

Критерии оценки качества преимплантационных эмбрионов человека до и после криоконсервирования

М.П. ПЕТРУШКО, В.И. ПИНЯЕВ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Estimation Criteria for Pre-implanted Human Embryo Quality Prior to and After Cryopreservation

M.P. PETRUSHKO, V.I. PINYAEV

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

Морфологический анализ позволяет оценить влияние физических факторов на сохранность эмбрионов. Способность к возобновлению митоза и возможность достижения стадии бластоцисты не являются абсолютными показателями генетической полноценности, поскольку даже эмбрионы, несущие хромосомные аномалии, развиваются до стадии бластоцисты и способны имплантироваться. Риск возникновения генетических аномалий обуславливает необходимость введения четких критериев оценки безопасности процедуры криоконсервирования для генетического аппарата преимплантационных эмбрионов человека.

Цель данного исследования – изучение частоты хромосомных аномалий в бластомерах нативных и криоконсервированных эмбрионов человека.

Эмбрионы человека были разделены на две группы: 1 – 207 эмбрионов культивировали 16 ч с блокатором митоза (0,1% раствором колхицина) для получения препаратов хромосом, 2 – 189 эмбрионов криоконсервировали, культивировали в среде с блокатором митоза, после чего проводили фиксацию для последующего цитогенетического анализа методом карiotипирования.

Нормальный диплоидный набор хромосом имели 68,1% нативных эмбрионов. Полиплоидия была отмечена в 2,5% нативных эмбрионов. Анеуплоидными выявились 26,9% эмбрионов, в том числе гиперплоидными – 10,9% эмбрионов, гипоплоидными – 14,3%. Причем в большинстве случаев отмечали анеуплоидию по хромосомам групп С, Е и F.

По результатам анализа интерфазных ядер 80% нативных и 63,7% криоконсервированных эмбрионов обладали нормальным карiotипом. Полиплоидные мозаики были диагностированы в 18,2% эмбрионов после криоконсервирования.

Цитогенетический анализ методом карiotипирования и флуоресцентной гибридизации *in situ* позволил определить, что преимплантационные эмбрионы, полученные в ходе оплодотворения *in vitro* ооцитов пациенток, участвующих в циклах лечения бесплодия, обладают высокой генетической гетерогенностью.

В связи с этим важно проведение преимплантационной генетической диагностики как нативных, так и криоконсервированных эмбрионов с целью выявления генетических патологий до переноса эмбрионов в полость матки пациенток, что необходимо для предотвращения рождения ребенка с хромосомными аномалиями.

Morphological analysis enables to estimate the effect of physical factors on embryo preservation. The capability for mitosis renewal and the possibility of reaching blastocyst stage are not the absolute indices for genetic integrity, since even the embryos with chromosome abnormalities develop to the blastocyst stage and are capable to be implanted. The risk of genetic abnormality occurrence stipulates the necessity in introduction of distinct estimation criteria of cryopreservation procedure safety for genetic apparatus of preimplanted human embryos.

This research was targeted to study the frequency of chromosomal abnormalities in blastomeres of native and cryopreserved human embryos.

Human embryos were divided in two groups: the 1st one comprised 207 embryos, cultured for 16 hrs with mitosis blocker (0.1% colchicine solution) to procure chromosome preparation. The 2nd one included 189 embryos, cryopreserved, then cultured in mitosis blocker-containing medium, then fixed for further cytogenetic analysis using karyotyping method.

Normal diploid chromosome set was in 68.1% native embryos. Polyploidy was noted in 2.5% native embryos. Aneuploid were 26.9% embryos, including 10.9 and 14.3% hyperploidy and hypoploidy ones, correspondingly. Moreover in the most cases the aneuploidy by C, E and F group chromosomes was noted.

According to the results of interphase nuclei analysis, 80 and 63.7% of native and cryopreserved embryos, correspondingly, were of normal karyotype. Polyploid mosaics were diagnosed in 18.2% embryos after cryopreservation.

Cytogenetic analysis by karyotyping method and *in situ* fluorescent hybridization enabled determining the fact that the pre-implanted embryos, procured during *in vitro* oocyte fertilization of patients, participating in infertility treatment cycles, had a high genetic heterogeneity.

Due to this fact of importance is to perform a preimplantation genetic diagnostic both of native and cryopreserved embryos with the aim to find out genetic pathologies prior to embryo transfer into patients' uterine cavity, that is indispensable to prevent child birth with chromosome abnormalities.