



**ПЕТРУШКО**  
**Марина Павлівна** —  
доктор біологічних наук,  
провідний науковий  
співробітник відділу кріобіології  
системи репродукції лабораторії  
кріоконсервування гамет  
та ембріонів Інституту проблем  
кріобіології і кріомедицини  
НАН України

## СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ РЕПРОДУКТИВНИХ КЛІТИН ТА ЕМБРІОНІВ ЛЮДИНИ

За матеріалами наукової доповіді на засіданні  
Президії НАН України 17 травня 2017 року

*У доповіді наведено результати досліджень з кріоконсервування гамет та ембріонів, які є основою для допоміжних репродуктивних технологій, що стрімко розвиваються протягом останнього десятиліття. Розкрито сучасний стан проблеми кріоконсервування репродуктивних клітин, визначено основні методи заморожування-відігріву, їх переваги та недоліки; з'ясовано фактори, які впливають на результативність кріоконсервування та безпеку цих процедур для нащадків. Основний акцент зроблено на вивченні впливу факторів кріоконсервування на морфофункціональні характеристики гамет та доїмплантаційних ембріонів людини (у клінічній медицині та в експериментальних дослідженнях).*

**Ключові слова:** кріоконсервування, репродуктивні клітини, доїмплантаційні ембріони.

**Вступ.** В останні десятиліття в Україні спостерігається тенденція до депопуляції, що спричинено, зокрема, падінням народжуваності. Сприятим поліпшенню демографічної ситуації може вирішення проблеми безплідного шлюбу, який становить до 15% від загальної кількості подружніх пар репродуктивного віку [1].

Кріоконсервування гамет і ембріонів є важливим аспектом допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ), які зараз стрімко розвиваються у світі. В Україні перша дитина після зачаття *in vitro* народилася в 1991 р. у Харкові. Це стало можливим завдяки злагодженій роботі команди професіоналів з Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (рис. 1).

Упровадження технологій кріоконсервування підвищило ефективність лікування безпліддя та кумулятивну частоту настання вагітності в лікувальних циклах, забезпечило біологічну безпеку використання донорських гамет та ембріонів шляхом дотримання карантину [2].

Науково-технічний прогрес у біології та медицині і насамперед розвиток репродуктивної кріобіології дають змогу на практиці забезпечити високу якість заморожено-відігрітих гамет і ембріонів для збереження генофонду сім'ї та народження здорових нащадків [3].

**Базові принципи кріоконсервування.** Створенню способів кріоконсервування гамет і ембріонів людини передували цикл теоретичних та експериментальних досліджень, проведених як представниками зарубіжних шкіл (Mazur, Leibo, Whittingham), так і харківською школою кріобіологів (М.С. Пушкар, В.І. Грищенко, Ф.І. Осташко, А.М. Білоус) і присвячених вивченню проникності цитоплазматичної мембрани клітин для води, іонів, кріопротекторів. Це дозволило обґрунтувати склад кріоконсервантів, способи їх додавання до біооб'єктів, параметри еквілібрації, режиму охолодження та відігріву [4, 5].

Досягнення в галузі кріоконсервування репродуктивних клітин та ембріонів пов'язані з відкриттям і подальшим розвитком уявлень про захисні речовини — кріопротектори. До кріопротекторів належать компоненти синтетичних середовищ, які відіграють роль стабілізаторів води та сприяють запобіганню або зменшенню змін, що настають при заморожуванні біологічних об'єктів.

Відповідно до характеру взаємодії з біологічними об'єктами, кріопротектори поділяють на ендоцелюлярні (ДМСО, 1,2-пропандіол, етиленгліколь, гліцерин) та екзоцелюлярні (сахароза, глюкоза, амід, фікол, протеїни та ліпопротеїни). Ендоцелюлярні, або проникаючі, кріопротектори знижують точку замерзання розчину, взаємодіють з мембранними структурами клітини, запобігають високій концентрації внутрішньо- та позаклітинних електролітів [6].

Непроникаючі кріопротектори збільшують осмотичний градієнт, завдяки якому відбувається дегідратація клітини перед процедурою охолодження. Крім того, механізм дії екзоцелюлярних кріопротекторів пояснюється здатністю зв'язування значної частини вільної води та зменшенням пошкоджень кристалами льоду.



