

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Masna Zoriana Zenoviyivna / Масна Зоряна Зеновійвна

Danylo Halytsky Lviv National Medical University / Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ukraine, 49010, Lviv, 69 Pekarska str. / Адреса: Україна, 49010, м. Львів, вул. Пекарська 69

Tel.: +380505867087 / Тел.: +380505867087

E-mail: masna.zz@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 28.01.2025 / Стаття надійшла 28.01.2025 року
Accepted 02.05.2025 / Стаття прийнята до друку 02.05.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-2-177-268-276

UDC 618.177-089.888.11:611.013:57.043

Feskov O. M., Zhylkova Ye. S., Somova O. V., Feskova A. O., Konoplia L. A.

**CLINICAL OUTCOME ASSOCIATED WITH ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES
IN COUPLES WITH VARIOUS FACTORS OF INFERTILITY AFTER TRANSFER OF FROZEN
EMBRYOS WITH A BALANCED KARYOTYPE**

Centre of Human Reproduction “Clinic of Professor Feskov O.” (Kharkiv, Ukraine)

zhilkova@feskov.ua

One of the main conditions to get a healthy pregnancy in in vitro fertilization cycles is the transfer of an embryo with a balanced karyotype into the uterine cavity. Such a transfer is possible only within the framework of the cryo-protocol when the frozen embryos are used. Currently, the question if the oocyte or sperm influences on the process of blastocyst formation and the presence of aneuploidy in embryos at the early stages of development, when in vitro fertilization cycle is carried out, is still open. The aim of this work was to determine the rates of formation for blastocysts with a balanced karyotype and the clinical pregnancy rates after the transfer of frozen embryos for couples with male and tubal-peritoneal infertility factors. In particular, the influence of such parameters of male fertility as concentration, motility and morphology of spermatozoa in the ejaculate on the processes of early embryogenesis was investigated. Totally, preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) was performed for 613 blastocysts received from 156 couples with male and tubo-peritoneal infertility factors and using donor gametes. The PGT-A was carried out by the method of next generation sequencing. Spermogram parameters were assessed according to WHO recommendations from 2010. Embryos were obtained using assisted reproductive technologies. Blastocysts freezing was performed using the vitrification method. Statistical hypotheses were tested at significance levels of 0.05, 0.025, 0.01. The relationship between the morphology and motility of spermatozoa in the ejaculate in men with spermatogenesis failures and the rate of formation of morphologically high quality blastocysts has been proven ($r=0.24$ and $r=0.21$, respectively). A decrease in spermogram parameters leads to a decrease in the in vitro fertilization rates of mature oocytes at the MII stage ($p<0.05$). It has been confirmed that advanced maternity age is associated with an increase in the formation of aneuploid embryos when using assisted reproductive technologies ($p<0.05$). A balanced embryo karyotype is one of the most important conditions for pregnancy outcome in couples with different factors of infertility.

Key words: infertility, preimplantation genetic testing for aneuploidy, in vitro fertilization, blastocysts formation rate.

Connection of the publication with planned research works.

The present study is a part of research work “Determination of pre-treatment role for increasing the efficiency of cryopreservation and hypothermic storage of cellular structures with different levels of organization” (state registration number 0121U113329).

Introduction.

Nowadays, the use of assisted reproductive technologies (ART) makes it possible to get pregnancy in couples with various factors of female and male infertility. In vitro fertilization (IVF) allows obtaining embryos from patients with tubal-peritoneal, hormonal, immune and

other types of female infertility. Thanks to intracytoplasmic sperm injection into the oocyte (ICSI), it has become possible to obtain fertilization even from men with a severe spermatogenesis failures [1]. On the other hand, one of the main conditions to get a healthy pregnancy using IVF, is to transfer an embryo with a balanced karyotype into the uterine cavity. The most common cause of changes in the karyotype of embryos is chromosome non-disjunction, which occurs either during meiosis or in the early stages of postzygotic development [2]. Preimplantation genetic testing of embryos for aneuploidy by the method of next generation sequencing (NGS) allows selecting an embryo with a balanced karyotype for

transfer [3]. Such transfer is possible only in cryoprotocol using frozen embryos [4]. Currently, the question if the oocyte or sperm influences on the process of blastocyst formation and the formation of aneuploidy in embryos at the early stages of development, when *in vitro* fertilization cycle is carried out, is still open [5-7].

The aim of the study.

To establish the rate of formation of the blastocysts with a balanced karyotype and the clinical pregnancy outcome after the frozen embryo transfers for couples with male and tubal-peritoneal infertility factors and to verify the influence of such parameters of male fertility as the concentration, motility and morphology of spermatozoa in the ejaculate on the processes of early embryogenesis.

Object and research methods.

Data collection and laboratory studies were conducted at the "Clinic of Professor Feskov O." (Kharkiv). The study was approved by the Ethics Committee of Sana-Med Ltd. (Human Reproduction Center "Clinic of Professor Feskov O.") in accordance with Protocol No. 8 dated December 1, 2022. Each patient signed an Informed Consent for the Use and Processing of Data. During the period 2023-2024, the results of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) of embryos from 156 married couples were considered. Frozen blastocysts with a balanced karyotype were transferred to mentioned patients. According to the infertility factor, the above-mentioned couples were divided into 2 groups.

Group 1 consisted of 88 couples with the male factor of infertility. Severe failures of spermatogenesis were noted in men in this group. In Group 1, the age of women in the couple was in the range of 23–31 years; the age of men was from 37 to 44 years. Group 2 was formed by 68 couples with tubo-peritoneal factor of infertility. This group included patients aged from 38 to 43 years; the age of men in this group was in the range of 35-47 years. Group 3 was considered separately as a control group: embryos were received using donor gametes. In total, preimplantation genetic testing was performed on 613 blastocysts: 293, 228, and 92 embryos in Groups 1, 2, and 3, respectively. Microscopic analysis of ejaculate was performed with interpretation of reproductive function indices according to WHO recommendations from 2010 [8].

GnRH-ant protocol was used for patients' controlled ovulation stimulation (COS) in IVF cycles. Oocytes obtained after transvaginal puncture were fertilized by the ICSI method. Embryos were cultured to the blastocyst stage in GAIN medium Single-step (Austria) at a temperature of 36.9°C-37.1°C and a CO₂ level of 5.5%-5.7% [9]. Embryos that reached the blastocyst stage were evaluated by the stage of development and morphological characteristics of the intracellular mass (ICM) and trophectoderm (TE) according to the criteria of D. Gardner [10]. Preimplantation genetic screening of embryos at the blastocyst stage was performed using the next-generation sequencing method [11].

