

ISSN 1727-4338

DOI 10.24061/1727-4338.XXI.2.80.2022

Клінічна та експериментальна ПАТОЛОГІЯ



Т.ХХІ, №2(80), 2022

РЕЗУЛЬТАТИ ЗАПЛІДНЕННЯ IN VITRO В ПАЦІЄНТОК ІЗ БЕЗПЛІДДЯМ ПРИ ВИКОРИСТАННІ МЕЛАТОНІНУ

В. О. Юзько^{1,2}, О. М. Юзько^{1,2}¹ КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя», м. Чернівці, Україна² Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Ключові слова:
безпліддя, допоміжні
репродуктивні
технології, мелатонін.

Клінічна та
експериментальна
патологія 2022. Т.21, №2
(80). С. 34-38.

DOI:10.24061/1727-4338.
XXI.2.80.2022.06

E-mail:
yuzkoviktoriiia@gmail.com

Мета роботи – оцінити результати запліднення in vitro в пацієнток із безпліддям при використанні мелатоніну.

Матеріал і методи. Дослідження 67 жінок із безпліддям проводили на базі КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя» (м. Чернівці). До групи А увійшли 29 пацієнток, які за два тижні до та під час контрольованої стимуляції яєчників (КСЯ) приймали впродовж одного місяця внутрішньо щоденно перед сном 1 таб. (3 мг) препарату «Віта-мелатонін» виробництва «Київський вітамінний завод», до групи Б – 38 пацієнток, які не приймали цей препарат. Серед пацієнток не було жінок, які працювали у нічну зміну. Для визначення рівня мелатоніну використовували імуноферментний аналізатор (ELISA) та набори реактивів фірми IBL (Німеччина). Рівні мелатоніну визначали в плазмі крові та фолікулярній рідині, отриманій під час пункції о 9:00 ранку.

Критерії включення пацієнтів у дослідження: вік 22-41 рік (середній вік – 31,4 року), відсутність спадкових хвороб та тяжких форм патозооспермії у партнера, контрольована стимуляція яєчників із використанням антагоністів гонадотропін-релізінг-гормона, робота з ооцитами на стадії М2.

У даному проспективному дослідженні оцінювали такі показники: частоту розвитку преембріонів до 4-8 клітинної стадії, компактизації та формування бластоцист у період з 2-го по 6-й день ембріонального розвитку.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено на персональному комп'ютері за допомогою ліцензійних програм «Microsoft Exelle» і «Statistica».

Результати. При пункції фолікулів в групі А нами отримано 451 яйцеклітину, а в групі Б – 616 яйцеклітин. При оцінці отриманих зрілих яйцеклітин слід відмітити, що достовірної різниці в їх кількості нами не виявлено: $83,4 \pm 6,94\%$ в групі А та $81,5 \pm 6,36\%$ в групі Б. Із зрілих яйцеклітин в процесі інкубації після запліднення розвинулося до бластоцист в групі А 185 клітин, а в групі Б – 237, що становило $49,2 \pm 9,54\%$ та $47,2 \pm 8,72\%$ відповідно. У процесі розвитку бластоцист нами оцінено їх за класами: клас I в групі А становив $48,6 \pm 9,36\%$, а в групі Б – $46,4 \pm 8,17\%$, відповідно, клас II – $36,8 \pm 8,94\%$ та $44,4 \pm 8,13\%$, клас III – $14,6 \pm 6,67\%$ та $9,3 \pm 4,78\%$. Хоча в групі А було більше зрілих яйцеклітин, бластоцист у цілому та бластоцист у класі I, а в класі II – бластоцист менше, однак достовірної різниці нами не виявлено.

Частота вагітності на всі трансфери у пацієнток групи А, жінки якої в програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) застосовували мелатонін, становила $56,8 \pm 8,25\%$, а в групі Б – $52,8 \pm 7,62\%$ ($p > 0,05$). Щодо настання вагітності в цілому, слід відмітити, що в групі А вона становила $86,2 \pm 6,41\%$, що статистично відрізнялося від показників групи Б, де частота була $76,3 \pm 6,95\%$ ($p < 0,001$).

