

**МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ АГРЕГАТОВ  
ГЛАДКОГО ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА  
В ЦИТОПЛАЗМЕ ООЦИТОВ В ЦИКЛАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ  
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕГО КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

© *Е. В. Ковальская,<sup>1</sup> Н. П. Макарова,<sup>1</sup> А. Г. Сыркашева,<sup>1,\*</sup>  
Н. В. Долгушина,<sup>1</sup> Л. Ф. Курило<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии  
им. В. И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ  
и <sup>2</sup> Медико-генетический научный центр РАМН, Москва;  
\* электронный адрес: [anast.syrkasheva@gmail.com](mailto:anast.syrkasheva@gmail.com)*

Большинство ооцитов, полученных в циклах стимуляции функции яичников в рамках программ экстракорпорального оплодотворения, имеет различные морфологические аномалии, или дисморфизмы. Наличие дисморфизмов в клетке может влиять на частоту оплодотворения ооцитов, качество полученных эмбрионов и соответственно частоту наступления имплантации и беременности. Особое влияние на дальнейшее развитие эмбриона оказывают цитоплазматические аномалии, к которым относят изменение гранулярности цитоплазмы, появление вакуолей, липофусциновых гранул, а также агрегатов эндоплазматического ретикулума, визуализируемых на светооптическом уровне. Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) — это замкнутая система мембранных трубочек и пузырьков внутри клетки, образующих сложную переплетающуюся сеть. Одной из основных функций ЭПР в ооците является хранение и перераспределение кальция, что обеспечивает активацию клетки во время оплодотворения. Кроме того, комплекс ЭПР с митохондриями необходим клетке для накопления энергии, синтеза липидов и триглицеридов, а также синтеза плазматических и ядерных мембран во время ранних стадий дробления эмбриона. Появление аномально больших агрегатов ЭПР в ооцитах коррелирует с низкой частотой оплодотворения, а также низким качеством эмбрионов. При переносе эмбрионов в полость матки беременность наступает существенно реже общепопуляционных значений. В настоящей работе сделана попытка обобщить современные представления о механизме формирования данной аномалии женских половых клеток, а также особенностях их оплодотворения и развития полученных эмбрионов.

**Ключевые слова:** ооцит, экстракорпоральное оплодотворение, эндоплазматический ретикулум, патология ооцита.

Принятые сокращения: ВРТ — вспомогательные репродуктивные технологии, гЭПР — гладкий эндоплазматический ретикулум, ИКСИ — интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида, шЭПР — шероховатый эндоплазматический ретикулум, ЧББ — частота наступления биохимических беременностей, ЧКБ — частота наступления клинических беременностей, ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение, ЭПР — эндоплазматический ретикулум, GV — зародышевый пузырек (germinal vesicle), IP3 — инозитол-1,4,5-трифосфат.

При стимуляции суперовуляции в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) могут быть получены ооциты с различными морфологическими изменениями (дисморфизмами). Дисморфизмы ооцитов классифицируются на две группы — экстрацитоплазматические и цитоплазматические. Наличие дисморфизмов может влиять на вероятность оплодотворения клетки, качество полученных эмбрионов и частоту наступления беременности. В большинстве ооцитов (60—70%), полученных в циклах стимуляции суперовуляции, визуализируется один или несколько дисморфизмов (Balaban, Urman, 2006). Механизмы формирования некоторых дисморфизмов уже известны. Например, появление цитоплазматических вакуолей связывают с клеточной дегенерацией ооцита (Zamboni et al., 1972; Nayudu et al., 1989).

В то же время механизмы, лежащие в основе других дисморфизмов, остаются предметом научных исследований.

Одним из таких нарушений морфологии цитоплазмы ооцитов является формирование агрегатов гладкого эндоплазматического ретикулума (гЭПР), видимых на световом уровне при оценке женских половых клеток в процессе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

**Функции эндоплазматического ретикулума  
в ооцитах человека**

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) — это замкнутая система мембранных трубочек и пузырьков внутри клетки, образующих сложную переплетающуюся сеть.

Мембрана ЭПР морфологически идентична оболочке клеточного ядра и составляет с ней единое целое.

