

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(3)-02

УДК: 612.646:615.014.41:57.017

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЕМБРІОНІВ, ОТРИМАНИХ З ВІТРИФІКОВАНИХ ООЦИТІВ В ДОНАЦІЙНИХ ПРОГРАМАХ ДОПОМІЖНИХ РЕПРОДУКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Будерацька Н.О.^{1,2}, Петрушко М.П.², Гонтар Ю.В.¹

¹Медичний центр ІГР (просп. Перемоги, 121Б, м. Київ, Україна, 03115),

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна, 61016)

Відповідальний за листування:
e-mail: nataly_igr@ukr.net

Статтю отримано 4 червня 2018 р.; прийнято до друку 16 липня 2018 р.

Анотація. Фактори кріоконсервування можуть призводити до порушення молекулярного механізму нормальної сегрегації хромосом під час мейозу і збільшити кількість анеуплоїдій в ембріонах. Мета дослідження - вивчення частоти хромосомних нерозходжень в ембріонах, отриманих після запліднення свіжовиділених і кріоконсервованих ооцитів. Дослідження частоти анеуплоїдій за хромосомами 13, 16, 18, 21, 22, X, Y проводили методом флуоресцентної гібридизації *in situ*. Статистичні гіпотези перевіряли за допомогою критеріїв t , 2 при рівнях значущості $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$. У роботі показано, що частота хромосомних нерозходжень у клітинах ембріонів, які були отримані з груп нативних та кріоконсервованих ооцитів була ідентичною. Проте відмічали збільшення частоти мозаїцизму в ембріонах, отриманих з кріоконсервованих ооцитів. Неправильне розходження за певними хромосомами рідше визначається серед ембріонів, отриманих із вітрифікованих ооцитів, що може свідчити про меншу життєздатність ооцитів, що несуть порушення у кількості окремих хромосом.

Ключові слова: кріоконсервування, вітрифікація, ооцити, ембріони, хромосоми.

Вступ

Дана робота є фрагментом НДР ІПКіК НАН України 2.2.6.58 "Вивчення впливу факторів кріоконсервування методом вітрифікації на морфофункціональні характеристики репродуктивних клітин і ембріонів", номер держреєстрації 0116U003498.

Низькотемпературне зберігання репродуктивних клітин є актуальним для жінок, які, на сьогоднішній день, за тих чи інших причин, не можуть реалізувати свій репродуктивний потенціал, але планують материнство в майбутньому. Медичними показаннями до кріоконсервування ооцитів є збереження генетичного матеріалу жінки перед хірургічним втручанням з видалення репродуктивних органів або до проведення хіміо- чи променевої терапії та накопичення яйцеклітин при зниженому овариальному резерві.

У багатьох дослідженнях повідомлялося, що показники частоти запліднення, морфокінетичні характеристики розвитку ембріонів, частоти їх імплантації і настання клінічних вагітностей у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) з використанням нативних і кріоконсервованих ооцитів статистично значущо не відрізнялися [1].

Ооцити мають унікальну будову та характеризуються значним поліморфізмом, який може впливати на їх кріорезистентність [2]. Не зважаючи на це, кріоконсервування ооцитів дозволяє уникнути багатьох морально-етичних питань низькотемпературного збереження ембріонів [3]. Проте існує стурбованість щодо безпечного використання кріоконсервованих яйцеклітин у зв'язку з тим, що фактори кріоконсервування можуть призводити до порушення молекулярного механізму нормальної сегрегації хромосом під час мейозу і збільшити кількість анеуплоїдій в ембріонах [10].

Тому, метою даного дослідження було вивчення час-

оти хромосомних нерозходжень в ембріонах, отриманих після запліднення свіжовиділених і кріоконсервованих ооцитів донорів.

Матеріали та методи

Дослідження було проведено на базі "Медичного центру ІГР". Були проаналізовані дані передімплантаційного генетичного тестування ембріонів на анеуплоїдії (ПГТ-А), отриманих з 333 донорських ооцитів, які перебували на стадії МІІ (метафази другого мейозу): 229 ооцитів, отриманих у 19 циклах лікування безпліддя методами (ДРТ), склали групу 1, і 104 ооцити, отримані в 10 ДРТ циклах, які було кріоконсервовано методом вітрифікації (група 2). Середній вік жінок становив $27,2 \pm 2,4$ і $27,6 \pm 4,8$ років для груп 1 і 2 відповідно. Донори яйцеклітин не мали фізичних або психічних відхилень, мали негативні результати наявності інфекцій TORCH-комплексу, гепатиту та СНІДу. Каріотип усіх донорів був 46, XX. Важливим критерієм підбору донорів була наявність здорової дитини.

