

МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГІГАНТСЬКИХ ООЦИТІВ ЛЮДИНИ

М.П. ПЕТРУШКО¹, Н.О. БУДЕРАЦЬКА², Ю.В. ГОНТАР², Т.О. ЮРЧУК¹

¹ Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, 61016 Харків

² Медичний центр «ІГР», проспект Перемоги, 121 В, 02000 Київ

E-mail: Nataly_igr@ukr.net, petrushkomarina@gmail.com, genetics-j@yandex.ru, taisiya.yur@gmail.com

Питання доцільності використання ооцитів з морфологічним дизморфізмом у програмах допоміжних репродуктивних технологій є дискусійним. Метою роботи була оцінка морфологічних та молекулярно-цитогенетичних характеристик збільшених за розмірами ооцитів та прогнозування їх подальшого використання для запліднення. Із 774 ооцитів, вилучених у 80 пацієнток, 83 (11 %) – мали збільшений розмір. За даними морфометричного аналізу діаметр ооплазми становив $(176,67 \pm 1,76)$ мкм, з урахуванням ЗР – $(200,8 \pm 4,24)$ мкм. На стадії метафаза II знаходилися 47 (56,6 %) гігантських ооцитів, метафаза I – 26 (31,3 %), профаза – 10 (12,1 %). Вилучені гігантські ооцити характеризувалися дизморфізмом ендота екзоцитоплазматичних структур. На стадії метафаза II знаходилися 47 клітин, з них 40 (85,1 %) ооцитів мали 2 полярних тіла, 3 (6,4 %) – 1 полярне тіло, а в 4-х (8,5 %) клітинах полярне тіло було фрагментоване. Методом поляризаційної мікроскопії у 39-ти (83 %) ооцитах візуалізували 2 веретена поділу, в 3-х (6,4 %) – 1, в 5-ти (10,6 %) ооцитах – не візуалізували, хоча полярні тіла були присутні. Після запліднення 47 ооцитів на стадії метафаза II пронуклеуси було виявлено у 42-х (89,4 %) клітинах, з них в 9-ти (21,4 %) ооцитах візуалізували 2 пронуклеуси, в 27-х (63,3 %) – 3, в 6-х (15,3 %) – 4. Методом молекулярно-цитогенетичного аналізу було доведено, що ембріони, отримані після запліднення гігантських ооцитів, мають поліплоїдний набір хромосом. Таким чином, результати нашого дослідження доводять не-доцільність використання збільшених за розмірами ооцитів для подальшого їх запліднення.

Ключові слова: ооцити, гігантські ооцити, морфологічні характеристики, молекулярно-цитогенетичний аналіз.

Вступ. Жіночі гамети – це унікальні клітини, основною функцією яких є запліднення та підтримка раннього ембріонального розвитку, оскільки саме ооцит постачає майбутньому ембріону білки, енергетичні субстрати, цитоплаз-

матичні органели, які задіяні в активації ембріонального геному (Rienzi, 2012).

Після сплеску лютеїнізуючого гормону (ЛГ) в ооцитах відбувається ядерне та цитоплазматичне дозрівання. Ядерне дозрівання залежить від утворення і підтримання структури мейотичного веретена, якому потрібні центросомні білки, такі як ядерний мітотичний апарат і γ -тубулін, а також інші регулюючі білки (Reader, 2017). Цитоплазматичне дозрівання передбачає перебудову органел та остаточне зберігання мРНК, білків, ліпідів та факторів транскрипції, необхідних під час запліднення та раннього ембріогенезу (Conti, 2018). Результати недавніх досліджень показали, що одні з ключових структур, які необхідні для коректного раннього оогенезу людини – це тіла Бальбіані, в складі яких описують цілий комплекс структур, таких як велика РНК-білкова гранула, центріолі, ендоплазматичний ретикулум, комплекс Гольджі, кільцеві ламеллі і мітохондрії. Вони утворюються в оогоніях у комплексі поза ядерним матеріалом, взаємодіють із цитоскелетом, зокрема з актиновими мікротрубочками, та беруть участь у формуванні полярності ооцита (Heim, 2014). Також безпомилкова робота даних структур в ооплазмі виконує відсів пошкоджених мітохондрій (Bilinski, 2017). Натомість неправильне функціонування тіл Бальбіані відображається на розходженні хромосом, їх розподілі та плідності (Elkouby, 2017). Регуляція роботи даної структури відбувається під дією гена *Msc1a*, мутації в якому проявляються порушенням раннього оогенезу та впливають на формування ембріона та організму в цілому (Escobar-Aguirre, 2017).

