

УДК: 612.622.3:576.311.31

ГРАНУЛЯЦИЯ ЦИТОПЛАЗМЫ ООЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА НА СТАДИИ ЗАРОДЫШЕВОГО ПУЗЫРЬКА КАК ПРЕДИКТОР СПОСОБНОСТИ К СПОНТАННОМУ СОЗРЕВАНИЮ В СТИМУЛИРОВАННЫХ ЦИКЛАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

© 2024 г. Д. Ф. Салимов^{1, *}, И. О. Боголюбова^{2, 3}, Д. С. Боголюбов^{2, **}

¹Клинический институт репродуктивной медицины,
Екатеринбург, 620014, Россия

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
Санкт-Петербург, 194100, Россия

*E-mail: dfsalimov@mail.ru

**E-mail: dbogol@mail.ru

Поступила в редакцию 01.02.2024

После доработки 25.02.2024

Принята к публикации 26.02.2024

Несмотря на то, что в программах экстракорпорального оплодотворения обычно используют зрелые ооциты, находящиеся на стадии метафазы II мейоза, возможно использование диплотенных ооцитов на стадии зародышевого пузырька (germinal vesicle, GV) после их созревания *in vitro* (in vitro maturation, IVM). Морфологическая характеристика нативных GV-ооцитов перспективна с точки зрения выявления предикторов для прогнозирования их способности к самопроизвольному созреванию в стимулированных циклах. Целью работы являлся анализ паттернов грануляции цитоплазмы GV-ооцитов, различающихся по способности к возобновлению и завершению мейотического созревания *in vitro*. Показано, что центральный паттерн грануляции негативно коррелирует со способностью GV-ооцитов к спонтанному созреванию *in vitro*.

Ключевые слова: ооциты человека, ядро ооцита, зародышевый пузырек, цитоплазматическая грануляция, созревание ооцитов

Принятые сокращения: ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение; ИКСИ — интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида; CLCG — центрально локализованная цитоплазматическая грануляция (centrally located cytoplasmic granulation); DIC — дифференциально-интерференционный контраст (differential interference contrast); GV — зародышевый пузырек (germinal vesicle); GVBD — дезинтеграция ядерной оболочки ооцита перед делением созревания (дословно: разрушение зародышевого пузырька, germinal vesicle breakdown); IVM — созревание *in vitro* (in vitro maturation); MI/МII — метафаза I/II деления мейоза.

DOI: 10.31857/S0041377124030076, **EDN:** РЕНВСВ

В настоящее время не существует единой системы оценки качества ооцитов на стадии зародышевого пузырька (germinal vesicle, GV) и их потенциала к возобновлению мейоза и дальнейшему развитию. При этом изменения морфологических параметров GV-ооцитов, наряду с оценкой ооцитов на стадии метафазы II, могли бы быть критерием для оценки качества ответа на гормональную стимуляцию супер-овуляции. В литературе периодически обсуждается возможность применения незрелых ооцитов (на стадиях GV и MI) в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В частности, показано потенциальное увеличение на 5.6% уровня живорождения

(live birth rate, LBR) при использовании GV-ооцитов (Martin-Palomino Olid et al., 2019), а также увеличение среднего количества доступных ооцитов на стадии МII, что в конечном итоге позволяет получить одну дополнительную бластоцисту на цикл. Использование GV-ооцитов, полученных в стимулированном цикле, носит название GV rescue (спасение GV-ооцитов) (Escrich et al., 2018) и может рассматриваться в качестве дополнительного источника зрелых ооцитов. Согласно опубликованным данным, GV-ооциты способны к спонтанному созреванию, достигая стадии МII, если они были выделены из фолликулов размером более 3 мм (Escrich et al., 2011). В случае стимулированных

циклов созревание GV-ооцитов происходит в 60–80% случаев в течение 30–40 ч их культивирования *in vitro* (Ortega-Hrepich et al., 2013). В то же время показатели имплантации после созревания ооцитов *in vitro* — как в стимулированном цикле (GV rescue), так и в классическом нестимулированном цикле IVM (*in vitro* maturation) — невысоки по сравнению с обычным циклом ЭКО (Gremeau et al., 2012; Das et al., 2014). Такие показатели, как количество и качество blastocyst после IVM, также ниже, нежели в цикле ЭКО (Reader et al., 2017). Это повышает актуальность выявления эффективных морфологических предикторов качества GV-ооцитов, которые позволили бы прогнозировать успешность их созревания и дальнейшего развития.