Embryos were frozen using the vitrification method according to M. Kuwayama, cryotop, modification [12]. The stage of saturation of embryos with cryoprotectants was carried out at a temperature of 20-24°C. Then they were equilibrated for 10–12 min in solutions of 7.5% dimethyl sulfoxide (DMSO) and ethylene glycol. After

equilibration, blastocysts were placed at the bottom of a drop with solutions of 15% DMSO and 15% ethylene glycol. After a 30-second exposure, they were transferred to a "CryoTec" carrier ("Cryotech", Japan). Embryos in a minimal drop of cryoprotectant solution were placed one by one on the specified carrier and immediately immersed in liquid nitrogen [13]. For further thawing of embryos with a balanced karyotype before transfer, after removal of the carrier from liquid nitrogen, it was immediately immersed in 1 M sucrose solution. After 1 minute, the blastocysts were transferred to 0.5 M sucrose solution at 37°C for 3 minutes and cultured *in vitro* in GAIN medium Single-step (Austria) [14].

The data were checked for compliance with the law of normal distribution for statistical analysis. To identify the relationship between the parameters of microscopic analysis of ejaculate with the level of aneuploidy in blastocysts and morphological features of embryos, the Pearson correlation coefficient was used. Statistical hypotheses were tested using the χ^2 criterion at significance levels of 0.05, 0.025, 0.01 [15]. Database creation and calculations were performed using the Apache Open Office 4.0.0 software package (Sana-Light Ltd., Sana-Med Ltd.).

Research results and their discussion.

Considering totally 613 blastocysts, biopsy was performed on day 5 of culture for 373 embryos and on day 6 for 240 blastocysts, respectively. A photo of the blastocyst before the biopsy procedure is shown in **figure 1**.

As a result of COS, totally 1201 oocytes at the MII maturity stage were obtained from patients in Group 1. The fertilization rate in this group was 68.4% (821 normal zygotes with two pronuclei). The total blastocyst formation rate among patients in Group 1 was 48.9% (402 blastocysts). Blastocysts with high morphological quality, suitable for biopsy and vitrification, developed from 35.7% of fertilized oocytes. The following results of preimplantation genetic screening of embryos for aneuploidy were obtained for couples in Group 1: 169 blastocysts with a balanced karyotype (57.7% of embryos); 95 aneuploid blastocysts (32.4% of embryos) and 29 blastocysts with mosaic karyotype (9.9% of the studied embryos). When studying the relationship between the presence of aneuploidy in blastocysts obtained from patients of Group 1 with male factor infertility in the couple and classical spermogram indices, no influence of such indices of male reproductive function as sperm motility,

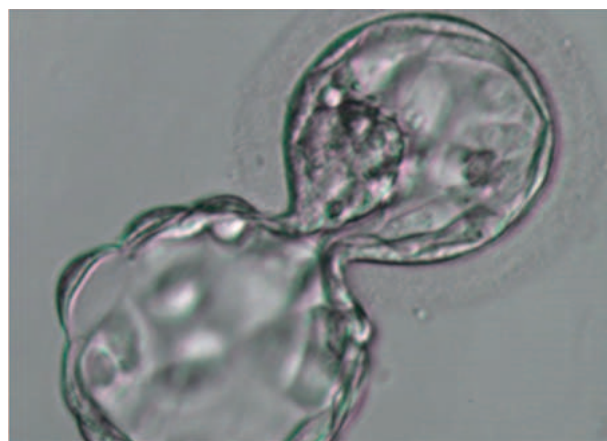


Figure 1 – Blastocyst 5AA according to the D. K. Gardner classification *in vitro* before the biopsy procedure. Magnification: x250.

Table 1 – Relationship between the blastocyst formation rate obtained from patients with spermatogenesis failures and classical spermogram parameters

Spermogram parameters		Number of men, N	Rate of formation of blastocysts with high morphological quality, %	r	p
Name of parameter	Average value, $\bar{x} \pm m_x$				
Motility, %	25.23±15.58	88	35.70	0.24	$p < 0.05$
Concentration, million/ml	19.63±18.34	88	35.70	0.07	$p > 0.05$
Morphology, %	2.69±2.27	88	35.70	0.21	$p = 0.05$

Notes: p – the significance level, r – the Pearson coefficient.

Table 2. Results of preimplantation genetic testing for aneuploidy in blastocysts in patients with different factors of infertility

Group of patients	Total number of blastocysts, N	Part of euploid blastocysts, N (%)	Part of aneuploid blastocysts, N (%)	Part of blastocysts with mosaic karyotype, N (%)
Group 1	293	169 (57.7)*	95 (32.4)**	29 (9.9)
Group 2	228	86 (37.7)***	112 (49.1)**	30 (13.2)
Group 3	92	61 (66.3)***	27 (39.3)	4 (4.3)
Statistics	*df=1, $\chi^2_{crit.} = 20.423$, $\chi^2_{fact.} = 21.227$, $p < 0.01$ **df=1, $\chi^2_{crit.} = 14.244$, $\chi^2_{fact.} = 14.933$, $p < 0.05$ *** df=1, $\chi^2_{crit.} = 20.423$, $\chi^2_{fact.} = 21.567$, $p < 0.01$			

Notes: p – the significance level, N – number of blastocysts.

concentration and morphology was found on the total blastocyst formation rate (BFR) or on the part of aneuploid blastocysts in this group. However, it was proven that the rate of formation of blastocysts with high morphological quality, obtained from men with low fertility, depends on the motility and morphology of sperm in the ejaculate (table 1).

The obtained results have important clinical significance, considering that the information in the literature about the impact of sperm parameters on early embryo development is ambiguous. For example, Aurélie Chapuis et al. (2017) concluded that a low spermatozoa concentration in ejaculate negatively affects the blastocysts formation rate in IVF cycles [16]. On the other hand, Romualdo Polese et al. (2022) did not find an impact of sperm parameters on the process of blastocysts formation in ART [17].

738 mature MII oocytes were obtained from women in Group 2. The fertilization rate in these patients was 84.9% (627 zygotes with two pronuclei). The total BFR in Group 2 was 39.0% (245 blastocysts). Blastocysts suitable for biopsy and vitrification developed from 36.4% of fertilized oocytes. Preimplantation genetic screening for couples in Group 2 yielded the following results: 86 blas-

tocysts with balanced karyotypes (37.7% of embryos); 112 aneuploid blastocysts (49.1% of embryos); and 30 blastocysts with mosaic karyotypes (13.2% of embryos).

In the control Group 3, 135 mature MII oocytes were fertilized by ICSI. The fertilization rate in this group was 83.0% (112 zygotes with two pronuclei). The total BFR and the rate of formation of blastocysts with high morphological quality in Group 3 were 86.6% (97 blastocysts) and 82.1% (92 blastocysts), respectively. According to the results of PGT-A: 61 blastocysts with a balanced karyotype (66.3% of embryos); 27 aneuploid blastocysts (39.3% of embryos) and 4 blastocysts with a mosaic karyotype (4.3% of the studied embryos).

