

Криорезистентность эмбрионов человека на стадии морулы с aberrантной компактизацией

Т.А. Юрчук¹, М.П. Петрушко^{1,2}, В.И. Пиняев^{1,2}

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Медицинский центр «ВРТ-клиника репродуктивной медицины», г. Харьков

Cryo-resistance of Human Embryos at the Morula Stage with Aberrant Compaction

T.A. Yurchuk¹, M.P. Petrushko^{1,2}, V.I. Pinyayev^{1,2}

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²Medical Center «ART-Clinic of Reproductive Medicine», Kharkiv, Ukraine

Морфокинетические характеристики доимплантационных эмбрионов играют важную прогностическую роль в оценке эффективности применяемых протоколов криоконсервирования. Особый интерес представляет эмбрион 4 суток развития *in vitro* (морула), поскольку именно на этой стадии он попадает в полость матки *in vivo*. Аберрантная компактизация бластомеров может иметь решающее значение при криоконсервировании эмбрионов человека.

Целью данной работы была оценка криорезистентности эмбрионов человека на стадии морулы с aberrантной компактизацией бластомеров.

Полученные в ходе аспирации ооциты оплодотворяли методом интрацитоплазматического введения спермия. Эмбрионы 4-х суток развития *in vitro* разделяли на 5 категорий в соответствии с уровнем компактизации бластомеров: 1 – полностью компактизованная морула; 2–4 – компактизованная морула занимает 75, 50, 25% объема эмбриона соответственно; 5 – некомпактизованная морула.

Эмбрионы криоконсервировали в витрификационных средах на основе смеси этиленгликоля, диметилсульфоксида и сахарозы на носителях «Cryotec» («Cryo-Tech», Япония). После отогрева оценивали выживаемость, кинетику развития эмбрионов *in vitro* и морфофункциональные характеристики бластоцист [D. Gardner *et al.*, 1999].

Выживаемость эмбрионов категорий 1 и 2 после этапа инкубации в витрификационных растворах составила 100%, а категорий 3–5 – (87 ± 7,4), (68 ± 5,9) и (53 ± 6,7)% соответственно.

После витрификации-отогрева эмбрионов значение исследуемого показателя категории 1 соответствовало 100%, а для 2–5 – (98 ± 6,2), (88 ± 9,9) и (50 ± 5,8) и (22,2 ± 4,4)% соответственно. Также наблюдали фрагментацию бластомеров, не вошедших в компактизацию, с последующей деградацией. Степень компактизации бластомеров коррелировала с показателем выживаемости эмбрионов после витрификации-отогрева ($r = 0,94$). Частота дробления эмбрионов до стадии бластоцисты во всех категориях составила (82,8 ± 7,9), (74,3 ± 8,2), (53,7 ± 11,7), (32,4 ± 4,9) и (13,8 ± 2,2)% соответственно.

Эмбрионы человека на стадии морулы с высокой степенью aberrантной компактизации имели низкую резистентность к действию факторов криоконсервирования. Использование предложенных категорий компактизации эмбрионов на стадии морулы в качестве предиктора их криорезистентности позволит разработать индивидуальные подходы для повышения выживаемости после криоконсервирования.

Morphokinetic characteristics of preimplantation embryos play an important predictive role in the assessing of cryopreservation protocol efficiency. Of particular interest is the embryo to day 4 of development (morula), since at this stage it enters the uterine cavity *in vivo*. Aberrant compaction of blastomeres can be crucial in human embryo cryopreservation.

The aim of this work was to evaluate the cryoresistance of human embryos at the morula stage with aberrant compaction of blastomeres.

The oocytes obtained during aspiration were fertilized by the method of intracytoplasmic sperm injection. The embryos to day 4 of development *in vitro* were divided into 5 categories according to the level of blastomere compaction: 1 – fully compacted morula; 2–4 – a compacted morula occupies 75, 50, 25% of embryo volume, respectively; 5 – non-compacted morula. The embryos were cryopreserved in vitrification media using ethylene glycol, dimethyl sulfoxide and sucrose mixture in Cryotec carriers (CryoTech, Japan). After warming, the survival rate of embryos, developmental kinetics of embryos *in vitro*, the morphological and functional characteristics of the blastocysts were evaluated [D. Gardner *et al.*, 1999].

The survival rate of embryos after incubation stage in vitrification solutions for categories 1 and 2 was 100%, and for categories 3–5 it was (87 ± 7.4), (68 ± 5.9) and (53 ± 6.7)%, respectively.

After embryo vitrification-warming the studied index for category 1 was 100%, and for categories 2–5 it made (98 ± 6.2), (88 ± 9.9), (50 ± 5.8) and (22.2 ± 4.4)%, respectively. The blastomeres did not compactize, were fragmented or even degraded. The compaction degree of blastomeres correlated with the survival rate of embryos after vitrification-warming ($r = 0.94$). The cleavage frequency of embryos to the blastocyst stage was (82.8 ± 7.9), (74.3 ± 8.2), (53.7 ± 11.7), (32.4 ± 4.9) and (13.8 ± 2.2)% for categories 1–5, respectively.

Human embryos which reached the morula stage with a high degree of aberrant compaction had a low resistance to the cryopreservation factors. The use of the proposed embryo compaction categories at the morula stage as a predictor of their cryoresistance will enable developing individual approaches to improve the survival rate after cryopreservation.