Одним из таких возможных предикторов может выступать цитоплазматическая грануляция, которая является общепризнанным морфологическим критерием оценки зрелых ооцитов в программах ЭКО (Rienzi et al., 2012). Целью настоящей работы являлся анализ зависимости между паттерном грануляции GV-ооцитов, полученных в стимулированных циклах ЭКО, и их способностью к самопроизвольному возобновлению и завершению мейоза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Дизайн исследования. Проведено проспективное когортное исследование с использованием ооцитов человека на стадии GV, полученных при проведении стимуляции суперовуляции в программах ЭКО. GV-ооциты не используются в программе экстракорпорального оплодотворения и подлежат утилизации или использованию в научных целях, о чем пациентки подписывали информированное согласие перед вступлением в программу ЭКО. Протокол исследования и форма информированного согласия были одобрены локальным этическим комитетом ООО «Клинический институт репродуктивной медицины» (г. Екатеринбург, Россия).

Всего в исследование было включено 123 ооцита, полученных от 64 пациенток. Каждый ооцит рассматривали как отдельный клинический случай. Все ооциты были поделены на 3 группы в зависимости от их способности к возобновлению мейоза и созреванию *in vitro* (табл. 1). В группу I вошли 90 GV-ооцитов от 55 пациенток, завершившие спонтанное созревание экстружией первого полярного тельца. В группу II включены 14 ооцитов от 12 пациенток, возобновившие созревание, но остановившиеся в развитии до выделения первого полярного тельца (блок MI). В группу III вошли 19 ооцитов от 14 пациенток, остановившиеся на стадии GV (блок GVBD).

Таблица 1. Анализируемые группы ооцитов

Группа I	Группа II	Группа III
Возобновление мейотического созревания	Блок на стадии MI	Блок на стадии GVBD
Завершение первого мейотического деления		
<i>n</i> = 90	<i>n</i> = 14	<i>n</i> = 19

Гормональная стимуляция, получение и культивирование ооцитов. С целью контролируемой стимуляции овуляции использовали «длинные» протоколы с агонистами гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) и «короткие» протоколы с антагонистами ГнРГ. Суммарная доза гонадотропинов составляла ≥ 1500 МЕ. При достижении тремя и более доминантными фолликулами диаметра 17–18 мм в качестве триггера овуляции назначали хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) (Овитрель, Мерк Сероно, Италия; Прегнил, Органон, Нидерланды) или агонист ГнРГ (Декапептил; Ферринг, Германия; Диферелин; Ипсен, Франция) при росте 15 и более доминантных фолликулов. Трансвагинальную пункцию фолликулов проводили через 36 ч после назначения триггера. Собранные ооцит–кумуляционные комплексы отмывали в многоцелевой культуральной среде МНМ (Multipurpose Handling Medium Complete, Irvine, США) для работы с гаметам и эмбрионами вне инкубатора. Затем в однолуночных чашках (Nunc, США) в среде НТФ (Human tubal fluid, Irvine, США) ооцит–кумуляционные комплексы помещали на 2 ч в CO₂-инкубатор (6.0% CO₂; 37 °C), после чего проводили денудацию ооцитов согласно рекомендациям производителя культуральных сред путем пипетирования в растворе гиалуронидазы (hyaluronidase solution, 80 МЕ/мл, Irvine, США) с использованием стерильных капилляров диаметром 170 мкм и 140 мкм (Origio Inc, США). Затем после трехкратной отмывки в МНМ оценивали стадии зрелости ооцитов с использованием инвертированного микроскопа Nikon Ti (Nikon, Япония) с установленной системой модуляционного (рельефного) контраста Хоффмана. Ооциты с одним полярным тельцем оценивали как ооциты на стадии MII (Rienzi et al., 2012) и использовали в дальнейшем в программе ЭКО + ИКСИ при бесплодии. Ооциты без полярного тельца и с интактным ядром (GV) использовали для научных целей. Для этого GV-ооциты в среде НТФ помещали в CO₂-инкубатор (6.0% CO₂, 37 °C) в культуральных чашках с микролунками (Vitrolife, Швеция) и проводили серийную съемку с временным интервалом (time lapse) с частотой 1 кадр в 10 мин на протяжении следующих 48 ч культивирования. Для оценки