Висновки. При застосуванні мелатоніну впродовж двох тижнів до очікуваної менструації та під час контрольованої стимуляції яєчників у пацієнток із безпліддям частота настання вагітності була достовірно вищою. Що стосується ембріологічних показників, слід відмітити, що в цілому в групі із застосуванням мелатоніну отримано більше зрілих яйцеклітин та більше бластоцист I класу, хоча достовірної різниці не було.

Key words:
infertility, assisted
reproductive technologies,
melatonin.

Clinical and experimental
pathology 2022. Vol.21,
№ 2 (80). P. 34-38.

RESULTS OF IN VITRO FERTILIZATION IN STERILITY PATIENTS USING MELATONIN**V. O. Yuzko^{1,2}, O. M. Yuzko^{1,2}**¹ Medical Center of Infertility Treatment, Chernivtsi, Ukraine² Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

The objective – to evaluate the results of in vitro fertilization in patients with infertility when using melatonin.

Material and methods. The study of 67 women with infertility was conducted on the basis of «Medical Center of Infertility Treatment» (Chernivtsi). Group A included 29 patients who took internally daily 1 tab. (3 mg) of the drug «Vita-melatonin» produced by Kyiv Vitamin Plant

for one month before sleep two weeks before and during the controlled ovarian stimulation (COS), group B included 38 patients who did not take this drug. There were no women among the patients who worked night shifts. ELISA kits by IBL company (Germany) were used to determine melatonin levels. Melatonin levels were determined in blood plasma and follicular fluid obtained during the puncture at 9:00 am.

The criteria for inclusion of patients in the study were as follows: age 22-41 years (mean age – 31.4 years), no hereditary disease or severe forms of pathozoospermia in partner, controlled ovarian stimulation (COS) using gonadotropin-releasing hormone antagonists, work with oocytes at M2 stage.

The following indicators were assessed in this prospective study: the incidence of preembryonic development to the 4-8th cell stage, compaction and formation of blastocysts in the period from the 2nd to the 6th day of embryonic development.

Statistical processing of the obtained results was performed on a personal computer using the licensed programs «Microsoft Exelle» and «Statistica».

Results. When puncturing follicles in group A, we obtained 451 oocytes during puncture, and in group B – 616. When evaluating the obtained mature oocytes, it should be noted that we did not observe a significant difference in their quantity: $83.4 \pm 6.94\%$ in group A. and $81.5 \pm 6.36\%$ in group B. From mature oocytes in the incubation process after fertilization in group A 185 cells developed into blastocysts, which made up to $49.2 \pm 9.54\%$, and in group B – 237, which amounted to $47.2 \pm 8.72\%$. In the process of blastocyst development we evaluated them by classes: class I in group A was $48.6 \pm 9.36\%$, and in group B – $46.4 \pm 8.17\%$, respectively, class II – $36.8 \pm 8.94\%$ and $44.4 \pm 8.13\%$, class III – $14.6 \pm 6.67\%$ and $9.3 \pm 4.78\%$. At first sight, it seems that in group A there were more mature oocytes, blastocysts in general and blastocysts in class I, in class II – less blastocysts. But, we emphasize, that a significant difference was not found. The incidence of pregnancy for all transfers in patients of group A, where women used melatonin in ART programs, was $56.8 \pm 8.25\%$, and in group B – $52.8 \pm 7.62\%$ ($p > 0.05$). Considering the onset of pregnancy in general, it should be noted that in group A it was $86.2 \pm 6.41\%$, which was statistically different from the indicators of group B, where the incidence was $76.3 \pm 6.95\%$ ($p < 0.001$).

Conclusions. The analysis of melatonin use in patients with infertility for two weeks before the expected menstruation and during controlled ovarian stimulation showed that the incidence of pregnancy was generally significantly higher. Considering the embryological parameters, it should be noted that in general in this group with melatonin use we received more mature oocytes and more blastocysts of class I, although there was no significant difference.

Вступ

Якість ооцитів відіграє ключову роль у визначенні результатів допоміжних репродуктивних технологій. Хоча багато авторів вивчали, як додаткова терапія може вплинути на цей важливий параметр для моделей *in vivo* та *in vitro*, дані ще недостатньо надійні, щоб надати переконливі висновки [1].