Стимуляція суперовуляції донорів була проведена з використанням антагоністів гонадотропін рилізінг гормону (GnRH). Аспірацію ооцитів здійснювали трансвагінально під контролем ультразвукового дослідження через 36 год. після індукції овуляції. Після вилучення ооцити переносили в культуральну чашку (Nunc, США), яка містила поживне фосфатно-буферне середовище (LifeGlobal, США) з 10% альбуміном (LifeGlobal, США). Тільки зрілі ооцити (метафаза ІІ) були кріоконсервовані за методом М. Kuwayama з мінімальними модифікаціями [2, 8].

Через 2 год. після розморожування ооцити запліднювали шляхом інтрацитоплазматичної ін'єкції сперми (ICSI). Зиготи були розміщені по одному в 40 мкл пожив-

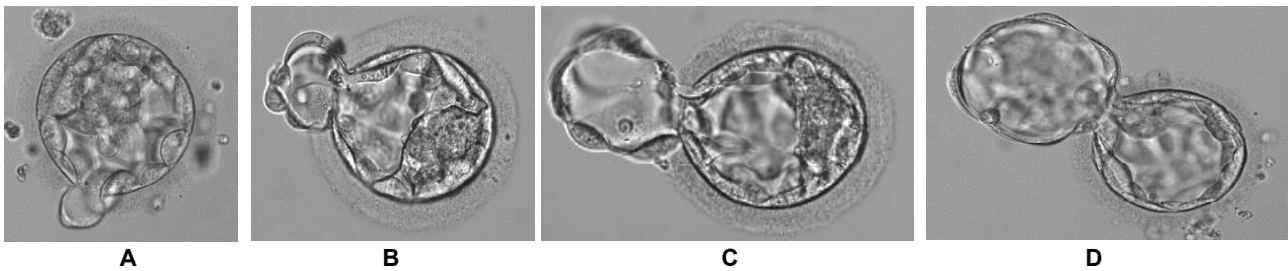


Рис. 1. Ембріон людини на стадії бластоцисти з різним співвідношенням клітин трофектодерми, що вийшли з ZP щодо всього об'єму бластоцисти (A - 5%, B - 15%, C - 35%, D - 50%).

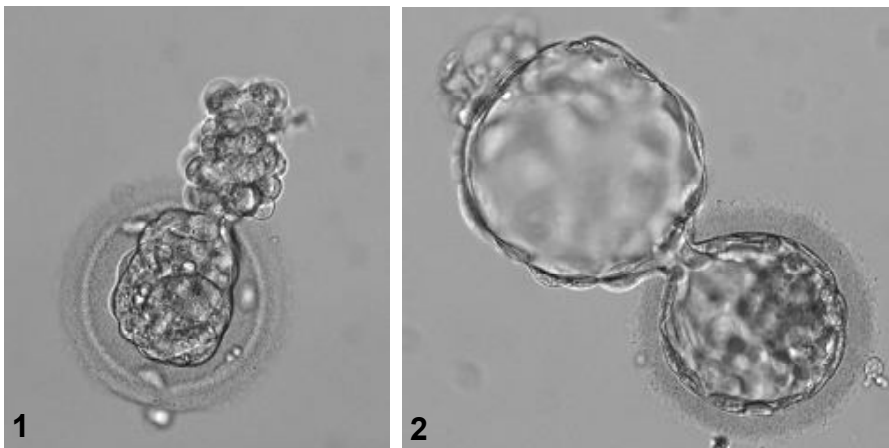


Рис. 2. 1. Колапсована бластоциста через 15 хв. після проведення біопсії клітин трофектодерми; 2. Бластоциста AA60% через 2 год. після проведення біопсії клітин трофектодерми.

ного середовища і культивували *in vitro* при 37° С в суміші газів 5,5% CO₂, 5% O₂, збалансованих азотом. Через 16-18 год. проводили оцінку запліднення за наявністю двох пронуклеусів. Зиготи культивували *in vitro* до стадії бластоцисти. На 4-добу культивування проводили процедуру допоміжного хетчингу з використанням лазерної системи Saturn-3 (Research Instruments, Великобританія). На п'яту добу проводили морфологічний аналіз бластоцист. Для ембріонів, у яких було проведено допоміжний хетчинг, складно оцінити стадію розвитку бластоцисти по градації D. Gardner [5], тому ми описували морфологічні характеристики внутрішньоклітинної маси (ICM), клітин трофектодерми (TE) за класифікацією D. Gardner і вказували відсоткове співвідношення клітин трофектодерми, що вийшли з Zona pellucida (ZP) по відношенню до всього об'єму бластоцисти (рис. 1).