The rate of fertilization of oocytes at the MII stage is statistically significantly lower among patients with male factor infertility, compared with the effectiveness of the ICSI procedure for couples with normal spermogram indices in men and compared with fertilization rates in the control group (df=1, $\chi^2_{crit.} = 65.733$, $\chi^2_{fact.} = 66.608$, $p < 0.05$; and df=1, $\chi^2_{crit.} = 11.602$, $\chi^2_{fact.} = 12.286$, $p < 0.05$, respectively).

The total blastocyst formation rate and the rate of formation of blastocysts with high-quality morphology did not differ statistically between patients in Groups 1 and 2. However, the BFR in the control group was significantly higher, both in comparison with the data obtained for patients with male factor infertility (df=1, $\chi^2_{crit.} = 54.629$, $\chi^2_{fact.} = 56.132$, $p < 0.01$); and in comparison with the results in the group of women with tubal-peritoneal infertility (df=1, $\chi^2_{crit.} = 84.454$, $\chi^2_{fact.} = 86.355$, $p < 0.05$). It was found out that the part of aneuploid blastocysts was significantly higher in patients in Group 2, compared with the control group and with the results obtained for couples with male factor infertility. It can be explained by the fact that advanced maternal age negatively affects the frequency of formation of embryos with abnormal karyotype (table 2). In this work, the effect of male age and spermogram parameters on the formation of aneuploid blastocysts was not found. In this study, the effect

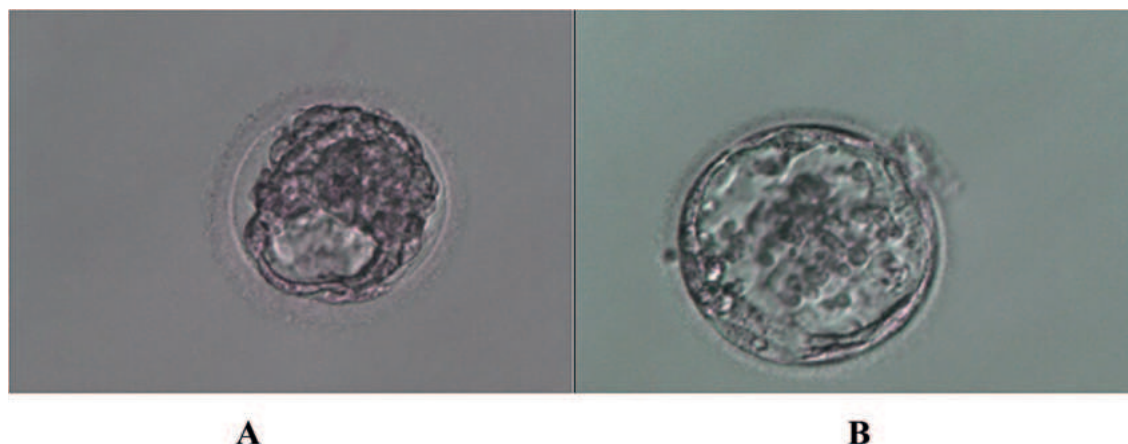


Figure 2 – Blastocyst after thawing *in vitro*: A – immediately after thawing; B – 2 hours after thawing. Magnification: x250.

of the age of the patients on the process of blastocyst formation was not established, but the literature data on this is contradictory. For example, V. S. Vanni et al. (2017) showed in their study that increased maternal age negatively affects the process of blastocyst formation [18]. On the other hand, in the work of Korkmaz C. et al. (2015), it was not proven that the maternal age over 35 years reduces the rate of blastocysts formation [19]. The results of present study confirm the data presented in the literature about the effect of advanced maternal age on the rate of aneuploidy in embryos at an early stage of development [20, 21].

Totally 129 transfers of frozen embryos with a balanced karyotype were performed using the cryoprotocol. Of these, 82 embryo transfers were performed for patients in Group 1 and 47 frozen blastocyst transfers were performed for women in Group 2. In each case, 1 blastocyst with positive dynamics after thawing was transferred. Photos of the embryos immediately and 2 hours after thawing are shown in figure 2.

The clinical pregnancy rates were 46.3% (38 pregnancies) and 44.7% (21 pregnancies) for women in Groups 1 and 2, respectively. The clinical pregnancy rates were not statistically different in the considered groups, which suggests that a balanced embryo karyotype is one of the most important conditions to get pregnancy in couples with different factors of infertility.

Conclusions.

The relationship between such indices of male reproductive function as sperm morphology and motility and the rate of formation of blastocysts with high morphological quality in IVF cycles for couples with male infertility has been proved. It has been shown that a decrease in spermogram parameters leads to a decrease of fertilization rate of mature oocytes at the MII stage *in vitro*, even when using the ICSI technique. It has been confirmed that advanced maternal age is associated with an

increase in the aneuploidy rates in embryos when using ART methods. The influence of the female or male age on the process of blastocysts formation in IVF cycles has not been established. The influence of such indices of male reproductive function as sperm motility, concentration and morphology on the total blastocysts formation rate and the proportion of aneuploid blastocysts *in vitro* has not been revealed for patients with spermatogenesis failures. It has been demonstrated that a balanced embryo karyotype is one of the most important conditions to get pregnancy in couples with different factors of infertility.

Prospects for further research.

Currently, research data about the role of male reproductive function parameters in embryo development and the formation of aneuploid embryos are ambiguous. A more detailed study of ejaculate parameters, in addition to microscopic analysis parameters, which can potentially affect the formation of blastocysts obtained from patients with spermatogenesis failures, is promising. In particular, it is appropriate to study the relationship of such characteristics as the sperm DNA fragmentation and the level of reactive oxygen species in the ejaculate with the features of early embryo development. For women with advanced maternal age the use of assisted oocyte activation may be promising, in particular with the help of calcium ionophore, in order to reduce the risks of karyotype changes in embryos at an early stage of development. Getting higher number of mature oocytes in patients over 38 years will increase the likelihood of selecting euploid blastocysts in IVF cycles. Increasing the number of oocytes in advanced maternal age patients in the future is possible through the use of cell therapy, for example, with the use of placenta and cord blood preparations for these women. The development of non-invasive methods to select the best embryo *in vitro* remains relevant.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-2-177-268-276

УДК 618.177-089.888.11:611.013:57.043

Феськов О. М., Жилкова Є. С., Сомова О. В., Феськова А. О., Конопля Л. А.

КЛІНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ПОДРУЖНІХ ПАР З РІЗНИМИ ФАКТОРАМИ БЕЗПЛІДДЯ ПРИ ПЕРЕНОСІ ЗАМОРОЖЕНИХ ЕМБРІОНІВ ЗІ ЗБАЛАНСОВАНИМ КАРІОТИПОМ

Центр Репродукції людини «Клініка професора Феськова О. М.» (м. Харків, Україна)

zhilkova@feskov.ua

Однією з головних умов для настання здорової вагітності у програмах екстракорпорального запліднення є перенос у порожнину матки ембріона зі збалансованим каріотипом. Проведення такого переносу можливо тільки у рамках виконання кріопrotocola з використанням заморожених ембріонів. Наразі залишається відкритим питання щодо впливу ооцита чи сперматозоїда на процес формування бластоцисти та виникнення анеупloidії в ембріонах на ранніх стадіях розвитку при проведенні запліднення *in vitro*. Метою даної роботи стало встановити частоту формування бластоцист зі збалансованим каріотипом та настання клінічної вагітності при переносі заморожених ембріонів для подружніх пар з чоловічим та трубно-перитоніальним факторами безпліддя. Зокрема, досліджено вплив таких параметрів чоловічої фертильності, як концентрація, рухливість та морфологія сперматозоїдів в еякуляті, на процеси раннього ембріогенезу. Загалом проведено преімплантаційне генетичне тестування на анеупloidії методом секвенування нового покоління для 613 бластоцист, отриманих від 156 подружніх пар з чоловічим та трубно-перитоніальним факторами безпліддя та з використанням донорських гамет. Показники спермограми оцінені згідно рекомендаціям ВООЗ від 2010 року. Ембріони отримані з використанням допоміжних репродуктивних технологій. Заморожування бластоцист виконано за методом вітрифікації. Статистичні гіпотези перевірені за рівнів значущості 0,05, 0,025, 0,01. Доведено

зв'язок між морфологією та рухливістю сперматозоїдів в еякуляті і частотою формування бластоцист високої морфологічної якості, отриманих у програмах екстракорпорального запліднення від пацієнтів з порушенням сперматогенезу ($r=0,24$ і $r=0,21$, відповідно). Зниження параметрів спермограми веде до зниження частоти запліднення зрілих ооцитів на стадії MII *in vitro* ($p<0,05$). Підтверджено, що збільшення віку жінок асоціюється з ростом частоти формування анеуплоїдних ембріонів при застосуванні методів допоміжних репродуктивних технологій ($p<0,05$). Збалансований каріотип ембріона є однією з найбільш важливих умов настання вагітності за різних факторів безпліддя у подружжі.

Ключові слова: безпліддя, передімплантаційне генетичне тестування на анеуплоїдії, екстракорпоральне запліднення, частота формування бластоцист.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота виконана у рамках НДР «Визначення ролі попередньої обробки для підвищення ефективності кріоконсервування і гіпотермічного зберігання клітинних структур різного рівня організації» (номер державної реєстрації 0121U113329).

Вступ.

У наш час застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) дає можливість отримати вагітність у подружніх пар з різними факторами жіночого та чоловічого безпліддя. Проведення екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) дозволяє отримати ембріони у пацієнток з трубно-перитоніальним, гормональним, імунним та іншими видами жіночого безпліддя. Завдяки проведенню інтрацитоплазматичної ін'єкції сперматозоїда в ооцит (ІКІ) з'явилася можливість отримати запліднення навіть від чоловіків зі значним зниженням показників спермограми [1]. З іншого боку, однією з головних умов для настання здорової вагітності, при використанні ЕКЗ, є перенос у порожнину матки ембріона зі збалансованим каріотипом. Найчастішою причиною виникнення змін у каріотипі ембріонів є нерозбіжність хромосом, що відбувається або під час мейозу, або на ранніх стадіях постзиготного розвитку [2]. Проведення передімплантаційного генетичного тестування ембріонів на анеуплоїдії методом секвенування нового покоління (next generation sequencing, NGS) дозволяє вибрати для переносу ембріон зі збалансованим каріотипом [3]. Проведення такого переносу можливо тільки у рамках виконання кріопротокола з використанням заморожених ембріонів [4]. Наразі залишається відкритим питання щодо впливу ооцита чи сперматозоїда на процес формування бластоцисти та виникнення анеуплоїдії в ембріонах на ранніх стадіях розвитку при проведенні запліднення *in vitro* [5-7].

Мета дослідження.

Встановити частоту формування бластоцист зі збалансованим каріотипом та настання клінічної вагітності при переносі заморожених ембріонів для подружніх пар з чоловічим та трубно-перитоніальним факторами безпліддя та перевірити вплив таких параметрів чоловічої фертильності, як концентрація, рухливість та морфологія сперматозоїдів в еякуляті, на процеси раннього ембріогенезу.

Об'єкт і методи дослідження.

Збір первинної інформації та лабораторні дослідження проводили в «Клініці професора Феськова О.М.» (м. Харків). Проведення даного дослідження ухвалено Етичним комітетом ТОВ «Сана-Мед» (Центру репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.») відповідно до протоколу № 8 від 01 грудня 2022 року. Кожним пацієнтом підписана Інформова-

на згода щодо використання та обробки даних. За період 2023-2024 рр. розглянуто загалом 156 подружніх пар, для яких були проаналізовані результати передімплантаційного генетичного тестування на анеуплоїдії (ПГТ-А) ембріонів, отриманих у рамках програм екстракорпорального запліднення, та виконано перенос заморожених бластоцист зі збалансованим каріотипом. За фактором безпліддя зазначені вище подружжя були поділені на 2 групи.

До Групи 1 увійшли 88 пар, причиною безпліддя у яких виступав чоловічий фактор; відмічалися значні порушення параметрів сперматогенезу у чоловіків у даній групі. У Групі 1 вік жінок у подружжі знаходився у діапазоні 23-31 рік; вік чоловіків становив від 37 до 44 років. Групу 2 було сформовано з 68 подружніх пар з трубно-перитоніальним фактором безпліддя. До даної групи увійшли пацієнтки віком від 38 до 43 років; вік чоловіків у даній групі був у діапазоні 35-47 років. Окремо було розглянуто Групу 3, як контрольну групу: ембріони отримані з використанням донорських гамет. Загалом було проведено передімплантаційне генетичне тестування 613 бластоцист: 293, 228 і 92 ембріонів у Групах 1, 2 та 3, відповідно. Мікроскопічний аналіз еякуляту виконано з інтерпретацією показників репродуктивної функції згідно рекомендаціям ВООЗ від 2010 року [8].