морфодинамических параметров созревания ооцитов оценивали следующие показатели: время начала разрушения зародышевого пузырька (germinal vesicle breakdown, GVBD) (T_{GVBD} , мин) и время начала экструзии первого полярного тела (T_{PBEX} , мин).

Определение паттерна грануляции. Для оценки паттерна грануляции использовали дифференциальную интерференционно-контрастную (DIC) микроскопию (Nikon Eclipse Ti-U, поляризатор T-P2, объектив 40×/0.60 DIC Plan Fluor, Япония), ооциты при этом находились в культуральных чашках со стеклянным дном (WilCoDish, США). При микроскопии качественную оценку всех GV-ооцитов проводили два независимых оператора; визуально отмечали наличие четко выраженной гранулированной области.

Статистическая обработка данных. Для статистического анализа данных использовали пакеты прикладных программ IBM SPSS Statistics v.20.0. Статистическую достоверность различий между частотой встречаемости разных паттернов грануляции в анализируемых группах ооцитов оценивали с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса и точного критерия Фишера. Морфодинамические показатели ооцитов тестировали на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Учитывая, что распределение у части количественных признаков достоверно отличалось от нормального, статистический анализ проводили с помощью непараметрических критериев. Данные представлены в виде медианы (М) и границ межквартильного интервала: М (25% ÷ 75%). Статистическую достоверность различий между морфодинамическими показателями

ооцитов оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате прижизненной микроскопии GV-ооцитов наблюдали два основных типа локализации цитоплазматической грануляции: паттерн А — четко выраженная перинуклеарная область грануляции; паттерн Б — гомогенно распределенная по всей цитоплазме грануляция. Репрезентативные изображения ооцитов с разными паттернами грануляции представлены на рис. 1.

Частота встречаемости GV-ооцитов с различными паттернами грануляции в группах, различающихся по своим способностям к возобновлению и завершению мейотического созревания, представлена на рис. 2.

GV-ооциты, возобновившие мейоз и завершившие созревание выбросом первого полярного тельца (группа I), только в 50.0% случаев имели перинуклеарный тип грануляции (паттерн А), тогда как в группах II и III этот паттерн грануляции встречался в 78.6% ($p = 0.046$) и 73.7% ($p = 0.049$) случаев соответственно. Отмеченные выше различия статистически достоверны. В то же время частота встречаемости ооцитов с разными паттернами грануляции в группе II и группе III достоверно не различается.

Морфодинамические показатели GV-ооцитов представлены в табл. 2. Время до вступления в GVBD в группе II статистически достоверно больше, чем в группе I. Среди всех GV-ооцитов, вступивших