**Рис. 1.** Команда, завдяки якій в Україні в 1991 р. народилася перша дитина після зачаття *in vitro*: академік НАН України В.І. Грищенко (крайній праворуч), к.м.н. В.І. Пінєєв (у центрі), к.б.н. Н.Н. Чуб (біля мікроскопа)

На сьогодні немає єдиної думки щодо вибору кріопротекторів. Цікавим є той факт, що біооб'єкти проявляють різну кріорезистентність під час застосування різних кріопротекторів.

Є кілька основних способів глибокого заморожування: повільне, швидке охолодження та надшвидке (методом вітрифікації). Швидкість охолодження залежить від складу і проникності клітинної мембрани для води, співвідношення об'єму клітини і площі її поверхні та від різниці осмотичного тиску по обидва боки мембрани.

Стандартним методом кріоконсервування гамет та ембріонів людини залишається метод повільного охолодження за спеціальними програмами з використанням, як правило, проникаючих кріопротекторів.

Для життєдіяльності кріоконсервованих біооб'єктів не менш важливим є процес відтавання. Переважно використовують швидке відігрівання, оскільки в разі повільного відігрівання може розвинутися внутрішньоклітинна рекристалізація.

Наступним важливим етапом є видалення кріопротекторів, що досягається поступовим переміщенням гамет та ембріонів у розчини кріопротекторів зі зниженою концентрацією.



Рис. 2. Спермії людини. Нативний препарат,  $\times 6000$

Залежно від інтенсивності ураження, його тривалості та характеру доля клітини може бути різною. У результаті uszkodження клітини можуть адаптуватися до фактора uszkodження, репарувати його, реактивувати після зняття впливу або необоротно змінитися і загинути. Розвиток процесу uszkodження клітин може зупинитися після закінчення несприятливого впливу. Якщо зміни в клітині не зайшли надто далеко, відбувається репарація клітинних uszkodжень, повернення клітини до нормального функціонального рівня.

Великі надії зараз покладають на метод надшвидкого заморожування. Цей метод потребує високих концентрацій добре проникаючих крізь мембрану кріопротекторів у поєднанні з малопроникаючими.

Загалом до способів кріоконсервування ставлять кілька принципових вимог: доступність, простота, висока ефективність, швидкість, безпека.

**Кріоконсервування сперматозоїдів.** На сьогодні спостерігається зростання чоловічого фактора безпліддя — до 50% безплідних шлюбів. Кріоконсервування сперміїв і розвиток допоміжних репродуктивних технологій допоможуть вирішити безліч проблем, пов'язаних із чоловічим безпліддям. Однак у багатьох випадках необхідне поліпшення методик кріоконсервування для підвищення якісних характеристик розмороженої сперми. Кріокон-

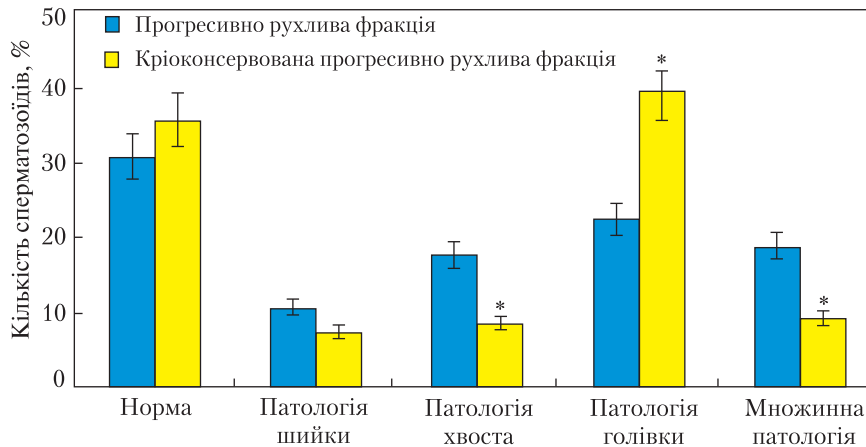
сервування спрямоване на збереження сперми й отримання після заморожування-відігріву еякуляту з властивостями, максимально наближеними до нативної сперми. При цьому структурно-функціональний стан сперміїв залежить від вибору режиму кріоконсервування та виду кріопротекторів.

