

Сучасні аспекти ранньої діагностики порушень у системі мати–плацента–плід

О. М. Сусідко, О. А. Ковалишин

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: розроблення сучасної методики ранньої діагностики важких форм плацентарної дисфункції.

Матеріали та методи. Для реалізації поставленої мети з урахуванням розробленої прогностичної шкали тяжких форм плацентарної дисфункції була сформована група спостереження – 100 вагітних, яким у терміни 18–24 тиж і 28–38 тиж гестації проведене визначення в крові вмісту маркерів ендотеліальної дисфункції. З врахуванням клінічного перебігу вагітності із 100 жінок були сформовані дві групи порівняння: I група – 50 жінок з плацентарною дисфункцією; II група – 50 жінок з плацентарною дисфункцією у поєднанні з прееклампсією та екстрагенітальною патологією. До контрольної групи (III група) включено 30 здорових вагітних. У II групі порівняння прееклампсія діагностована у 100% спостережень (легкого ступеня – у 88,0% вагітних, середнього ступеня – у 12,0%).

Результати. Отримані результати дозволили патогенетично обґрунтувати включення розроблених критеріїв плацентарної дисфункції і ступеня її тяжкості, разом з ультразвуковою складовою, в програму діагностики цього ускладнення вагітності з метою підвищення її точності. Результати ранньої діагностики плацентарної дисфункції і оцінювання ступеня її тяжкості під час вагітності, засновані на лабораторному та ультразвуковому тестуванні (модифікована шкала), у зіставленні з гістологічно верифікованим діагнозом продемонстрували, що діагноз плацентарної дисфункції правильно встановлений в 91% спостережень. Аналіз збігу клінічних і гістологічних діагнозів при тяжких формах плацентарної дисфункції засвідчив підвищення точності діагностики при використанні модифікованої шкали на 39,5% порівняно з живанням шкали, заснованої лише на ехографічних критеріях.

Заключення. Результати проведених досліджень свідчать, що розроблений на основі діагностичної шкали (ультразвукове і лабораторне тестування) клінічний алгоритм ведення вагітних групи ризику підвищує точність діагностики плацентарної дисфункції на 26,1%, її тяжких форм на 39,5%, сприяє вибору адекватної акушерської тактики, поліпшенню перинатальних результатів при тяжких формах плацентарної дисфункції на 60%.

Отримані результати дозволяють рекомендувати методику ранньої діагностики тяжких форм плацентарної дисфункції у практичну охорону здоров'я.

Ключові слова: система мати–плацента–плід, діагностика, порушення.

Дані сучасної наукової літератури свідчать, що встановлення причини і провідних патогенетичних ланок плацентарної дисфункції (ПД) з урахуванням концепції про роль адаптивних і компенсаторно-захисних механізмів формування реактивності жіночого організму, готовності його до виконання репродуктивної функції і здібності до адекватної функціонально-структурної перебудови у процесі вагітності є ключовим методологічним підходом в розробленні науково-обґрунтованої системи прогнозування, діагностики і профілактики важких форм ПД [1–6].

На сьогодні встановлено, що кількісна об'єктивізація реалізації патогенетичних механізмів ПД дозволить скоротити розрив між теоретичними знаннями про ПД і практичні можливості за рахунок підвищення точності прогнозування і своєчасної діагностики цього ускладнення вагітності, особливо його тяжких форм, можливості об'єктивної оцінки результативності превентивного лікування, стандартизації діагностичного пошуку і розробки сучасної методики ранньої діагностики важких форм ПД, що дозволить оптимізувати акушерську тактику і значно поліпшити перинатальні результати [7–12].