У рамках програм екстракорпорального запліднення для контрольованої стимуляції овуляції (КСО) пацієнток у подружжях застосовували протокол з ант-ГнРГ. Отримані після трансвагінальної пункції ооцити запліднені методом ІКІ. Культивування ембріонів до стадії бластоцисти виконано в середовищах GAIN medium Single-step (Австрія) за температури 36,9°C-37,1°C та вмісті CO₂ 5,5%-5,7% [9]. Ембріони, які досягли стадії бластоцисти, оцінювали за стадією розвитку та морфологічними характеристиками внутрішньоклітинної маси (ВКМ) та трофектодерми (ТЕ) згідно з критеріями D. Gardner [10]. Преімплантаційний генетичний скринінг ембріонів на стадії бластоцисти проведено з використанням метода секвенування нового покоління [11].

Заморожування ембріонів виконано за методом вітрифікації за М. Kuwayama, кріотоп, модифікація [12]. Етап насичення кріопротекторами ембріонів здійснювали при температурі 20-24°C. Далі їх еквілібрували протягом 10-12 хв у розчинах 7,5% диметилсульфоксиду (ДМСО) та етиленгліколю. Після еквілібрації бластоцисти поміщали на дно краплі з розчинами 15% ДМСО та 15% етиленгліколю. Після 30-секундної експозиції переносили на носій «CryoTec» («Cryotech», Японія). Ембріони у мінімальній краплі кріозахисного розчину по одному розміщували на зазначеному носії і відразу занурювали у рідкий азот [13]. Для подальшого розморожування

ембріонів зі збалансованим каріотипом перед переносом, після вилучення носія з рідкого азоту, його одразу занурювали в 1 М розчин сахарози. Через 1 хвилину бластоцисти за температури 37°C переносили в 0,5 М розчин сахарози на 3 хвилини і культивували *in vitro* в середовищі GAIN medium Single-step (Австрія) [14].

При проведенні статистичного аналізу дані перевірені на відповідність закону нормального розподілу. Для виявлення зв'язку між показниками параметрів мікроскопічного аналізу еякуляту з рівнем анеуплоїдії у бластоцистах та морфологічними особливостями ембріонів використано коефіцієнт кореляції Пірсона. Статистичні гіпотези перевірено за допомогою критерію χ^2 за рівнів значущості 0,05, 0,025, 0,01 [15]. Створення баз даних і проведення розрахунків проводили за допомогою пакету програм Apache Open Office 4.0.0 (ТОВ «Сана-Лайт», ТОВ «Сана-Мед»).

Результати дослідження та їх обговорення.

З 613 бластоцист, отриманих загалом у трьох розглянутих групах, біопсія на п'ятий день культивування була виконана для 373 ембріонів та на шостий день – для 240 бластоцист, відповідно. Фото бластоцисти перед процедурою біопсії наведено на **рисунку 1**.

У результаті проведення КСО, у пацієнток Групи 1 загалом було отримано 1201 ооцит на стадії зрілості MII. Частота запліднення у даній групі, при застосуванні метода ICSI, склала 68,4% (821 нормальна зигота з двома пронуклеусами). Загальна частота формування бластоцист серед пацієнток Групи 1 становила 48,9% (402 бластоцисти). Бластоцисти високої морфологічної якості, придатні до біопсії та вітрифікації, розвинулися з 35,7% запліднених ооцитів. Були отримані наступні результати передімплантаційного генетичного скринінгу ембріонів на анеуплоїдії для подружжя Групи 1: 169 бластоцист зі збалансованим каріотипом (57,7% ембріонів); 95 анеуплоїдних бластоцист (32,4% ембріонів) та 29 бластоцист з мозаїчним каріотипом (9,9% досліджуваних ембріонів). Під час дослідження зв'язку наявності анеуплоїдії у бластоцистах, отриманих від пацієнтів Групи 1 з чоловічим фактором безпліддя у подружжі, з класичними показниками спермограми не виявлено впливу таких показників чоловічої репродуктивної функції, як рухливість, концентрація та морфологія сперматозоїдів, на загальну частоту формування бластоцист (ЧФБ) та частку анеуплоїдних бластоцист у даній групі. Втім доведено, що частота формування бластоцист високої морфологічної якості, отриманих від чоловіків зі зниженням фертильності, залежить від рухливості та морфології сперматозоїдів в еякуляті (**таблиця 1**).

Отримані результати мають важливе клінічне значення, беручи до уваги, що літературні дані щодо впливу параметрів спермограми на ранній розвиток ембріонів неоднозначні. Так, наприклад, Aurélie Charuis із співавторами (2017) зробили висновок про негативний вплив зменшення концентрації сперматозоїдів на частоту формування бластоцист у програмах ЕКЗ [16]. З іншого боку Romualdo Polese з колегами (2022) не виявили впливу характеристик спермо-

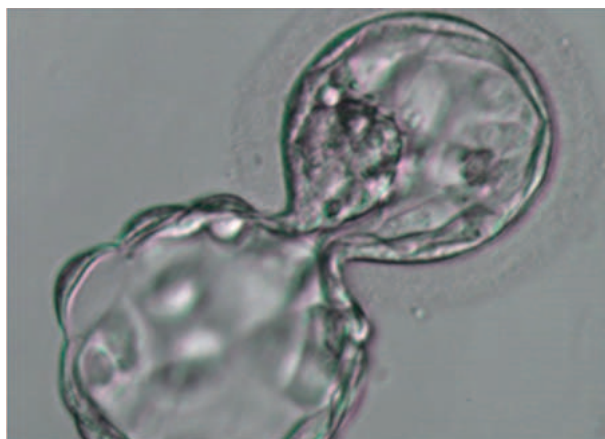


Рисунок 1 – Бластоциста 5AA за класифікацією D. K. Gardner *in vitro* перед процедурою біопсії. Збільшення: $\times 250$.

грами на процес формування бластоцист при застосуванні ДРТ [17].

У жінок Групи 2 загалом було отримано 738 зрілих ооцитів MII. Частота запліднення у зазначених пацієнток склала 84,9% (627 зигот з двома пронуклеусами). Загальна ЧФБ у Групі 2 становила 39,0% (245 бластоцист). Бластоцисти, придатні до біопсії та вітрифікації, розвинулися з 36,4% запліднених ооцитів. При проведенні передімплантаційного генетичного скринінгу для подружжя Групи 2 отримані наступні результати: 86 бластоцист зі збалансованим каріотипом (37,7% ембріонів); 112 анеуплоїдних бластоцист (49,1% ембріонів) та 30 бластоцист з мозаїчним каріотипом (13,2% досліджуваних ембріонів).