Застосування збереженої за допомогою кріоконсервування сперми показане при лікуванні безпліддя у випадках майбутньої контрацептивної вазектомії, хіміотерапії, пацієнтам з онкологічними захворюваннями, для відтермінування лікувальних процедур, як профілактичний захід при плануванні сім'ї, з метою донорства. Кріоконсервування допомагає вирішити проблему збереження невеликої кількості одиничних сперматозоїдів, отриманих при біопсії яєчка або придатка яєчка (TESA, PESA) та мікрохірургічній аспірації сперматозоїдів із придатка яєчка (MESA).

За даними ВООЗ, якість сперми у чоловіків погіршується щороку, тому необхідні методи, які дозволяють підвищувати якість кріоконсервованої сперми. До найтяжчих причин чоловічого безпліддя належать олігоастенотератозооспермія та азооспермія. За даними різних авторів, цей стан може бути виявлено у 10% безплідних пацієнтів.

Кількість придатних до запліднення рухливих морфологічно нормальних сперматозоїдів може виявитися малою, а їх виділення з великих об'ємів еякулятів і тканинних біоптатів дуже трудомістким, з великими витратами часу. У разі високого ризику повторного неотримання цього унікального генетичного матеріалу або фізичної неможливості його одержання в наступних програмах допоміжних репродуктивних технологій потрібне кріоконсервування виділених одиничних сперматозоїдів.

Основна проблема збереження індивідуальних сперматозоїдів полягає в тому, що в процесі кріоконсервування і підготовки до безпосереднього використання їх можна втратити навіть у невеликих (близько кількох мікролітрів) об'ємах. Вирішити цю проблему дозволяють мікроконтейнери. Фізично локалізую-



**Рис. 3.** Частота морфологічних форм сперматозоїдів людини до і після кріоконсервування (\* значення, які статистично значуще різняться між групами ( $p > 0,05$ ))

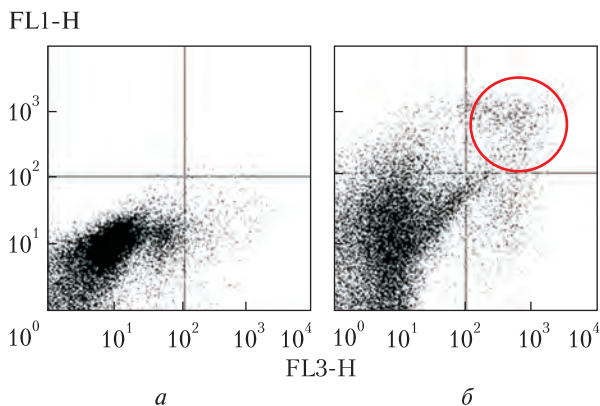
чи об'єкт у меншому об'ємі, мікроконтейнери значно спрощують і полегшують маніпуляції, пов'язані з обробкою кріопротекторами, розморожуванням і пошуком сперматозоїдів при заплідненні за допомогою методу ICSI (інтрацитоплазматична ін'єкція сперми). Незважаючи на велику кількість досліджень і запропонованих методик кріоконсервування при важких формах чоловічого безпліддя, питання вибору ефективного й безпечного методу кріоконсервування залишається відкритим. Тому актуальним є пошук методів кріоконсервування одиничних спермій, оскільки спермії, отримані при аспірації яєчка і придатка яєчка, є недостатньо зрілими і в умовах *in vitro* продовжують зазнавати структурних змін. Ці зміни в плазматичній мембрані на субклітинному рівні можуть вплинути на морфофункціональний стан спермій в процесі подальшого кріоконсервування.

Дослідження, присвячені розробленню й удосконаленню способів кріоконсервування сперматозоїдів із нормоспермічних еякулятів дозволили досягти високої збереженості кріоконсервованого матеріалу. Досить глибоко вивчено порушення рухливості спермій, плазматичної мембрани, акросоми, які виникають під час кріоконсервування [7].

У роботах Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України вирішуються актуальні науково-практичні завдання кріобіології та репродуктології, а саме: визначаються цитоморфологічні та функціональні характеристики спермій після кріоконсервування (рис. 2). Морфологічний аналіз спермій свідчить про те, що спермії з патологією голівки мають високий рівень виживання після кріоконсервування (рис. 3).

При олігоастенотератозооспермії варіантом вибору є проведення програми інтрацитоплазматичної ін'єкції морфологічно селектованого спермія в ооцит, оскільки ця технологія запобігає ймовірності запліднення ооцитів морфологічно аномальним спермієм, збільшує частоту фертилізації та поліпшує якість ембріонів в умовах *in vitro*.