Различают два типа ЭПР — гладкий (гЭПР) и шероховатый (шЭПР), которые в свою очередь выполняют различные функции в клетке. На поверхности элементов шЭПР находится большое количество рибосом, которые отсутствуют на поверхности гЭПР. Мембраны гЭПР морфологически и функционально тесно связаны с митохондриями.

В незрелом ооците человека на стадии профазы I мейоза (germinal vesicle — GV) гЭПР равномерно распределен по цитоплазме в виде мелких скоплений. В зрелом ооците человека на стадии метафазы II ЭПР в комплексе с митохондриями формирует крупные агрегаты, равномерно распределенные по кортикальной и центральной областям цитоплазмы, без видимой полярности относительно веретена деления в отличие от ооцитов мыши, в которых кластеры ЭПР располагаются преимущественно в кортикальной части клетки (Fitzharris et al., 2007; Mann et al., 2010). Это связывают с тем, что поверхность ооцита человека покрыта микроворсинками равномерно и слияние со сперматозоидом равновероятно во всех областях оолеммы, а следовательно, распределение ЭПР должно обеспечивать возникновение волны  $Ca^{2+}$  в любом районе цитоплазмы (Santella et al., 1992).

В ооцитах гЭПР является основным депо ионов  $Ca^{2+}$ , обеспечивая необходимые для нормального оплодотворения клетки и ранних стадий дробления эмбриона процессы хранения и перераспределения  $Ca^{2+}$  в клетке. Изменения концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  создают предпосылки для активации ооцита при оплодотворении. Начальное увеличение (нарастание) концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  обеспечивается в основном за счет высвобождения  $Ca^{2+}$  из ЭПР в месте слияния ооцита со сперматозоидом, и затем сигнал распространяется по цитоплазме. В ооцитах млекопитающих высвобождение  $Ca^{2+}$  из ЭПР в цитоплазму инициируется инозитол-1,4,5-трифосфатом (IP3). При связывании сперматозоида со специфическими рецепторами на оолемме запускается каскад активации фосфолипазы C и образуется IP3, который в свою очередь взаимодействует с рецепторами на мембране ЭПР и инициирует высвобождение  $Ca^{2+}$ . Кроме того, в головке сперматозоида имеются ооцитактивирующие факторы. После слияния мембран сперматозоида и яйцеклетки эти факторы оказываются в ооплазме и, так же как фосфолипаза C, запускают процесс образования IP3. Повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитоплазме приводит к активации других молекул фосфолипазы C, образованию IP3 и дополнительному высвобождению  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных мест хранения. Концентрация внутриклеточного  $Ca^{2+}$  возрастает в сотни раз, а потом возвращается к исходному уровню: ионы кальция возвращаются в ЭПР с помощью  $Ca^{2+}$ -АТФазы или выбрасываются из клетки через плазматическую мембрану посредством  $Ca^{2+}$ -АТФазы и  $Na^{+}/Ca^{2+}$ -каналов. Таким образом, волна  $Ca^{2+}$  распространяется по цитоплазме ооцита (Runft et al., 2002), и этот процесс продолжается волнообразно вплоть до момента формирования пронуклеусов (Jones et al., 1995). Внутриклеточное высвобождение  $Ca^{2+}$  предотвращает полиспермию, вызывает активацию ооцита и инициирует синтез белков после оплодотворения (Ducibella et al., 2002; Ducibella, Fissore, 2008).

Изменение концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  имеет место также и в незрелом ооците. В процессе созревания ооцита осцилляции  $Ca^{2+}$  инициируются в клет-

ках кумулюса (лучистого венца), а далее распространяются по цитоплазме ооцита (Webb et al., 2002). Частота, амплитуда и продолжительность колебаний концентрации (волн)  $Ca^{2+}$  играют решающую роль в оплодотворении и дальнейшем пре- и постимплантационном развитии эмбриона, возможно в результате влияния на экспрессию генов (Swain, Pool, 2008).

В процессе созревания ооцита помимо перераспределения ЭПР в цитоплазме клетки увеличивается количество IP3-рецепторов на мембране ЭПР, происходит перераспределение IP3-рецепторов в кортикальную область цитоплазмы, повышаются чувствительность ооцита к IP3 и способность высвобождать  $Ca^{2+}$  из гЭПР (Mann et al., 2010).