Для передімплантаційного генетичного тестування анеуплоїдій (ПГТ-А) проводили біопсію клітин трофектодерми бластоцист на п'яту-шосту добу культивування, при умові, що клітини трофектодерми, що вийшли з ZP становили не менше 30% по відношенню до всього об'єму, щоб уникнути пошкодження ембріона.

Біопсію клітин трофектодерми виконували за допомогою інвертованого мікроскопа Nikon TI-U (Nikon, Японія) та мікроманіпуляторів (Narishige, Японія). Ембріон фіксували мікропіпеткою з внутрішнім діаметром 17 мкм (Cook, США). Для біопсії трофектодерми використовували

лі піпетку з діаметром 23-27 мкм (ORIGIO, Данія). Дослідження частоти анеуплоїдій за хромосомами 13, 16, 18, 21, 22, X, Y проводили методом флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH) з використанням комерційних наборів PB MultiVysion і CepX/CepY (Abbott, США) та флуоресцентного мікроскопу Olympus BX 51 (Olympus, Японія), обладнаного відповідним набором фільтрів і програмою автоматичної обробки зображення ISIS (Meta Systems, Німеччина).

Для перенесення в порожнину матки використовували тільки еуплоїдні за досліджуваними хромосомами ембріони. За результа-

тами проведеної діагностики, кожен з проаналізованих ембріонів відносили до певної категорії за класифікацією S. Munne [9].

Перевірку розподілу кількісних даних на відповідність закону нормального розподілу проводили методами Шапіро-Уїлка та Колмогорова-Смірнова. Порівняння середніх арифметичних виконували методами Ст'юдента. Статистичні гіпотези перевіряли за допомогою критеріїв t , 2 при рівнях значущості $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Усі маніпуляції з передімплантаційними ембріонами проводили відповідно до Законодавства України, Європейського протоколом захисту ембріонів.

Результати. Обговорення

Середня кількість зрілих ооцитів у групі 1 становила $16,7 \pm 6,3$, у групі 2 - $15 \pm 4,3$ (табл. 1). Частота виживання ооцитів після кріоконсервування становила 96,0% ($n=144$).

Частота формування зигот в групах 1 та 2 була ідентичною ($p > 0,05$). Середня кількість ембріонів на 2-4 день культивування *in vitro* було статистично не значущою в обох групах. У першій групі до стадії бластоцисти розвинулося 59,6% ($n=188$) ембріонів, в групі 2 цей показник склав 44,4% ($n=64$) ($p < 0,06$). Проте бластоцисти найвищої якості категорії AA в групі 1 склали 53,1%, а в групі 2 - 67,2%, що було статистично значущим ($p < 0,05$).

Аналіз хромосомних аномалій дозволив визначити,

Таблиця 1. Клінічні та ембріологічні характеристики досліджуваних груп.

Характеристика	Група 1	Група 2
Середній вік донорів, років, $x \pm sx$	27,2 \pm 2,4	27,6 \pm 4,8
Доза ФСГ (МО)	150-225 IU/day	150-225 IU/day
Загальна кількість фолікулів	385	189
Загальна кількість аспірованих ооцитів	348	172
Загальна к-ть ооцитів на стадії МІІ, n, (%)	315 (100)	150 (100)
Середня к-ть ооцитів на 1 цикл, $x \pm sx$	16,7 \pm 6,3	15,0 \pm 4,3
Загальна к-ть ооцитів після розморожування, n, (%)	-	144 (96,0)
Загальна кількість зигот (%)	262 (83,1)	121 (84,0)
Загальна кількість бластоцист (%)	188 (59,6)	64 (44,4)*
Загальна кількість бластоцист категорії АА	101 (53,7)	43 (67,2)*
Середня кількість перенесених ембріонів	1,2	1,1
Частота настання вагітності	64,7%	62,5%

Примітка. * - статистично значущо у порівнянні з відповідним показником групи 1 ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Хромосомний статус ембріонів досліджуваних груп.

