

DOI: 10.52705/2788-6190-2024-03.2-03
УДК 618.3/5-007-056.7-073

Оптимізація пренатальної діагностики з використанням ехографії і біохімічного скринінгу

О. М. Сусідко^{1,2}

¹Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ

²ТОВ «Медичний центр доктора Ніколаєва», м. Дніпро

Мета дослідження: вивчити порівняльні аспекти ролі ультразвукового і біохімічного скринінгу в пренатальній діагностиці вроджених вад розвитку і хромосомних аномалій у плода.

Матеріали та методи. Була сформована досліджувана група – 251 вагітна. Для вивчення чинників ризику формування, що найчастіше зустрічаються, хромосомних аномалій у плода і визначення можливості їх прогнозування вагітних було розділено на основну групу і групу порівняння. До основної групи були відібрані жінки з діагностованою вродженою аномалією у плода під час вагітності або відразу після пологів ($n = 163$). До групи порівняння увійшли пацієнтки, які мали під час вагітності ризик народження дитини з вродженою аномалією, але народили здорових дітей ($n = 88$). До контрольної групи включені жінки, які не мали ризику народження дітей з вродженою аномалією, що звернулися за обстеженням за власним бажанням ($n = 59$).

Розподіл пацієнток основної групи і групи порівняння на підгрупи проводили з урахуванням конкретного варіанту вроджених вад розвитку. Ультразвукове дослідження проводили у три етапи: у 10–14 тиж, 20–24, 32–34 тиж вагітності. У I триместрі вагітності дослідження проводили з використанням трансабдомінального і трансвагінального датчиків, що передбачало біометрію плодового яйця, вимір копчико-тім'яного розміру ембріона.

Результати. Ультразвукові маркери посідають провідне місце в ранній діагностиці вроджених вад розвитку і хромосомних аномалій. Під час проведення аналізу структури ультразвукових маркерів в 1,9 разу частіше відзначено поєднання декількох порівняно з ізольованими змінами, хромосомні аномалії виявлені у 13,3% при ізольованих ультразвукових маркерах і в 9,4% – при поєднанні декількох.

Найбільша питома вага у структурі всіх ультразвукових маркерів належить вродженим вадом серця (11,7%), серед них відзначено високий рівень хромосомних аномалій – 57,1% при ізольованих вроджених вадах і 20,7% при поєднанні їх з іншими ультразвуковими маркерами. Високий рівень хромосомної патології зафіксовано за наявності затримки розвитку плода (66,7%) і кістозній гігромії шиї (37,5%) у поєднанні з іншими ультразвуковими маркерами.

Специфічні відхилення від норми сироваткових маркерів вагітності при різних видах вроджених вад розвитку мали 16–71% пацієнток, поєднані зміни сироваткових маркерів вагітності – у 19,2% жінок основної групи і в 10,0% пацієнток групи порівняння.

Висновки. Отримані результати необхідно враховувати при розробці алгоритму прогностичних заходів у жінок з факторами ризику.

Ключові слова: пренатальна діагностика, ехографія, біохімічний скринінг, оптимізація.

В останні десятиліття в усьому світі відзначено тенденцію до неухильного зростання поширеності спадкових хвороб і вроджених аномалій (ВА) серед населення. За даними ВООЗ, спадкові хвороби і вроджені вади розвитку (ВВР) реєструються у 5–5,5% новонароджених, зокрема на ВВР доводиться 2–3%. Водночас 1,5% з них обумовлені дією несприятливих екзогенних чинників – під час вагітності останні мають переважно генетичну природу [1–3].

З медико-організаційної точки зору вирішальна роль у комплексі заходів щодо профілактики і попередження спадкової і вродженої патології належить пренатальній діагностиці (ПД), що дозволяє запобігти народженню дітей з важкими некоригованими вадами розвитку, із соціально значущими і смертельними генними і хромосомними хворобами [4–6].

Багато авторів вважають, що одним з найбільш раціональних і перспективних напрямків, що сприяють зниженню вірогідності розвитку захворювання, є його прогнозування, яке дозволяє визначити найбільш раціональну тактику ведення пацієнтки, врахувати і використовувати всі можливі профілактичні і лікувальні заходи [7–9].