Возникновение синхронизированных колебаний концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в ооците возможно только при взаимодействии ЭПР с морфологически и функционально полноценными митохондриями. Ионы кальция, высвобождаемые из ЭПР при осцилляциях, частично поглощаются митохондриями. Это приводит к активации цикла Кребса и выработке АТФ, после чего АТФ из митохондрий транспортируется в цитоплазму при помощи адениннуклеотидтранслоказы и потребляется мембранными АТФазами, которые в свою очередь возвращают концентрацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  на исходный уровень, поддерживая осцилляции (Dumollard et al., 2004).

Кроме того, комплекс ЭПР с митохондриями необходим клетке для накопления энергии, накопления/секреции субстанций, необходимых для оплодотворения, быстрого синтеза плазматических и ядерных мембран во время первого дробления эмбриона (Nottola et al., 2007).

Таким образом, осцилляции внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , возникающие в результате координированной работы ЭПР и митохондрий в ооците, являются одним из ключевых механизмов, определяющих потенциал развития эмбриона.

### Образование агрегатов гЭПР в циклах ВРТ

В норме ЭПР не визуализируется при световой микроскопии. Однако аномально большие агрегаты, состоящие из цистерн гЭПР, обнаруживаются в ооцитах после денудации, проводимой перед процедурой интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Данный вариант дисморфизмов встречается только в зрелых ооцитах на стадии метафазы II, в ооцитах на стадиях метафазы I и GV агрегаты ЭПР не выявляются. Агрегаты располагаются в центральной части клетки и представляют собой круглые полупрозрачные образования, которые легко отличить от цитоплазматических вакуолей при использовании инвертированного микроскопа (рис. 1). По диаметру различают три группы агрегатов — большие (более 18 мкм), средние (10—17 мкм) и малые (2—9 мкм), которые не видны при использовании светового микроскопа.

Клетки, в которых визуализируются подобные агрегаты, в литературе принято обозначать как гЭПР-позитивные, а клетки без видимых при световой микроскопии аномалий — как гЭПР-негативные. Данное обозначение является условным и используется только при обсуждении аномальных агрегатов гЭПР в клетках.

В одной когорте ооцитов могут присутствовать как гЭПР-позитивные, так и гЭПР-негативные. Если в цикле ЭКО получены клетки с данным дисморфизмом, такой

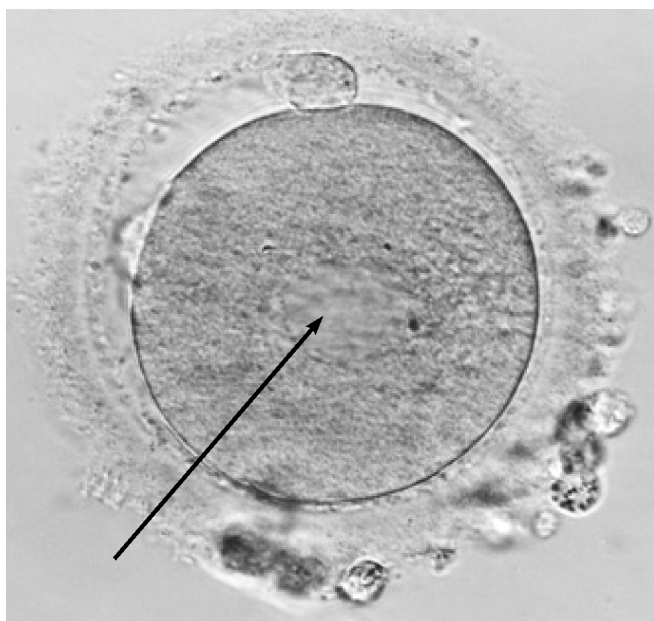


Рис. 1. гЭПР-положительный ооцит в цикле стимуляции суперовуляции.

Изображение получено перед проведением процедуры ИКСИ с помощью инвертированного микроскопа, который используется в рутинной практике лаборатории вспомогательных технологий в лечении бесплодия. Стрелками — скопление агрегатов гЭПР. Об. 20×.