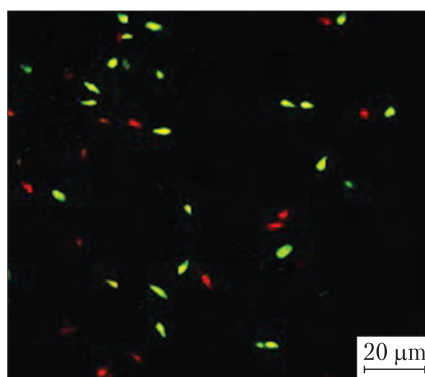
Підвищений рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів свідчить про наявність окисного стресу в сперматозоїдах у чоловіків з олігоастенотератозооспермією, рівень якого зростає після процедури заморожування-відігріву та досягає максимальних значень після накопичення спермій для подальшого запліднення ооцитів *in vitro* [8]. При цьому рівень апоптозу та некрозу в еякуляторних і тестикулярних сперматозоїдах зростає (рис. 4). Ці процеси



**Рис. 4.** Цитограма спермійв, мічених Annexin V/7AAD: *a* – прогресивно рухлива фракція; *б* – криоконсервована прогресивно рухлива фракція; коло – накопичення кількості клітин з апоптозом та некрозом

індукують фрагментацію ДНК у сперміях, що може вплинути на подальший розвиток ембріонів та виникнення генетичних аномалій (рис. 5).

Параметр стану ДНК спермійв має самостійне діагностичне і прогностичне значення для пацієнтів із безпліддям. Незважаючи на те, що механізм утворення розривів ще не до кінця зрозумілий, дослідження фрагментації ДНК сперматозоїдів може бути ефективним прогностичним інструментом, що виявляє чоловічий фактор порушення фертильності [8].

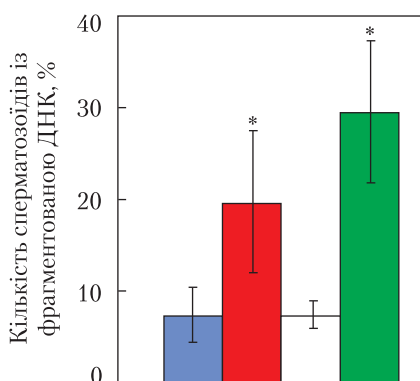


**Рис. 5.** Цілісність ДНК у нативних та криоконсервованих сперматозоїдах при нормо- та патоспермії, забарвлення акридин оранжевим (\* статистично значущі відмінності порівняно з нормозооспермією ( $p < 0,05$ ))

Отримані дані є підставою для розроблення нових підходів у лікуванні безпліддя методами допоміжних репродуктивних технологій із застосуванням криоконсервованих спермійв. Такі результати допоможуть знизити ймовірність використання гамет із генетичними аномаліями, збільшити частоту настання вагітності і гарантувати народження здорової дитини.

**Кріоконсервування ооцитів.** Кріоконсервування ооцитів набуває все більшої актуальності в програмах допоміжних репродуктивних технологій, оскільки дозволяє уникнути етичних і правових проблем, пов'язаних із кріоконсервуванням ембріонів [9]. Збереження ооцитів є необхідним для жінок, що мають ризик передчасної втрати функції яєчників унаслідок доброякісних чи злоякісних новоутворень. Разом з тим проведене лікування згубно впливає на фолікулярний апарат яєчників, спричинюючи їх передчасне виснаження й аменорею.

У ряді випадків є можливість провести стимуляцію яєчників і отримати здорові яйцеклітини до початку лікування. Кріоконсервування ооцитів дає змогу зберегти репродуктивну функцію, що особливо важливо для незаміжніх жінок і підлітків. Аутодонорство заморожених ооцитів дозволяє вирішити проблему їх «старіння» та підвищення ризику хромосомних аномалій ембріонів у жінок, які плану-



ють материнство в пізньому репродуктивному віці. Кріоконсервування також дає можливість зберегти зайві ооцити, отримані при пункції фолікулів, у країнах з мораторієм на заморожування ембріонів (Італія, Німеччина, країни Середнього та Близького Сходу).