Не дивлячись на досвід, накопичений деякими дослідниками [10–12], можливості порівняльної оцінки ролі ультразвукового і біохімічного скринінгу в ПД ВВР і хромосомних аномаліях (ХА) у плода вивчені не повністю, що свідчить про актуальність вибраного наукового напрямку.

Мета дослідження: вивчити порівняльні аспекти ролі ультразвукового і біохімічного скринінгу в пренатальній діагностиці вроджених вад розвитку і хромосомних аномалій у плода.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вирішення поставленої мети була сформована досліджувана група, в яку включено 251 вагітну. Для вивчення чинників ризику формування ВВР, що найчастіше зустрічаються, ХА у плода і визначення можливості їх прогнозування вагітних було розподілено на основну групу і групу порівняння.

До основної групи увійшли жінки, відібрані згідно з критеріями включення – діагностовані ВА у плода під час вагітності або відразу після пологів ($n=163$).

До групи порівняння включені пацієнтки, які мали під час вагітності ризик народження дитини з ВА, але народили здорових дітей ($n=88$).

Контрольна група була сформована із жінок, які не мали ризику народження дітей з ВА, що звернулися за обстеженням за власним бажанням ($n=59$).

Розподіл пацієнток основної групи і групи порівняння на підгрупи проводили з урахуванням конкретного варіанту ВВР або ВА.

Ультразвукове дослідження (УЗД) проводили у три етапи:

- у 10–14 тиж,
- у 20–24 тиж,
- у 32–34 тиж вагітності.

У I триместрі вагітності дослідження проводили з використанням трансабдомінального і трансвагінального датчиків, що передбачало біометрію плодового яйця, вимір копчико-тім'яного розміру (КТР) ембріона. Вивчення анатомії ембріона й оцінювання екстраамніальних утворень проводили відповідно до протоколу УЗД дослідження для I триместра вагітності. Основна мета досліджень на цьому етапі полягала у виявленні ультразвукових маркерів (УЗМ) хромосомної патології і груп ВВР (показань для інвазивної пренатальної діагностики), а також діагностиці акушерської патології.

У II і III триместрах вагітності визначали кількість плодів, їх положення і передлежання, проводили розширену фетометрію, плацентографію, вимір кількості навколоплідних вод, а також детальне вивчення анатомії плода відповідно до протоколу дослідження для II–III триместра вагітності. Ехографічне дослідження на цьому етапі дозволяло уточнити характер ВВР, виявити і диференціювати УЗМ хромосомної патології плода і визначити наявність показань для проведення вагітним інвазивних процедур з метою виключення або підтвердження хромосомної патології плода.

Серед широкого спектра сироваткових маркерів вагітності (СМВ) ми віддали перевагу визначенню альфа-фетопротеїну (АФП); асоційованому з вагітністю протеїну А (РАРР) і хоріонічному гонадотропіну людини (ХГЛ), рівень яких визначали шляхом імуноферментного аналізу (ІФА) за загальноприйнятими методиками.

В основній групі на біохімічні маркери вагітності було обстежено 39 (26,5%) пацієнток, у групі порівняння – 35 (42,2%) жінок, у контрольній групі – 52 (91,6%) пацієнтки. РАРР визначали у 88 випадках, АФП – у 92 і ХГЛ – у 96 спостереженнях.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для визначення ефективності УЗ скринінгу відносно виявлення ВВР і ХА на допологовому етапі були проаналізовані результати УЗД пацієнток під час вагітності.

Серед вроджених вад розвитку плода, виявлених в основній групі, переважають ВВР нервової системи (НС) (23,1%), на другому місці – множинні вроджені вади розвитку (МВВР) (20,7%), на третьому – ВВР системи кровообігу (СК) (20,4%). У складі МВВР ведучими є ВВР СК, ВВР НС і кістково-м'язової системи (КМС).

У групі жінок, що народили дітей із вродженими аномаліями (n=163), у I триместрі вагітності УЗД було відсутнє у половини пацієнток (50,3%). У 33,4% при обстеженні патології не виявлено, в останніх випадках (16,3%) виявлені вроджені вади розвитку або УЗМ хромосомної патології у плода.