Зріла жіноча статеві клітина складається з *Zona pellucida* (ЗР), глікопротеїнової оболонки, ооплазми, ядра та органел (мітохондрії, ендоплазматичний ретикулум, апарат Гольджі). Роз-

міри ооцита варіюють від 120 до 170 мкм, об'єм в середньому становить $9,05 \times 10^5$ мкм³. Зміни морфологічних характеристик ооцитів можуть бути результатом внутрішніх (індивідуальних, фізіологічних або вікових) факторів, та зовнішніх (наприклад, погіршенням стану навколишнього середовища, хворобами, лікуванням гонадотоксичними препаратами або методами допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ)). Серед факторів, викликаних ДРТ, можна виділити індукцію суперовуляції, яка дозволяє отримати когорту зрілих ооцитів, на відміну від природного менструального циклу жінки (Bosch, 2015; Wang, 2015). Проте це може спричинити зміни морфологічних характеристик, порушення ядерного та цитоплазматичного дозрівання і, як наслідок, призвести до аномалій ембріонів та відсутності їх імплантації (Balaban, 2006).

Кріоконсервування ооцитів – важлива складова програм ДРТ. З одного боку її ефективність залежить від вихідного стану морфофункціональних та генетичних характеристик ооцитів, а з іншого – саме кріоконсервування може бути чинником морфологічних та генетичних змін гамет (Yurchuk, 2019; Buderatska, 2020).

Тому розробка системи оцінки морфологічних характеристик ооцитів є необхідною для прогнозування генетичної повноцінності, успішності кріоконсервування та запліднення ооцитів, подальшого розвитку ембріонів *in vitro* та їх здатності до імплантації (Buderatska, 2017). Зазвичай у ембріологічних протоколах ооцити після виділення розподіляють за ступенем зрілості; морфологічними характеристиками ооплазми, полярного тіла (ПТ) та *ZP*. На особливу увагу заслуговують ооцити, які відрізняються від когорти вилучених ооцитів за збільшеним розміром та аномальною кількістю полярних тілець (Machtinger, 2011; Rosenbusch, 2012; Lehner, 2015).

Вважають, що об'єм цитоплазми ооцита є пропорційним кількості органел та накопичених метаболітів, які впливають на якість ооцитів, з чого роблять висновок, що більші яйцеклітини мають кращу якість (Reader, 2017). Натомість, деякі автори не рекомендують використовувати ооцити, збільшені за розміром, для запліднення, оскільки вони мають диплоїдний набір хромосом (Rosenbusch, 2008). Отже, питання

доцільності використання гігантських ооцитів в програмах ДРТ залишається відкритим. Метою нашої роботи була оцінка морфологічних та молекулярно-цитогенетичних характеристик ооцитів, збільшених за розмірами з прогнозуванням їх використання у ДРТ.

Матеріали і методи. Були проаналізовані ембріологічні параметри циклів лікування безпліддя методами ДРТ у жінок, в яких при аспірації були вилучені гігантські ооцити. Середній вік жінок становив $34,9 \pm 4,2$ роки. Після аспірації фолікулів ооцит-корона кумулюсні комплекси переносили з фолікулярної рідини у середовище Global total for fertilization («Life Global», США). Після денудації ооцитів з використанням гіалуронідази 80 МО/мл («Life Global», США) перевіряли наявність мейотичного веретена в клітинах за допомогою поляризаційної системи Oosight («Hamilton Thorne», США) із застосуванням мікроскопу Nikon Eclipse Ti-U (Японія) з мікроманіпуляторами Narishige (Rosenbusch, 2012).

Перед заплідненням методом інтрацитоплазматичної ін'єкції спермія (ICSI) ооцити культивували у зазначеному середовищі в атмосфері 6 % CO₂ (Petrushko, 2018). Збільшені за розміром (гігантські) ооцити досліджували під інвертованим мікроскопом при збільшенні $\times 400$ («Olympus IX-71», Японія). Вимірювали їх діаметр, відмічали кількість полярних тілець та мейотичних веретен. Після запліднення ембріони культивували у середовищі Global total («Life Global», США).

На 5–6-ту добу розвитку проводили біопсію клітин трофктодерми для передімплантаційного генетичного тестування ембріонів на анеуплоїдії (ПГТ-А) методом флуоресцентної *in situ* гібридації (FISH).