Донорство ооцитів широко використовується при лікуванні безпліддя у жінок із передчасним виснаженням яєчників, у пацієнок, які перенесли двосторонню оофоректомію, рідше — у жінок старшого віку, які перебувають у менопаузі. Використання методики заморожування ооцитів дозволяє істотно полегшити виконання цієї програми, оскільки усуває необхідність синхронізації циклів донора і реципієнта. Більш того, удосконалення програм кріоконсервування в останні роки привело до створення банків ооцитів, що нині успішно функціонують (рис. 6).

Одним із перспективних напрямів кріоконсервування є створення банку цитоплазми ооцитів для перенесення ядер з метою терапевтичного клонування.

Тривалий час не вдавалося кріоконсервувати ооцити. Відмінності у властивостях плазматичних мембран не дозволяли використовувати



Рис. 6. Ооцити людини. Нативний препарат,  $\times 400$

ти стандартні протоколи кріоконсервування для заморожування ооцитів. Крім того, ооцит є однією з найбільших клітин і завдяки своїй сферичній формі має найнижче співвідношення площі поверхні до об'єму порівняно з іншими типами клітин. Зрілі ооцити перебувають на стадії другого мейотичного поділу (М II) і чутливі до фізичних і хімічних факторів. На виживання ооцитів впливає стан клітин гранульози та кумулюсу. Показано, що денудація кумулюсу підвищує частоту їх виживання. При аспірації фолікулів отримують гетерогенний пул ооцитів на різних стадіях мейозу. Ступінь

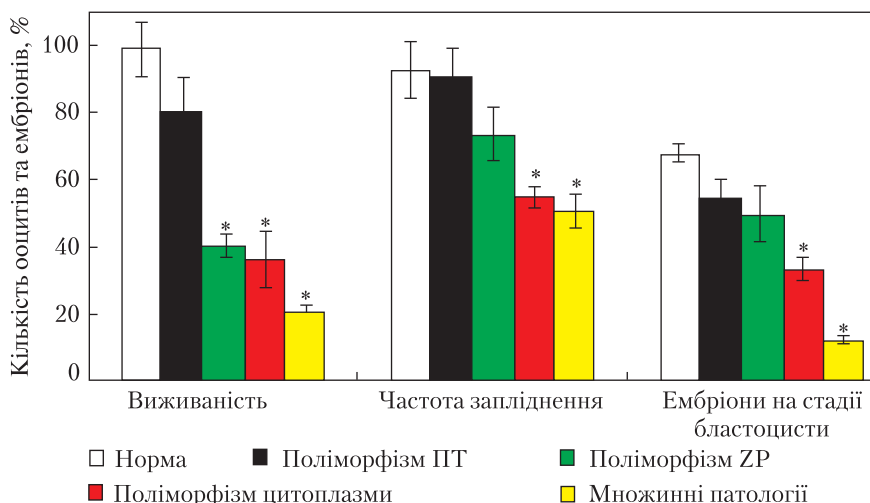
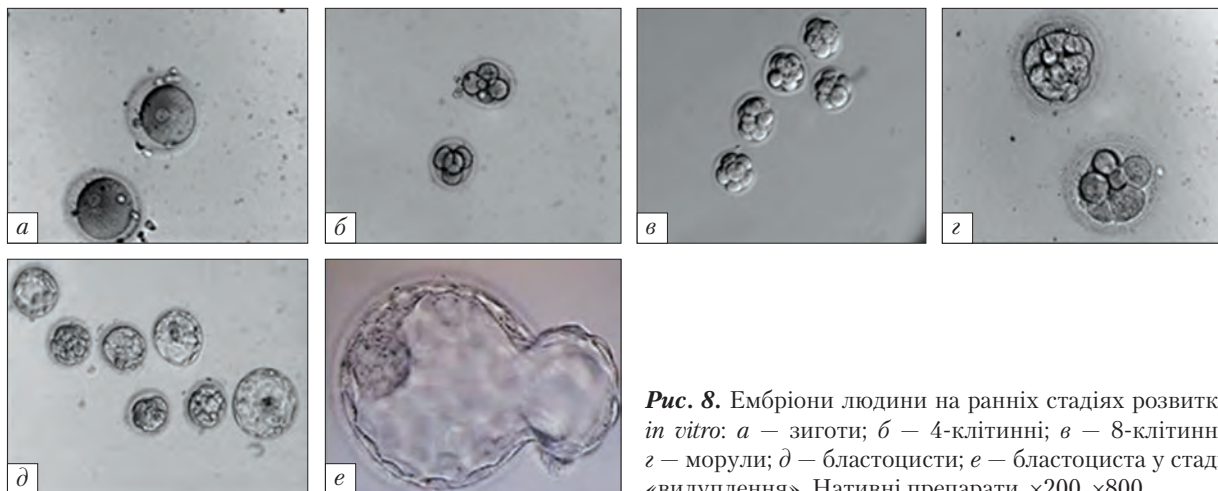


