

© Коллектив авторов, 2022

Ю.В. СОКОЛОВА¹, Я.О. МАРТИРОСЯН¹, Т.А. НАЗАРЕНКО¹,
А.М. БИРЮКОВА¹, Д.Г. ХУБАЕВА², В.Г. КРАСНОВА¹**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВНУТРИЯИЧНИКОВОГО
ФОЛЛИКУЛОГЕНЕЗА, СОЗРЕВАНИЯ И РЕКРУТИНГА ФОЛЛИКУЛОВ**¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия²ФГАО ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия

В обзоре обсуждаются новые подходы к изучению этапов фолликулогенеза, анализируется вклад основных сигнальных путей в процессы внутрияичникового регулирования фолликулогенеза, рекрутинга фолликулов и их созревания.

Материалы и методы: В обзор включены данные зарубежных и отечественных статей, найденных в Pubmed по рассматриваемой теме и опубликованных в последние годы.

Результаты: Приведен анализ данных научных исследований в области регуляции репродуктивной системы женщины, сделан акцент на экспериментальных исследованиях сигнальных путей, регулирующих внутрияичниковый фолликулогенез, обозначены перспективы их использования в клинической практике. На основании новых знаний рассматриваются возможности преодоления тяжелых форм бесплодия, ассоциированных с малым числом получаемых ооцитов и их плохим качеством, преодоления синдрома преждевременного истощения яичников, защиты яичников от гонадотоксичных воздействий. Подчеркивается необходимость расширения и интенсификации исследований по изучению процессов внутрияичникового фолликулогенеза и выбора гонадотропин-зависимого пула фолликулов.

Заключение: Представленные исследования демонстрируют интерес ученых к изучению сложных вопросов внутрияичникового фолликулогенеза, роли сигнальных путей в этом процессе, затрагивают вопросы молекулярно-генетического участия и транскриптомного анализа. Необходимы дальнейшее накопление этих знаний и проведение фундаментальных исследований для развития репродуктивной медицины и решения вопросов патологии репродукции, тех ситуаций, которые сейчас мы не можем объяснить, а следовательно, эффективно лечить.

Ключевые слова: сигнальные пути, фолликулогенез, созревание *in vitro*.

Вклад авторов: Соколова Ю.В., Мартиросян Я.О., Назаренко Т.А., Бирюкова А.М., Хубаева Д.Г., Краснова В.Г. – разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Финансирование: Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Соколова Ю.В., Мартиросян Я.О., Назаренко Т.А., Бирюкова А.М., Хубаева Д.Г., Краснова В.Г. Молекулярно-биологические основы внутрияичникового фолликулогенеза, созревания и рекрутинга фолликулов. Акушерство и гинекология. 2022; 1: 22-30
<https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.1.22-30>

©A group of authors, 2022

YU.V. SOKOLOVA¹, YA.O. MARTIROSYAN¹, T.A. NAZARENKO¹,
A.M. BIRYUKOVA¹, D.G. KHUBAEVA², V.G. KRASNOVA¹**MOLECULAR BIOLOGICAL BASES FOR INTRAOVARIAN FOLLICULOGENESIS,
FOLLICULAR MATURATION AND RECRUITMENT**¹Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

The review discusses new approaches to studying the stages of folliculogenesis and analyzes the contribution of the major signaling pathways to the processes of intraovarian regulation of folliculogenesis, follicle recruitment and maturation.

Materials and methods: The review includes data from the foreign and Russia articles found in Pubmed on the topic under consideration and published in recent years.

Results: The review analyzes research data on the regulation of the female reproductive system with emphasis on experimental studies of the signaling pathways that regulate intraovarian folliculogenesis and defines prospects for

their use in clinical practice. On the basis of new knowledge, the authors consider the possibilities of preventing severe infertility associated with a small number of obtained oocytes and their poor quality, overcoming premature ovarian failure, and protecting the ovaries against gonadotoxic effects. They underline the need for expanding and intensifying the study of the processes of intraovarian folliculogenesis and choosing a gonadotropin-dependent pool of follicles.