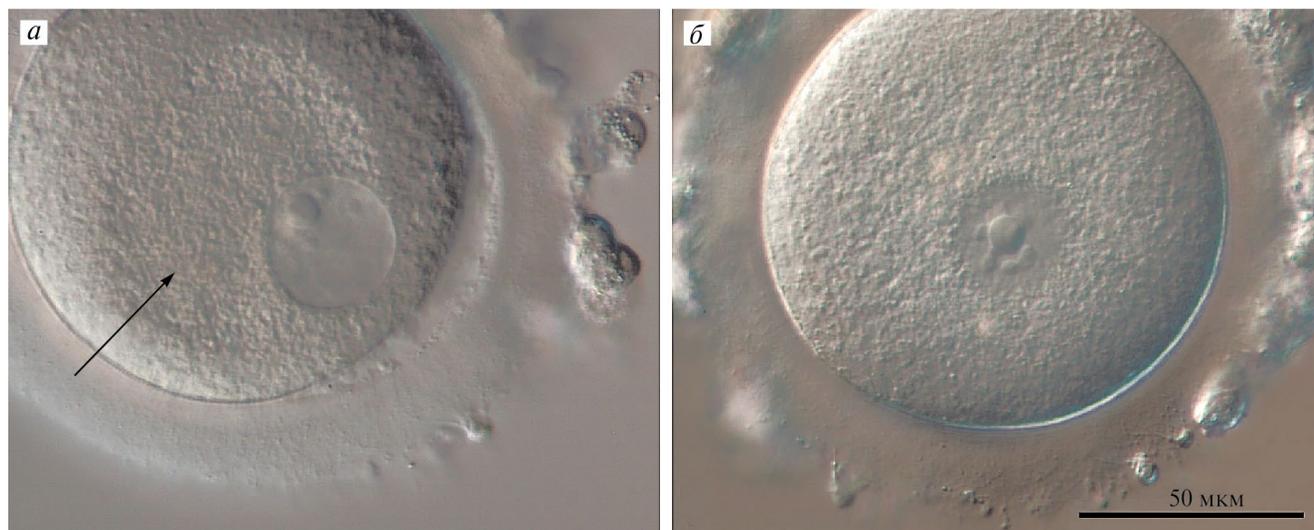


Рис. 1. GV-ооциты с различными паттернами грануляции. а — Паттерн А с четко выраженной перинуклеарной областью грануляции в цитоплазме (отмечена стрелкой); б — паттерн Б с гомогенно распределенной по всей цитоплазме грануляцией.

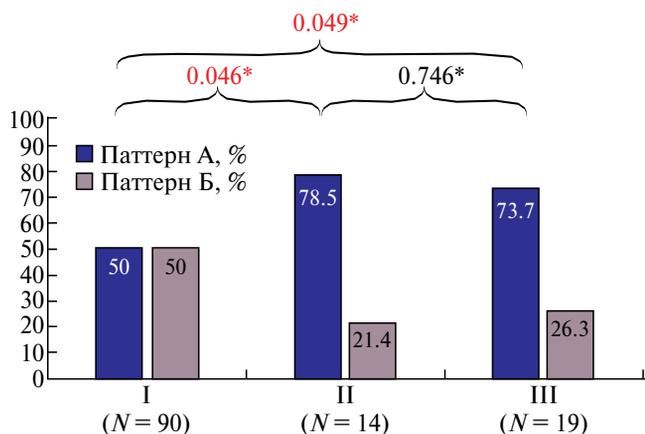


Рис. 2. Процентное соотношение паттернов грануляции А и Б в исследуемых группах GV-ооцитов. (*) — Различия статистически достоверны, $p < 0.05$.

в созревании и закончивших его выбросом полярного тела (группа I), время от начала GVBD до выброса первого полярного тела составило 995 (930–1077) мин, что составляет примерно 16.6 ч.

Таблица 2. Временные характеристики созревания GV-ооцитов в анализируемых группах

Время T, мин	Группа I	Группа II	Группа III
T _{GVBD} (до GVBD)	220.5* (106–454)	1478.0* (551–3415)	—
T _{РВЕХ} (до экстррузии полярного тельца)	995.0 (930–1077)	—	—

*Различия между группами I и II достоверны ($p = 0.00001$)