Рис. 7. Основні ембріологічні показники ооцитів людини після кріоконсервування залежно від їх основних морфофункціональних характеристик (\* статистично значущі відмінності порівняно з групою ооцитів з нормальною морфологією ( $p < 0,05$ ))



**Рис. 8.** Ембріони людини на ранніх стадіях розвитку *in vitro*: а – зиготи; б – 4-клітинні; в – 8-клітинні; з – морули; д – бластоцисти; е – бластоциста у стадії «вилуплення». Нативні препарати,  $\times 200$ ,  $\times 800$

зрілості впливає на їх кріорезистентність. Незрілі ооцити, на відміну від зрілих, перебувають у стадії профазі I (стадія гермінативного пухирця), і їхній апарат поділу менш чутливий до перепадів температури. Внаслідок цього ризик пошкодження веретена поділу й формування анеуплоїдії теоретично нижчий, ніж у зрілих ооцитів.

Важливе значення має вихідний стан клітин перед кріоконсервуванням. Так, ооцити з поліморфізмом *Zona pellucida* мають нестабільні показники виживання, що потребує індивідуалізації протоколів кріоконсервування. Показниками виживання є інтактна *Zona pellucida* і клітинна мембрана, нормальні розміри перивітелінового простору, відсутність підтікання цитоплазми і деформації ооцита (рис. 7).

*Locus minoris resistentiae* в ооцитах людини — це веретено поділу. В разі незначного зниження температури відбувається швидка деполімеризація мікротрубочок веретена поділу, що може привести до нерозходження хроматид, анеуплоїдії та формування ембріонів із хромосомними аномаліями. Наразі не отримано переконливих доказів щодо негативного впливу факторів кріоконсервування на генетичний апарат ооцитів. Відомості про підвищення анеуплоїдій поки що суперечливі та вимагають подальшого вивчення [10].

**Кріоконсервування ембріонів.** За визначенням ВООЗ, спроба лікування безпліддя

методами допоміжних репродуктивних технологій вважається успішною, якщо в результаті отримано нормально розвинуту одноплідну вагітність [11]. Багатоплідну вагітність розглядають як ускладнення, оскільки зростає ризик передчасних пологів, народження дітей низької ваги та виникнення інших медичних, соціальних та економічних проблем.

Збереження репродуктивного матеріалу, з одного боку, дозволяє відтермінувати або продовжити лікування пацієнтки в разі виникнення небезпечних чи незрозумілих ситуацій, наприклад у випадках загрози розвитку важкої клінічної картини синдрому гіперстимуляції яєчників, а з іншого — дає можливість утриматися від перенесення ембріонів до матки в поточному менструальному циклі і здійснити його в наступних циклах. Найбільше значення має кріоконсервування ембріонів, що залишилися після перенесення в порожнину матки пацієнтки. За відсутності вагітності ембріони можна перенести до матки в наступних циклах, які не потребують повторної стимуляції суперовуляції та отримання яйцеклітин, що підвищує ефективність лікування.

Питання, які стосуються впровадження в практику кріоконсервування ембріонів та їх використання при лікуванні безпліддя, потребують істотного вдосконалення, оскільки необхідно гарантувати не тільки морфофунк-

ціональну, а й генетичну повноцінність кріоконсервованих ембріонів.

Однією з проблем у техніці ведення пацієнток, узятих в цикл лікування безпліддя методами допоміжних репродуктивних технологій, є труднощі ведення лютеїнової фази після введення екзогенних менопаузального і хоріонічного гонадотропінів. Великий вміст прогестерону викликає штучну лютеїнову фазу, несумісну з ростом плоду. Кріоконсервування ембріонів дозволяє переносити ембріони в будь-якому наступному циклі, в якому нормалізується ендокринний статус жінки.

Ефективність методів кріоконсервування ґрунтується на морфологічній оцінці ембріонів після відтавання, а саме, на обліку кількості неушкоджених бластомерів і ступеня фрагментації цитоплазми [12].