Conclusion: *The presented studies demonstrate the interest of scientists in the investigation of complex issues of intraovarian folliculogenesis and the role of signaling pathways in this process and touch on molecular genetic involvement and transcriptome analysis. It is necessary to further accumulate this knowledge and conduct fundamental studies for the development of reproductive medicine and the resolution of the problems of reproductive pathology, the situations that we cannot explain now or, therefore, effectively treat.*

Keywords: *signaling pathways, folliculogenesis, in vitro maturation.*

Authors' contributions: Sokolova Yu.V., Martirosyan Ya.O., Nazarenko T.A., Biryukova A.M., Khubaeva D.G., Krasnova V.G. – development of the design of the investigation; obtaining data for analysis; review of publications on the topic of the article; analysis of the findings; writing the text of the manuscript.

Conflicts of interest: The authors declare that there are no possible conflicts of interest.

Funding: The investigation has not been sponsored.

For citation: Sokolova Yu.V., Martirosyan Ya.O., Nazarenko T.A., Biryukova A.M., Khubaeva D.G., Krasnova V.G. Molecular biological bases for intraovarian folliculogenesis, follicular maturation and recruitment. Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology. 2022; 1: 22-30 (in Russian) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2022.1.22-30>

За последние 40 лет наблюдается непрерывный прогресс в репродуктивной медицине, сопровождающийся возникновением новых и более совершенных методик вспомогательных репродуктивных технологий. Тем не менее частота наступления беременности (ЧНБ) в развитых странах мира достигла своего плато и не меняется кардинально на протяжении последнего десятилетия. Анализ регистров Российской ассоциации репродукции человека (РАРЧ) за период 2012–2018 гг., представленный на рисунке, подтверждает этот факт.

В соответствии с данными регистра РАРЧ за 2018 г., ЧНБ после переноса эмбрионов на стадии бластоцисты, по сравнению с переносом на стадии дробящегося эмбриона, оказалась более высокой и составила соответственно в свежих циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) – 38,6 и 28,1%, в циклах с размороженными эмбрионами – 41,7 и 32,4%, в циклах с донорскими ооцитами – 46,0 и 30,2%, в циклах с преимплантационным генетическим тестированием (ПГТ)/преимплантационным генетическим скринингом (ПГС) – 47,5 и 22,6% и в программах суррогатного материнства – 45,6 и 41,3%.

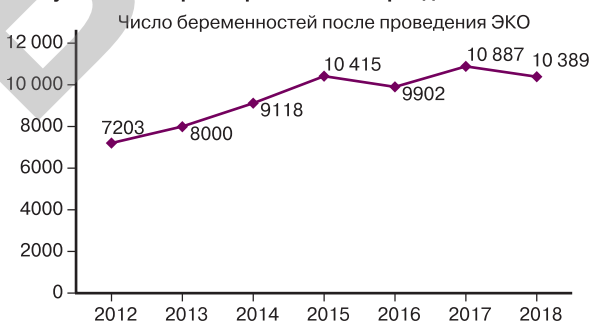
Сравнив аналогичные данные регистра РАРЧ за 2013 г., мы не обнаружили значительного повышения ЧНБ на цикл ЭКО; она составила в расчете на цикл лечения 33,1% (2012 г. – 33,0%), на пункцию – 34,2% (2012 г. – 34,3%), на перенос эмбрионов – 38,5% (2012 г. – 38,5%). В программе ИКСИ эти показатели составили соответственно 29,7, 30,87, 36,9% (2012 г. – 29,6, 30,4, 36,1%). ЧНБ в программе донорства ооцитов составила в расчете на цикл 38,2% (2012 г. – 40,6%), на перенос эмбрионов – 43,8% (2012 г. – 44,1%). Эти же показатели в программе переноса размороженных эмбрионов в расчете на цикл составили 29,6% (2012 г. – 31,3%), на перенос эмбрионов – 33,4% (2012 г. – 33,2%); в программе ПГТ/ПГС на цикл – 20,5% (2012 г. – 28,8%), на перенос эмбрионов – 31,8% (2012 г. – 36,9%).

Таким образом, ни широкое использование в рутинной клинической практике методов ПГТ, ни модификации протоколов контролируемой овариальной стимуляции и эмбриологических пособий не привели к значительным изменениям по основным показателям эффективности программ ЭКО: ЧНБ и частоте живорождения.

Кроме того, многие вопросы, касающиеся генеза ряда нарушений репродуктивной системы, остаются без ответа. Специалисты продолжают задаваться вопросом о природе идиопатического бесплодия, почему формально здоровые пары не могут достичь беременности? Неясно, почему молодые женщины без видимых причин имеют низкие показатели овариального резерва, почему в повторяющихся циклах ЭКО имеют место низкое качество ооцитов и так называемый «арест раннего эмбриогенеза», когда эмбрионы перестают развиваться на 2–3-й день культивирования. И наконец, существует ли межцикловая вариабельность качества рекрутированных фолликулов и от чего это зависит?