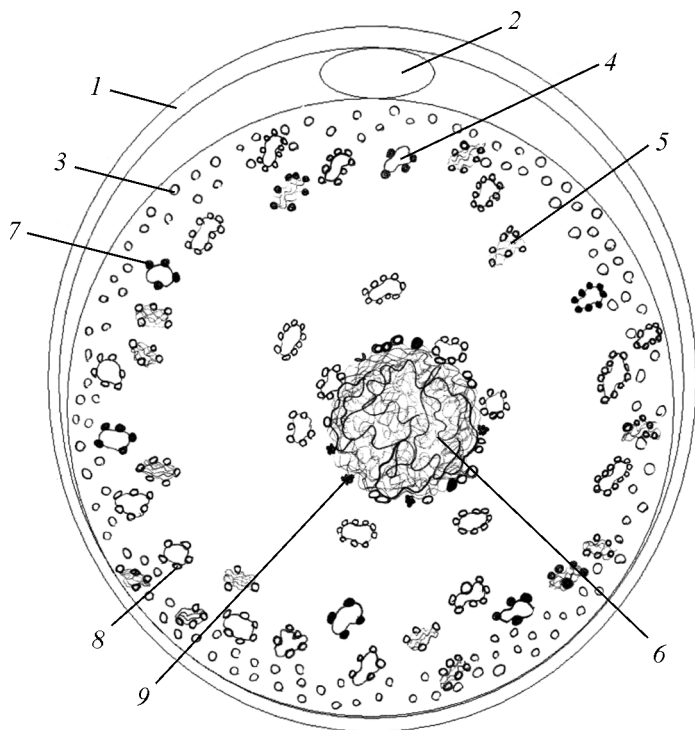


Рис. 2. Схема расположения эндоплазматического ретикулума в цитоплазме гЭПР-положительного ооцита. 1 — зона пеллюцида, 2 — полярное тельце, 3 — кортикальные гранулы, 4 — пузырьки эндоплазматического ретикулума, 5 — трубочки эндоплазматического ретикулума, 6 — большой агрегат эндоплазматического ретикулума (гЭПР), 7 — митохондрии нормальной формы, 8 — митохондрии аномальной формы, 9 — агрегаты мелких плотных гранул, образованных из пузырьков в форме розеток.

цикл принято считать гЭПР-положительным, а цикл с морфологически нормальными ооцитами — гЭПР-негативным.

При культивировании неоплодотворенных ооцитов в течение 2—5 сут в гЭПР-положительных клетках агрегаты средних размеров увеличиваются в диаметре до 25 мкм в течение 18 ч, а в большинстве гЭПР-негативных клеток в гЭПР-положительных циклах ВРТ формируются большие агрегаты в центральной или кортикальной области цитоплазмы клетки.

При проведении ИКСИ гЭПР исчезают через 16—20 ч после оплодотворения непосредственно перед моментом формирования пронуклеусов (Otsuki et al., 2004).

Кроме того, гЭПР часто обнаруживают в случае неудачи процедуры классического ЭКО, когда через 18 ч после добавления взвеси сперматозоидов к ооцитам оплодотворения не происходит (Meriano et al., 2001; Wallbuton, Kasraie, 2010).

Применение трансмиссионного электронного микроскопа позволило доказать, что выявляемые с помощью инвертированного микроскопа круглые полупрозрачные образования в центральной части ооцитов являются скоплениями трубочек гЭПР.

При использовании данного метода были обнаружены агрегаты гЭПР ретикулума малого размера (2—9 мкм) в гЭПР-негативных клетках (полученных в гЭПР-положительных циклах ВРТ), расположенные в кортикальной области цитоплазмы. В гЭПР-положительной клетке помимо крупных агрегатов могут присутствовать агрегаты среднего и малого размеров (Otsuki et al., 2004).

Показано, что кортекс и субкортекс гЭПР-положительного ооцита богаты крупными пузырьками ЭПР и мелкими агрегатами трубочек ЭПР, которые взаимодействуют с митохондриями нормальной формы, а также с аномальными митохондриями подковообразной или кольцевидной формы. Множество пузырьков и агрегатов трубочек ЭПР, окруженных аномальными по форме митохондриями, обнаруживается и в центральной области ооцитоплазмы. В центре ооцита располагается большой агрегат ЭПР, окруженный аномальными митохондриями и несколькими агрегатами гранул, образованных из очень мелких пузырьков в форме розеток. гЭПР представлен сетью трубочек ЭПР низкой плотности, внутри которой присутствует несколько тонких плотных изогнутых трубочек, соединенных между собой (рис. 2). Эти длинные трубочки часто ассоциированы с пограничной областью диска гЭПР и везикулами малого размера (Sa et al., 2011).

