

© А. С. Калугина, Я. Н. Кравчук,
С. А. Шлыкова, О. В. Быстрова,
Ю. К. Каменецкая, Ю. Г. Зубова

кафедра репродуктивного здоровья женщин
СЗГМУ им. И.И. Мечникова, клиника
АВА-ПЕТЕР, Санкт-Петербург

Влияние качества полученных эмбрионов на исходы программ криоконсервации при сравнении методов медленного замораживания и витрификации в циклах ВРТ

УДК: 618.177-089.888.11-07

■ Целью исследования явилось изучение влияния протоколов с агонистами и антагонистами гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) на качество получаемых эмбрионов, а также сравнение эффективности применения различных методов криоконсервации эмбрионов — метода витрификации и медленного замораживания. Было показано, что метод витрификации обеспечивает лучшую выживаемость эмбрионов, приводит к повышению частоты наступления беременности. Влияния вида протокола контролируемой овариальной гиперстимуляции (КОГ) на количество полученных эмбрионов отличного и хорошего качества найдено не было.

■ **Ключевые слова:** бесплодие; криоконсервация; витрификация; медленное замораживание; качество эмбрионов; агонисты ГнРГ; антагонисты ГнРГ.

Введение

Совершенствование вспомогательных репродуктивных технологий привело к возможности получения большего числа жизнеспособных эмбрионов, пригодных к последующему переносу. Кроме того, учитывая осложнения, связанные с многоплодной беременностью, в настоящее время имеется тенденция к уменьшению числа переносимых эмбрионов. Поэтому криоконсервация оставшихся невоплощенных эмбрионов стала необходимой процедурой, позволяющей увеличить кумулятивную частоту наступления беременности, избежать повторных циклов стимуляции суперовуляции, снизить риск развития синдрома гиперстимуляции яичников [10, 17, 19]. В настоящий момент существуют два основных метода криоконсервации: метод медленного замораживания и активно развивающийся в последние несколько лет метод витрификации.

Следуя технологии метода медленного замораживания, эмбрионы постепенно подвергают воздействию относительно низких концентраций криопротекторов, после чего происходит их медленное охлаждение в так называемых «программируемых замораживателях».

В основе метода витрификации лежит ультрабыстрая технология охлаждения, в результате которой удается избежать образования кристаллов льда, повреждающих клетку. В ходе процедуры эмбрионы сначала подвергают воздействию более высоких по сравнению с методом медленного замораживания концентраций криопротекторов, а затем погружают непосредственно в жидкий азот.

В современной литературе широко дискутируется оптимальная стадия развития эмбрионов и эффективность применения различных методов криоконсервации. Эти исследования достаточно противоречивы. По данным разных авторов, выживаемость витрифицированных эмбрионов на стадии 2 пронуклеусов колеблется в пределах 81–93 % (Park et al., 2000 [23], Jelinkova et al., 2002 [22]), достигая по некоторым данным 100 % (Kuwayama et al., 2005) [7]. В то время как этот показатель при использовании метода медленного замораживания не превышает 89 % (Kuwayama et al., 2005) [7]. Кроме того, Al-Hasani et al. в 2007 [21] году получили более высокую частоту наступления беременности после витрификации (36,9 %) по сравнению с медленным замораживанием (10,2 %). Выживаемость эмбрионов 3 дня развития после витрификации достигает 94–98 %, а частота наступления беременности — 35–53 % (Kuwayama et al., 2005, Balaban et al., 2008, Rama Raju, 2005). Эти показатели при применении метода медленного замораживания оказались 76–91 % и 12–51 % соответственно (Chi et al., 2002 [9], Kuwayama et al. 2005 [7], Rama Raju 2005 [28]).

В исследованиях, проведенных Stehlik et al. в 2005 году, выживаемость blastocист при использовании метода медленного замораживания составила 83,1%, а частота наступления беременности не превышала 16,7%. В то время как эти показатели при использовании витрифицированных blastocист достигли 100 и 50% соответственно. Однако в исследовании, проведенном Leiberman и Tucker в 2006 [16] году, метод витрификации приводил к такой же выживаемости (96,5%) и частоте наступления беременности (46,1%), что и метод медленного замораживания (92,1 и 42,9%). Многоцентровое исследование, проведенное Kuwayama et al. в 2005, в котором было задействовано более 6000 blastocист, показало, что выживаемость после витрификации составила 90,0%, а частота наступления беременности 53,0%. В то время как после медленного замораживания эти показатели были ниже — 84,0 и 51,0% соответственно.