Ответы на эти и ряд других вопросов лежат, скорее всего, не на поверхности, в плоскости гормонально-зависимой фазы фолликулогенеза, а в определении

Рисунок. Анализ регистров РАРЧ за период 2012–2018 гг.



характера и особенностей внутрияичникового фолликулогенеза, механизмов перехода фолликулов от одной стадии развития к другой. Ряд дефектов оогенеза формируется в отсутствие гонадотропной регуляции и, вероятно, полностью зависит от внутренних сигнальных механизмов, сложной сети передачи сигналов между ооцитом и его окружением [1].

Для идентификации механизмов формирования «поломок» в ооцитах и дальнейшего поиска их преодоления принципиально важным становится изучение механизмов их первичной селекции [2].

Теории рекрутирования пула фолликулов и перехода их в гонадотропин-зависимую фазу

Успешное применение модифицированных протоколов овариальной стимуляции и возможность стимуляции яичников в любой день менструального цикла, в режимах так называемых *random-start* протоколов, создали определенный научный парадокс [3]. Ведь, следуя классическим, сформулированным в прошлом столетии представлениям о функции яичников, это невозможно, т.к. считается, что когорта фолликулов, выходящих в гонадотропин-зависимую фазу, рекрутируется один раз в течение цикла, к концу лютеиновой фазы предыдущего цикла. Один фолликул становится доминантным и овулирует, другие подвергаются атрезии. Считается, что стимуляция с начала фолликулярной фазы за счет повышения концентрации ФСГ «спасает» фолликулы, которые должны были бы атрезироваться, тем самым обеспечивает мультифолликулярный рост [4]. Это классика стимуляции функции яичников, существующая десятилетиями. Клиническая практика последних лет опровергает классические представления о физиологии фолликулогенеза.

На данный момент были предложены три различные теории рекрутирования фолликулов [4].

1) *Теория непрерывного рекрутинга*. Исследования, проведенные изначально на млекопитающих, в первую очередь на крупном рогатом скоте, привели к выводу о непрерывно происходящем рекрутинге фолликулов, вне зависимости от уровней ФСГ и ЛГ [4].

2) *Теория единичного эпизода рекрутирования за цикл*, в соответствии с которой когорта из антральных фолликулов диаметром 2–5 мм лишь единожды за менструальный цикл (или интеровуляторный интервал) отбирается для дальнейшего развития или апоптоза [4].

3) *Теория «волнового» рекрутинга*. Сторонники «волновой» теории фолликулогенеза считают, что несколько когорт, или «волн», антральных фолликулов вступают в фазу роста за один менструальный цикл или интеровуляторный интервал [5].

«Волновым» развитием фолликулов принято считать рекрутирование группы антральных фолликулов через равные промежутки времени в течение менструального цикла или интеровуляторного интервала. Фолликулы в каждой из волн имеют схожие, но не идентичные характеристики [5]. Как правило, один из рекрутируемых фолликулов становится доминантным, остальные же подвергаются атрезии. Новые

волны манифестируют через равные промежутки времени, каждой из них предшествует небольшое увеличение концентрации ФСГ. В одном интеровуляторном интервале первая волна является ановуляторной, последняя же всегда оканчивается овуляцией. В самом подробном из существующих на данный момент исследований яичники 63 нормально менструирующих женщин в возрасте от 19 до 43 лет (средний возраст 28 лет и 7 месяцев) изучены при помощи трансвагинального ультразвукового исследования [6].

Если исходить из предположения, что рекрутинг фолликулов из яичника происходит непрерывно в течение менструального цикла и не зависит от влияния центральных структур, то сам по себе яичник следует считать самодостаточной и саморегулирующейся структурой, в которой вследствие неясных пока механизмов осуществляются основные процессы роста, развития фолликулов и обеспечение полноценности ооцитов. То есть, проводя стимуляцию яичников в гонадотропин-зависимой фазе, мы имеем дело уже с вершиной айсберга, в которой в значительной степени предопределено число и качество имеющихся яйцеклеток.