Цитогенетичний аналіз незапліднених ооцитів здійснювали за методом Тарковського-Дибана.

Усі дослідження виконані з дотриманням правил біомедичної етики. На проведення досліджень було отримано письмову, вільну та інформовану згоду пацієнтів. Для статистичної обробки результатів використовували програму Statistica 6,0.

Результати та їх обговорення. У 80 пацієнток, які приймали участь у лікуванні безпліддя методами ДРТ, було отримано 774 ооцити,



Рис. 1. Гігантський ооцит на стадії метафаза II з двома полярними тільцями (зліва). DIC-контраст

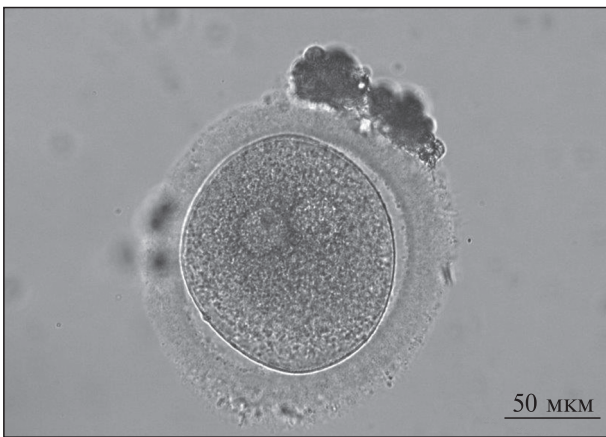


Рис. 2. Збільшений в розмірі незрілий ооцит, який знаходиться на стадії профазі першого мейотичного поділу. В ооцита відсутнє перше полярне тіло, в цитоплазмі візуалізується два ядра у вигляді зародкових пухирців. DIC-контраст

з них 83 (11 %) – були збільшені за розміром (рис. 1).

За даними морфометричного аналізу діаметр ооплазми становив $(176,67 \pm 1,76)$ мкм, а діаметр ооцита з урахуванням ZP $(200,8 \pm 4,24)$ мкм. Таким чином, гігантські ооцити були на 38 % більшими за розмірами від звичайних жіночих статевих клітин, діаметр яких складав $127,17 \pm 4,67$ та $(146,22 \pm 3,25)$ мкм при вимірюванні ооплазми з ZP відповідно. Причому це відбувалося за рахунок збільшення діаметру оолеми. Оскільки розміри ZP становили $(24,13 \pm 3,4)$ мкм для гігантських ооцитів та $(19,05 \pm 2,2)$ мкм для звичайних, що було статистично не значущо.

Н. Balakier зі співав. повідомили про дещо більший середній діаметр гігантських ооцитів людини при вимірюванні ооциту із ZP – 147,73 мкм (Balakier, 2002).

При аспірації фолікулів жінок, вік яких коливався в межах 22–35, 36–39 та більше 40 років, було вилучено 48 (58 %), 21 (25 %) та 11 (17 %) гігантських ооцитів, відповідно. Таким чином, гігантські ооцити значущо частіше виникали у жінок молодшого віку, що узгоджується з даними інших дослідників [16].

З 83 гігантських ооцитів 47 (56,6 %) знаходилися на стадії метафаза II, 26 (31,3 %) – метафаза I та 10 (12,1 %) на стадії профазі першого мейотичного поділу та характеризувалися наявністю двох гермінальних везикулів (GV) (рис. 2).

Дослідники явища диплоїдії ооцитів встановили, що воно пов'язано з цитоплазматичною незрілістю (Almeida, 1993). Експерименти на мишачих ооцитах підкреслили важливість синхронії між ядерним та цитоплазматичним дозріванням для забезпечення правильного порядку подій після запліднення. Зокрема, порушення синтезу білків, які беруть участь у формуванні веретена та цитокінези, може бути причиною виникнення ооцитів з диплоїдною метафазою II (Soewarto, 1995). У людських ооцитах дефекти завершення дозрівання можуть бути зумовлені різними параметрами – фізіологічними, гормональними, генетичними чи екологічними. У конкретному випадку незапліднених ооцитів *in vitro* додаткові фактори, пов'язані з процедурою ДРТ, тобто режими стимуляції та коливання температури, цитоплазматичний дизморфізм і порушення в організації мікротрубочок також можуть вплинути на кінетику дозрівання та запліднення. Всі ці дані мають істотний вплив на розуміння та діагностику різних форм безпліддя (Pellestor, 2002).