Перенос эмбрионов на стадии blastocисты, ставший возможным благодаря улучшению системы культивирования, привел к увеличению частоты наступления беременности, повысив тем самым эффективность вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [4, 8]. Поэтому обоснование оптимального метода криоконсервации, обеспечивающего лучшую выживаемость эмбрионов на стадии blastocисты, является актуальной задачей. Кроме того, представляет интерес изучение влияния качества эмбрионов на результаты переноса эмбрионов после криоконсервации.

В связи с этим целью исследования явилась оценка влияния вида протокола КОГ на качество полученных эмбрионов, сравнение выживаемости эмбрионов 5-го дня развития после криоконсервации методом медленного замораживания и витрификации, сравнение частоты наступления беременности после переноса эмбрионов, криоконсервированных разными способами, а также изучение влияния качества переносимых эмбрионов на частоту наступления беременности.

Методика

В исследование включены 69 пациенток в возрасте от 23 до 40 лет, которым проводилось лечение в период с августа по декабрь 2011 года с использованием криоконсервированных эмбрионов. У всех пациенток, включенных в исследование, беременность не наступила при переносе «свежих» эмбрионов в проведенных ранее протоколах ВРТ.

В зависимости от вида примененного протокола КОГ пациентки разделены на 2 группы. В 1-й группе (n=35) с целью предотвращения пика ЛГ применяли антагонисты ГнРГ (Оргалутран,

Цетротид), во 20-й группе (n=34) — аналог гонадолиберина (Диферелин, Декапептил) по длинному протоколу. В обеих группах КОГ проводили препаратами рекомбинантных гонадотропинов (Гонал-Ф, Пурегон). Стартовую дозу подбирали в зависимости от показателей овариального резерва. Стимуляцию суперовуляции проводили до дня достижения лидирующим фолликулом 18–20 мм, после чего назначали «овуляторную» дозу хорионического гонадотропина (ХГ) (Прегнил, Овитрель). Через 36 часов после инъекции ХГ проводили трансвагинальную пункцию фолликулов с целью аспирации преовуляторных ооцитов. Для получения эмбрионов использовали методику инсеминации ооцитов и ИКСИ. Полученные эмбрионы культивировали в течение 5 дней. Оценку качества эмбрионов проводили на основании принятых стандартов в клинике по Гарднеру. Оставшиеся после переноса в полость матки blastocисты и морулы отличного и хорошего качества были криоконсервированы. В зависимости от метода криоконсервации эмбрионов повторно сформированы 2 группы. В 1-й группе пациенток (n=36) для криоконсервации эмбрионов применялся метод витрификации. Во 2-й группе (n=33) эмбрионы криоконсервированы методом медленного замораживания.

Витрификацию осуществляли с использованием набора для витрификации Kitazati Cryotop Safety Kit Vittrification #VT 401. Криоконсервацию методом медленного замораживания проводили с использованием сред для замораживания эмбрионов Blast Freeze фирмы MediCult и программируемых фризеров Cryologic или PLaner. Успешно размороженные эмбрионы либо переносили в полость матки, либо повторно криоконсервировали. Количество переносимых эмбрионов не превышало 2. Оценку частоты наступления беременности проводили в расчете на перенос эмбрионов.

Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с использованием программной системы STATISTICA for Windows версия 5.5. Сопоставление частотных характеристик качественных показателей проводили с помощью непараметрических методов χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса (для малых групп), критерия Фишера. Сравнение количественных параметров, в исследуемых группах осуществляли с использованием критериев Манна-Уитни, Вальда, медианного хи-квадрат и модуля ANOVA. Критерием статистической достоверности получаемых выводов мы считали общепринятую в медицине величину $P < 0,05$. Полученные данные представлены в виде средней арифметической, включая стандартное отклонение.

Результаты исследования

Пациентки в группах с различными протоколами КОГ статистически значимо не различались по длительности и причинам бесплодия ($P > 0,05$). И, хотя, между возрастом пациенток обнаружено достоверное различие ($P < 0,05$), указанный параметр колебался от 23 до 40, т.е. все пациентки обеих групп были репродуктивного возраста (табл. 1).