### Современные представления о формировании гипертрофированных агрегатов эндоплазматического ретикулума в ооцитах человека в программах стимуляции суперовуляции и их клиническом значении

Механизм формирования агрегатов гЭПР в ооцитах в настоящее время окончательно не изучен.

Показано, что формирование гЭПР не зависит от возраста пациенток, среднего числа полученных ооцитов, наличия эндометриоза и толщины эндометрия (Otsuki et al., 2004). Предполагают, что возникновение гЭПР является следствием гиперстимуляции яичников, так как агрегаты ЭПР никогда не обнаруживают в ооцитах, полученных из антральных фолликулов нестимулированных яичников на стадии GV (Sa et al., 2011). При оценке влияния различных типов протоколов стимуляции функции

яичников на формирование агрегатов ЭПР различий выявлено не было (Otsuki et al., 2004; Sa et al., 2011). При этом для гЭПР-позитивных циклов были характерны более высокие начальная и суммарная дозы гонадотропинов, а также большая продолжительность стимуляции (Sa et al., 2011).

Появление гЭПР связывают с повышенным уровнем антимюллера гормона (Ebner et al., 2006). Кроме того, уровень сывороточного эстрадиола в день введения хорионического гонадотропина человека был значительно выше в гЭПР-позитивных циклах, чем в гЭПР-негативных, а различий в уровнях сывороточного прогестерона выявлено не было (Otsuki et al., 2004).

Какие именно молекулярные и субклеточные механизмы лежат в основе влияния антимюллера гормона и эстрадиола на реорганизацию ЭПР и формирование гЭПР, в настоящее время не выяснено, но известно, что осцилляции  $Ca^{2+}$  в ооцитах на стадии GV стимулируются эстрадиолом и ингибируются андростендионом (Otsuki et al., 2004). Известно, что эстрадиол повышает концентрацию внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в клетках гранулезы, влияя как на его поглощение из внеклеточной среды, так и на высвобождение из ЭПР, а прогестерон лишь активизирует транспорт  $Ca^{2+}$  через плазматическую мембрану (Younglai et al., 2005). Вероятно, именно этот механизм лежит в основе гормонального влияния на процесс созревания ооцита (Webb et al., 2002).

Некоторые исследователи связывают возникновение гЭПР с нарушением структуры цитоскелета. В мышинных ооцитах основную роль в реорганизации ЭПР играет именно цитоскелет, и вполне вероятно, что подобный механизм реализуется и в человеческих ооцитах (Dumollard et al., 2004). Существует гипотеза, согласно которой генетические нарушения, приводящие к неконтролируемому эндоцитозу или к слиянию везикул, которые должны подвергнуться экзоцитозу, могут вызывать формирование гЭПР (Wallbuton, Kasraie, 2010).

Аномальное распределение ЭПР в гЭПР-позитивных клетках, вероятно, может служить причиной неудач оплодотворения при проведении процедуры классического ЭКО. В норме ЭПР распределен равномерно по всему объему клетки, а в кортикальной области располагаются крупные агрегаты. Это способствует формированию  $Ca^{2+}$ -сигнала достаточной силы при проникновении сперматозоида в любую точку оолемы. В клетке с гЭПР в кортикальной области ооплазмы расположен ЭПР с измененной структурой, что может привести к возникновению более слабого или аномального ответа на проникновение сперматозоида. Это, возможно, и препятствует нормальному оплодотворению. В центральной же части цитоплазмы наблюдается агрегация ЭПР, и помещение туда сперматозоида и содержащихся в нем факторов, активирующих ооцит при проведении ИКСИ, формирует ответ, достаточный для активации ооцита.

Кроме того, в гЭПР-позитивных клетках ЭПР ассоциирован с морфологически аномальными митохондриями, а дисфункции и аномалии митохондрий могут влиять на способность ооцита к оплодотворению и нарушать раннее эмбриональное развитие и, следовательно, влиять на результативность циклов ВРТ у пациентов с такими клетками (Nottola et al., 2007).