ОБСУЖДЕНИЕ

Выраженная грануляция центральной части цитоплазмы, наблюдаемая в некоторых ооцитах человека на стадии МII, первоначально была описана Сералем с соавторами (Serhal et al., 1997), которые, однако, не вводили какого-либо специального термина и/или аббревиатуры для этой морфологической особенности женских половых клеток. В настоящее время центрально локализованная цитоплазматическая грануляция (centrally located cytoplasmic granulation, CLCG) рассматривается как одна из наиболее часто встречающихся морфологических аномалий ооцитов человека на стадии МII и широко обсуждается в литературе в связи с неблагоприятными исходами IVF (Kahraman et al., 2000; Merviel et al., 2017; Yi et al., 2019; Sun et al., 2022; Zhang et al., 2022; Wang et al., 2023). Хотя изначально CLCG была описана для ооцитов, находящихся на стадии МII, в которых она в полном соответствии со своим названием располагается в центре клетки (Serhal et al., 1997),

позднее этот термин был использован и для ранних эмбрионов человека в период дробления (Sun et al., 2022). Можно полагать, что описанный нами для GV-ооцитов паттерн А — с четко выраженной перинуклеарной областью грануляции в цитоплазме — соответствует CLCG в МII-ооцитах.

Вопрос о механизмах формирования цитоплазматической грануляции в ооцитах до сих пор можно считать открытым, несмотря на выраженный интерес клинических эмбриологов к этой морфологической аномалии. Анализ литературы позволяет полагать, что в основе гетерогенной грануляции цитоплазмы ооцитов при сходных морфологических проявлениях могут лежать совершенно разные субклеточные механизмы. В частности, некоторые авторы (Rienzi et al., 2012) указывают на необходимость различать грануляцию цитоплазмы, визуализация которой зависит от настроек оптической системы при световой микроскопии, и грануляцию, обусловленную кластеризацией органелл.

Особое внимание уделяется возможной роли митохондрий в формировании цитоплазматической грануляции ооцита (Van Blerkom, Runner, 1984; Wilding et al., 2001). Выделяют два паттерна распределения митохондрий: гомогенный (равномерное распределение) и гетерогенный (центральная или перинуклеарная локализация) (Sun et al., 2001; Wilding et al., 2001). Считается, что более ранний — гомогенный — паттерн распределения митохондрий в процессе роста и созревания ооцита сменяется на гетерогенный перинуклеарный паттерн (Sánchez et al., 2015). Предположительная причина такой смены локализации митохондрий — более высокие потребности в АТФ для обеспечения процессов GVBD и формирования веретена деления (Van Blerkom, Runner, 1984; Yu et al., 2010). Обнаружено, что в GV-ооцитах, не компетентных к вступлению в созревание, митохондрии локализируются вокруг ядра достоверно реже (Sánchez et al., 2015). Однако более поздние исследования показали, что динамика митохондрий в ооцитах может иметь более сложный характер: сначала действительно происходит смена их гомогенного распределения на центральную локализацию, но затем, непосредственно перед GVBD, распределение митохондрий вновь быстро приобретает гомогенный характер (Takahashi et al., 2016).

Вероятно, смена гетерогенной грануляции на гомогенную обусловлена завершающейся подготовкой к началу редукционного деления и связанными с этим потребностями в синтезе ферментных систем, а также белков цитоскелета и сократительного аппарата веретена деления (Van Blerkom, Runner, 1984;

Yu et al., 2010). С этим предположением хорошо согласуется зарегистрированное нами увеличение времени до начала GVBD в группе II, то есть в ооцитах, развитие которых остановилось на стадии MI. Можно предполагать, что в использованных нами GV-ооцитах, полученных в стимулированных циклах, разные паттерны грануляции также определяются особенностями распределения митохондрий. Однако это предположение требует дальнейшей проверки, например, с помощью электронной микроскопии или специфических маркеров митохондрий.

