

*Полякова Т.В.,*

*студент*

*5 курс, факультет «лечебный»*

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет*

*им. академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения РФ,*

*Россия, г. Пермь*

## **ПОДГОТОВКА И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ООЦИТОВ В ПРОГРАММЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ**

***Аннотация:** В данной статье рассмотрен один из самых важных этапов экстракорпорального оплодотворения. Правильно выполненный процесс индукции суперовуляции, забор ооцитов, грамотная оценка их качества значительно повышает шанс успешного оплодотворения и, как следствие, рождения здорового ребенка. На данный момент не существует однозначного объективного метода оценки качества аспирированных женских половых клеток, что требует тщательного изучения.*

***Ключевые слова:** вспомогательные репродуктивные технологии, экстракорпоральное оплодотворение, суперовуляция, ооцит, ооцит- cumulus.*

***Annotation:** This article discusses one of the most important stages of in vitro fertilization. A properly executed process of induction of superovulation, the enthusiasm of oocytes, a competent assessment of their quality significantly increases the chance of successful fertilization and, as a result, the birth of a healthy child. At the moment, there is no unambiguous objective method for assessing the quality of aspirated female germ cells, which requires careful study.*

***Key words:** assisted reproductive technologies, in vitro fertilization, superovulation, oocyte, oocyte- cumulus.*

Цитологический этап программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) является особенно важным, так как оценка качества ооцитов, их правильный отбор, являются факторами успешного оплодотворения и наступления беременности.

Индукция суперовуляции является начальной ступенью в цитологическом этапе ЭКО. Целью суперовуляции является образования нескольких третичных фолликулов за сутки до овуляции (примерно на 12-14 день овариального цикла). Именно в них скапливается большое количество жидкости, вызывающее смещение ооцита к одному из полюсов с образованием яйценосного холмика (cumulus oophorus), состоящего из многослойного фолликулярного эпителия и являющегося признаком готовности клетки к овуляции.

Суперовуляция включает в себя несколько последовательных этапов. Первичным является назначение специальных гормональных препаратов, стимулирующих суперовуляцию. Их инъекция проводится со 2-3 дня менструального цикла примерно в одно и тоже время суток. Производится контроль за состоянием и ростом фолликулов посредством УЗИ или фолликулометрии. Следующим этапом является введение агонистов гонадотропин-релизинг гормона. Под действием данного препарата снижается чувствительность рецепторов аденогипофиза и происходит отключение его гонадотропной роли, как следствие подавляется функционирование женских половых желез, в результате чего происходит одновременное созревание нескольких фолликулов. Заключительным этапом является введение определенной дозы ЛГ, участвующего в подготовке женского организма к овуляции и тем самым создающего благоприятные условия для своевременного извлечения ооцитов.

После его введения, примерно через 36 часов, проводится трансвагинальная пункция (ТВП) яичников в целях забора зрелых яйцеклеток. Эта процедура подразумевает откачивание фолликулярной жидкости из

яичников специализированной аспирационной иглой под контролем УЗИ. [1] Обязательным условием данной операции является ее проведение до наступления процесса овуляции. Так же учитываются определенные критерии оптимального времени забора ооцитов: концентрация эстрадиола не менее 350 пг/мл на 1 фолликул; фолликул диаметром не менее 15 мм; толщина эндометрия 0,8 - 1,0 см. [2]

Процедура пункции яичников обычно не занимает более 30 минут и проводится под местным или кратковременным наркозом. После ТВП фолликулов фолликулярная жидкость передается в эмбриологическую лабораторию для исследования и тщательного отбора яйцеклеток. Фолликулярная жидкость помещается в чашки Петри и изучается под стерео- или инвертированным микроскопом на малом увеличении. Обычно, комплексы ооцит-cumulus выглядят как блестящие слизистые комки или тяжи диаметром 0,5 – 1 см, которые можно разглядеть без применения микроскопа.

Иногда этот процесс может быть осложнен содержанием в фолликулярной жидкости фибриногена, который способствует образованию кровяных сгустков в течение нескольких минут после аспирации. Ооцит может попасть в такой сгусток, что приведет к трудностям его обнаружения и отмывания, соответственно. Во избежание возникновения данной ситуации используются два основных метода. Сразу после аспирации фолликулярной жидкости ее рассматривают под микроскопом и найденные ооциты незамедлительно помещают в среду для отмывки. Фолликулярную жидкость помещают в пробирки, которые содержат среду с гепарином (гепарин не оказывает влияния на оплодотворение и последующее развитие эмбриона), предотвращающую образование кровяных сгустков.