Так как высвобождение  $Ca^{2+}$  из ЭПР играет ключевую роль в созревании ооцита, оплодотворении и раннем эмбриональном развитии, изучение  $Ca^{2+}$ -сигнального пути в гЭПР-позитивных клетках может помочь в пони-

мании механизмов влияния гЭПР на дальнейшее развитие клеток с данным дисморфизмом.

Описанное ранее отсутствие беременностей у пациенток, ооциты которых имели цитоплазматические включения, в том числе гЭПР, дало основание полагать, что такие ооциты непригодны для процедуры ИКСИ (Serhal et al., 1997). Однако в настоящее время не существует единого мнения о клиническом значении гЭПР в ооцитах человека; имеющиеся данные противоречивы.

Исследователи из Японии провели сравнение 170 гЭПР-негативных и 18 гЭПР-позитивных циклов ВРТ. Помимо оплодотворения гЭПР-негативных ооцитов из гЭПР-позитивных циклов исследователи осуществили процедуру ИКСИ на 11 гЭПР-позитивных ооцитах. Успешное оплодотворение наблюдали, если сперматозоид был инъецирован в область, свободную от агрегатов. Развитие 9 из 11 эмбрионов остановилось на различных стадиях (от стадии 4 бластомеров до морулы), и только 2 из 11 сформировали экспандированные бластоцисты.

Частота оплодотворения и частота дробления были одинаковы у эмбрионов в обеих группах. Биохимическую беременность регистрировали при подъеме сывороточного уровня ХГЧ у пациентки на 14-е сут после переноса эмбрионов в полость матки. Клиническую беременность регистрировали при визуализации плодного яйца в полости матки на 21-е сут после переноса. Частота наступления биохимических беременностей (ЧББ) была выше в гЭПР-позитивных циклах, а частота наступления клинических беременностей (ЧКБ) — в гЭПР-негативных. В одном гЭПР-позитивном цикле ВРТ был рожден ребенок с синдромом Беквита—Видемана (Otsuki et al., 2004).

При сравнении 60 гЭПР-позитивных циклов ВРТ и 520 гЭПР-негативных (Sa et al., 2011) было показано значимое снижение частоты оплодотворения, частоты дробления и частоты формирования бластоцист в гЭПР-позитивных циклах. Однако частота наступления беременностей была сопоставима в обеих группах. Кроме того, авторы сравнивали исходы гЭПР-позитивных циклов, разбив их на три подгруппы: 1-я — эмбрионы на перенос были получены из гЭПР-позитивных ооцитов, 2-я — эмбрионы на перенос были получены из гЭПР-негативных ооцитов, 3-я — смешанная группа. При сравнении подгрупп ЧББ и ЧКБ количество развивающихся беременностей, частота имплантации, количество родов и новорожденных были существенно ниже в 1-й и 3-й группах. В группе 1 было выше количество эктопических беременностей и ниже средняя длительность гестации, а также был рожден ребенок с небольшим дефектом межжелудочковой перегородки.

В литературе описаны три цикла ВРТ, проведенные у одной семейной пары, в которых обнаруживали ооциты с агрегатами ER в цитоплазме. В первом цикле было получено 15 ооцитов, проведена процедура ЭКО, но оплодотворения не наблюдали ни в одной клетке. При этом 24-часовая выживаемость сперматозоидов была в норме, связывание их с зоной пеллюцида было минимальным, все ооциты были зрелыми (метафаза II), а в цитоплазме большинства из них были обнаружены агрегаты ЭПР. Во втором цикле из 20 полученных ооцитов 90 % содержали гЭПР, в 8 наблюдали оплодотворение после ИКСИ. В третьем цикле из 13 зрелых ооцитов оплодотворились 7. Ни в одном из проведенных циклов ИКСИ не было достигнуто беременности (Wallbuton, Kasraie, 2010).