У 12,3% пацієнток виявлені ізольовані ВВР або УЗМ ХА, у 4,9% випадках зміни були поєднаними. У структурі вроджених вад розвитку найчастіше виявлялися ВВР НС (36,7%), ВВР ШКТ (36,7%) і ВВР сечостатевої системи (13,3%). Хромосомна патологія виявлена при цьому у 16,7% випадків, найбільшу кількість ХА (75,3%) відзначено у плодів з кістозною гігрою шиї і неімуною водяною. У структурі хромосомної патології найбільшу питому вагу займали синдром Едвардса (37,5%), синдром Шерешевського-Тернера (25,0%), по 12,5% – синдром Дауна і каріотипи – 47 XY+mar, 47 XX+C.

У групі порівняння (n=88) УЗМ хромосомної патології плода виявлені у 4,8%, у 54,8% вагітних патології при УЗД не виявлено, у 40,4% обстеження не проводилося.

У групі контролю (n=59) обстежені на УЗД у I триместрі вагітності 92,4% пацієнток, патології при обстеженні не виявлено.

У II і III триместрах вагітності УЗД виконане в основній групі у 77,9% випадках. Кістозна гідрома шиї у поєднанні з іншими УЗМ виявлена у 4,9% випадках, у 37,5% з них виявлені ХА, в 1,2% випадках виявлено синдром Шерешевського-Тернера і структурні зміни хромосом, при цьому кістозна гідрома поєднувалася в 1,2% плодів з неімуною водяною (при моносомії X і з багатоводдям).

Зміни форми черепа плода (брахіцефалія і доліхоцефалія), як поєднані ознаки, зафіксовані в 1,8% і 1,2% випадках відповідно, брахіцефалія відзначена як один з УЗМ при синдромі Едвардса, каріотип у всіх останніх випадках був нормальним.

Мікроцефалія зафіксована як ізольована ознака в 0,6% випадку, у поєднанні з іншими маркерами – в 1,8%, змін каріотипу плода не виявлено.

Наступна група УЗМ хромосомних аномалій – це вроджені вади серця (ВВС). Як ізольована ознака ВВС зустрічалися у 4 (2,5%) плодів, у 2 (50,0%) із них виявлені хромосомні аномалії. В одному випадку – це синдром Дауна, в іншому – синдром Едвардса. У поєднанні з іншими маркерами ВВС зафіксовано у 15 (9,2%) випадках, у 3 (20,0%) з яких відзначені ХА.

Спектр цих ХА представлений таким чином: синдром Дауна (1) у поєднанні з гіпоплазією легенів; синдром Патау (1) у поєднанні із серединним розщепленням обличчя, гіпоплазією черв'яка мозочка, омфалоцеле; синдром Едвардса (1) у поєднанні з мікроцефалією, синдактилією і маловоддям. У 2 (13,3%) із 15 випадків були виявлені структурні зміни хромосом, які поєднувалися із збільшенням шийної складки та атрезією 12-палої кишки. Гіперехогенні фокуси в шлуночках серця зустрічалися як поєднані УЗМ у 2 (13,3%) випадках, акардія – в 1 (6,7%) випадку у вигляді ізольованого маркера у плода із двійнят, патології хромосом при цьому не виявлено.

Під час проведення аналізу структури УЗМ в 1,9 раза частіше спостерігали поєднання декількох УЗМ порівняно з ізольованими змінами, хромосомні аномалії виявлені в 13,3% при ізольованих УЗМ і в 9,4% при поєднанні декілька УЗМ. Найбільша питома вага у структурі всіх УЗМ належить ВВС (11,7%), серед них відзначено високий рівень хромосомних аномалій (57,1%) при ізольованих ВВС і 20,7% – при поєднанні їх з іншими УЗМ. Гідроцефалій зафіксовано у 8,5%, проте хромосомна патологія при цьому не виявлена. Такі маркери, як кісти судинних сплетень, діафрагмальна грижа, багатоводдя, гіпоплазія носової кістки ізольовано зустрічалися в поодиноких випадках, проте у 100% при цьому виявлені хромосомні аномалії. Атрезія 12-палої кишки, кишкова непрохідність, кістозно-аденоматозні ВВР легенів поєднувалися з хромосомними аномаліями у 50% випадків. Високий рівень хромосомної патології відзначено при ЗРП (66,7%) і кістозній гігромії шиї (37,5%) у поєднанні з іншими УЗМ.