Основним завданням у культивуванні ембріонів людини *in vitro* є отримання максимальної кількості ембріонів, здатних до того, щоб настала вагітність, яка б завершилася народженням здорової дитини. Тому зусилля спеціалістів ембріологічних лабораторій спрямовані на пошук оптимальних умов культивування ембріонів, у тому числі – хімічного складу середовища, та усунення негативних чинників [2]. Вільнорадикальне окиснення є однією з причин, які призводять до порушень у розвитку ембріонів *in vitro* [2, 3, 4]. Описана захисна роль антиоксидантів у середовищах для розвитку ооцитів і культивування ембріонів [5].

Відомо, що мелатонін відіграє важливу роль у дозріванні фолікулів та процесі овуляції. Його концентрація у фолікулі перевищує концентрацію в крові. Фолікулабо накопичує мелатонін протиградієнту концентрації, або виробляє його самостійно [6].

Клінічна та експериментальна патологія. 2022. Т.21, № 2 (80)

Виявлено, що мелатонін, основний гормон шишкоподібної залози і регулятор добових ритмів, володіє потужною антиоксидантною активністю. Вияснено також, що він міститься в преовуляторній фолікулярній рідині людини в концентрації, що втричі перевищує таку ж у сироватці крові. Таким чином, мелатонін у фолікулярній рідині може відігравати фізіологічну роль у розвитку ооцитів, заплідненні та ранньому розвитку ембріонів [5].

Відомим є позитивний вплив мелатоніну на процес розвитку яйцеклітини та розвиток ембріонів *in vitro* у різних видів тварин. Однак концентрації мелатоніну в середовищах для розвитку яйцеклітини та культивування ембріонів істотно (у тисячі разів, від нмоль до мкмоль) відрізняються, вони також є різними в одних і тих же середовищах для ембріонів різних видів тварин [7, 8, 9].

Доказова база ефективності мелатоніну в терапії жіночого непліддя тільки формується. У 2014 році у British Medical Journal був опублікований протокол подвійного сліпого рандомізованого плацебо-контрольованого дослідження за участі 160 жінок з непліддям, які отримували від 4 до 16 мг мелатоніну на день. Дослідники оцінювали вірогідність настання вагітності, якість та кількість ооцитів, рівень

мелатоніну в крові, а також активність оксидативного стресу. Загальна частота настання вагітності в трьох групах склала 28,1 % ($p=0,0387$, різниця достовірна порівняно з контрольною групою) [6].

У попередніх наших дослідженнях [10] встановлено, що рівень мелатоніну в крові жінок-донорів ооцитів (перша група) становив $130,85 \pm 16,91$ пг/мл. Цей показник у крові жінок, які застосовували препарат мелатоніну до та під час стимуляції овуляції (друга група), був вірогідно вищим порівняно з показником в крові жінок, які не приймали цей препарат (третья група), (відповідно, $143,06 \pm 14,87$ пг/мл і $123,40 \pm 12,65$ пг/мл, $p < 0,05$), а в фолікулярній рідині спостерігали зворотну залежність: рівень мелатоніну у жінок першої групи становив $97,15 \pm 8,69$ пг/мл, другої – $39,46 \pm 4,52$ пг/мл, що вірогідно менше ($p < 0,05$), третьої – $62,34 \pm 3,94$ пг/мл, що майже вдвічі більше ($p < 0,05$) порівняно з жінками, які приймали мелатонін, але менше ($p < 0,05$) щодо першої групи пацієнток.

Мета дослідження

Оцінити результати запліднення *in vitro* в пацієнток із безпліддям при використанні мелатоніну.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження 67 жінок проводили на базі КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя» (м. Чернівці). До групи А увійшли 29 пацієнток із безпліддям, які за два тижні до та під час контрольованої стимуляції яєчників приймали впродовж одного місяця внутрішньо щоденно перед сном 1 таблетку (3 мг) препарату «Віта-мелатонін» виробництва «Київський вітамінний завод», до групи Б – 38 пацієнток із безпліддям, які не приймали цей препарат [11]. Серед пацієнток не було жінок, які працювали у нічну зміну. Для визначення рівня мелатоніну використовували імуноферментний аналізатор (ELISA) та набори реактивів фірми IBL (Німеччина). Рівні мелатоніну визначали в плазмі крові та фолікулярній рідині, яку отримували під час пункції о 9:00 ранку.