В каждой группе было проведено 37 попыток. В группе с использованием антагонистов ГнРГ у 34 пациенток была 1 попытка, у 1 пациентки — 3 попытки. В группе с использованием агонистов ГнРГ у 31 пациентки была 1 попытка, у 3 пациенток — 2 попытки. Результаты КОГ по короткому протоколу с применением антагонистов ГнРГ и длинному протоколу с применением агонистов ГнРГ представлены в таблице 2.

Из анализа представленных данных можно заключить следующее. В 1 группе удалось по-

лучить несколько большее количество ооцитов и зигот с нормальной морфологией по сравнению со 2 группой, но различие было статистически не достоверным ($P > 0,05$). К 5 дню в обеих группах среди эмбрионов преобладали blastocysts хорошего качества. Количество blastocysts и морул отличного и хорошего качества значимо не различалось между двумя группами ($P > 0,05$). Таким образом, влияния исследуемых протоколов КОГ на количество эмбрионов отличного и хорошего качества найдено не было.

Пациентки в группе витрификации и медленного замораживания статистически значимо не различались по возрасту, по длительности и причинам бесплодия ($P > 0,05$) (табл. 3).

Данные о проведении и результатах протоколов переноса эмбрионов после криоконсервации в группе медленного замораживания и витрификации представлены в таблице 4.

Выживаемость всех эмбрионов после витрификации статистически значимо превышала выживаемость эмбрионов, криоконсервированных методом медленного замораживания ($P < 0,001$). Этот показатель составил 87,5% и 63,6% соответственно. При сравнении выживаемости blastocysts и морул отличного и хорошего качества получены следующие результаты. Выживаемость blastocysts отличного качества достоверно не различалась между 1-й и 2-й группами, она составила 89,5% и 84,0% соответственно ($P > 0,05$). При этом выживаемость blastocysts хорошего качества после витрифи-

Таблица 1
Распределение пациенток по возрасту, длительности и причинам бесплодия в зависимости от протокола КОГ

Параметр	Протокол с ант-ГнРГ (n=35)	Протокол с аг-ГнРГ (n=34)
Возраст	31,5±4,4*	33,9±3,7*
Длительность бесплодия	4,7±3,5	5,3±3,4
Причина бесплодия n(%)		
Трубно-перитонеальное	15 (42,8)	18 (53,0)
Мужской фактор	13 (37,2)	6 (17,6)
СПКЯ	2 (5,7)	1 (2,9)
Обусловленное эндометриозом	2 (5,7)	5 (14,8)
Идиопатическое	2 (5,7)	3 (8,8)
Отсутствие полового партнера	1 (2,9)	1 (2,9)
*- различия между выделенными параметрами статистически достоверны ($p < 0,05$)		

Таблица 2
Показатели эмбриогенеза в зависимости от протокола КОГ

Параметр	Протокол с ант-ГнРГ (n=37)	Протокол с аг-ГнРГ (n=37)
Количество ооцитов	739	673
Количество ооцитов с 2 PN n(%)	516 (69,8%)	461 (68,5%)
Эмбрионы отличного качества n(%)	94 (18,2%)	95 (20,6%)
Бlastocysts	78 (15,1%)	75 (16,3%)
Морулы	16 (3,1%)	20 (4,3%)
Эмбрионы хорошего качества	190 (36,8%)	166 (36,0%)
Бlastocysts	152 (29,4%)	125 (27,1%)
Морулы	38 (7,4%)	41 (8,9%)

Таблица 3
Распределение пациенток по возрасту, длительности и причинам бесплодия в зависимости от метода криоконсервации

Параметр	Группа 1 Витрификация (n=36)	Группа 2 Медленное замораживание (n=33)
Возраст	32,5±4,0	32,6±4,0
Длительность бесплодия	4,1±2,5	5,6±3,7
Причина бесплодия n(%)		
Трубно-перитонеальное	18 (50,0)	15 (45,5)
Мужской фактор	11 (30,5)	8 (24,3)
СПКЯ	1 (2,8)	2 (6,0)
Обусловленное эндометриозом	3 (8,4)	4 (12,2)
Идиопатическое	2 (5,5)	3 (9,0)
Отсутствие полового партнера	1 (2,8)	1 (3,0)

кации (91,0%) оказалась достоверно выше по сравнению с методом медленного замораживания (66,0%) ($P < 0,001$). Выживаемость морул отличного и хорошего качества хоть и была выше в группе витрификации (100%, 73,7% против 56,5%, 31,6%) различия были статистически не достоверны в силу малого числа наблюдений (рис. 1).