Извлечение и дозревание незрелых фолликулов

Предпринимаются попытки извлечения и дозревания незрелых ооцитов [7]. Существует точка зрения, что первичные фолликулы могут быть более состоятельными в обеспечении репродукции, т.к. лишены дефектов, возможно, приобретаемых в процессе их развития и созревания. В клинической практике довольно успешно «дозревают» ооциты, находящиеся на стадии профазы первого мейоза – МI. Однако частота наступления беременности из «дозревших» и оплодотворенных ооцитов оказалась значительно ниже, чем в классической ситуации получения зрелых ооцитов [8]. Специалисты не без основания полагают, что причиной этого является не качество извлеченного незрелого ооцита, а условия культивирования *in vitro*, неспособные преодолеть асинхронное созревание ядра ооцита и интрацитоплазматических структур. Но эта проблема представляется решаемой путем модификации и совершенствования сред культивирования ооцита [8].

В этой связи в последнее время значительно вырос интерес к проблеме культивирования *in vitro* незрелых ооцитов, определения их способности к оплодотворению и выходу бластоцист. Определяются методики получения незрелых ооцитов, т.е. с минимальной стимуляцией или без таковой, и проводится оптимизация сред для дозревания [5].

Развитие направления сохранения репродуктивного материала онкологических больных способствовало получению незрелых ооцитов из ткани удаленного яичника [9]. Более того, предпринимаются попытки культивирования не только незрелых ооцитов на стадии профазы первого мейоза, но и на стадии герминального везикула [6].

В целом дозревание незрелых ооцитов может быть перспективным для клинической практики направлением.

Пренатальный фолликулогенез

Достижения фундаментальной эмбриологии и биологии развития позволяют сместить фокус исследований с последних 10 дней развития фолликула на процессы, происходящие до гонадотропин-зависимой фазы, и сам механизм селекции примордиальных фолликулов.

Сам по себе пренатальный фолликулогенез является загадкой. Так, к 26-й неделе развития плода в яичниках можно наблюдать от 6 до 7 млн примордиальных и антральных фолликулов. На момент рождения это число катастрофически снижается до 400 000 фолликулов. Далее до конца не изученные внутриовариальные механизмы активируют рост небольшого количества спящих первичных фолликулов, большая часть из которых уйдет впоследствии в атрезию; примерно к 50 годам у женщин остается около 1000 фолликулов [10].

Почему природа так жестко ограничила репродуктивный период женщины и можно ли это изменить? Не исключено, что репродуктивный запас вполне достаточен для поддержания человеческого вида, ведь природа предполагала, что женщина, достигнув половой зрелости, начнет рожать детей, что и было раньше, но не сейчас.

Можно ли пополнить запас яйцеклеток?

Пул примордиальных фолликулов считается единственным источником ооцитов для оплодотворения [11], хотя эта теория подвергалась сомнению в течение последнего десятилетия [12]. Группа Tilly J.L. была первой, сообщившей об обнаружении стволовых клеток в яичниках взрослых мышей [13]. Сообщалось об обнаружении клеток, активно экспрессирующих MVH (mouse vasa homologue) и BrdU (маркер пролиферации 5'-бромдезоксисуридин), в поверхностном эпителии яичников мыши (OSE). Позднее, с помощью проточной цитометрии этими же учеными в яичниках обнаружен VSELs (Very Small Embryonic-Like Stem Cells), фактор, относящийся к разряду плюрипотентных стволовых клеток и, предположительно, способный дать начало закладке OSC, специфичных предшественников ооцитов [13]. Позже группа Virant-Klun et al. [14] впервые сообщила о плюрипотентных стволовых клетках в организме человека. Эти стволовые клетки были очень малы по размеру (3–5 мкм), и VSELs, которые экспрессировали плюрипотентные маркеры на культуре, приводили к дифференцировке этих стволовых клеток в ооцитоподобные структуры размером >90 мкм с четко определенной прозрачной зоной. В то же время было показано, что ооцитоподобные структуры, полученные путем дифференцировки клеток, находящихся в OSE, способны подвергаться оплодотворению и кортикальной реакции при инкубации со спермой. Было показано, что VSELs существуют в большом количестве в ткани яичников, собранной у женщин с пограничным раком и серозной карциномой яичников, что указывает на их потенциальную при-

частность к раку яичников [15]. Эти выводы были подтверждены другой группой ученых [16].