Вилучені гігантські ооцити характеризувалися дизморфізмом ендо- та екзоцитоплазматичних структур. Виразну овальну форму мали 9 (10,8 %) гамет, рефракційні тільця в цитоплазмі були виявлені в 12 (14,5 %) клітинах, гранулярну ділянку ендоплазматичної сітки – в 15 (18,1 %) яйцеклітинах. Сукупність наведених особливостей була характерна для 47 (56,6 %) ооцитів.

Із 47 гігантських ооцитів, які перебували на стадії метафаза II, 2 полярних тіла в перивітеліновому просторі мали 40 (85,1 %) клітин (рис. 3, а), одне полярне тіло мали 3 (6,4 %) ооцити, в 4 клітинах (8,5 %) полярне тіло було фрагментоване. Методом поляризаційної мікроскопії у 39 (82,9 %) ооцитах візуалізували 2 веретена поділу (рис. 3, б). В 3 (6,4 %) випадках візуалізували 1 мейотичне веретено, в 5 (10,7 %) ооцитах мейотичне веретено не візуалізували, хоча полярні тіла були присутні.

Після запліднення 47 ооцитів на стадії метафаза II пронуклеуси було виявлено у 42 (89,4 %). З них в 9-х ооцитах (21,4 %) візуалізували 2 пронуклеуси, в 27 (63,3 %) – 3 (рис. 3, в), в 6 (15,3 %) – 4.

Вважають, що при множинних веретенах поділу кожен пронуклеус або ядро може бути не повноцінним, а фрагментом початкового хромосомного набору (Escobar-Aguirre, 2017). В таких випадках візуально ми бачимо три пронуклеуси після запліднення, але триплоїдію не діагностуємо.

Цитогенетичний аналіз чотирьох з п'яти незапліднених ооцитів виявив, що клітини містили 46 хромосом (диплоїдний набір).

Із 42 зигот (рис. 3, в) до стадії бластоцисти (рис. 3, г) розвинулися 11 ембріонів (26,2 %), які характеризувалися великими розмірами, наявністю багат шарової трофектодерми та великої внутрішньоклітинної маси.

Молекулярно-цитогенетичний аналіз клітин трофектодерми показав, що 5 із 7 (71,4 %) ембріонів мали триплоїдний, а решта – 2 (28,6 %) – тетраплоїдний набір хромосом (рис. 3, е). Виявлення триплоїдії являється очікуваним результатом дослідження, так як доведено, що гігантські ооцити замість гаплоїдного мають подвійний хромосомний набір. Тому запліднення єдиним гаплоїдним сперматозоїдом призводить до виникнення 3n набору хромосом зиготи та майбутнього ембріону. Тетраплоїдний набір може виникати через кілька причин, які вивчалися дослідниками. Одна з них – використання диплоїдного сперматозоїду для запліднення. Ми не можемо виключати такий механізм виникнення поліплоїдії ембріона, проте маємо зазначити, що для інтрацитоплазматичної ін'єкції були се-

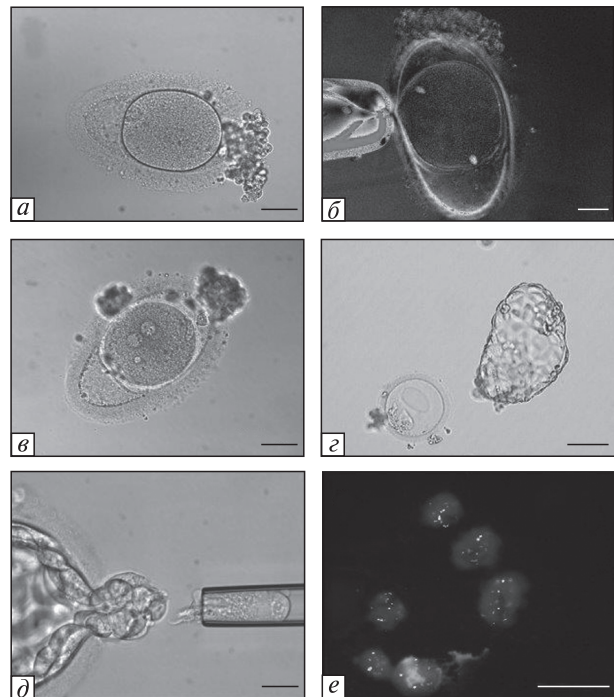


Рис. 3. а – ооцит, збільшений в розмірі, овальної форми має два полярні тіла; б – той же ооцит, має два мейотичних веретена (візуалізація за допомогою поляризаційної системи Oosight (Hamilton Thorne, USA)); в – зигота з трьома пронуклеусами; г – бластоциста 6АА на шосту добу культивування; д – біопсія клітин трофектодерми; е – ядра клітин трофектодерми, комбінація гібридаційних сигналів відповідає триплоїдному набору за досліджуваними хромосомами