Параметри	Група 1	Група 2
Загальна кількість проаналізованих ембріонів	229	104
Загальна кількість еуплоїдних ембріонів (%)	105 (45,8%)	46 (44,2%)
Загальна кількість ембріонів з каріотипом 46, XX (%)	51	24
Загальна кількість ембріонів з каріотипом 46, XY (%)	54	22
Загальна кількість анеуплоїдних ембріонів (%)	124 (54,2%)	58 (55,8%)
Загальна кількість ембріонів з порушенням плідності (%)	18 (14,5%)	9 (15,5%)
Загальна кількість мозаїчних ембріонів (%)	8 (6,4%)	8 (13,7%)**
Загальна кількість ембріонів зі структурними аномаліями (13, 16, 18, 21, 22)	50 (40,3%)	19 (32,7%)*
Загальна кількість ембріонів з комплексними хромосомними аномаліями	37 (29,8%)	18 (31,1%)
Загальна кількість ембріонів з аномаліями статевих хромосом	11 (8,9%)	4 (7,0%)

Примітки: * - статистично значущо у порівнянні з відповідним показником групи 1 ($p < 0,05$), ** - статистично значущо у порівнянні з відповідним показником групи 1 ($p < 0,01$).

що передімплантаційні ембріони, отримані зі свіжовиділених і кріоконсервованих ооцитів, відрізняються високою генетичною гетерогенністю (табл. 2). За досліджуваними хромосомами еуплоїдними виявилось 45,8% ($n=105$) ембріонів у групі 1 і 44,2% ($n=46$) - у групі 2, що не

мало статистично значущої різниці ($p > 0,05$) між досліджуваними групами. Встановлена частота анеуплоїдії відповідає результатам інших дослідників [4, 7].

Поліплоїдія була діагностована в 14,5% ($n=18$) ембріонах, які розвинулися з свіжовиділених ооцитів і 15,5% ($n=9$) - після кріоконсервування. Серед виявлених патологій найбільшу частку становили комплексні хромосомні аномалії, які виявилися в поєднанні кількісних аберацій різних хромосом: в 29,8% ($n=37$) ембріонах, що утворилися із свіжовиділених ооцитів і 31,1% ($n=18$) - з кріоконсервованих, що не мало статистично значущої різниці ($p > 0,05$). За статевими хромосомами частота нерозходжень становила 8,9% ($n=11$) у групі 1 і 7,0% ($n=4$) у групі 2. Проте фактори кріоконсервування індукували збільшення частоти мозаїчних ембріонів, що становило 6,4% ($n=8$) у групі 1 та 13,7% ($n=8$) у групі 2. Вважають, що хаотичний розподіл хромосом в мітозі може бути викликаний інактивацією регуляторних механізмів на стадії дроблення ембріонів, можливо, через дію факторів кріоконсервування [6].

Частота анеуплоїдій за окремими хромосомами в ембріонах, отриманих з нативних і кріоконсервованих ооцитів, становила 42,7% ($n=50$) і 37,9% ($n=19$), відповідно.

Отже, неправильне розходження за певними хромосомами частіше визначали серед свіжовиділених ооцитів. Серед ембріонів, отриманих з розморожених ооцитів, анеуплоїдії за хромосомами 13, 16, 18, 21, 22 було виявлено менше, що може свідчити про невисоку життєздатність ооцитів, які несуть порушення кількості хромосом.

Незважаючи на це, нами були отримані високі показники розвитку ембріонів, що сформувалися з кріоконсервованих ооцитів і, відповідно, високий рівень їх імплантації. Ці результати підтверджують той факт, що мейотичне веретено і хромосоми ооцитів молодих жінок-донорів є стійкими до дії факторів кріоконсервування. Кріоконсервування ооцитів може бути стратегією збільшення кількості ембріонів для подальшого використання в ДРТ, проте отримані ембріони повинні бути проаналізовані на наявність хромосомних нерозходжень з метою перенесення в порожнину матки пацієнток виключно еуплоїдних ембріонів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. За результатами проведеного дослідження було встановлено, що морфофункціональні характеристики ембріонів, які розвинулися *in vitro* з кріоконсервованих ооцитів, не відрізняються від свіжовиділених. Не було значущої різниці досліджуваних груп у частоті імплантації та настанні вагітності. Передімплантаційний генетичний аналіз з'ясував, що частота хромосомних нерозходжень у клітинах ембріонів двох досліджуваних груп була ідентичною.

2. Фактори кріоконсервування можуть індукувати збільшення частоти мозаїчних ембріонів, що, вірогідно, викликано частковою інактивацією регуляторних ме-

ханізмів на стадії дроблення ембріонів.