У контрольній Групі 3 проведено запліднення 135 зрілих ооцитів MII методом ICSI. Частота запліднення у даній групі склала 83,0% (112 зиготи з двома пронуклеусами). Загальна ЧФБ та частота формування бластоцист високої морфологічної якості у Групі 3 склали 86,6% (97 бластоцист) та 82,1% (92 бластоцисти), відповідно. За результатами ПГТ-А: 61 бластоциста зі збалансованим каріотипом (66,3% ембріонів); 27 анеуплоїдних бластоцист (39,3% ембріонів) та 4 бластоцисти з мозаїчним каріотипом (4,3% досліджуваних ембріонів).

Частота запліднення ооцитів на стадії MII статистично значуще менша серед пацієнтів з чоловічим фактором безпліддя, у порівнянні з результативністю процедури ICSI для подружжя з нормальними показниками спермограми у чоловіків та у порівнянні з показниками запліднення у контрольній групі ($df=1$, $\chi^2_{\text{крит.}}=65,733$, $\chi^2_{\text{факт.}}=66,608$, $p<0,05$; та $df=1$, $\chi^2_{\text{крит.}}=11,602$, $\chi^2_{\text{факт.}}=12,286$, $p<0,05$, відповідно).

Загальна частота формування бластоцист та частота формування бластоцист з морфологією високої якості не відрізнялися статистично для пацієнтів Груп

Таблиця 1 – Зв'язок частота формування бластоцист, отриманих від пацієнтів з порушеннями сперматогенезу, з класичними параметрами спермограми

Параметр спермограми		Кількість чоловіків, N	Частота формування бластоцист високої морфологічної якості, %	r	p
Найменування	Середнє значення, $\bar{x} \pm m_x$				
Рухливість, %	25.23 $\pm$ 15.58	88	35.70	0.24	$p<0.05$
Концентрація, млн./мл	19.63 $\pm$ 18.34	88	35.70	0.07	$p>0.05$
Морфологія, %	2.69 $\pm$ 2.27	88	35.70	0.21	$p=0.05$

Примітки: p – рівень значущості, r – коефіцієнт Пірсона.

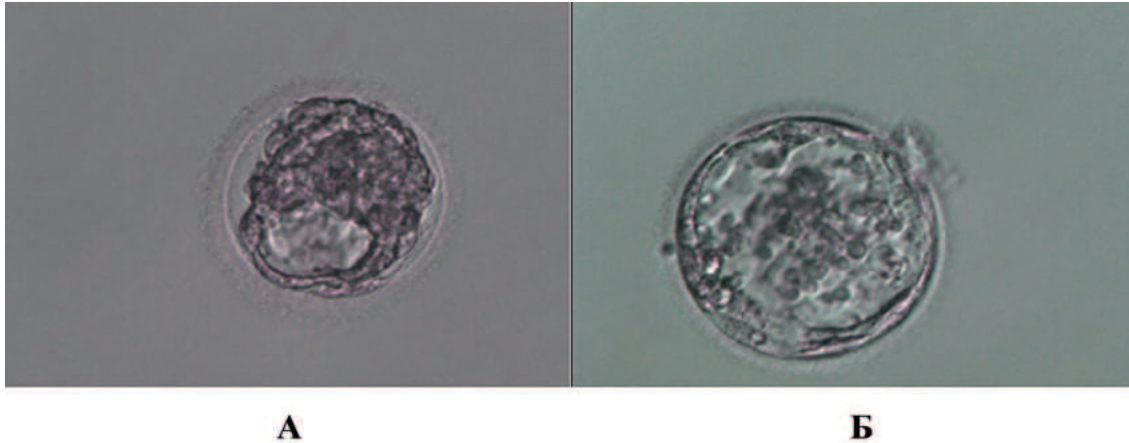
Таблиця 2 – Результати преімплантаційного генетичного тестування на анеуплоїдії бластоцист, отриманих для пацієнтів з різними факторами безпліддя у подружжі

Групи пацієнтів	Загальна кількість бластоцист, N	Частка еуплоїдних бластоцист, N (%)	Частка анеуплоїдних бластоцист, N (%)	Частка бластоцист з мо- заїчним каріотипом, N (%)
Група 1	293	169 (57.7)*	95 (32.4)**	29 (9.9)
Група 2	228	86 (37.7)****	112 (49.1)**	30 (13.2)
Група 3	92	61 (66.3)*	27 (39.3)	4 (4.3)
Statistics	$\chi^2_{crit.} = 20.423, \chi^2_{fact.} = 21.227, p < 0.01$ $\chi^2_{crit.} = 14.244, \chi^2_{fact.} = 14.933, p < 0.05$ $\chi^2_{crit.} = 20.423, \chi^2_{fact.} = 21.567, p < 0.01$			

Примітки: p – рівень значущості, N – кількість бластоцист.

ному випадку була перенесена 1 бластоциста з позитивною динамікою після розморожування. Фото ембріонів одразу та через 2 години після відтаювання наведені на **рисунку 2**.

Частота настання клінічної вагітності склала 46,3% (38 вагітностей) та 44,7% (21 вагітність) для жінок у Групах 1 та 2, відповідно. Дані щодо настання клінічної вагітності статистично не відрізнялися у розглянутих групах, що дозволяє стверджувати, що збалансований



Рисунк 2 – Бластоциста після розморожування *in vitro*: А – одразу після відтаювання; Б – через 2 години після відтаювання. Збільшення: x250.

1 і 2. Однак показник ЧФБ у контрольній групі значно вищий, як у порівнянні з даними, отриманими для пацієнтів з чоловічим фактором безпліддя ($df=1, \chi^2_{crit.} = 54,629, \chi^2_{fact.} = 56,132, p < 0,01$); так і порівнюючи з результатами у групі жінок з трубно-перитоніальним безпліддям ($df=1, \chi^2_{crit.} = 84,454, \chi^2_{fact.} = 86,355, p < 0,05$). Встановлено, що частка анеуплоїдних бластоцист значно вище у пацієнток Групи 2, порівнюючи з групою контролю та з результатами, отриманими для подружніх пар з чоловічим фактором безпліддя, що можна пояснити негативним впливом зростання віку жінки на частоту формування ембріонів з порушеннями каріотипу (**таблиця 2**). У даній роботі не виявлено впливу віку чоловіків та показників спермограми на виникнення анеуплоїдії у бластоцистах. У даному дослідженні не було встановлено впливу віку пацієнток на процес формування бластоцист, але літературні дані щодо цього суперечливі. Наприклад, V. S. Vanni із співавторами (2017) показали у своєму дослідженні, що зростання віку жінки негативно впливає на процес формування бластоцист [18]. З іншого боку у роботі Korkmaz С. із співавторами (2015) не було доведено, що вік жінки старше 35 років зменшує частоту формування бластоцист [19]. Отримані у даному дослідженні результати підтверджують наведені у літературі дані щодо впливу збільшення віку жінки на частоту виникнення анеуплоїдії в ембріонах на ранній стадії розвитку [20, 21].