лективно відібрані сперматозоїди за нормальними морфологічними характеристиками (Egozcue, 2002; McFadden, 2002). Крім того, ми не можемо знати премейотичний набір хромосом оогонія. Як відомо, трапляються випадки тканинного мозаїцизму, зокрема і в яєчниках. Певна частина мейотичних хромосомних порушень може бути присутня в статевих клітинах до початку мейозу, але чіткого визначення частоти даного явища немає. Ооцити з премейотичними помилками суттєво підвищують рівень передім-плантаційної та пренатальної смертності. Наразі доступні дані говорять про те, що залежно від віку матері до 40 % хромосомних аномалій, які присутні в ооцитах наприкінці мейозу I, можуть бути наслідком мозаїцизму генеративних органів (Delhanty, 2019). Тому ми

не можемо із впевненістю стверджувати, що гігантські ооцити несуть виключно подвійний набір хромосом. Саме вищий рівень плоідності може являтися причиною виявлення тетраплоїдного набору хромосом у ембріонах, отриманих від збільшених за розміром жіночих гамет.

Перший опис гігантського ооциту було зроблено у 1988 р. Вважали, що причиною утворення ооциту з таким дизморфізмом була індукція суперовуляції (Mahadevan, 1988). У фолікулі яєчника жінки репродуктивного віку регулярно відбувається дозрівання ооцита 1-го порядку, в результаті якого хромосомний набір гамети стає гаплоїдним під час першого мейотичного поділу (Verlhac, 2016). Однак, щодо гігантських ооцитів було висунуто кілька гіпотез. Утворення таких аномальних клітин найчастіше пов'язано з цитоплазматичним злиттям двох оогоній (Balakier, 2002). Також дане явище спостерігається при відсутності цитокінезу під час мітотичних поділів оогоній, що може виникнути через несформованість актин-міозинового цитокінетичного кільця або через його регресію (Martin, 2008; Storchova, 2008; Rampalona, 2012).

Крім того ендоредуплікація в первинних ооцитах може призвести до утворення однопольових або бінуклеарних гігантських ооцитів метафази II (Munné, 1994; Ullah, 2009). В переважній більшості перераховані явища спричинені збоєм роботи певних генів, які регулюють процеси, задіяні в оогенезі або безпосередньо у хромосомному розподілі. Так, мутації у генах, які кодують білки актин та міозин, відображаються на правильній роботі ниток веретена поділу та цитокінезі, який навіть може не ініціюватися, як при ендоредуплікації (Brunet, 2011; Yi, 2014; Roeles, 2019). Мутації у генах білків когезинів призводять до того, що нитки не взаємодіють з хроматидами, які не розходяться до полюсів клітини або не виділяються у ПТ. При чому з віком рівень когезинів знижується, що частіше призводить до хромосомних порушень в ооциті, у тому числі і до аномальної плоідності (García-Cruz, 2010; Tsutsumi, 2014; Burkhardt, 2016).

Некоректна робота тіл Бальбіані також впливає на оогенез та правильність хромосомного розподілу не тільки через функції центріолей, а також і через відсутність відсіву

аномальних мітохондрій, які відіграють важливу роль у розходженні хромосом (Bilinski, 2017). Таким чином, у вказаних випадках порушення призводять до появи диплоїдних гамет, а «зайва» ооплазма – до збільшення розміру таких клітин.

В подальшому два гаплоїдні набори хромосом можуть об'єднуватися, утворюючи ооцит метафази II з єдиною диплоїдною метафазною пластиною та першим диплоїдним ПТ. Після моноспермічного запліднення утворюється гаплоїдний чоловічий та диплоїдний жіночий пронуклеус. При цьому має відбуватися екструзія другого ПТ, яке містить два набори хроматид. На основі ексклюзивної оцінки кількості пронуклеусів та ПТ цей ооцит буде оцінений як нормально запліднений, хоча зигота буде триплоїдною. Тому визначення кількості пронуклеусів не завжди є предиктором поліплоїдності майбутнього ембріону. Крім того, зрілий ооцит може містити два окремих комплекси хромосоми і мати два гаплоїдні перші ПТ. Моноспермічне запліднення призводить до утворення трьох пронуклеусів (рис. 3, в), з екструзією двох ПТ, кожне з яких має гаплоїдний хроматидний набір.