Мета дослідження: розроблення сучасної методики ранньої діагностики важких форм ПД.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для реалізації поставленого завдання, з врахуванням розробленої на першому етапі дослідження прогностичної шкали важких форм ПД, була сформована група спостереження, куди включено 100 вагітних, яким в терміни 18–24 тиж і 28–38 тиж гестації проведене визначення в крові вмісту маркерів ендотеліальної дисфункції (МЕД) – індексу цитотоксичності антиендотеліальних антитіл (ІЦ АЕАТ), загального ІgЕ, кількості адгезивних і агрегаційних властивостей тромбоцитів;

- маркерів апоптозу (МА) – лімфоцитів з фенотипом CD95+ (FASR (CD95) – мембранний рецептор ініціації апоптозу системи FasR-FasL) і фактора некрозу пухлини альфа (ФНПа – «ліганд смерті» і прозапальний цитокін сімейства фактора некрозу пухлин);
- маркера децидуалізації стромальних клітин (МД) – плацентарного альфа-1 мікроглобуліну (ПАМГ – плацентарний білок, що характеризує стан материнської частини плаценти, регулювальника біоактивності інсуліноподібних факторів зростання);
- маркерів клітинної проліферації і енергозабезпечення клітини – фактора зростання плаценти (ФЗП – різновид судинно-ендотеліального фактора зростання) і плацентарної лужної фосфатази (ПЛФ – фермент регуляції енергетичного обміну за принципом «фосфорилювання – дефосфорилювання»).

Дослідження ПЛФ проводили в період 28–38 тиж для оцінювання ступеня тяжкості ПД.

Ретроспективно, з урахуванням клінічного перебігу вагітності, із 100 жінок були сформовані дві групи порівняння:

- I група – 50 жінок з ПД;
- II група – 50 жінок з ПД у поєднанні з прееклампсією та екстрагенітальною патологією (ЕГП).
- III група (контрольна група) – 30 здорових вагітних.

У II групі порівняння прееклампсія діагностована в 100% спостережень (легкого ступеня – у 88,0% вагітних і середнього ступеня – у 12,0%). ЕГП була представлена хронічним пієлонефритом (14,0%), нейроциркуляторною (НЦД) дистонією

за гіпертонічному і змішаному типах (30,0%), гіпертонічною хворобою (6,0%), цукровим діабетом (4,0%), хронічним бронхітом (14,0%), залізодефіцитною анемією (68,0%).

У дослідження включали вагітних з негативними результатами клінічного і лабораторного (бактеріоскопія, бактеріологічне, ІФА, ПЦР) обстеження на урогенітальну інфекцію.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених попередніх досліджень продемонстрували, що діагноз ПД і ступінь її тяжкості повинен ґрунтуватися на комплексному оцінюванні (стан плода і новонародженого, морфологічне дослідження плаценти, дані лабораторно-інструментального обстеження ФПК), а не на результатах одного методу обстеження.

Результати лабораторного тестування показали, що в середині II триместра гестації параметри ІЦ АЕАТ і загального ІgЕ у вагітних I групи достовірно відрізняються від контролю ($p < 0,05$) лише при СПД і ДПД. Збільшення в порівнянні з контролем ІЦ АЕАТ становить у 2 рази для СПД і в 4 рази для ДПД, загального ІgЕ в 1,2 разу для СПД і в 1,4 разу для ДПД. У II клінічній групі в терміні 18–24 тиж. МЕД достовірно ($p < 0,05$) відрізняються від даних контрольної групи незалежно від ступеня тяжкості ПД. При цьому, вищі показники, що достовірно відрізняються від КПЖ ($p < 0,05$), відзначені при ДПД: ІЦ АЕАТ вище в 4 і 1,6 разу, рівень ІgЕ – в 1,4 і 1,2 разу відповідно даним контролю і по КПД.