Аналізуючи дані дослідження на сироваткові маркери вагітних (СМВ) в основній групі і групі порівняння можна зробити висновок, що зниження РАРР фіксували в двох групах приблизно з однаковою частотою (30,8% і 34,3% відповідно; $p > 0,01$), підвищення даного біохімічного маркера у два рази частіше наголошувалося у групі порівняння (10,3% і 20,0%).

Зниження АФП спостерігалось в 6,4% в основній групі, 12,5% – у групі порівняння ($p > 0,01$), підвищення цього маркера наголошувалося в основній групі в 32,3% і в 18,8% у групі порівняння ($p > 0,01$). Зміни ХГЛ у бік зниження було виявлено в 20,0% в основній групі і в 12,9% в групі порівняння ($p > 0,01$), у бік підвищення в 46,7% і в 51,6% відповідно ($p > 0,01$). Отже, зміни сироваткових маркерів виявлялися в двох групах приблизно з однаковою частотою.

З метою визначення діагностичної значущості показників СМВ були визначені їх чутливість, специфічність, прогностична цінність позитивного результату (ПЦП) і прогностична цінність негативного результату (ПЦН) для ВА загалом, а також для окремих груп ВВР і ХА.

У результаті проведеного аналізу встановлено, що СМВ при ВА мають відносно невисоку чутливість і високу специфічність. Чутливість СМВ при ВА коливалась від 0,07 до 0,38, при цьому найбільшою чутливістю володіло зниження РАРР (0,38), а найменшою – зниження АФП (0,07). Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що СМВ володіють високою специфічністю (від 0,44 до 0,91), найбільша специфічність встановлена для підвищення АФП (0,91), а також для зниження ХГЛ і АФП (0,88 і 0,81 відповідно), найменша специфічність характерна для підвищення ХГЛ (0,44).

Прогностична цінність негативного результату визначена як відносно стабільна, величина практично для всіх СМВ (від 0,5 до 0,59), найбільша – для зниження РАРР і найменша – для підвищення і зниження АФП. Прогностична цінність позитивного результату була найбільш високою при підвищенні АФП (0,76) і найменшою – при зниженні цього СМВ (0,25).

У підгрупі вагітних із множинними вродженими вадами розвитку (МВВР) результати біохімічного скринінгу були наступними:

- РАРР становив від 0,1 до 3,2 МОМ (у середньому – 0,9 МОМ);
- АФП – від 0,65 до 5,1 МОМ (у середньому – 2,1 МОМ);
- ХГЛ – від 0,3 до 3,1 МОМ (у середньому – 1,5 МОМ).

У половини пацієнток із МВВР (50,0%) відзначено зміни РАРР менше 0,5 МОМ, збільшення даного СМВ більше 2 МОМ – у 17,2% випадків. В останніх 33,4% значення РАРР відповідало нормальному рівню. У цій підгрупі пацієнток збільшення АФП більше 2 МОМ наголошувалося у 50,0% випадків, в іншій половині пацієнток АФП був нормальним. Зміни ХГЛ менше 0,5 МОМ наголошувалися у 14,1% обстежених пацієнток, у третини вагітних (33,3%) – ХГЛ був вищий 2 МОМ, нормальний рівень даного СМВ відзначено у 50,0% випадків.

Показники РАРР у підгрупі пацієнток із хромосомною патологією (ХП) у плода змінювалися у межах від 0,28 до 1,0 МОМ (у середньому – 0,4 МОМ); рівень АФП – від 0,4 до 1,1 МОМ (у середньому – 1,1 МОМ); ХГЛ – від 0,22 до 3,1 МОМ (у середньому – 0,9 МОМ).