Таким образом, метод витрификации по сравнению с методом медленного замораживания обеспечивает в целом лучшую выживаемость эмбрионов 5-го дня развития. При этом наиболее высокие результаты наблюдались при витрификации blastocyst и морул отличного качества. В то время как метод медленного замораживания приводил к относительно высокой выживаемости лишь blastocyst отличного качества.

Частота наступления беременности после переноса витрифицированных эмбрионов со-

ставляла 52,2%. В то время как этот показатель во 2-й группе был достоверно ниже и составил 22,4% ($P < 0,01$). Таким образом, благодаря применению метода витрификации удалось повысить частоту наступления беременности при переносе размороженных эмбрионов в 2,3 раза. Количество многоплодных беременностей достоверно не различалось между исследуемыми группами ($P > 0,05$). Влияния качества переносимых эмбрионов на наступление беременности найдено не было. При этом в группе витрификации была установлена корреляционная связь ($P < 0,05$) между стадией переносимого эмбриона и частотой наступления беременности. В группе медленного замораживания имела такая же тенденция, но статистически не достоверная в связи, по-видимому, с малым числом наблюдений. Таким образом, при переносе blastocyst (1–2) хорошего и/или отличного качества беременность в обеих группах наступала чаще.

Таблица 4.

Результаты применения метода витрификации и медленного замораживания.

Параметр	Группа 1 Витрификация (n=36)	Группа 2 Медленное замораживание (n=33)
<i>Количество замороженных эмбрионов:</i>		
<i>Всего</i>	179	243
Бlastocysty отличного качества n(%)	38 (21,2%)	36 (14,8%)
Морулы отличного качества	9 (5,0%)	24 (9,9%)
Бlastocysty хорошего качества	98 (54,8%)	145 (59,7%)
Морулы хорошего качества	34 (19,0%)	38 (15,6%)
<i>Количество размороженных эмбрионов:</i>		
<i>Всего</i>	96	176
Бlastocysty отличного качества n(%)	19 (19,8%)	25 (14,2%)
Морулы отличного качества	2 (2,0%)	19 (10,8%)
Бlastocysty хорошего качества	56 (58,4%)	109 (61,9%)
Морулы хорошего качества	19 (19,8%)	23 (13,1%)
<i>Количество перенесенных эмбрионов:</i>		
<i>Всего</i>	83	112
Бlastocysty отличного качества n(%)	17 (20,5%)	21 (18,7%)
Морулы отличного качества	(2,4%)	6 (5,3%)
Бlastocysty хорошего качества	50 (60,2%)	72 (64,4%)
Морулы хорошего качества	14 (16,9%)	13 (11,6%)
Повторно криоконсервировано	1 (blastocysta хорошего качества)	0
<i>Количество попыток с переносом эмбрионов после криоконсервации</i>		
<i>Количество пациенток с 1 попыткой n(%)</i>	46	58
Количество пациенток с 2 попытками	27 (75,0%)	15 (45,5%)
Количество пациенток с 3 попытками	8 (22,2%)	13 (39,4%)
Количество пациенток с 4 попытками	1 (2,8%)	4 (12,1%)
	0 (0,0%)	(3,0%)
<i>Количество полученных беременностей</i>		
<i>Одноплодных n(%)</i>	24	13
Многоплодных (двоен)	18 (75,0%)	9 (69,2%)
Количество пациенток, у которых получены беременности	6 (25,0%)	4 (30,8%)
	23 (63,9%)	13 (39,4%)

Обсуждение результатов

Проведенные многочисленные исследования, сравнивающие эффективность протоколов КОГ с применением агонистов и антагонистов ГнРГ, в основном сфокусированы на клинических результатах. При этом влияние агонистов и антагонистов ГнРГ на качество полученных эмбрионов и их развитие остается малоизученным.