Результати наших досліджень підтверджують той факт, що гігантські ооцити мають поліплоїдний набір хромосом. Отже, така морфологічна ознака ооциту, як аномально збільшений розмір, має прогностичне значення для визначення доцільності використання таких клітин у програмах ДРТ. Оскільки більше половини гамет, які отримують при аспірації фолікулів, мають морфологічні відхилення, які можуть по різному впливати на основні ембріологічні показники, важливим є визначення найбільш значущих, серед яких є розмір клітини.

Висновки. Діаметр гігантських ооцитів з урахуванням ZP становить $(200,8 \pm 4,24)$ мкм, що на 38 % більше за розміри звичайних зрілих жіночих гамет. Незважаючи на високу частоту запліднення (89,4 %), до стадії бластоцисти розвивається тільки 26,2 % ембріонів. Цитогенетичний аналіз з'ясував, що незапліднені гігантські ооцити мають диплоїдний набір хромосом. Методом молекулярно-цитогенетичного аналізу було доведено, що ембріони, отримані після запліднення гігантських ооцитів,

мають поліплоїдний набір хромосом. Таким чином, результати нашого дослідження підтверджують недоцільність використання ооцитів, збільшених за розмірами, для запліднення та подальшого культивування *in vitro* ембріонів, внаслідок наявного в них аномального набору хромосом.

Дотримання етичних стандартів. Усі дослідження виконані з дотриманням правил біомедичної етики. Для роботи з ооцитами та ембріонами було отримано письмову, вільну та інформовану згоду пацієнтів. Всі маніпуляції з ооцитами та передімплантаційними ембріонами проводили відповідно до наказу МОЗ України від 09.09.2013 № 787 «Про затвердження Порядку застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні», Європейського протоколу з захисту ембріонів. Дослідження проведені відповідно до принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Союзу Європи щодо прав людини і біомедицини, рекомендацій ESHRE та ARSM. Дослідження були узгоджені комітетом з біоетики ІПКіК НАН України (Протокол № 7, 2015 р. та № 1, 2019 р.).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Робота виконувалась авторами без фінансування зі сторони державних та/або не державних фондів та фінансових інституцій.

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF GIANT HUMAN OOCYTES

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

Institute of Problems of Cryobiology
and Cryomedicine of the National Academy
of Sciences of Ukraine, Kharkiv,
«IGR Medical Center», Kyiv,
«ART – clinic of reproductive medicine», Kharkiv
E-mail: Nataly_igr@ukr.net, petrushkomarina@gmail.com,
genetics-j@yandex.ru, taisiya.yur@gmail.com

The issue of the feasibility of using oocytes with morphological dysmorphism in assisted reproduction technology programs is debatable. The aim of the study was to evaluate the morphological and molecular cytogenetic characteristics of enlarged oocytes, and to predict their use for further fertilization. Among 774 oocytes,