Отримані дані щодо МЕД у II триместрі вагітності в порівнюваних групах можна інтерпретувати таким чином. Ендотеліальна дисфункція з ранніх етапів вагітності характерна для багатьох ускладнень гестації, що пояснює достовірну відмінність МЕД в обох групах від референсних значень. У дану закономірність не укладається підгрупа I групи з КПД, що можна пояснити мінімальними судинними змінами в даному терміні вагітності. У зв'язку з відсутністю строгої специфічності відносно вивчених ускладнень вагітності (ПД, преєклампсія) МЕД цілеспрямовано для прогнозування ПД можна використовувати лише в комбінації з іншими показниками.

Аналіз рівнів ІЦ АЕАТ і загального ІgЕ у вагітних з ПД у III триместрі гестації продемонстрував достовірні їх відмінності ($p < 0,05$), незалежно від ступеня тяжкості ПД, від даних контрольної групи: при компенсованій ПД (КПД), субкомпенсованій ПД (СПД), декомпенсованій ПД (ДПД) ІЦ АЕАТ перевищує контрольні значення відповідно в 1,6 разу, 2,4 разу, 3,6 разу; рівень загального ІgЕ – в 1,2 разу, 1,3 разу, 1,6 разу.

При цьому, не дивлячись на деяку різницю ($p > 0,05$) між показниками I і II клінічних груп (ПД без преєклампсії і у поєднанні з преєклампсією), просліджується чітка залежність вивчених показників від ступеня тяжкості ПД. Ця закономірність з урахуванням міри ендотеліальної дисфункції дозволяє виділяти вагітних з важкою формою ПД серед загальної кількості жінок з ПД (для СПД середні рівні ІЦ АЕАТ і загального ІgЕ становить – $39,3 \pm 4,0\%$ і 414 ± 11 нг/мл; для ДПД – $62,5 \pm 6,4\%$ і 509 ± 31 нг/мл відповідно). Крім того, вивчені МЕД можуть бути використані для оцінки ефективності профілактичних і лікувальних заходів.

У 18–24 тиж гестації вміст в периферичній крові Л Сd95+, ПАМГ, ФНПа і ФЗП у вагітних достовірно не відрізняються ($p > 0,05$) між собою в порівнюваних клінічних групах, але є достовірні ($p < 0,05$) відмінності з групою контролю. Враховуючи дану обставину, вживання вивчених тестів може дозволити проводити ранню діа-

гностику важких форми ПД, що важливе при складанні індивідуальної програми превентивних заходів і контролю їх ефективності. Комплексне тестування на виділення групи високого ризику по важких формах ПД обгрунтоване тим, що в ранні терміни може переважати те або інша патогенетична ланка розвитку цього ускладнення вагітності (порушення ангиогенезу, децидуалізації і регулюючої дії ростових факторів, ендотеліальна дисфункція, порушення процесів апоптозу, клітинної проліферації тощо).

У III триместрі фізіологічної і ускладненої вагітності ПД виявлені достовірні відмінності у вмісті Л CD95+. Відсутність достовірних відмінностей ($p > 0,05$) між вагітними з ПД без прееклампсії і вагітними, в яких ПД розвинулася на тлі прееклампсії, вказує на зв'язок даного показника з ПД, а не з іншою патологією.

Виявлення Fas антигена на мембрані імункомпетентних клітин, індукованого цито- і синцитіотрофобластом, свідчить про готовність клітин до апоптозу, їх елімінації з організму в разі вступу до процесу запрограмованої клітинної загибелі, що знижує імунопатологічні реакції імунітетів на ФПК. Якщо рівень лімфоцитів, що експресують Fas/APO-1/CD95-рецептор, залежить від стану цито- і синцитіотрофобласта (плодової частини плаценти), що індукують апоптоз лімфоцитів, то характер змін в децидуальній оболонці (материнської частини плаценти) можна оцінити за вмістом ПАМГ у сироватці крові вагітних. Концентрація ПАМГ у III триместрі ускладненої вагітності ПД свідчить про достовірні відмінності показника при ПД, особливо при її важких формах, від даних по фізіологічній гестації: при КПД рівень МД перевищує контрольні значення у 2,9 разу, при СПД – у 5,3 разу, при ДПД – у 6,5 разу. При цьому відсутність достовірних відмінностей між I і II групами порівняння ($p < 0,05$) свідчить про специфічність даного маркера щодо ПД.