Критерії включення пацієнтів у дослідження такі: вік 22-41 рік (середній вік – 31,4 року), відсутність спадкових хвороб та тяжких форм патозооспермії у партнера, контрольована стимуляція яєчників (КСЯ) з використанням антагоністів гонадотропін-релізинг-гормона, робота з ооцитами на стадії М2.

У нашому проспективному дослідженні оцінювали такі показники: частоту розвитку преємбріонів до 4-8 клітинної стадії, компактизації та формування бластоцист у період з 2-го по 6-й день ембріонального розвитку.

Овуляцію ініціювали введенням хоріонічного гонадотропіну в дозі 10000 МО за 34-36 год до пункції фолікулів. Пункцію фолікулів виконували під внутрішньовенним наркозом. Ооцити, оточені шаром клітин кумулюса, отримували в результаті трансвагінальної пункції фолікулів під контролем ультразвукового дослідження через 34-36 годин після введення овуляторної дози тригера овуляції.

Рухливі сперматозоїди відбирали шляхом обробки в 2-ступінчастому градієнті щільності в середовищі Sil-

Selectpous («Ferti Pro», Бельгія), після чого для відбору сперматозоїдів використовували метод «swim up».

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

Культивування ембріонів здійснювали в CO₂-інкубаторі при температурі 37,0 С у зволоженій атмосфері з 5,8 % CO₂. Ембріони-сисби культивували в середовищі Global («LifeGlobal Group», Бельгія). Ембріони культивували індивідуально у мікрокраплях під шаром мінеральної олії. На 3-тю добу після запліднення проводили заміну середовища на аналогічне свіже.

Зиготи та ембріони індивідуально оцінювали під мікроскопом через 18, 45, 72 та 96 год після запліднення для оцінки їх розвитку та якості. На 5-6-ту доби розвитку проводили оцінку якості бластоцист, що сформувалися, за D. Gardner [12].

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

Розморожування кріоконсервованих ембріонів проводили безпосередньо в день перенесення ембріона (ПЕ). Клінічну вагітність визначали при ультразвуковому дослідженні на 5-му тижні після ПЕ за наявності плідного яйця в порожнині матки, куприком'яного розміру плода 2-4 мм та реєстрації серцебиття.

Дослідження виконували з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участі людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 pp.), ICH GCP (1996 p.), Директиви СЕС № 609 (від 24.11.1986 p.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 p. та № 944 від 14.12.2009 p.; відповідно до діючого в Україні законодавства. Усі пацієнтки підписували інформовану згоду на участь у цьому дослідженні, та були вжиті всі заходи щодо забезпечення їхньої анонімності.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено на персональному комп'ютері за допомогою ліцензійних програм «Microsoft Exelle» і «Statistica». Результати досліджень представлені як $M \pm m$, для оцінки достовірності використано t-критерій Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Під час дослідження у 67 пацієнток із безпліддям проводили цикли КСЯ з наступною пункцією фолікулів. До групи А увійшло 29 пацієнток, які приймали мелатонін до пункції впродовж місяця, а 38 (група Б) – не приймали. Всього в групі А ми

Клінічна та експериментальна патологія. 2022. Т.21, № 2 (80)

отримали 451 яйцеклітину під час пункції, а в групі Б – 616 яйцеклітин (табл. 1).