У цій підгрупі реєстрували наступні відхилення СМВ від нормативного значення: рівень РАРР менше 0,5 МОМ наголошувався в половині вагітних (50,0%), збільшення більше 2 МОМ не відмічене, 50,0% обстежених мали значення РАРР, відповідне нормальному. Рівень АФП менше 0,5 МОМ наголошувався у чверті пацієнток (25,0%), більше 2 МОМ – також у 25,0%, тобто нормальні значення АФП були у 50,0% обстежених вагітних. Значення ХГЛ були наступними: у 43,3% було зниження рівня даного СМВ менше 0,5 МОМ, підвищення більше 2 МОМ відзначено у 29,1%, в останніх пацієнток (28,4%) значення ХГЛ відповідали нормі.

У ході аналізу сироваткових маркерів при різних ВВР у плода було встановлено, що при вадах розвитку НС наголошувалася характерна зміна АФП у бік збільшення (у середньому – 2,6 МОМ), при цьому у підгрупі з відкритими дефектами нервової трубки середній рівень АФП становив 2,8 МОМ. Збільшення АФП більше 2 МОМ наголошувалося у 50,0% випадків, при цьому у половині з них рівень АФП був вищий 4,7 МОМ. Більш ніж у половині пацієнток з ВВР НС (58,2%) відзначені відхилення РАРР від норми. Зміни ХГЛ наголошувалися у 23,3% обстежених пацієнток.

У підгрупі вагітних з ВВР СП у результаті біохімічного скринінгу відзначені зміни АФП (середнє значення – 2,4 МОМ), ХГЛ у середньому – 2,1 МОМ, особливо при відкритих дефектах передньої черевної стінки (гастрошизис, омфалоцеле), причому АФП більше 2 МОМ відзначено у 50,0% пацієнток. Рівень РАРР був змінений у 50,0% вагітних, ХГЛ відрізнявся від норми у 45,5% випадків.

Для пацієнток із ВВР сечостатевої системи найбільш характерними стали зміни ХГЛ (54,4%) і РАРР (40,2%). Збільшення і зменшення АФП від нормативних значень наголошувалося у 16% випадків.

У підгрупі вагітних із ВВР КМС виявлений високий рівень АФП – у середньому 3,1 МОМ. Змінений РАРР у цій групі наголошувався у 71,1% випадків, у 30,4% жінок був змінений АФП і ХГЛ.

Найбільші зміни серед СМВ у групі вагітних із МВВР відзначено в АФП (середнє значення – 2,1 МОМ), збільшення АФП більше 2 МОМ наголошувалося у 50,0%

випадків. У 67,7% пацієнток відзначені відхилення RAPP. Зміни ХГЛ мали 47,3% обстежених пацієнток.

Характерними в групі пацієнток із ХП у плода були зміни RAPP (у середньому – 0,4 MOM), рівень RAPP менше 0,5 MOM наголошувався у половини вагітних (50,0%), у половини обстежених був змінений і рівень АФП. Значення ХГЛ мінялися у 71,3%, причому частіше (43,3%) було зниження рівня даного СМВ менше 0,5 MOM.

Під час аналізу діагностичної цінності показників, що вивчаються, можна зробити висновок, що найбільшою чутливістю із СМВ володіє підвищення АФП при ВВР НС (0,83), зниження RAPP при МВВР (0,75), зниження RAPP при ВВР КМС (0,67), зниження і підвищення ХГЛ при ХА (0,67). У ході аналізу змін СМВ встановлена їх висока специфічність практично для всіх видів ВА (від 0,53 для зниження RAPP при більшості ВА до 0,95 для підвищення ХГЛ при ВВР СП). Встановлено низьку ПЦН результатів СМВ, найбільша ПЦП результату відзначена для підвищення АФП при ВВР НС (0,55).

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать, що ультразвукові маркери (УЗМ) посідають провідне місце у ранній діагностиці вроджених вад розвитку і хромосомних аномалій. При проведенні аналізу структури УЗМ в 1,9 раза частіше відзначено поєднання декількох порівняно з ізолюваними змінами, хромосомні аномалії виявлені в 13,3% при ізолюваних УЗМ і в 9,4% – при поєднанні декількох.