Все манипуляции с ооцитами проводятся при помощи пастеровских пипеток или стеклянных капилляров, присоединенных к микроасpirатору. В итоге выделяется около 7-20 ооцитов, но данный показатель значительно варьируется от возраста и состояния здоровья женщины.

Сразу после отделения комплексов ооцит-cumulus от остального содержимого фолликулярной жидкости проводится оценка их количества, качества и степени зрелости, по следующим характеристикам: состояние клеток яйценосного бугорка (кумулюса), клеток лучистого венца и цитоплазмы; наличие редуционного тельца; стадия деления клетки; набор хромосом.

По данным критериям выделяют следующие типы ооцитов по степени зрелости ядра (см. Таблицу 1.).

**Таблица 1.**

**Оценка комплексов ооцит-cumulus по степени зрелости ядра**

Тип ооцита	Клетки яйценосного бугорка	Клетки лучистого венца	Цитоплазма	Полярное тельце	Стадия деления	Набор хромосом
Очень незрелый	Плотно упакованы вокруг ооцита	Плотно упакованы вокруг ооцита	Гранулированная с четко очерченным кортикальным слоем	-	Профаза I деления мейоза	2c4n
Незрелый	Плотно упакованы вокруг ооцита	Плотно упакованы вокруг ооцита	Гранулированная / гомогенная	-	Метафаза I деления мейоза	2c4n
Преовуляторный (зрелый)	Разрастаются	Расходятся лучами от ооцита	гомогенная	+	Метафаза II деления мейоза	1c2n
Перезрелый	Разрастаются	Небольшое кол-во, не примыкают к ооциту	гомогенная	+	-	1c2n
Лютеинизированный	Образуют скопления	-	-	-	-	-
Дегенеративный	Малое кол-во, либо отсутствуют	-	-	-	-	-

Наиболее часто во время трансвагинальной пункции яичников встречается следующее соотношение комплексов ооцит – cumulus:

преовуляторный (зрелый) – 74%; незрелый – 11%; дегенеративный – 8%; очень незрелый – 7%. При этом количество атретических форм ооцитов у женщин старше 35 возрастает. А также в таких ооцитах могут обнаруживаться деформация и лизис структурных компонентов, фрагментация и вакуолизация ядра, и другие признаки клеточной дегенерации. [3]

Оценка качества яйцеклеток данным образом является довольно субъективным методом, так как зачастую не отвечает истинному состоянию ооцита. Во время стимуляции суперовуляции достаточно часто встречается асинхронность в созревании ядра, цитоплазмы, клеток фолликулярного эпителия и яйценосного бугорка и т.д. Но при более точном определении степени зрелости ооцитов возможно его повреждение и увеличение риска полиспермии при оплодотворении.

Все ооциты перед оплодотворением подвергаются ступенчатой обработке. Отмываются в определенной среде, содержащей специальный буферный раствор (HEPES), дающий возможность проводить различные манипуляции с ооцитами на воздухе без изменения физиологического pH. Затем проходят омывание в культуральной среде. И по окончании вышеуказанных этапов помещаются в специализированную чашу для ЭКО, в которой будет производится оплодотворение и дальнейшее культивирование эмбрионов.

Таким образом, цитологический этап подготовки к ЭКО является одним из самых основных для успешного оплодотворения и наступления беременности. Следует отметить, что важной задачей современных репродуктологов и эмбриологов является поиск более объективного метода оценки ооцитов.

#### **Использованные источники:**

1. Кэй Элдер, Брайан Дэйл. Экстракорпоральное оплодотворение. Пер. с англ. — М.: МЕДпресс – информ. — 2008. – 304 с.

2. Кулаков В.И., Леонов Б.В. Экстракорпоральное оплодотворение и его новые направления в лечении женского и мужского бесплодия. — М.: Медицинское информационное агентство. — 2000. — 782 с.
3. Крстич Е.В., Крстич М., Юдаев В.Н. Влияние качества ооцитов и состояния овариального резерва на терапевтический потенциал экстракорпорального оплодотворения у пациенток позднего репродуктивного возраста // Альманах клинической медицины. — 2014 — С. 72.