Щодо зрілих яйцеклітин, слід відзначити, що достовірної різниці ми не отримали: $83,4 \pm 6,94\%$ в групі А та $81,5 \pm 6,36\%$ в групі Б ($p > 0,05$). Зі зрілих яйцеклітин у процесі інкубації після запліднення розвинулося до бластоцист в групі А 185 клітин, а в групі Б – 237, що становило $49,2 \pm 9,54\%$ та $47,2 \pm 8,72\%$ відповідно, тобто, вірогідної різниці між групами за цим показником не виявлено ($p > 0,05$). У процесі розвитку бластоцист ми оцінили їх по класах: клас I в групі А становив $48,6 \pm 9,36\%$, а в групі Б – $46,4 \pm 8,17\%$ ($p > 0,05$), відповідно, клас II – $36,8 \pm 8,94\%$ та $44,4 \pm 8,13\%$ ($p > 0,05$), клас III – $14,6 \pm 6,67\%$ та $9,3 \pm 4,78\%$ ($p > 0,05$). І хоч в групі А було більше зрілих яйцеклітин, бластоцист в цілому та бластоцист у класі I, а в класі II – бластоцист менше, однак достовірної різниці ми не виявили.

Ми проаналізували ефективність допоміжних репродуктивних технологій у пацієток обстежених груп. Дані табл. 2 свідчать, що частота вагітності на перший трансфер у пацієток групи А, жінки якої в програмах ДРТ застосовували мелатонін, становила $58,1 \pm 8,85\%$, що не відрізнялось ($p > 0,05$) від цього показника у жінок групи Б, частота настання вагітності в яких на перший трансфер була $55,30 \pm 8,15\%$; на другий трансфер частота становила $45,5 \pm 16,53\%$

та $33,3 \pm 21,14\%$, на третій – $100 \pm 7,00\%$ та $80,0 \pm 17,95\%$ відповідно. Щодо настання вагітності слід відмітити, що в цілому у групі А вона становила $86,2 \pm 6,41\%$, що статистично відрізнялося від показників групи Б, де частота становила $76,3 \pm 6,95\%$ ($p < 0,001$).

В обговоренні отриманих нами результатів слід вказати:

1) при дослідженні рівня мелатоніну в фолікулярній рідині дані літератури вказують, що його концентрація більша порівняно з сироваткою крові [6];

2) дослідження концентрацій мелатоніну в фолікулярній рідині, яка отримана з фолікулів після контрольованої стимуляції яєчників практично не проводилася [5, 7, 8, 9];

3) застосована нами схема підготовки до пункції фолікулів із застосуванням мелатоніну в літературі не описана;

4) відповідно, не аналізувались ембріологічні показники та ефективність запліднення *in vitro* у пацієток із безпліддям при використанні мелатоніну.

Все наведене вище спонукало нас до проведення даного дослідження. Отримані нами результати дослідження є обнадійливими та свідчать про можливість застосування мелатоніну для підготовки пацієнтів до програм запліднення *in vitro* з метою підвищення частоти настання вагітності.

Таблиця 1

Ембріологічні показники в обстежених пацієток, (M ± m)

Групи обстежених пацієток	Отримані яйцеклітини		Отримані бластоцисти від зрілих яйцеклітин			
	Загальна кількість, n	Зрілі яйцеклітини, n / %	Усього, n / %	Клас I, n / %	Клас II, n / %	Клас III, n / %
Група А, n = 29	451	376 / 83,4 ± 6,9 %	185 / 49,2 ± 9,54 %	90 / 48,6 ± 9,36 %	68 / 36,8 ± 8,94 %	27 / 14,6 ± 6,67 %
Група Б, n = 38	616	502 / 81,5 ± 6,3 %	237 / 47,2 ± 8,78 %	110 / 46,4 ± 8,17 %	105 / 44,4 ± 8,13 %	22 / 9,3 ± 4,78 %

Таблиця 2

Ефективність застосування мелатоніну в програмах допоміжних репродуктивних технологій у обстежених пацієток, (M ± m)

Показник	Група А, n=29	Група Б, n=38
Вагітність на трансфер у цілому, %	56,8 ± 8,24	52,8 ± 7,62
Вагітність в загальному, %	86,2 ± 6,41	76,3 ± 6,95*
Вагітність перший трансфер, %	58,13 ± 8,85	55,3 ± 8,15
Вагітність другий трансфер, %	45,5 ± 16,53	33,3 ± 21,14
Вагітність третій трансфер, %	100 ± 7,00	80,0 ± 17,95

Примітка: * – $p < 0,001$ достовірність відмінностей щодо даних групи А.