Кореляційний аналіз між ПАМГ і рівнем Л CD95+ показав наявність сильного і середнього позитивного зв'язку (до від 0,51 до 0,8), при цьому чим більше ступінь тяжкості ПД, тим сильніше кореляційний зв'язок між показниками, що характеризують міру вираженості порушень у материнській і плодовій частинах плаценти.

Виявлений сильний позитивний кореляційний зв'язок між ПАМГ і ІЦ АЕАТ (до від 0,71 до 0,85) можна пояснити тим, що порушення при ПД формування гемохоріального типу плацентації, що супроводжується «фізіологічним пошкодженням» ендотеліальної оболонки спіральних артерій і в разі ускладненого перебігу гестації, – аутоімунним пошкодженням ендотеліоцитів АЕАТ, веде до порушення децидуалізації материнської частини плаценти і змінам матково-плацентарної гемокрукації.

Рівень ФНП α , незважаючи на десятиразове збільшення в сироватці крові у жінок з ПД, достовірно не розрізняється у вагітних I і II груп порівняння ($p > 0,05$), що вказує на зв'язок даного показника з ПД, а не з прееклампсією. Кореляційний аналіз між вмістом ФНП α і рівнем Л CD95+ при ПД показав наявність середнього позитивного зв'язку між вказаними показниками (до від 0,41 до 0,65). Сильна і середньої сили позитивна кореляція виявлена між концентрацією ФНП α і ступенем тяжкості ПД (до від 0,54 до 0,88). Однонаправленість змін вмісту МА (Л CD95+, ФНП α) у крові вагітних з різним ступенем тяжкості ПД і наявність позитивного кореляційного зв'язку між ними підтверджує висновок про те, що цитокін сімейства фактора некрозу пухлини (ФНП α) робить регулюючий (що індукує) вплив на експресію Fas-антигена (CD95) і, можливо, може брати участь в запуску запрограмованої клітинної загибелі не лише системою ФНП γ 1-ФНП α , а й побічно (через непрямі шляхи активації) системою FasR-FasL. Крім того, достовірна різниця

сироваткової концентрації ФНП α у вагітних з різним ступенем тяжкості ПД дає можливість включення даного показника в комплексну діагностику ПД і ступеня її тяжкості.

Апоптоз і клітинна проліферація є різноспрямованими процесами, що визначають стан конкретної клітини у клітинній популяції. У зв'язку з цим було проаналізовано вміст у сироватці крові вагітних ФЗП, що впливає на проліферацію й ангиогенез в плаценті. Достовірної різниці ($p > 0,05$) між вагітними з ПД без прееклампсії і вагітними, в яких ПД розвивалася на тлі даного ускладнення, по концентрації ФЗП виявлено не було. Відсутність впливу прееклампсії на рівень ФЗП у крові вагітних пояснюється специфічністю даного ростового фактора відносно ПД. Кореляційний аналіз між вмістом ФЗП і LScd95+, ФНП α , ПАМГ показав наявність негативного зв'язку слабкої і середньої сили між зазначеними показниками (до від -0,29 до -0,69), що свідчить про патогенетичний зв'язок плацентарного ростового фактора з індукованим трофобластом апоптозом імунокомпетентних клітин, прозапальними цитокінами сімейства ФНП і децидуальним регулювальником біоактивності інсуліноподібних факторів зростання.