Наши результаты указывают на возможность использовать паттерн грануляции цитоплазмы в качестве предиктора созревания *in vitro* GV-ооцитов, полученных в стимулированных циклах. Ооциты с центральной локализованной (перинуклеарной) грануляцией (паттерн А) реже вступают в созревание по сравнению с ооцитами с равномерно распределенной грануляцией (паттерн Б). При этом необходимо отметить, что для ооцитов человека, используемых в программах классического IVM (без использования гормональной стимуляции), показана обратная зависимость (Sánchez et al., 2015). В GV-ооцитах, не компетентных к возобновлению и завершению мейоза, митохондрии концентрируются вокруг ядра достоверно реже. Это противоречие, по-видимому, можно объяснить различной динамикой развития ооцитов, получаемых в классических и стимулированных циклах IVM. Тем не менее, учитывая сложную динамику перераспределения митохондрий в цитоплазме развивающихся ооцитов, для прогнозирования успешности их мейотического созревания паттерн грануляции следует использовать в сочетании с другими морфологическими предикторами, например со степенью конденсации хроматина в GV (Salimov et al., 2023).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа частично выполнена в рамках бюджетного финансирования Института цитологии РАН (тема FMFU-2024-0012).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры соответствовали Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым этическим стандартам. От каждого участника, включенного в исследование, было получено информированное письменное согласие. Исследование одобрено протоколом заседания локального этического комитета ООО «Клинический институт репродуктивной медицины» от 3 марта 2021 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Das M., Son W. Y., Buckett W., Tulandi T., Holzer H. 2014. In vitro maturation versus IVF with GnRH antagonist for women with polycystic ovary syndrome: treatment outcome and rates of ovarian hyperstimulation syndrome. *Reprod. Biomed Online*. V. 29. P. 545.
- Escrich L., Galiana Y., Grau N., Insua F., Soler N., Pellicer A., Escrivá M. 2018. Do immature and mature sibling oocytes recovered from stimulated cycles have the same reproductive potential? *Reprod. Biomed. Online*. V. 37. P. 667.
- Escrich L., Grau N., Mercader A., Rubio C., Pellicer A., Escrivá M. 2011. Spontaneous in vitro maturation and artificial activation of human germinal vesicle oocytes recovered from stimulated cycles. *J. Assist. Reprod. Genet.* V. 28. P. 111.
- Greteau A. S., Andreadis N., Fatum M., Craig J., Turner K., McVeigh E., Child T. 2012. In vitro maturation or in vitro fertilization for women with polycystic ovaries? A case — control study of 194 treatment cycles. *Fertil. Steril.* V. 98. P. 355.
- Kahraman S., Yakin K., Dönmez E., Samli H., Bahçe M., Cengiz G. 2000. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.* V. 15. P. 2390.
- Martin-Palomino Olid N., García D., Rodríguez A., Vassena R. 2019. Could fertility clinics offer a sizable improvement of live birth rates by maturing post-GVBD oocytes in vitro? *J. Assist. Reprod. Genet.* V. 36. P. 1927.
- Merviel P., Cabry R., Chardon K., Haraux E., Scheffler F., Mansouri N. B. 2017. Impact of oocytes with CLCG on ICSI outcomes and their potential relation to pesticide exposure. *J. Ovarian Res.* V. 10. P. 42.
- Ortega-Hrepich C., Stoop D., Guzmán L., Van Landuyt L., Tournaye H., Smits J., De Vos M. 2013. A 'freeze-all' embryo strategy after in vitro maturation: a novel approach in women with polycystic ovary syndrome? *Fertil. Steril.* V. 100. P. 1002.
- Reader K. L., Stanton J. L., Juengel J. L. 2017. The role of oocyte organelles in determining developmental competence. *Biology (Basel)*. V. 18: 35.
- Rienzi L., Balaban B., Ebner T., Mandelbaum J. 2012. The oocyte. *Hum. Reprod.* V. 27. No. S1. P. i2.
- Salimov D., Lisovskaya T., Otsuki J., Gzgzyan A., Bogolyubova I., Bogolyubov D. 2023. Chromatin morphology in human germinal vesicle oocytes and their competence to mature in stimulated cycles. *Cells*. V. 12: 1976.
- Sánchez F., Romero S., De Vos M., Verheyen G., Smits J. 2015. Human cumulus-enclosed germinal vesicle oocytes from early antral follicles reveal heterogeneous cellular and molecular features associated with in vitro maturation capacity. *Hum. Reprod.* V. 30. P. 1396.
- Serhal P. F., Ranieri D. M., Kinis A., Marchant S., Davies M., Khadum I. M. 1997. Oocyte morphology predicts outcome