Незважаючи на широке використання методів кріоконсервування репродуктивних клітин та ембріонів людини, ще не отримано переконливих доказів безпеки цієї процедури для генетичного апарату. Так, відомі випадки поліплоїдії, анеуплоїдії, мозаїчних ембріонів після перенесення деконсервованих ембріонів. Спостереження за дітьми, народженими після перенесення деконсервованих ембріонів, не дозволяють зробити остаточні висновки про безпеку цієї процедури для їх фізичного та розумового розвитку. Дискусійним на сьогодні залишається й питання оптимальної стадії розвитку ембріона, на якій він здатний перенести умови глибокого охолодження.

В Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України розроблено методи кріоконсервування доімплантаційних ембріонів людини від стадії зиготи до бластоцисти та хетчингу (рис. 8).

Ембріони 2–3-ї доби культивування характеризуються наявністю позаклітинних цитоплазматичних фрагментів. Відомо, що фрагментація контролюється деякими генетичними механізмами і розвивається в першому клітинному циклі. Ймовірно, що різке зростання цитоплазматичної фрагментації відбувається внаслідок руйнування окремих бластомерів

при кріоконсервуванні, що може свідчити про генетично детерміновану загибель ембріонів на ранніх етапах дроблення.

Прогностичним критерієм виживання ембріонів після кріоконсервування є наявність гладкої мембрани. Розрив, проколи, випинання знижують потенціал дроблення. Утворення проломів, макропор свідчить про порушення проникності мембрани. Потовщення *Zona pellucida* виникає з різних причин і може впливати на мембранну проникність. Щільний міжклітинний контакт бластомерів, поряд з іншими морфологічними характеристиками, є прогностичним критерієм життєздатності ембріонів. Так, чим щільніший контакт, тим вища частота імплантації ембріонів.

Крім морфологічних критеріїв на ефективність протоколів кріоконсервування може впливати стадія розвитку доімплантаційних ембріонів. Так, для стадії експандованої бластоцисти застосування методики колапсування (зменшення кількості внутріклітинної води на етапі підготовки до заморожування) сприяє підвищенню рівня виживання ембріонів, а також ряду клінічних показників, таких як індекс імплантації, частота настання вагітності. Отже, індивідуалізація протоколів заморожування є необхідним напрямом удосконалення процедури кріоконсервування [13].

Проте залишається відкритим ще цілий спектр питань впливу факторів кріоконсервування на морфофункціональні характеристики ембріонів людини. Зокрема, не отримано переконливих доказів безпеки процедури кріоконсервування, тривалого зберігання і відігріву для генетичного апарату ембріонів людини.

Кріобіологія належить до тих галузей сучасної науки, які за останні роки досягли значних успіхів і сьогодні демонструють вражаючі практичні результати. Перспективність нових досліджень у галузі збереження генетичного ресурсу людини і поява нових біотехнологій дають можливість застосовувати на практиці методи сучасної кріобіології для збереження генофонду української нації.