Вивчені загальнобіологічні процеси (апоптоз, клітинна проліферація) є енергозалежними, що пояснює адаптаційну гіперферментемію ПЛФ при КПД і подальше зниження показника при наростанні тяжкості патологічного процесу. Середній вміст ПЛФ у сироватці крові при ПД у III триместрі становив 132 ± 18 ОД/л (при КПД – 209 ± 16 ОД/л; при СПД – 92 ± 11 ОД/л; при ДПД – 70 ± 8 ОД/л). Виявлена при СПД і ДПД зв'язок середньої сили між ПЛФ і МА (до = -0,49 і -0,51) і ПЛФ і ФЗП ($k = 0,3$ і 0,54) підтверджує патогенетичний зв'язок між енергозабезпеченням, апоптозом і клітинною проліферацією при ПД.

У проведеному дослідженні для комплексної діагностики ПД апробовані імунобіохімічні методи, що довели високу діагностичну результативність. Так, чутливість оцінних параметрів – рівень Л CD95+, ФНП α , ПАМГ і ФЗП – становила 83,9%, 85,3%, 84,6% і 83,0% відповідно з діагностичною точністю тестів у середньому 81%, з незначним зниженням чутливості до 72,7% і діагностичній точності до 70% при використанні ПЛФ. При включенні в діагностичний комплекс разом з УЗД, УЗДГ, КТГ, даних показників чутливість досягає 93,9%, специфічність – 92,2%, діагностична точність – 93,5%.

Враховуючи, що як специфічні критерії, які характеризують різні ланки патогенезу ПД, виділено п'ять показників – Л CD95+, ФНП α , ПАМГ, ФЗП, ПЛФ. Водночас для системної оцінки стану гомеостазу при хронічній плацентарній дисфункції розроблені три предикторних індекси (ПІ). Для оцінки ангіо- і васкулогенезу і пов'язаної з ними запальної відповіді запропонований коефіцієнт співвідношення ФЗП/ФНП α $\times 100$ (ПІ1). Значення ПІ1 для II триместра вагітності нижче 930 і для III триместру вагітності нижче 290 розцінюються як характерний початок формування ПД. Інтегральний індекс, що характеризує стан материнської і плодової частин плаценти, представлений коефіцієнтом співвідношення ПАМГ/ФЗП $\times 100$ (ПІ2). Значення ПІ2 для II триместра вагітності вище 4,3 і для III триместра вагітності вище 7,0 розцінюються як характерний початок формування ПД незалежно від ступеня вираженості змін у плодовій і материнській частинах плаценти. Маркером ступеня пошкодження трофобластичного епітелію, що індукує готовність імунокомпетентних клітин до апоптозу, і ступеня компенсаторних процесів у трофобласті може служити чисельне значення співвідношення LScd95+/ПЛФ $\times 100$ (ПІ3). ПІ3 розрахований для III триместра вагітності. Для фізіологічного перебігу

вагітності характерне значення – $14,2 < \text{ПІЗ} > 16,3$; для СПД – $19,6 < \text{ПІЗ} > 58,8$; для ДПД – $\text{ПІЗ} > 58,8$.

При вживанні ПІ для ранньої діагностики важких форм ПД з II триместра слід враховувати наступні їх значення – $\text{ПІ1} < 310$ і $\text{ПІ2} > 14,1$. При ранній діагностиці важких форм ПД у III триместрі слід враховувати наступні значення ПІ: $\text{ПІ1} < 90$; $\text{ПІ2} > 27$; $\text{ПІЗ} > 19,6$. Показники чутливості, специфічності, цінності позитивного і негативного результатів, що передбачає, діагностичної точності ранньої діагностики важких форм ПД за допомогою ПІ становили відповідно для ПІ1 : 91,6%, 89,9%, 88,7%, 86,9%, 87,6%; для ПІ2 : 92,7%, 90,8%, 91,3%, 96,4%, 94,3%; для ПІЗ : 89,4%, 87,9%, 86,5%, 87,3%, 88,1%, що свідчить про їх високу прогностичну значущість.