3. Неправильне розходження за певними хромосомами частіше визначається серед ооцитів, що не підлягали криоконсервуванню, що може свідчити про меншу життєздатність ооцитів, які несуть порушення у кількості

окремих хромосом.

Розробка високоефективних протоколів криоконсервування, які б забезпечили збереження стабільності геному передімплантаційних ембріонів людини є перспективним напрямком подальших досліджень.

Список посилань

1. Будерацька, Н. А. & Петрушко, М. П. (2010). Вариабельность морфологических параметров как критерий прогноза эффективности криоконсервирования ооцитов человека. *Морфология*, 10 (4), 18-22.
2. Будерацька, Н. О. & Петрушко, М. П. (2016). Ооцити як альтернатива ембріонам при криоконсервуванні для використання у допоміжних репродуктивних технологіях. *Проблеми кріобіології та кріомедицини*, 26 (4)б 375-382.
3. Петрушко, М. П. (2017). Сучасний стан проблеми криоконсервування репродуктивних клітин та ембріонів людини. *Вісник Національної академії наук України*, 7, 44-53. doi: doi.org/10.15407/vsn2017.07.044.
4. Garcia, J. I., Noriega-Portella, L. & Noriega-Hoces, L. (2011). Effect of vitrification procedure on chromosomal status of embryos achieved from vitrified and fresh oocytes. *Health*, 3 (7), 467-476. doi: 10.4236/health.2011.37077.
5. Gardner, D. K. & Schoolcraft, W. B. (1999). Culture and transfer of human blastocyst. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 11 (3), 307-311. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10369209>.
6. Harrison, R., Kuo, H., Scriven, P., Handyside, A. H. & Ogilvie, C. M. (2000). Lack of cell cycle checkpoints in human cleavage stage embryos revealed by a clonal pattern of chromosomal mosaicism analysed by sequential multicolour FISH. *Zygote*, 8 (3), 217-224. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11014501>.
7. Jung, Y. J. & Cheon, Y. P. (2014). Improvement of the vitrification method suppressing the disturbance of meiotic spindle and chromosome systems in mature oocytes. *Dev. Reprod.*, 18 (2), 117-125. doi: 10.12717/DR.2014.18.2.117.
8. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, & Leibo SP. (2005). Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed. Online*, 11 (3), 300-308. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16176668>.
9. Munne, S., Marquez, C., Magli, C., Morton, P. & Morrison, L. (1998). Scoring criteria for preimplantation genetic diagnosis of numerical abnormalities for chromosomes X, Y, 13, 16, 18 and 21. *Mol. Hum. Reprod.*, 4 (9), 863-870. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9783846>.
10. Yurchuk, T., Petrushko, M. & Fuller, B. (2018). Science of cryopreservation in reproductive medicine - Embryos and oocytes as exemplars. *Early Hum. Dev.*, 14, S0378-3782(18)30559-0. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2018.08.016.
11. morphological parameters as a criterion for the prediction of the effectiveness of the cryoconservation of human oocytes]. *Morphologia - Morphology*, 10 (4), 18-22.
12. Buderatska, N. O. & Petrushko, M. P. (2016). Ootsyty yak alternatyva embrionam pry kriokonservuvanni dlia vykorystannia u dopomizhnykh reproductyvnykh tekhnolohiiakh [Oocytes as an alternative to embryos in cryopreservation for use in auxiliary reproductive technologies]. *Problemy kriobiologii ta kriomedycyny - Problems of cryobiology and cryomedicine*, 26 (4) b 375-382.
13. Petrushko, M. P. (2017). Suchasnyi stan problemy kriokonservuvannia reproductyvnykh klityn ta embrioniv liudyny [The current state of the problem of cryopreservation of reproductive cells and human embryos]. *Visnyk Natsionalnoi akademii nauk Ukrainy - Bulletin of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 7, 44-53. doi: doi.org/10.15407/vsn2017.07.044.
14. Garcia, J. I., Noriega-Portella, L. & Noriega-Hoces, L. (2011). Effect of vitrification procedure on chromosomal status of embryos achieved from vitrified and fresh oocytes. *Health*, 3 (7), 467-476. doi: 10.4236/health.2011.37077.
15. Gardner, D. K. & Schoolcraft, W. B. (1999). Culture and transfer of human blastocyst. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 11 (3), 307-311. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10369209>.
16. Harrison, R., Kuo, H., Scriven, P., Handyside, A. H. & Ogilvie, C. M. (2000). Lack of cell cycle checkpoints in human cleavage stage embryos revealed by a clonal pattern of chromosomal mosaicism analysed by sequential multicolour FISH. *Zygote*, 8 (3), 217-224. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11014501>.
17. Jung, Y. J. & Cheon, Y. P. (2014). Improvement of the vitrification method suppressing the disturbance of meiotic spindle and chromosome systems in mature oocytes. *Dev. Reprod.*, 18 (2), 117-125. doi: 10.12717/DR.2014.18.2.117.
18. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, & Leibo SP. (2005). Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed. Online*, 11 (3), 300-308. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16176668>.
19. Munne, S., Marquez, C., Magli, C., Morton, P. & Morrison, L. (1998). Scoring criteria for preimplantation genetic diagnosis of numerical abnormalities for chromosomes X, Y, 13, 16, 18 and 21. *Mol. Hum. Reprod.*, 4 (9), 863-870. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9783846>.
20. Yurchuk, T., Petrushko, M. & Fuller, B. (2018). Science of cryopreservation in reproductive medicine - Embryos and oocytes as exemplars. *Early Hum. Dev.*, 14, S0378-3782(18)30559-0. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2018.08.016.