retrieved from 80 patients, 83 (11 %) cells were enlarged. According to the morphometric analysis, the diameter of the ooplasm was $(176,67 \pm 1,76) \mu\text{m}$, the diameter with ZP was $(200,8 \pm 4,24) \mu\text{m}$. 47 (56,6 %) giant oocytes were at the metaphase II stage, 26 (31,3 %) oocytes were at the metaphase I stage and 10 (12,1 %) cells were at the stage of prophase I. The retrieved giant oocytes were characterized by dysmorphism of endo- and exocyttoplasmic structures. 47 cells were at the metaphase II stage, among them 40 (85,1 %) oocytes had two polar bodies, 3 (6,4 %) oocytes had one polar body, and 4 (8,5 %) had a fragmented polar body. The assessment of the presence of meiotic spindle by the polarization microscopy has shown that 39 (83 %) oocytes had 2 meiotic spindles, 3 (6,4 %) had 1 meiotic spindle, and 5 oocytes (10,6 %) had no visualized meiotic spindles despite the presence of polar bodies. After fertilization of 47 oocytes at the stage of metaphase II, pronuclei were detected in 42 (89,4 %) cells, among them 9 (21,4 %) oocytes had 2 pronuclei, 27 (63,3 %) cells had 3 pronuclei, and 6 (15,3 %) cells had 4 pronuclei. The molecular cytogenetic analysis demonstrated that the embryos, obtained after giant oocytes fertilization, had a polyploid chromosome set number. Thus, the results of our study have shown the inexpediency of using giant oocytes for their further fertilization.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Almeida PA, Bolton VN (1993) Immaturity and chromosomal abnormalities in oocytes that fail to develop pronuclei following insemination in vitro. *Hum Reprod* 8(2):229–232. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a138028
- Balaban B, Urman B (2006) Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reprod Biomed Online* 12(5):608–615. doi: 10.1016/s1472-6483(10)61187-x
- Balakier H, Bouman D, Sojecki A et al (2002) Morphological and cytogenetic analysis of human giant oocytes and giant embryos. *Hum Reprod* 17(9):2394–2401. doi:10.1093/humrep/17.9.2394
- Bilinski SM, Kloc M, Tworzydło W (2017) Selection of mitochondria in female germline cells: is Balbiani body implicated in this process? *J Assist Reprod Genet* 34(11):1405–1412. doi: 10.1007/s10815-017-1006-3
- Bosch E, Labarta E, Kolibianakis E et al (2015) Superovulation Induced Changes of Lipid Metabolism in Ovaries and Embryos and Its Probable Mechanism. *PLoS One* 10(7):e0132638. doi: 10.1371/journal.pone.0132638
- Brunet S, Verlhac MH (2011) Positioning to get out of meiosis: the asymmetry of division. *Hum Reprod Update* 17(1):68–75. doi: 10.1093/humupd/dmq044

- Buderatska N, Gontar J, Ilyin I et al (2020) Does human oocyte cryopreservation affect equally on embryo chromosome aneuploidy? *Cryobiology* 93:33–36. doi: 10.1016/j.cryobiol.2020.03.002
- Buderatska NO, Petrushko MP (2017) Variability of morphological parameters as a prognostic criterion of human oocyte cryopreservation. *Morphologia* 10(4):18–22. (Ukrainian) doi: 10.26641/1997-9665.2016.4.18-22
- Burkhardt S, Borsos M, Szydlowska A et al (2016) Chromosome cohesion established by rec8-cohesin in fetal oocytes is maintained without detectable turnover in oocytes arrested for months in mice. *Curr Biol* 26(5):678–685. doi: 10.1016/j.cub.2015.12.073
- Conti M, Franciosi F (2018) Acquisition of oocyte competence to develop as an embryo: integrated nuclear and cytoplasmic events. *Hum Reprod Update* 24(3):245–266. doi: 10.1093/humupd/dmx040
- Delhanty JD, SenGupta SB, Ghevaria H (2019) How common is germinal mosaicism that leads to premeiotic aneuploidy in the female? *J Assist Reprod Genet* 36(12):2403–2418. doi: 10.1007/s10815-019-01596-6
- Egozcue S, Blanco J, Vidal F et al (2002) Diploid sperm and the origin of triploidy. *Hum Reprod* 17(1):5–7. doi: 10.1093/humrep/17.1.5
- Elkouby YM, Jamieson-Lucy A, Mullins MC (2016) Oocyte Polarization Is Coupled to the Chromosomal Bouquet, a Conserved Polarized Nuclear Configuration in Meiosis. *PLoS Biol* 14(1):e1002335. doi: 10.1371/journal.pbio.1002335
- Escobar-Aguirre M, Zhang H, Jamieson-Lucy A et al (2017) Microtubule-actin crosslinking factor 1 (Macf1) domain function in Balbiani body dissociation and nuclear positioning. *PLoS Genet* 13(9):e1006983. doi: 10.1371/journal.pgen.1006983
- Garcia-Cruz R, Brieco MA, Roig I et al (2010) Dynamics of cohesin proteins REC8, STAG3, SMC1 beta and SMC3 are consistent with a role in sister chromatid cohesion during meiosis in human oocytes. *Hum Reprod* 25(9):2316–2327. doi: 10.1093/humrep/deq180
- Heim AE, Hartung O, Rothamel S et al (2014) Oocyte polarity requires a Bucky ball-dependent feedback amplification loop. *Development* 141(4):842–854. doi: 10.1242/dev.090449
- Lehner A, Kaszas Z, Murber A et al (2015) Giant oocytes in human in vitro fertilization treatments. *Arch Gynecol Obstet* 292(3):697–703. doi: 10.1007/s00404-015-3679-0
- Machtinger R, Politch JA, Hornstein MD et al (2011) A giant oocyte in a cohort of retrieved oocytes: does it have any effect on the in vitro fertilization cycle outcome? *Fertil Steril*, 95(2):573–576. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.06.037
- Mahadevan MM, Fleetham J, Long-Simpson L et al (1988) Recovery of a preovulatory binucleate oocyte in a patient following induction of ovulation for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 5(5):299–300. doi: 10.1007/BF01132182
- Martin RH (2008) Meiotic errors in human oogenesis and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online* 16(4):523–531. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60459-2
- McFadden DE, Jiang R, Langlois S (2002) Dispermy-origin of diandric triploidy: brief communication. *Hum Reprod* 17(12):3037–3038. doi: 10.1093/humrep/17.12.3037
- Munné S, Alikani M, Cohen J (1994) Monospermic polyploidy and atypical embryo morphology. *Hum Reprod* 9(3):506–510. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138536
- Pampalona J, Frías C, Genesca A et al (2012) Progressive telomere dysfunction causes cytokinesis failure and leads to the accumulation of polyploid cells. *PLoS Genet* 8(4):e1002679. doi: 10.1371/journal.pgen.1002679
- Pellestor F, Andréo B, Arnal F et al (2002) Mechanisms of non-disjunction in human female meiosis: the coexistence of two modes of malsegregation evidenced by the karyotyping of 1397 in-vitro unfertilized oocytes. *Hum Reprod* 17(8):2134–2145. doi: 10.1093/humrep/17.8.2134
- Petrushko MP, Yurchuk TO, Buderatska NO (2018) Oolemma invagination of fresh and cryopreserved human oocytes during in vitro fertilization by ICSI. *Probl Cryobiol Cryomed* 28(3):258–265. doi: 10.15407/cryo28.03.258
- Reader KL, Stanton JL, Juengel JL (2017) The Role of Oocyte Organelles in Determining Developmental Competence. *Biology (Basel)* 6(3):35 doi: 10.3390/biology6030035
- Rienzi L, Balaban B, Ebner T et al (2012) The oocyte. *Hum Reprod* 27 Suppl 1, i2-21. doi: 10.1093/humrep/des200
- Roeles J, Tsiavaliaris G (2019) Actin-microtubule interplay coordinates spindle assembly in human oocytes. *Nat Commun* 10(1):4651. doi: 10.1038/s41467-019-12674-9
- Rosenbusch B (2008) Mechanisms giving rise to triploid zygotes during assisted reproduction. *Fertil Steril* 90(1):49–55. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.06.031x
- Rosenbusch B (2012) The potential significance of binovular follicles and binucleate giant oocytes for the development of genetic abnormalities. *J Genet* 91(3):397–404. doi: 10.1007/s12041-012-0195-x
- Soewarto D, Schmiady H, Eichenlaub-Ritter U (1995) Consequences of non-extrusion of the first polar body and control of the sequential segregation of homologues and chromatids in mammalian oocytes.