Отже, вживання розроблених ПІ, що відображають стан основних біологічних систем, які беруть участь у формуванні ПД, дозволяє своєчасно діагностувати з II триместра вагітності не лише розвиток ПД, але і її важкі форми, що при комплексному діагностичному підході (прогностична шкала факторів ризику декомпенсації ПД; лабораторне тестування; ПІ1 , ПІ2) дає можливість своєчасно почати превентивне лікування.

Отримані результати дозволили патогенетично обґрунтувати включення розроблених критеріїв ПД і ступеня її тяжкості (МЕД, МА, МД, ФЗП), разом з ультразвуковою складовою, в програму діагностики даного ускладнення вагітності з метою підвищення її точності.

Результати ранньої діагностики ПД і оцінки ступеня її тяжкості під час вагітності, засновані на лабораторному й ультразвуковому тестуванні (модифікована шкала), у порівнянні з гістологічно верифікованим діагнозом продемонстрували, що діагноз ПД правильно встановлений в 91% спостережень. Аналіз збігу клінічних і гістологічних діагнозів при важких формах ПД показав підвищення точності діагностики при використанні модифікованої шкали на 39,5% порівняно із вживанням шкали, заснованої лише на УЗ-критеріях.

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать, що розроблений на основі оцінної діагностичної шкали (ультразвукове і лабораторне тестування) клінічний алгоритм ведення вагітних жінок групи ризику підвищує точність діагностики плацентарної дисфункції на 26,1%, її важких форм на 39,5%, сприяє вибору адекватної акушерської тактики, поліпшенню перинатальних результатів при важких формах плацентарної дисфункції на 60%.

Отримані результати дозволяють рекомендувати методику ранньої діагностики важких форм плацентарної дисфункції в практичну охорону здоров'я.

Modern aspects of early diagnostics of violations in the system mother-placenta-fetus

O. M. Susidko, O. A. Kovalishin

The objective: to develop the modern method of early diagnostics of heavy forms of placenta disfunction.

Materials and methods. For realization put purpose, taking into account the developed prognostic scale of heavy forms of placenta disfunction, there was the formed group of supervision, which consists of 100 expectant mothers which in the terms of 18-24 weeks and 28-38 weeks gestation the conducted determination in blood of content of markers of endothelial

disfunction. Taking into account clinical motion of pregnancy, from 100 women two groups of comparison were formed: I a group was made by 50 women with placenta disfunction; II group – 50 women with placenta disfunction in combination with preeclampsia and by extragenital pathology. A control group (III group) was made 30 healthy expectant mothers. In the II group of comparison of preeclampsia diagnosed in 100% supervisions (mild severity – in 88,0% pregnant and moderate severity – in 12,0%).

Results. The got results allowed nosotropic to ground including of the developed criteria of placenta disfunction and degree of severity, together with an ultrasonic constituent, in the diagnostic of this complication of pregnancy program with the purpose of increase of its exactness. Results of early diagnostics of placenta disfunction and estimation of degree of severity during pregnancy, based on the laboratory and ultrasonic testing (modified scale), in comparison with the histological verified diagnosis rotined that placenta disfunction correctly diagnosed in 91% supervisions, uncoincidences was 9%. The analysis of coincidence of clinical and histological diagnoses at the heavy forms of placenta disfunction rotined an increase to exactness of diagnostics at the use of the modified scale on 39,5% as compared to the use of scale, based only on echographic criteria.

Conclusions. The results of the conducted researches testify that the clinical algorithm of conduct of expectant mothers of risk group developed on the basis of evaluation diagnostic scale (ultrasonic and laboratory testing) is promoted by exactness of diagnostics of placenta disfunction on 26,1%, it heavy forms on 39,5%, instrumental in the choice of adequate obstetric tactic, to the improvement of perinatal results at the heavy forms of placenta disfunction on 60%. The got results allow to recommend the method of early diagnostics of heavy forms of placenta disfunction in a practical health protection.

Keywords: the system is a mother-placenta-fetus, diagnostics, violation.