References

1. Buderackaya, N. A. & Petrushko, M. P. (2010). Variableness of morphological parameters as a criterion for prognosis of effectiveness of cryoconservation of oocytes of a human [Variability of

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭМБРИОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ВИТРИФИЦИРОВАННЫХ ООЦИТОВ В ДОНАЦИОННЫХ ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Будерацька Н.А., Петрушко М.П., Гонтар Ю.В.

Аннотация. Факторы криоконсервирования могут приводить к нарушению молекулярного механизма нормальной сегрегации хромосом во время мейоза и увеличить количество анеуплоидий в эмбрионах. Цель исследования - изучение частоты хромосомных нерасхождений в эмбрионах, полученных после оплодотворения свежеевыделенных и криоконсервированных ооцитов. Исследование частоты анеуплоидий по хромосомам 13, 16, 18, 21, 22, X, Y проводили методом флуоресцентной гибридизации *in situ*. Статистические гипотезы проверяли с помощью критериев t , 2 при уровнях значимости $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$. В работе показано, что частота хромосомных нерасхождений в клетках эмбрионов, которые были получены из групп нативных и криоконсервированных ооцитов, была идентичной. Однако, отмечали увеличение частоты мозаициз-

ма в ембріонах, отриманих з криоконсервованих ооцитів. Неправильне розходження по певним хромосомам рідше виявляється серед ембріонів, отриманих з вітрифікованих ооцитів, що може свідчити про меншу життєспроможність ооцитів, які несуть порушення в кількості окремих хромосом. Ця робота є фрагментом НІР ІПКіК НАН України 2.2.6.58 "Вивчення впливу факторів криоконсервування методом вітрифікації на морфофункціональні характеристики репродуктивних кліток і ембріонів", номер держреєстрації 0116u003498.

Ключевые слова: криоконсервирование, витрификация, ооциты, эмбрионы, хромосомы.

GENETIC ANALYSIS OF EMBRYOS, OBTAINED FROM VITRIFICATED OOCYTES IN DONOR'S PROGRAMS OF ARTIFICIAL REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES

Buderatska N.O., Petrushko M.P., Gontar J.V.

Annotation. *The factors of cryopreservation can disrupt molecular mechanisms of normal chromosome's segregation during meiosis and to increase the number of aneuploidy in embryos. The aim of the paper was to determine the frequency of aneuploid embryos obtained from the thawed oocytes in comparison with the fresh embryo cycles. Preimplantation genetic testing for aneuploidy was performed using fluorescence in situ hybridization with the study of such chromosomes as 13, 16, 18, 21, 22, X, Y. Statistical hypotheses were checked using criteria t , 2 at levels of significance $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$. The results have shown that the embryos obtained from vitrified and fresh oocytes had identical frequency of chromosomal nondisjunctions. However, there was marked the increasing of the mosaicism frequency in the embryos get from thawed oocytes. Aneuploidies were rarer determine among the embryos obtained from vitrified oocytes, which may indicate a less viability of oocytes with violations in the number of certain chromosomes. This research is the fragment of SRW IPCandC NASU 2.2.6.58 "Study of influence of cryopreservation factors by the vitrification method on morphologically functional descriptions of reproductive cells and embryos", number of state registration 0116u003498.*

Keywords: cryopreservation, vitrification, oocytes, embryos, chromosomes.