Найбільша питома вага у структурі всіх УЗМ належить вродженим вадам серця (11,7%), серед них спостерігається високий рівень хромосомних аномалій (57,1%) при ізолюваних вроджених вадах і 20,7% – при поєднанні їх з іншими УЗМ. Високий рівень хромосомної патології відзначено при затримці розвитку плода (66,7%) і кістозній гігromії шиї (37,5%) у поєднанні з іншими УЗМ.

Специфічні відхилення від норми сироваткових маркерів вагітності при різних видах вроджених вад розвитку були у 16–71% пацієнток, поєднані зміни сироваткових маркерів вагітності відзначені у 19,2% в основній групі пацієнток і в 10,0% – у групі порівняння.

Отримані результати необхідно враховувати при розробці алгоритму прогностичних заходів у жінок з факторами ризику.

Optimization of prenatal diagnostics is with the use of echography and biochemical screening O. M. Susidko

The objective: to learn the comparative aspects of role of ultrasonic and biochemical screening in prenatal diagnostics of congenital malformations and chromosomal anomalies in fetus.

Materials and methods. The investigated group – 251 pregnant was formed. For the study of factors of risk of forming more frequent all, that meet, and chromosomal anomalies in fetus and determination of possibility of their prognostication of pregnant parted on a basic group and group of comparison. A basic group was made by women, selected in obedience to the criteria of including: diagnosed congenital malformations in fetus during pregnancy or at once after births (n = 163). The group of comparison was made by patients which had during pregnancy a risk of birth of child with an congenital anomaly, but gave healthy children (n = 88). A control group was formed from women, which did not have a risk of birth of children with an congenital anomaly, which appealed after the inspection of own free will (n = 59).

Distributing of patients of basic group and comparison on sub-groups was conducted taking into account the concrete variant of congenital malformations. Ultrasonic research was conducted by three-stage in 10–14 weeks, 20–24, 32–34 weeks pregnancy. In the first trimester of pregnancy researches conducted with the use of transabdominal and transvaginal sensors and foresaw biometrics of fertile egg, measuring coccygeal-parietal to the size of embryo.

Results. Ultrasonic markers occupy a leading place in early diagnostics of congenital malformations and chromosomal anomalies. During analysis of structure of ultrasonic markers at 1,9 time combination is more frequent marked a few as compared to the isolated changes, chromosomal anomalies found out in 13,3% at the isolated ultrasonic markers and in 9,4% at combination a few.

Most specific gravity in the structure of all ultrasonic markers belongs to the congenital heart-diseases (11,7%), among them the high level of chromosomal anomalies is marked – 57,1% at the isolated congenital malformations and 20,7% at combination of them with other ultrasonic markers. The high level of chromosomal pathology is marked at the delay of development of fetus (66,7%) and cystic hygroma of the neck (37,5%) in combination with other ultrasonic markers.

Specific deviations from the norm of serum markers of pregnancy at the different types of congenital malformations had 16-71% patients, the combined changes of serum markers of pregnancy are marked in 19,2% in the basic group of patients and in 10,0% - in the group of comparison.

Conclusions. The got results must be taken into account at development of algorithm of prognostic measures for women with the factors of risk.

Keywords: *prenatal diagnostics, echography, biochemical screening, optimization.*

Відомості про автора

Сусідко Олена Миколаївна – д-р філософії, кафедра акушерства, гінекології та перинатології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ; тел.: (067) 266-86-51. *E-mail: Elena2910801@gmail.com*

ORCID: 0000-0002-4840-0033

Information about the author

Susidko Olena M. – Ph.D., department of obstetric, gynecology and perinatology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine of MH Ukraine, Kyiv; tel.: (067) 266-86-51. *E-mail: Elena2910801@gmail.com*

ORCID: 0000-0002-4840-0033

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. Bertoncelli Tanaka M, Agarwal A, Esteves SC. Paternal age and assisted reproductive technology: problem solver or trouble maker? *Panminerva Med.* 2019 Jun;61(2):138-51. 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. Cavoletto 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):191-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.005.