gardner, D. K., Schoolcraft, W. B., Wagle, L., Schlenker, T., Stevens, J., & Hesla, J. (1998). A prospective randomized trial of sequential blastocyst culture and transfer in *in-vitro* sequential fertilization. *Human Reproduction*, 13(12), 3434–3440. doi: 10.1093/humrep/13.12.3434
- [13] Ivec, M., Kovacic, B., & Vlaisavljevic, V. (2011). Prediction of human blastocyst development from morulas with delayed and/or incomplete compaction. *Fertility and Sterility*, 96(6), 1473–1478. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.015
- [14] Qi, S. T., Liang, L. F., Xian, Y. X., Liu, J. Q., & Wang, W. (2014). Arrested human embryos are more likely to have abnormal chromosomes than developing embryos from women of advanced maternal age. *Journal of Ovarian Research*, 7, 65. doi: 10.1186/1757-2215-7-65
- [15] Desai, N., Goldberg, J. M., Austin, C., & Falcone, T. (2018) Are cleavage anomalies, multinucleation, or specific cell cycle kinetics observed with time-lapse imaging predictive of embryo developmental capacity or ploidy? *Fertility and Sterility*, 109(4), 665–674. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.12.025
- [16] Lee, M. -J., Lee, R. K.-K., Lin, M. -H., & Hwu, Y. -M. (2012). Cleavage speed and implantation potential of early-cleavage embryos in IVF or ICSI cycles. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 29(8), 745–750. doi: 10.1007/s10815-012-9777-z
- [17] Hashimoto, S., Nishihara, T., Murata, Y., Oku, H., Nakaoka, Y., Fukuda, A., & Morimoto, Y. (2008). Medium without Ammonium Accumulation Supports the Developmental Competence of Human Embryos. *Journal of Reproduction and Development*, 54(5), 370–374. doi: 10.1262/jrd.20012
- [18] Li, Q., Wang, W. J., Zhang, N. F., Ouyang, N. Y., Li, R. Q., Mai, M. Q., et al. (2013). Ammonium Concentration of Spent Medium Provides a Noninvasive Assessment of Embryonic Developmental Potential in IVF. *Reproductive Sciences*, 20(11), 1316–1320. doi: 10.1177/1933719113483016
- [19] Lambers, M. J., Mager, E., Goutbeek, J., McDonnell, J., Homburg, R., Schats, R., et al. (2006). Factors determining early pregnancy loss in singleton and multiple implantations. *Human Reproduction*, 22(1), 275–279. doi: 10.1093/humrep/del367
- [20] Aghajanova, L., Hamilton, A. E., & Giudice, L. C. (2008). Uterine receptivity to human embryonic implantation: Histology, biomarkers, and transcriptomics. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 19(2), 204–211. doi: 10.1016/j.semcdb.2007.10.008

References