Висновки

1. При застосуванні мелатоніну впродовж двох тижнів до очікуваної менструації та під час контрольованої стимуляції яєчників у пацієток із безпліддям частота настання вагітності була достовірно вищою.

2. Що стосується ембріологічних показників, слід відмітити, що в цілому в групі із застосуванням мелатоніну отримано більше зрілих яйцеклітин та більше бластоцист I класу, хоча достовірної різниці не було.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується продовжити з'ясування ролі мелатоніну в сучасній репродукції людини.

Клінічна та експериментальна патологія. 2022. Т.21, № 2 (80)

Список літератури

- Wei D, Zhang C, Xie J, Song X, Yin B, Liu Q, et al. Supplementation with low concentrations of melatonin improves nuclear maturation of human oocytes *in vitro*. J Assist Reprod Genet. 2013;30(7):933-8. doi: 10.1007/s10815-013-0021-2
- Tsantarioutou MP, Altanasio L, De Rosa A, Boccia L, Pellerano G, Gasparini B. The effect of melatonin on bovine *in vitro* embryo development. Ital J Anim Sci. 2007;6(Suppl 1):488-9. doi: 10.4081/ijas.2007.ls.488
- Tamura H, Takasaki A, Miwa I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, et al. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilisation rate. J Pineal Res. 2008;44(3):280-7. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00524.x

4. Manjunatha BM, Devaraj M, Gupta PSP, Ravindra JP, Nandi S. Effect of taurine and melatonin in the culture medium on buffalo in vitro embryo development. *Reprod Domest Anim.* 2009;44(1):12-16. doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00982.x
5. Kang JT, Koo OJ, Kwon HJ, Park HJ, Jang G, Kang SK, et al. Effects of melatonin on in vitro maturation of porcine oocyte and expression of melatonin receptor RNA in cumulus and granulosa cells. *J Pineal Res.* 2009;46(1):22-28. doi: 10.1111/j.1600-079x.2008.00602.x
6. Малачинська МЙ, Вереснюк НС. Вплив мелатоніну на овуляцію та якість ооцитів на етапі планування вагітності. *Ліки України.* 2019;7:69-71. doi: 10.37987/1997-9894.2019.7(233).187012
7. Ishizuka B, Kuribayashi Y, Murai K, Amemiya A, Itoh M. The effect of melatonin on in vitro fertilisation and embryo development in mice. *J Pineal Res.* 2000;28(1):48-51. doi: 10.1034/j.1600-079x.2000.280107.x
8. Papis K, Poleszczuk O, Wenta-Muchalska E, Modlinski J. Melatonin effect on bovine embryo development in vitro in relation to oxygen concentration. *J Pineal Res.* 2007;43(4):321-6. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00479.x
9. Rodriguez-Osorio N, Kim IJ, Wang H, Kaya A, Memili E. Melatonin increases cleavage rate of porcine preimplantation embryos in vitro. *J Pineal Res.* 2007;43(3):283-8. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00475.x
10. Юзько ВО. Рівень мелатоніну в крові та фолікулярній рідині в жінок із безпліддям у програмах допоміжних репродуктивних технологій та ефективність його застосування. *Буковинський медичний вісник.* 2021;25(2):119-24. doi: 10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19
11. Міністерство охорони здоров'я України. ВІТА-МЕЛАТОНІН®. Інструкція для медичного застосування ВІТА-МЕЛАТОНІН® [Інтернет]. Київ; 2012[цитовано 2022 Тра 30]. Доступно: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=22141>
12. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertility and Sterility.* 2000;73(6):1155-8. doi: 10.1016/S0015-0282(00)00518-5
3. Tamura H, Takasaki A, Miwa I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, et al. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilisation rate. *J Pineal Res.* 2008;44(3):280-7. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00524.x
4. Manjunatha BM, Devaraj M, Gupta PSP, Ravindra JP, Nandi S. Effect of taurine and melatonin in the culture medium on buffalo in vitro embryo development. *Reprod Domest Anim.* 2009;44(1):12-16. doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00982.x
5. Kang JT, Koo OJ, Kwon HJ, Park HJ, Jang G, Kang SK, et al. Effects of melatonin on in vitro maturation of porcine oocyte and expression of melatonin receptor RNA in cumulus and granulosa cells. *J Pineal Res.* 2009;46(1):22-28. doi: 10.1111/j.1600-079x.2008.00602.x
6. Malachynska MY, Veresnyuk NS. Vplyv melatoninu na ovulatsiiu ta yakist' ootsytiv na etapi planuvannia vahitnosti [The influence of melatonin on ovulation and the quality of oocytes at the stage of pregnancy planning]. *Liky Ukrainy.* 2019;7:69-71. doi: 10.37987/1997-9894.2019.7(233).187012 (in Ukrainian)
7. Ishizuka B, Kuribayashi Y, Murai K, Amemiya A, Itoh M. The effect of melatonin on in vitro fertilisation and embryo development in mice. *J Pineal Res.* 2000;28(1):48-51. doi: 10.1034/j.1600-079x.2000.280107.x
8. Papis K, Poleszczuk O, Wenta-Muchalska E, Modlinski J. Melatonin effect on bovine embryo development in vitro in relation to oxygen concentration. *J Pineal Res.* 2007;43(4):321-6. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00479.x
9. Rodriguez-Osorio N, Kim IJ, Wang H, Kaya A, Memili E. Melatonin increases cleavage rate of porcine preimplantation embryos in vitro. *J Pineal Res.* 2007;43(3):283-8. doi: 10.1111/j.1600-079x.2007.00475.x
10. Yuzko VO. Riven' melatoninu v krvi ta folikuliarnii ridyni v zhinok iz bezpliddiam u prohramakh dopomizhnykh reproduktyvnykh tekhnolohii ta efektyvnist' yoho zastosuvannia [The level of melatonin in the blood and follicular fluid in women with infertility in the program of assisted reproductive technologies and the effectiveness of its application]. *Bukovinian Medical Herald.* 2021;25(2):119-24. doi: 10.24061/2413-0737.XXV.2.98.2021.19 (in Ukrainian)
11. Ministerstvo okhorony zdorov'ia Ukrainy. VITA-MELATONIN®. Instruksiiia dlia medychnoho zastosuvannia VITA- MELATONIN® [VITA-MELATONIN®. Instructions for medical use VITA-MELATONIN®][Internet]. Kyiv; 2012[tsytovano 2022 Tra 30]. Dostupno: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=22141> (in Ukrainian)
12. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertility and Sterility.* 2000;73(6):1155-8. doi: 10.1016/S0015-0282(00)00518-5

