

Компетенція кріоконсервованих ооцитів після енуклеації ядра та трансферу першого полярного тіла в ооплазму

Н.О. Будерацька, І.Є. Ільїн, С.В. Лавриненко

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків
Медичний центр ІГР, м. Київ

Competence of Cryopreserved Oocytes After Enucleation and the First Polar Body Transfer to Ooplasm

N.O. Buderatska, I.Ye. Ilyin, S.V. Lavrynenko

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine,
Kharkiv, Ukraine
IGR Medical Center, Kyiv, Ukraine

Пацієнтки з низьким оваріальним резервом мають невисокий рівень частоти настання вагітності. Метод перенесення першого полярного тіла в цитоплазму донорської яйцеклітини дає можливість зберегти ядерний генотип пацієнтки та може бути використаний для подвоєння кількості ооцитів. Проте наразі невідомо, чи здатні кріоконсервовані ооцити відновлювати свою функцію після реконструкції (перенесення першого полярного тіла в ооплазму).

Мета роботи – вивчення компетентності кріоконсервованих реконструйованих ооцитів до запліднення та розвитку *in vitro*.

У роботі досліджували 60 ооцитів, отриманих за інформованою згодою у 16 пацієток зі зниженим оваріальним резервом (група 1) та 60 реконструйованих кріоконсервованих донорських ооцитів (група 2) від 11 донорів. Середній вік жінок склав ($36,4 \pm 3,9$) та ($28,2 \pm 2,4$) років для груп 1 та 2 відповідно. Перші полярні тіла з яйцеклітин пацієток групи 1 були перенесені в попередньо енуклеювані та кріоконсервовані донорські ооцити групи 2. Донорські ооцити кріоконсервовували за методом М. Куwayама. Для передімплантаційного генетичного скринінгу (PGS) використовували «Ion S5» («Thermo Fisher Scientific», США) проводили біопсію трофктодерми на п'яту добу розвитку. Після чого бластоцисти кріоконсервовували. Статистичні гіпотези перевіряли за допомогою критерію Шапіро-Уїлка та критерію χ^2 -квдрат.

У групі 1 запліднилося 46 (76,7%) ооцитів та 45 (75,0%) реконструйованих ооцитів групи 2. Кількість ембріонів на другу добу розвитку дорівнювала 41 (68,3%) та 49 (81,7%); третю – 39 (65,0%) та 47 (78,3%), четверту – 33 (55,0%) та 40 (66,7%); п'яту – 27 (45,0%) та 30 (50,0%) у групах 1 та 2 відповідно. Співвідношення еуплоїдних/анеуплоїдних ембріонів у групі 1 склало 1:1 (12 еуплоїдних та 12 анеуплоїдних), у групі 2 – 1:2 (8 еуплоїдних та 16 анеуплоїдних).

Таким чином, кріоконсервовані ооцити після реконструкції здатні відновлювати свою функцію, оскільки частота їх запліднення та характеристика морфокінетичного розвитку ембріонів *in vitro* не відрізнялися від контролю. Проте частота анеуплоїдії реконструйованих ембріонів перевищує показник контролю, що може бути пов'язане з проблемами структури веретена поділу донорських ооцитів після дії факторів кріоконсервування.

The patients with a poor ovarian reserve have a low incidence of pregnancy. The method of transferring the first polar body to the donor oocyte cytoplasm makes it possible to preserve the nuclear genotype of a patient and can be used to double the number of oocytes. However, whether cryopreserved oocytes are capable of restoring their function after reconstruction (the transfer of the first polar body to the ooplasm) is still unknown.

The purpose of the work was to study the competence of cryopreserved reconstructed oocytes for fertilization and development *in vitro*.

The study included 60 oocytes from 16 patients with a reduced ovarian reserve (group 1) and 60 reconstructed cryopreserved donor oocytes (group 2) from 11 donors. All the procedures were performed with patients' informed consent. The average age of women was (36.4 ± 3.9) and (28.2 ± 2.4) years for groups 1 and 2, respectively. The first polar bodies from the oocytes of group 1 patients were transferred to pre-enucleated and cryopreserved donor oocytes of group 2. Donor oocytes were cryopreserved using the M. Kuwayama method. For pre-implantation genetic screening (PGS), Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, USA) was used to conduct a trophectoderm biopsy to day 5 of development. Afterwards the blastocysts were cryopreserved. Statistical hypotheses were checked using the Shapiro-Wilk test and the χ^2 -square criterion.

Group 1 had of 46 (76.7%) fertilized oocytes and in group 2 45 (75.0%) reconstructed oocytes were fertilized. The numbers of embryos reached the second day of development were in groups 1 and 2, respectively 41 (68.3%) and 49 (81.7%); for the third one these were 39 (65.0%) and 47 (78.3%), 33 (55.0%) and 40 (66.7%) for the fourth day, and for the fifth the numbers were 27 (45.0%) and 30 (50.0%). The ratio of euploid / aneuploid embryos in group 1 was 1:1 (12 euploid and 12 aneuploid), in group 2 that was 1:2 (8 euploid and 16 aneuploid).

Thus, cryopreserved oocytes after reconstruction were able of restoring their function, since the frequency of their fertilization and the characterization of morphokinetic development of embryos *in vitro* did not differ from the control. However, the frequency of aneuploidy of reconstructed embryos exceeded the control index, that may be due to the structure of the mitotic spindle of donor oocytes after the effect of cryopreservation factors.