В исследовании, проведенном Murber et al. в 2009 году, результаты сравнения эффективности протоколов с использованием антагонистов и агонистов ГнРГ несколько отличаются от полученных нами. Так, в группе антагонистов количество аспирированных фолликулов и полученных ооцитов было достоверно ниже по сравнению с группой, где применялись агонисты ГнРГ. При этом, доля ооцитов с 2 PN, а также количество эмбрионов 2-го дня развития хорошего и отличного качества оказались одинаковыми в обеих группах. По данным, представленным Kurzava et al. в 2008 году, проводивших сравнение результатов применения указанных протоколов у пациенток с СПКЯ и нормальным индексом массы тела, достоверного различия между группами по количеству полученных ооцитов, а также количеству ооцитов с 2 PN и качеству эмбрионов 3-го дня развития найдено не было [6]. Напротив, в исследовании, проведенном Кабановой Д. И. и др. в 2004, количество полученных ооцитов и эмбрионов хорошего качества у пациенток с СПКЯ было достоверно выше при назначении протокола с агонистами ГнРГ [1]. Сравнения качества полученных эмбрионов 5-го дня развития в зависимости от выбранного протокола в литературе найти не удалось. Таким образом, данные о влиянии антагонистов и агонистов ГнРГ на качество полу-

ченных эмбрионов представлены в литературе скудно и зачастую противоречивы, что делает необходимым дальнейшее исследование в этой области.

Полученные данные о превосходстве метода витрификации совпадают с результатами, опубликованными Stehlik et al., Kuwayama et al. Меньшая выживаемость эмбрионов, полученная нами, по-видимому, связана с включением в исследование морул, показавших более низкую выживаемость по сравнению с бластоцистами, особенно при использовании метода медленного замораживания. Таким образом, метод витрификации обеспечивает лучшую выживаемость эмбрионов, приводит к повышению частоты наступления беременности. В то время как результаты переноса эмбрионов после медленного замораживания остаются неудовлетворительными, что приводит к увеличению количества попыток, достигающих в нашем исследовании 4.

Метод витрификации все больше привлекает внимание исследователей разных стран [3, 5, 11–14, 18, 20, 25, 26, 30]. Большинство полученных данных свидетельствуют о преимуществах витрификации по сравнению с методом медленного замораживания [2, 24, 27, 29]. Эти преимущества позволяют по-видимому в ближайшее время постепенно заменить метод медленного замораживания на витрификацию.

Литература

1. Сравнение протоколов стимуляции суперовуляции рекомбинантным ФСГ с агонистами и антагонистами гонадотропин-рилизинг гормона у пациенток с синдромом поликистозных яичников в зависимости от исходного состояния яичников / Кабанова Д. И. [и др.] // Проблемы репродукции. — 2004. — N 3. — С. 34–49

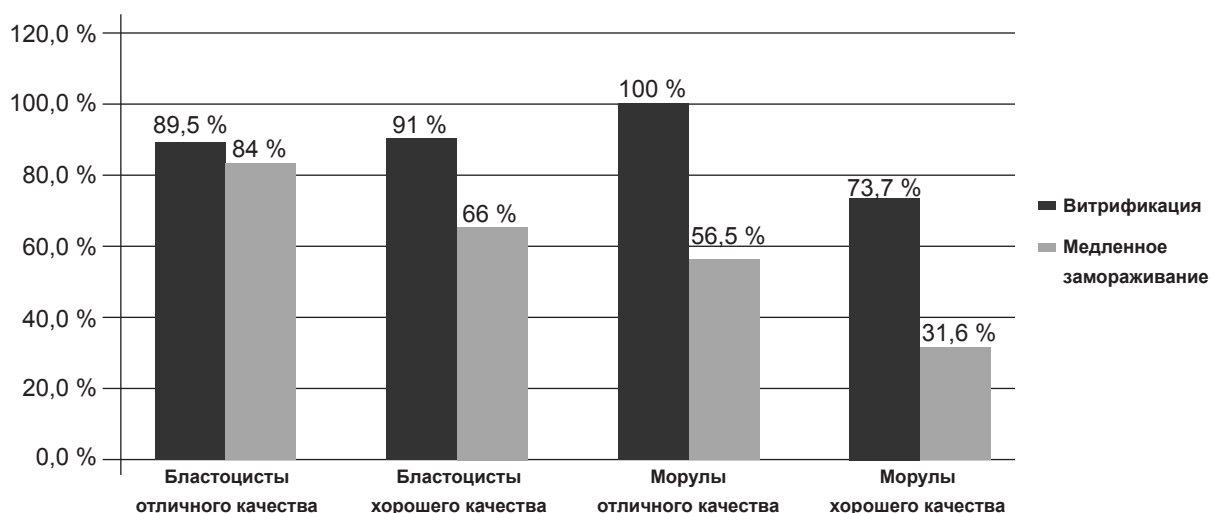


Рис. 1. Выживаемость бластоцист и морул отличного и хорошего качества в зависимости от метода криоконсервации