Відомості про авторів

Сусідко Олена Миколаївна – д-р філософії, кафедра акушерства, гінекології та перинатології Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ. E-mail: Elena2910801@gmail.com

ORCID: 0000-0002-4840-0033

Ковалишин Орія Анастасія – д-р мед. наук, доц., Львівський медичний університет. E-mail: orusia75@gmail.com

ORCID: 0000-0002-9710-0694

Information about the authors

Susidko Olena M. – Ph.D., department of obstetric, gynecology and perinatology Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv. E-mail: Elena2910801@gmail.com

ORCID: 0000-0002-4840-0033

Kovalishin Orysa A. – a doctor of medical sciences, associate professor, dean of medical faculty of the Lviv medical university. E-mail: orusia75@gmail.com

ORCID: 0000-0002-9710-0694

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Alasmari NM, Son WY, Dahan MH. The effect on pregnancy and multiples of transferring 1-3 embryos in women at least 40 years old. J Assist Reprod Genet. 2019 Sep;33(9):1195-202. doi: 10.1007/s10815-016-0749-6.
2. Ananth CV, Smulian JC, Vintzileos AM. Ischemic placental disease: maternal versus fetal clinical presentations by gestational age. J Matern Fetal Neonatal Med. 2020 Aug;23(8):887-93. doi: 10.3109/14767050903334885.
3. Ananth CV, Vintzileos AM. Ischemic placental disease: epidemiology and risk factors. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2021 Nov;159(1):77-82. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.07.025.
4. Aoki S, Hashimoto K, Ogawa K, Horikawa R, Sago H. Developmental outcomes of Japanese children born through Assisted Reproductive Technology (ART) in toddlerhood. J Obstet Gynaecol Res. 2019 May;44(5):929-35. doi: 10.1111/jog.13613.

5. Ballesta-Castillejos A, Gomez-Salgado J, Rodriguez-Almagro J, Ortiz-Esquinas I, Hernández-Martínez A. Obstetric and perinatal complications associated with assisted reproductive treatment in Spain. *J Assist Reprod Genet.* 2019 Dec;36(12):2435-45. doi: 10.1007/s10815-019-01631-6.
6. Bénard J, Calvo J, Comtet M, Benoit A, Sifer C, Grynberg M. Fertility preservation in women of the childbearing age: Indications and strategies. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 2019 May;45(5):424-44. doi: 10.1016/j.jgyn.2016.02.005.
7. Bergh C, Wennerholm UB. Obstetric outcome and long-term follow up of children conceived through assisted reproduction. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2021 Dec;26(6):841-52. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2012.05.001.
8. Bertonecelli Tanaka M, Agarwal A, Esteves SC. Paternal age and assisted reproductive technology: problem solver or trouble maker? *Panminerva Med.* 2019 Jun;61(2):138-151. doi: 10.23736/S0031-0808.18.03512-7.
9. Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Kupka MS, De Mouzon J, Erb K, Mocanu E, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2019: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2021 Aug;31(8):1638-52. doi: 10.1093/humrep/dew151.
10. Carusi DA. The placenta accreta spectrum: epidemiology and risk factors. *Clin Obstet Gynecol.* 2021 Dec;61(4):733-42. doi: 10.1097/GRF.0000000000000391.
11. Cavoretto PI, Giorgione V, Sotiriadis A, Viganò P, Papaleo E, Galdini A, et al. IVF/ICSI treatment and the risk of iatrogenic preterm birth in singleton pregnancies: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Jun 4:1-10. doi: 10.1080/14767058.2020.1771690.
12. Chambers GM, Hoang VP, Sullivan EA, Chapman MG, Ishihara O, Zegers-Hochschild F, et al. The impact of consumer affordability on access to assisted reproductive technologies and embryo transfer practices: an international analysis. *Fertil Steril.* 2019 Jan;101(1):191-198. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.005.