- of intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.* V. 12. P. 1267.
- Sun F., Cun J., Huang R., Chen Y., Verwoerd G., Yu Y. 2022. Different occurrence rates of centrally located cytoplasmic granulation in one cohort oocytes show distinctive embryo competence and clinical outcomes. *Reprod. Biol.* V. 22. P. 100649.
- Takahashi Y., Hashimoto S., Yamochi T., Goto H., Yamanaka M., Amo A., Matsumoto H., Inoue M., Ito K., Nakaoka Y., Suzuki N., Morimoto Y. 2016. Dynamic changes in mitochondrial distribution in human oocytes during meiotic maturation. *J. Assist. Reprod. Genet.* V. 33. P. 929.
- Van Blerkom J., Runner M. N. 1984. Mitochondrial reorganization during resumption of arrested meiosis in the mouse oocyte. *Am. J. Anat.* V. 171. P. 335.
- Wang Y., Chen D., Cai B., Huang D., Xu Y., Ding C. 2023. Effects of different oocyte cytoplasmic granulation patterns on embryo development and euploidy: a sibling oocyte control study. *Arch. Gynecol. Obstet.* V. 308. P. 1593.
- Wilding M., Dale B., Marino M., di Matteo L., Alviggi C., Pisaturo M. L., Lombardi L., de Placido G. 2001. Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos. *Hum. Reprod.* V. 16. P. 909.
- Yi X. F., Xi H. L., Zhang S. L., Yang J. 2019. Relationship between the positions of cytoplasmic granulation and the oocytes developmental potential in human. *Sci. Rep.* V. 9: 7215.
- Yu Y., Dumollard R., Rossbach A., Lai F. A., Swann K. 2010. Redistribution of mitochondria leads to bursts of ATP production during spontaneous mouse oocyte maturation. *J. Cell Physiol.* V. 224. P. 672.
- Zhang L., Zeng L., Liu H., Jia H., Wu Y., He C. 2022. Effects of oocyte cytoplasmic central granulation on embryonic development, blastocyst formation, and pregnancy outcome in assisted reproductive technology and its mechanism. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand).* V. 68. P. 161.

CYTOPLASMIC GRANULATION OF HUMAN OOCYTES AT THE GERMINAL VESICLE STAGE AS A PREDICTOR OF THEIR ABILITY TO SPONTANEOUS MATURATION IN STIMULATED CYCLES OF IN VITRO FERTILIZATION

D. F. Salimov^{a, *}, I. O. Bogolyubova^{b, c}, D. S. Bogolyubov^{b, **}

^aClinical Institute of Reproductive Medicine, 620014, Yekaterinburg, Russia

^bInstitute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, 194064, St. Petersburg, Russia

^cSt. Petersburg State Pediatric Medical University, 194100, St. Petersburg, Russia

* e-mail: dfsalimov@mail.ru

** e-mail: dbogol@mail.ru

Although in vitro fertilization (IVF) programs usually use mature (metaphase II, MII) oocytes, it is also possible to use diplotene oocytes at the germinal vesicle (GV) stage after their in vitro maturation (IVM). Morphological characteristics of native GV oocytes are promising predictors their capacity of spontaneous maturation in stimulated cycles. The purpose of this work was to analyze the patterns of cytoplasmic granulation of GV oocytes that differ in their ability to resume and complete meiotic maturation in vitro. It has been shown that the central granulation pattern negatively correlates with the ability of GV oocytes to spontaneously mature in vitro.

Keywords: human oocytes, oocyte nucleus, germinal vesicle, cytoplasmic granulation, oocyte maturation