2. A randomized controlled study of human day 3 embryo cryopreservation by slow freezing or vitrification: vitrification is associated with higher survival, metabolism and blastocyst formation / Balaban B. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2008. — Vol. 23, N 9. — P. 1976–1982.
3. Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effect of artificial reduction of the blastocoelic cavity before vitrification / Vanderzwalmen P. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2002. — Vol. 17, N 3. — P. 744–751.
4. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception / Blake D. [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2007. URL: <http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/clsystrev/articles/CD002118/frame.html> (дата обращения 28.02.2012).
5. Clinical outcomes resulting from the transfer of vitrified human embryos using a new device for cryopreservation (plastic blade) / Sugiyama R. [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2010. — Vol. 27. — P. 161–167.
6. Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-obese patients. A prospective randomized study / Kurzawa R. [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2008. — Vol. 25. — P. 365–374.
7. Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination / Kuwayama M. [et al.] // *Reprod. Biomed.* — 2005. — Vol. 11. — P. 608–614.
8. Comparing thaw survival, implantation and live birth rates from cryopreserved zygotes, embryos and blastocysts / Pavone M. [et al.] // *J. Hum. Reprod. Sci.* — 2011. — Vol. 4, N 1. — P. 23–28.
9. Cryopreservation of human embryos using ethylene glycol in controlled slow freezing / Chi H. J. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2002. — Vol. 17. — P. 2146–2151.
10. D'Angelo A., Amso N. N. Embryo freezing for preventing ovarian hyperstimulation syndrome: a Cochrane review // *Hum. Reprod.* — 2002. — Vol. 17, N 11. — P. 2787–2794.
11. Embryo cryopreservation in the presence of low concentration of vitrification solution with sealed pulled straws in liquid nitrogen slush / Yavin S. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2009. — Vol. 24, N 4. — P. 797–804.
12. Effective cryopreservation of human embryonic stem cells by the open pulled straw vitrification method / Reubinoff B. E. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2001. — Vol. 16, N 10. — P. 2187–2194.
13. Experimental vitrification of human compacted morulae and early blastocysts using fine diameter plastic micropipettes / Cremades N. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2004. — Vol. 19, N 2. — P. 300–305.
14. Factors affecting the outcome of human blastocyst vitrification / Kader A. [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2009. URL: <http://www.rbej.com/content/7/1/99> (дата обращения 13.11.2011)
15. Impact of GnRH analogues on oocyte/embryo quality and embryo development in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles: a case control study / Murber A. [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. — 2009. — Vol. 7. — P. 103–138.
16. Liebermann J., Tucker M. J. Comparison of vitrification and conventional cryopreservation of day 5 and day 6 blastocysts during clinical application // *Fertil. Steril.* — 2006. — Vol. 86, N 1. — P. 20–26.
17. Michelmann H. W., Nayudu P. Cryopreservation of human embryos // *Cell Tissue Bank* — 2006. — Vol. 7. — P. 135–141.
18. Obstetric outcomes after transfer of vitrified blastocysts/Wikland M. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2010. — Vol. 25, N 7. — P. 1699–1707.
19. Ovarian hyperstimulation syndrome and prophylactic human embryo cryopreservation: analysis of reproductive outcome following thawed embryo transfer / Sills E. S. [et al.] // *J. Ovarian Research*, 2008. URL: <http://www.ovariansearch.com/content/1/1/7> (дата обращения: 05.03.2012).
20. Successful pregnancy following blastocyst cryopreservation using super-cooling ultra-rapid vitrification / Huang C. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2005. — Vol. 20, N 1. — P. 122–128.
21. Three years of routine vitrification of human zygotes: is it still fair to advocate slow-rate freezing? / Al-Hasani S. [et al.] // *Reprod. Biomed.* — 2007. — Vol. 14. — P. 288–293.
22. Twin pregnancy after vitrification of 2-pronuclei human embryos / Jelinkova L. [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2002. — Vol. 77. — P. 412–414.
23. Ultra-rapid freezing of human multipronuclear zygotes using electron microscope grids / Park S. P. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2000. — Vol. 15. — P. 1887–1790.
24. Vitrification demonstrates significant improvement versus slow freezing of human blastocysts / Stehlik E. J. // *Reprod. Biomed.* — 2005. — Vol. 11. — P. 53–57.
25. Vitrification of human blastocysts using cryoloops: clinical outcome of 223 cycles / Mukaida T. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2003. — Vol. 18, N 2. — P. 384–391.
26. Vitrification of human early cavitating and deflated expanded blastocysts: clinical outcome of 474 cycles / Rama Raju G. A. [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2009. — Vol. 26. — P. 523–529.
27. Vitrification of human embryos subjected to blastomere biopsy for pre-implantation genetic screening produces higher survival and pregnancy rates than slow freezing / Keskintepe L. [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2009. — Vol. 26. — P. 629–635.
28. Vitrification of human 8-cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates / Rama Raju G. A. [et al.] // *Reprod. Biomed.* — 2005. — Vol. 11. — P. 434–437.
29. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos / Valojerdi M. R. [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* — 2009. — Vol. 26. — P. 347–354.
30. Wong J., Wong A. Phasing-in of vitrification into routine practice: why, how, and what // *Hong Kong Med. J.* — 2011. — Vol. 17. — P. 119–126.