- Hum Reprod 10(9):2350–2360. doi: 10.1093/oxford-journals.humrep.a136298
- Storchova Z, Kuffer C (2008) The consequences of tetraploidy and aneuploidy. *J Cell Sci* 121(Pt 23) 3859–3866. doi: 10.1242/jcs.039537
- Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H et al (2014) Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. *PLoS One* 9(5):e96710. doi: 10.1371/journal.pone.0096710
- Ullah Z, Lee CY, Lilly MA (2009) Developmentally programmed endoreduplication in animals. *Cell Cycle* 8(10):1501–1509. doi: 10.4161/cc.8.10.8325
- Verlhac MH, Terret ME (2016) Oocyte Maturation and Development. *F1000Res* 5. doi: 10.12688/f1000research.7892.1
- Wang LY, Wang N, Le F et al (2015) Superovulation Induced Changes of Lipid Metabolism in Ovaries and Embryos and Its Probable Mechanism. *PLoS One* 10(7):e0132638. doi: 10.1371/journal.pone.0132638
- Yi K, Li R (2012) Actin cytoskeleton in cell polarity and asymmetric division during mouse oocyte maturation. *Cytoskeleton (Hoboken)* 69(10):727–737. doi: 10.1002/cm.21048
- Yurchuk TO, Buderatska NO, Ilyin IE et al (2019) Morphological characteristics of the first polar body of oocytes and results of embryos PGT-A. *Morphologia* 13(4):50–54. Ukrainian. doi: 10.26641/1997-9665.2019.4.50-54

Надійшла в редакцію 11.06.20
Після доопрацювання 05.10.20
Прийнята до друку 18.03.21