Все эти работы в той или иной степени демонстрируют негативное влияние наличия гЭПР в ооцитах на исхо-

ды циклов ВРТ. Однако последние исследования противоречат имеющимся данным. Ученые из Бельгии провели ретроспективное исследование и описали 7239 циклов ИКСИ, включая 6845 гЭПР-негативных и 394 гЭПР-позитивных цикла. При сравнении эмбриологических и клинических исходов циклов из этих групп не было выявлено различий в частоте оплодотворения, среднем количестве переносимых эмбрионов, ЧББ и ЧКБ, сроках гестации, массе новорожденных и количестве врожденных пороков развития. Кроме того, отдельно сравнивали исходы гЭПР-позитивных циклов, в которых переносили эмбрионы, полученные из гЭПР-позитивных ооцитов, гЭПР-негативных ооцитов, и смешанные. И в этих группах перечисленные выше параметры достоверно не различались. В исходе гЭПР-позитивных циклов было зарегистрировано рождение 14 здоровых детей, в том числе 3 — после селективных переносов эмбрионов, подвергавшихся криоконсервации (Mateizel et al., 2013). Следует отметить существенно различное число гЭПР-позитивных и гЭПР-негативных циклов во всех исследованиях, что могло в определенной степени повлиять на достоверность полученных результатов. Тем не менее имеется выраженная тенденция к ухудшению эмбриологических и клинических исходов у пациенток с данной патологией ооцитов. Именно поэтому требуется проведение дальнейших многоцентровых исследований данной патологии.

### Заключение

На данный момент причины возникновения и механизмы формирования гЭПР в ооцитах недостаточно изучены. Согласно одной из гипотез, генетические нарушения в клетке, приводящие к неконтролируемому эндоцитозу или к слиянию везикул, которые должны подвергнуться экзоцитозу, могут вызывать формирование агрегатов гЭПР. Поэтому пристальное внимание следует уделить генетическим особенностям ооцитов с гЭПР, значению внешних факторов, протоколов стимуляции в формировании дисморфизмов и влиянию данной патологии на исходы циклов ВРТ, в особенности на здоровье будущих детей. Полное понимание проблемы позволит создать оптимальный протокол ведения пациенток с аномальными ооцитами.

### Список литературы

Balaban B., Urman B. 2006. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reprod. Biomed. Online*. 12 : 608—615.

Ducibella T., Fissore R. 2008. The roles of Ca<sup>2+</sup>, downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development. *Develop. Biol.* 315 : 257—279.

Ducibella T., Huneau D., Angelichio E., Xu Z., Schultz R., Kopf G., Madoux S., Ozil J. 2002. Egg-to-embryo transition is driven by differential responses to Ca<sup>2+</sup> oscillation number. *Develop. Biol.* 291 : 280—291.

Dumollard R., Marangos P., Fitzharris G., Swann K., Duchan M., Carroll J. 2004. Sperm-triggered [Ca<sup>2+</sup>] oscillations and Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the mouse egg have an absolute requirement for mitochondrial ATP production. *Development*. 131 : 3057—3067.

Ebner T., Sommergruber M., Moser M., Shebl O., Tews G. 2006. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum. Reprod.* 21 : 2022—2026.

Fitzharris G., Marangos P., Carroll J. 2007. Changes in endoplasmic reticulum structure during mouse oocyte maturation are controlled by the cytoskeleton and cytoplasmic dynein. *Develop. Biol.* 305 : 133—144.

Jones K., Carroll J., Merriman J., Whittingham D., Kono T. 1995. Repetitive sperm-induced Ca<sup>2+</sup> transients in mouse oocytes are cell cycle dependent. *Development*. 3266 : 3259—3266.

Mann J., Lowther K., Mehlmann L. 2010. Reorganization of the endoplasmic reticulum and development of Ca<sup>2+</sup> release mechanisms during meiotic maturation of human oocytes 1. *Biol. Reprod.* 83 : 578—583.

Mateizel I., Landuyt L., Tournaye H., Verheyen G. 2013. Deliveries of normal healthy babies from embryos originating from oocytes showing the presence of smooth endoplasmic reticulum aggregates. *Hum. Reprod.* 28 : 2111—2117.

Meriano J., Alexis J., Visram-zaver S., Cruz M., Casper R. 2001. Tracking of oocyte dysmorphisms for ICSI patients may prove relevant to the outcome in subsequent patient cycles. *Hum. Reprod.* 16 : 2118—2123.

Nayudu P., Lopata A., Jones J., Gook D., Bourne H., Sheater S., Brown T. 1989. An analysis of human oocytes and follicles from stimulated cycles: oocyte morphology and associated follicular fluid characteristics. *Hum. Reprod.* 4 : 558—567.