References

1. Wei D, Zhang C, Xie J, Song X, Yin B, Liu Q, et al. Supplementation with low concentrations of melatonin improves nuclear maturation of human oocytes in vitro. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30(7):933-8. doi: 10.1007/s10815-013-0021-2
2. Tsantarioutou MP, Altanasio L, De Rosa A, Boccia L, Pellerano G, Gasparrini B. The effect of melatonin on bovine in vitro embryo development. *Ital J Anim Sci.* 2007;6(Suppl 1):488-9. doi: 10.4081/ijas.2007.ls.488

Відомості про авторів:

Юзько В.О. – аспірант Буковинського державного медичного університету, лікар акушер-гінеколог КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя», м. Чернівці, Україна.

E-mail: yuzkoviktoria@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2793-8851>

Юзько О.М. – д. мед. н., професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету, медичний директор КЗОЗ «Медичний центр лікування безпліддя», м. Чернівці, Україна.

E-mail: Yuzko.Oleksandr@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/000-0003-1270-9095>

Information about authors:

Yuzko V. O. – postgraduate student of Bukovinian State Medical University, obstetrician-gynecologist of the Medical Center of Infertility Treatment, Chernivtsi, Ukraine.

E-mail: yuzkoviktoria@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2793-8851>

Yuzko O. M. – Doctor of medical sciences, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Bukovinian State Medical University, Medical Director of the Medical Center of Infertility Treatment, Chernivtsi, Ukraine.

E-mail: Yuzko.Oleksandr@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/000-0003-1270-9095>

Стаття надійшла до редакції 05.04.2022

© В. О. Юзько, О. М. Юзько, 2022