Загалом було виконано 129 переносів заморожених ембріонів зі збалансованим каріотипом у рамках проведення кріопроколу. З них 82 переноса ембріонів зроблено для пацієнток Групи 1 та 47 переносів заморожених бластоцист – жінкам Групи 2. У кож-

каріотип ембріона є однією з найбільш важливих умов настання вагітності за різних факторів безпліддя у подружжі.

Висновки.

Доведено зв'язок між такими показниками чоловічої фертильності, як морфологія та рухливість сперматозоїдів, і частотою формування бластоцист високої морфологічної якості, отриманих у програмах ЕКЗ від пацієнтів з порушенням сперматогенезу. Показано, що зниження параметрів спермограми веде до зниження частоти запліднення зрілих ооцитів на стадії MII *in vitro*, навіть при використанні методики ІКСІ. Підтверджено, що збільшення віку жінок асоціюється з ростом частоти формування анеуплоїдних ембріонів при застосуванні методів ДРТ. Не було встановлено впливу віку жінок чи чоловіків на процес формування бластоцист у програмах ЕКЗ. Не виявлено впливу таких показників чоловічої репродуктивної функції, як рухливість, концентрація та морфологія сперматозоїдів, на загальну частоту формування бластоцист та частку анеуплоїдних бластоцист, отриманих *in vitro* від пацієнтів з порушеннями сперматогенезу. Продемонстровано, що збалансований каріотип ембріона є однією з найбільш важливих умов настання вагітності за різних факторів безпліддя у подружжі.

Перспективи подальших досліджень.

Наразі дані досліджень щодо впливу зниження параметрів репродуктивної функції у чоловіків на розвиток ембріонів та виникнення у них анеуплоїдії є неоднозначними. Перспективним є більш детальне дослідження показників еякуляту, окрім параме-

трів мікроскопічного аналізу, які потенційно можуть впливати на формування бластоцист, отриманих від пацієнтів з порушеннями сперматогенезу. Зокрема, є доцільним вивчення зв'язку таких характеристик, як частка сперматозоїдів з фрагментованою ДНК та рівень активних форм кисню в еякуляті, з особливостями раннього розвитку ембріонів. Жінкам старшої вікової групи перспективним може стати застосування допоміжної активації ооцитів, зокрема за допомогою кальцію іонофору, щоб знизити ризики змін каріотипу в ембріонах на ранній стадії розвитку. Отримання більшої кількості зрілих ооцитів у пацієнток старше

38 років дозволить збільшити вірогідність можливості вибору еуплоїдних бластоцист при проведенні програм ЕКЗ. Збільшення кількості ооцитів у жінок старшої вікової групи у перспективі можливо завдяки використанню клітинної терапії, наприклад, із застосуванням препаратів плаценти та кордової крові для зазначених пацієнток. Актуальною залишається розробка неінвазивних методів, що дадуть можливість обрати найкращий ембріон в результаті лікування непліддя з використанням ДРТ.

References / Література

1. Ombelet W. WHO fact sheet on infertility gives hope to millions of infertile couples worldwide. *Facts Views Vis Obgyn*. 2020;12(4):249-251.
2. Doroftei B, Ilie O, Anton N, Armeanu T, Ilea C. A Mini-Review Regarding the Clinical Outcomes of In Vitro Fertilization (IVF) Following Pre-Implantation Genetic Testing (PGT)-Next Generation Sequencing (NGS) Approach. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(8):1911. DOI: [10.3390/diagnostics12081911](https://doi.org/10.3390/diagnostics12081911).
3. Sills ES. Determining parental origin of embryo aneuploidy: analysis of genetic error observed in 305 embryos derived from anonymous donor oocyte IVF cycles. *Mol. Cytogenet.* 2014;7:68. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s13039-014-0068-5>.
4. Wong K, Mastenbroek S, Repping S. Cryopreservation of human embryos and its contribution to in vitro fertilization success rates. *Fertil Steril*. 2014;102(1):19-26. DOI: [10.1016/j.fertnstert.2014.05.027](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.05.027).
5. Niu X, Long J, Gong F, Wang W. Does ICSI for in vitro fertilization cause more aneuploid embryos? *Molecular Cytogenetics*. 2020;13:27. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13039-020-00497-z>.
6. Tiitinen A. Single embryo transfer: why and how to identify the embryo with the best developmental potential. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33:77-88. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.BEEM.2019.04.001>.
7. Gruhn JR, Zielinska AP, Shukla V. Chromosome errors in human eggs shape natural fertility over reproductive life span. *Science*. 2019;365:1466-1469. DOI: <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAV7321>.
8. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010. 287 p.
9. Gruber I, Klein M. Embryo culture media for human IVF: which possibilities exist? *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2011;12(2):110-117. DOI: [10.5152/jtgga.2011.25](https://doi.org/10.5152/jtgga.2011.25).
10. Gardner DK, Lane M, Stevens J. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril*. 2000;73:1155-1158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)00518-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)00518-5).
11. Viotti M. Preimplantation genetic testing for chromosomal abnormalities: aneuploidy, mosaicism, and structural rearrangements. *Genes (Basel)*. 2020;11(6):602. DOI: <https://doi.org/10.3390/GENES11060602>.
12. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo S. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reproductive BioMedicine Online*. 2005;11(3):300-308. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60837-1](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60837-1).
13. Cobo A, Kuwayama M. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril*. 2007;89(6):1657-64.
14. Serdarogullari M, Coban O, Boynukalin FK, Bilgin EM, Findikli N, Bahceci M. Successful application of a single warming protocol for embryos cryopreserved by either slow freezing or vitrification techniques. *Systems Biology in Reproductive Medicine*. 2019;65(1):12-19. DOI: <https://doi.org/10.1080/19396368.2018.1487477>.
15. Petrie A, Sabin C. *Medical Statistics at a Glance*. Winnipeg: Blackwell Science; 2000. 157 p.
16. Chapuis A, Gala A, Ferrières-Hoa A, Mullet T, Bringer-Deutsch S. Sperm quality and paternal age: effect on blastocyst formation and pregnancy rates. *Basic and clinical andrology*. 2017;27:2. DOI: [10.1186/s12610-016-0045-4](https://doi.org/10.1186/s12610-016-0045-4).
17. Polese R, Scarselli F, Dale B, Minasi M, Greco E. Can sperm quality influence embryo development and its ploidy? Analysis of 811 blastocysts obtained from different sperm sources. *Zygote*. 2022;30(5):648-655. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0967199422000119>.
18. Vanni VS, Somigliana E, Reschini M, Pagliardini L, Marotta E, Faulisi S. Top quality blastocyst formation rates in relation to progesterone levels on the day of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles. *PLoS ONE*. 2017;12(5):e0176482. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176482>.
19. Korkmaz C, Tekin YB, Sakinci M, Ercan CM. Effects of maternal ageing on ICSI outcomes and embryo development in relation to oocytes morphological characteristics of birefringent structures. *Zygote*. 2015;23(4):550-5. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0967199414000197>.
20. Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, Ubaldi N, Ubaldi FM, Rienzi L. Impact of maternal age on oocyte and embryo competence. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:327. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00327>.
21. Akhter N, Shahab M. Morphokinetic analysis of human embryo development and its relationship to the female age: a retrospective time-lapse imaging study. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2017;63(8):84-92. DOI: [10.14715/cmb/2017.63.8.18](https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.8.18).

КЛІНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ ЗАСТОСУВАННЯ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ПОДРУЖНИХ ПАР З РІЗНИМИ ФАКТОРАМИ БЕЗПЛІДДЯ ПРИ ПЕРЕНОСІ ЗАМОРОЖЕНИХ ЕМБРІОНІВ ЗІ ЗБАЛАНСОВАНИМ КАРІОТИПОМ

Феськов О. М., Жилкова Є. С., Сомова О. В., Феськова А. О., Конопля Л. А.

Резюме. Наразі залишається відкритим питання щодо впливу ооцита чи сперматозоїда на процес формування бластоцисти та виникнення анеуплоїдії в ембріонах на ранніх стадіях розвитку при проведенні запліднення *in vitro*. У даній роботі досліджено частоту формування бластоцист зі збалансованим каріотипом та настання клінічної вагітності при переносі заморожених ембріонів для подружніх пар з чоловічим та трубно-перитоніальними факторами безпліддя. Переверено вплив таких параметрів чоловічої фертильності, як концентрація, рухливість та морфологія сперматозоїдів в еякуляті, на процеси раннього ембріогенезу. Встановлено, що при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій частота запліднення ооцитів на стадії MII статистично значуще менша серед пацієнтів з чоловічим фактором безпліддя, у порівнянні з результативністю процедури ІКСІ для подружжя з нормальними показниками спермограми у чоловіків ($df=1$, $\chi^2_{\text{крит.}}=65,733$, $\chi^2_{\text{факт.}}=66,608$, $p<0,05$). Доведено зв'язок між морфологією та рухливістю сперматозоїдів в еякуляті і частотою формування бластоцист високої морфологічної якості, отриманих у програмах ЕКЗ від пацієнтів з порушенням сперматогенезу ($r=0,24$ і $r=0,21$, відповідно). Підтверджено, що збільшення віку жінок асоціюється з ростом

частоти формування анеуплоїдних ембріонів при застосуванні методів ДРТ ($p < 0.05$). Не було встановлено впливу віку жінок чи чоловіків на процес формування бластоцист у програмах ЕКЗ. Не виявлено впливу таких показників чоловічої репродуктивної функції, як рухливість, концентрація та морфологія сперматозоїдів, на загальну частоту формування бластоцист та частку анеуплоїдних бластоцист, отриманих *in vitro* від пацієнтів зі зниженою репродуктивною функцією. Продемонстровано, що збалансований каріотип ембріона є однією з найбільш важливих умов настання вагітності за різних факторів безпліддя у подружжі.

Ключові слова: безпліддя, передімплантаційне генетичне тестування на анеуплоїдії, екстракорпоральне запліднення, частота формування бластоцист.

CLINICAL OUTCOME ASSOCIATED WITH ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES IN COUPLES WITH VARIOUS FACTORS OF INFERTILITY AFTER TRANSFER OF FROZEN EMBRYOS WITH A BALANCED KARYOTYPE

Feskov O. M., Zhyolkova Ye. S., Somova O. V., Feskova A. O., Konoplia L. A.

Abstract. The question of the influence of oocyte or sperm on the process of blastocyst formation and the origin of embryonic aneuploidies at early stages of development after *in vitro* fertilization remains open. The rates of blastocyst formation with a balanced karyotype and the clinical pregnancy rates after the frozen embryo transfer for couples with male and tubal-peritoneal infertility factors were investigated in present study. The influence of such parameters of male fertility as the concentration, motility and morphology of sperm in the ejaculate on the processes of early embryogenesis was examined. It was found out that the frequency of fertilization of oocytes at the MII stage is statistically significantly lower among patients with male factor infertility, compared with the effectiveness of the ICSI procedure for couples with normal spermogram indices in men ($df=1$, $\chi^2_{crit.}=65.733$, $\chi^2_{fact.}=66.608$, $p < 0.05$). The relationship between the morphology and motility of spermatozoa in the ejaculate and the rates of formation of high morphological quality blastocysts produced in IVF programs from patients with spermatogenesis failures ($r=0.24$ and $r=0.21$, respectively) has been proven. It has been confirmed that increasing the women age is associated with an increase in the frequency of formation of aneuploid embryos when using ART methods ($p < 0.05$). The total blastocyst formation rates appeared to be unaffected by patients age in IVF cycles. The influence of such indices of male reproductive function as sperm motility, concentration and morphology on the total blastocyst formation rate and on aneuploid blastocysts formation rates was not found out. It has been demonstrated that a balanced embryo karyotype is one of the most important conditions for achievement of clinical pregnancy in couples with various factors of infertility.

Key words: infertility, preimplantation genetic testing for aneuploidy, *in vitro* fertilization, blastocyst formation rate

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Feskov O. M.: <https://orcid.org/0000-0003-3626-0229> ^{EF}

Zhyolkova Ye. S.: <https://orcid.org/0000-0002-5706-3577> ^{ABCD}

Somova O. V.: <https://orcid.org/0000-0002-2198-4825> ^B

Feskova A. O.: <https://orcid.org/0009-0005-6457-0787> ^B

Konoplia L. A.: <https://orcid.org/0000-0001-7071-2618> ^B

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Zhyolkova Yevgeniya Stanislavivna / Жилкова Євгенія Станіславівна

Centre of Human Reproduction "Clinic of Professor Feskov O." / Центр Репродукції Людини «Клініка професора Феськова О.М.»

Ukraine. 61098, Kharkiv, 15 Kholodnohirska str. / Адреса: Україна, 61098, м. Харків, вул. Холодногірська 15

Tel.: 0667651055 / Тел.: 0667651055

E-mail: zhilkova@feskov.ua

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статистичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 19.01.2025 / Стаття надійшла 19.01.2025 року

Accepted 30.04.2025 / Стаття прийнята до друку 30.04.2025 року