## REFERENCES

1. *Reproductive health indicators for global monitoring: guidelines for their generation, interpretation and analysis for global monitoring*. (Geneva: World Health Organization, 2010). [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43185/1/924156315X\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43185/1/924156315X_eng.pdf)
2. Petrushko M.P. Application of cryopreserved human embryo in the assisted reproductive technologies. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2000. **10**(1): 71.  
[Петрушко М.П. Использование криоконсервированных эмбрионов человека во вспомогательных репродуктивных технологиях. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2000. № 1. С. 71–75.]
3. Grischenko V.I., Korieika E.F., Petrushko M.P. Problems of cryobiology and genetic resources preservation. Preservation of genetic resources: Proc. Int. Conf. *Tsitologiya*. 2004. **46**(9): 784.  
[Грищенко В.И., Копейка Е.Ф., Петрушко М.П. Сохранение генетических ресурсов: матер. междунар. конф. *Цитология*. 2004. Т. 46, № 9. С. 784.]
4. Belous A.M., Grischenko V.I. *Cryobiology*. (Kyiv: Naukova Dumka, 1994).  
[Белоус А.М., Грищенко В.И. *Криобиология*. К.: Наук. думка, 1994.]
5. Pushkar N.S. *The Questions of Bioobjects Cryopreservation*. (Kyiv: Naukova Dumka, 1978).  
[Пушкар Н.С. *Вопросы криоконсервирования биологических объектов*. К.: Наук. думка, 1978.]
6. Pushkar N.S., Shrago M.I., Belous A.M., Kalugin Yu.V. *Cryoprotectants*. (Kyiv: Naukova Dumka, 1978).  
[Пушкар Н.С., Шраго М.И., Белоус А.М., Калугин Ю.В. *Криопротекторы*. К.: Наук. думка, 1978.]
7. Katkov I.I., Bolyukh V.F., Chernetsov O.A., Dudin P.I., Grigoriev A.Y., Isachenko V., Isachenko E., Lulat A.G.-M., Moskovtsev S.I., Petrushko M.P., Pinyaev V.I., Sokol K.M., Sokol Y.I., Sushko A.B., Yakhnenko I. Kinetic vitrification of spermatozoa of vertebrates: what can we learn from nature? In: *Current Frontiers in Cryobiology*. (InTech, 2012). P. 3–40. DOI: 10.5772/34784.
8. Petrushko M., Pavlovich O., Pinyaev V., Volkova N. DNA fragmentation and lipid peroxidation processes of human sperm cells at normo- and pathospermia. *Visnyk of Lviv University. Series Biology*. 2016. **74**: 97.  
[Петрушко М., Павлович О., Пиняев В., Волкова Н. Фрагментація ДНК і процеси перекисного окислення ліпідів у сперміях людини при нормо- та патоспермії. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2016. Вип. 74. С. 97–103.]
9. Vuderatska N.O., Petrushko M.P. Oocytes as Alternative to Embryos in Cryopreservation Applied in Assisted Reproductive Technologies. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2016. **26**(4): 375.  
[Будерацька Н.О., Петрушко М.П. Ооцити як альтернатива ембріонам при криоконсервуванні для використання у допоміжних репродуктивних технологіях. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2016. Т. 26, № 4. С. 375–382.]
10. Petrushko M.P. Cytogenetic analysis of unfertilized human oocytes. *Tsitologiya i genetika (Cytology and Genetics)*. 2003. **37**(6): 60.  
[Петрушко М.П. Цитогенетический анализ неоплодотворенных ооцитов человека. *Цитология и генетика*. 2003. Т. 37, № 6. С. 60–65.]
11. Bolton V.N., Leary C., Harbottle S., Cutting R., Harper J.C. How should we choose the 'best' embryo? A commentary on behalf of the British Fertility Society and the Association of Clinical Embryologists. *Human Fertility*. 2015. **18**(3): 156.
12. Petrushko M.P., Piniayev V.I., Pravdina S.S., Podufalii V.V., Chub N.N. Monozygotic monoamniotic triplets after one blastocyst transfer (a case report). *Problemy reproduktivnoy meditsiny*. 2013. (3): 47.  
[Петрушко М.П., Пиняев В.И., Правдина С.С., Подуфалий В.В., Чуб Н.Н. Монозиготная моноамниотическая тройня после переноса одной бластоцисты. Описание случая. *Проблемы репродукции*. 2013. № 3. С. 47–48.]
13. Yurchuk T., Petrushko M., Pinyaev V. Efficiency of Human Expanded Blastocyst Cryopreservation using Vitrification and Collapsing. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2016. **26**(2): 167.  
[Юрчук Т.А., Петрушко М.П., Пиняев В.И. Эффективность криоконсервирования экспандированных бластоцист человека методом витрификации с использованием коллапсирования. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. 2016. Т. 26, № 2. С. 167.]

*M.P. Petrushko*

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine  
of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv)

CURRENT STATE OF CRYOPRESERVATION  
OF REPRODUCTIVE CELLS AND EMBRYOS

According to the scientific report at the meeting  
of the Presidium of NAS of Ukraine, May 17, 2017

The report presents the results of the studying of gametes and embryos cryopreservation, being the basis for the assisted reproductive technologies (ART) rapidly developing during the recent decade. The state of the ART problem of reproductive cells cryopreservation has been covered, the basic methods of cryopreservation, their advantages and disadvantages were defined; the factors affecting the efficiency and safety of these procedures for next generations were found. The investigation of cryopreservation factors which influence morphological and functional characteristics of gametes and preimplantation embryos (in clinical medicine and experimental studies) was strongly emphasized.

**Keywords:** cryopreservation, reproductive cells, preimplantation embryos.