Статья представлена А. М. Гзгзяном,
ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

IMPACT OF THE OBTAINED EMBRYOS' QUALITY ON THE CRYOPRESERVATION PROGRAMS OUTCOME IN COMPARISON SLOW FREEZING METHOD WITH VITRIFICATION IN IVF CYCLES

Kalugina A. S., Kravchuk Y. N., Shlykova S. A.,
Kamenetskaya J. K.

■ **Summary:** The objective of this study was to investigate the impact of protocols with agonists and antagonists of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on the quality of obtained embryos and also to compare the efficacy of different methods of embryo cryopreservation — vitrification and slow freezing method. The results revealed, that vitrification method provides better embryo survival rate, higher clinical pregnancy rate. No significant differences between both protocols of controlled ovarian hyperstimulation (COH) were found in the number of embryos of top and good quality.

■ **Key words:** infertility; cryopreservation; vitrification; slow freezing; embryo quality; GnRH-agonists; GnRH-antagonist.

■ Адреса авторов для переписки

Калугина Алла Станиславовна — доктор медицинских наук, ассистент кафедры репродуктивного здоровья женщин СЗГМУ им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 5. Зам. главного врача по репродуктивной медицине клиники АВА-ПЕТЕР.

Кравчук Яна Николаевна — аспирант кафедры репродуктивного здоровья женщин СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Кафедра репродуктивного здоровья женщин СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 5.
Шлыкova Светлана Александровна — заведующая лабораторией эмбриологии, врач-лаборант высшей категории. Клиника АВА-ПЕТЕР, Санкт-Петербург, Невский пр., 22–24.

Быстрова Ольга Владимировна — кандидат биологических наук, эмбриолог. Клиника АВА-ПЕТЕР, Санкт-Петербург, Невский проспект, 22–24.

Каменецкая Юлия Казимировна — эмбриолог. Клиника АВА-ПЕТЕР, Санкт-Петербург, Невский проспект, 22–24.
Зубова Юлия Геннадьевна — эмбриолог. Клиника АВА-ПЕТЕР, Санкт-Петербург, Невский проспект, 22–24.

Kalugina Alla Stanislavovna, M.D., lecture at the department of female reproductive health in the NWSMU named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Mayakovskogo st., 5., AVA-PETER clinic, Saint-Petersburg, Nevsky prospect, 22–24.

Kravchuk Yana Nikolaevna, postgraduate at the department of female reproductive health in the NWSMU named after I. I. Mechnikov. Saint-Petersburg, Mayakovskogo st., 5.

Shlykova Svetlana Aleksandrovna, embryologist, the head of the laboratory of embryology, AVA-PETER clinic, Saint-Petersburg, Nevsky prospect, 22–24.

Bystrova Olga Vladimirovna, Ph.D., embryologist. AVA-PETER clinic, Saint-Petersburg, Nevsky prospect, 22–24.

Kamenetskaya Julia Kazimirovna, embryologist. AVA-PETER clinic, Saint-Petersburg, Nevsky prospect, 22–24.
Zubova Julia Gennad'evna, embryologist. AVA-PETER clinic, Saint-Petersburg, Nevsky prospect, 22–24.