Nottola S., Macchiarelli G., Cotichio G., Bianchi S., Cecconi S., Santis L., Scaravelli G., Flamighi C., Borini A. 2007. Ultrastructure of human mature oocytes after slow cooling cryopreservation using different sucrose concentrations. *Hum. Reprod.* 22 : 1123—1133.

Otsuki J., Okada A., Morimoto K., Nagai Y., Kubo H. 2004. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. *Hum. Reprod.* 19 : 1591—1597.

Runft L. L., Jaffe L. A., Mehlmann L. M. 2002. Egg activation at fertilization: where it all begins. *Develop. Biol.* 254 : 237—254.

Sa R., Cunha M., Silva J., Luis A., Oliveira C., Silva J., Barros A., Sousa M. 2011. Ultrastructure of tubular smooth endoplasmic reticulum aggregates in human metaphase II oocytes and clinical implications. *Fertil. Steril.* 96 : 143—149.

Santella L., Alikani M., Talansky B., Cohen J., Dale B. 1992. Is the human oocyte plasma membrane polarized? *Hum. Reprod.* 7 : 999—1003.

Serhal P., Ranieri D., Kinis A., Marchant S., Davies M., Khadum I. 1997. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.* 12 : 1267—1270.

Swain J., Pool T. 2008. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization. *Hum. Reprod. Upd.* 14 : 431—446.

Wallbuton S., Kasraie J. 2010. Vacuolated oocytes: fertilization and embryonic arrest following intra-cytoplasmic sperm injection in a patient exhibiting persistent oocyte macro vacuolization — Case report. *J. Assist. Reprod. Genet.* 27 : 183—188.

Webb R., Bains H., Cruttwell C., Carroll J. 2002. Gap-junctional communication in mouse cumulus — oocyte complexes: implications for the mechanism of meiotic maturation. *Reproduction*. 123 : 41—52.

Younglai E., Wu Y., Kwan T., Kwan C. 2005. Non-genomic action of estradiol and progesterone on cytosolic calcium concentrations in primary cultures of human granulosa-lutein cells. *Hum. Reprod.* 20 : 2383—2390.

Zamboni L., Thompson R., Smith M. 1972. Fine morphology of human oocyte maturation *in vitro*. *Biol. Reprod.* 457 : 425—457.

MECHANISMS OF SMOOTH ENDOPLASMIC RETICULUM AGGREGATES CREATION  
IN OOCYTE'S CYTOPLASM IN IVF CYCLES AND ITS CLINICAL RELEVANCE  
(LITERATURE REVIEW)

*E. V. Kovalskaya*<sup>1</sup>, *N. P. Makarova*<sup>1</sup>, *A. G. Syrkasheva*<sup>1</sup>, \* *N. V. Dolgushina*<sup>1</sup>, *L. F. Kurilo*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budget Institution «Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology»,  
Ministry of Healthcare of the Russian Federation,  
and <sup>2</sup> Research Center of Medical Genetics of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;  
\* e-mail: anast.syrkasheva@gmail.com

A large proportion of human oocytes received from exogenous gonadotropin-stimulated cycles have different morphological attributes, or dysmorphisms. The presence of dysmorphism can affect the fertilization rate, the embryo quality and subsequently the frequency of occurrence of implantation and pregnancy. Special attention is paid to oocytes with cytoplasmic attributes such as alteration of cytoplasmic granularity, the appearance of vacuoles, lipofuscin bodies and visible (large) aggregates of smooth endoplasmic reticulum. Endoplasmic reticulum (ER) is a type of the organelle forming an interconnected network of flattened, membrane-enclosed sacs or tubes. One of the main functions of ER in the oocyte is storage and redistribution of calcium, which provides cell activation during fertilization. Furthermore, complex of ER and mitochondria is necessary for accumulation of energy, synthesis of lipids and triglycerides, as well as synthesis of cytosolic and nuclear membranes during the early stages of cleavage. The appearance of anomalously large aggregates of ER in oocytes correlates with a low fertilization rate, low embryo quality, and pregnancy rate. The aim of the manuscript is to summarize current understanding of the mechanism of formation of such pathology of oocytes, together with special aspects of their fertilization and embryo quality.

**Key words:** oocyte, *in vitro* fertilization, endoplasmic reticulum, oocyte pathology.

---