Многие ученые не поддерживают точку зрения о возможности пополнения пула фолликулов за счет стволовых клеток [16]. Так, недавние исследования Zhang et al. поддерживают традиционное мнение о том, что в послеродовой жизни у мышей и людей не происходит обновления фолликулов. Как только первичный пул фолликулов сформирован, у примордиальных фолликулов есть три варианта развития судьбы – поддерживать состояние покоя в качестве примордиальных фолликулов, быть активированными и вступить в фазу роста или подвергнуться атрезии [16]. Баланс между периодами покоя, активации и гибели примордиальных фолликулов считается решающим фактором в определении продолжительности репродуктивной жизни женщины.

Сигнальные пути и их значение во внутрияичниковом рекрутировании фолликулов и развитии ооцита

Для развития ооцита в фолликулярной структуре необходима непрерывная двусторонняя связь с клетками кумулюса, которые его окружают, а также с другими соматическими клетками, включенными в фолликул, такими как клетки теки и гранулезы. Эта связь обеспечивается преимущественно с помощью щелевых контактов (для молекул с малой молекулярной массой) и эндоцитоза, опосредованного рецепторами (для молекул с более крупной молекулярной массой). Указанное взаимодействие имеет важное значение для ядерного и цитоплазматического созревания.

PI3K сигнальный путь

Активация примордиальных фолликулов является первым этапом в развитии фолликулов и ключевым фактором, определяющим репродуктивную способность женщин. Существуют ограниченные сведения о сигнальных путях и молекулах, которые участвуют в этом процессе, и в основном данные получены в исследованиях на животных. Для большинства факторов регуляторная роль в рекрутировании примордиальных фолликулов была первоначально установлена с использованием нокаутных генов на грызунах. У людей процессы, аналогичные исследованиям на грызунах и демонстрирующие истощение резерва яичников за счет ускоренной активации примордиальных фолликулов, часто наблюдаются в случаях преждевременной недостаточности яичников. Текущая гипотеза об активации примордиальных фолликулов у мышей гласит, что белок-мишень рапамицина 1 млекопитающих (mTORC1) активируется в уплощенных клетках гранулезы примордиальных фолликулов, а затем Kit-лиганд, продуцируемый активированными клетками гранулезы, в свою очередь, активирует ооцит через фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K) [17]. Однако до конца механизм активации примордиальных фолликулов остается неясным.

PI3K/АКТ/mTOR (внутриклеточный сигнальный путь) – это один из универсальных сигнальных путей,

характерных для большинства клеток человека. Он отвечает за рост, пролиферацию клеток, метаболизм, препятствует апоптозу, обладает тканеспецифической функцией. В яичниках млекопитающих путь PI3K/AKT/mTOR необходим для регуляции активации первичных фолликулов.

По своим структурным характеристикам и субстратной специфичности PI3K подразделяется на три класса (I, II и III) [18]. В свою очередь, PI3K класса I также делятся на два подсемейства: класс IA и класс IB. PI3K класса IA являются наиболее хорошо изученными и представляют собой липиды киназы, состоящей из регуляторной субъединицы p85 и каталитической субъединицы p110. Они фосфорилируют группу 3D на инозитоловом кольце фосфатидинозитола-3,4,5-трифосфата [19]. Каталитическая субъединица p110 может преобразовывать PIP2 в PIP3 [15].

PIP3 связывает как фосфатидинозитол-зависимую киназу 1 (PDK1), так и протеин-серин-треониную киназу Akt на клеточной мембране, где PDK1 фосфорилирует и активирует Akt [20]. Akt впоследствии фосфорилирует ряд субстратов, включая ингибитор клеточного цикла p27 (также известный как p27KIP1), киназу гликогенсинтазы 3, комплекс туберозного склероза 2 (TSC2) и семейства факторов транскрипции forkhead box (FOXO) [21–24]. Таким образом, сигнальная сеть PI3K важна для пролиферации клеток, их развития и выживания [25]. Одним из немногих известных негативных регуляторов PI3K/AKT/mTOR сигнального пути является фосфатаза с двойной субстратной специфичностью (PTEN), обнаруженная в клетках гранулезы первичных фолликулов человека на уровне экспрессии белка и генов. Как негативный регулятор функции PI3K, PTEN возвращает PIP3 обратно в PIP2 и тем самым подавляет передачу сигналов PI3K [26].

FOXO3, член семейства транскрипционных факторов Forkhead, служащий субстратом Akt, также вовлечен в регуляцию сигнальных путей PI3K/PTEN. В моделях на яичниках мышей показано, что FOXO3 импортируется в ядро во время формирования первичного фолликула, а затем экспортируется в цитоплазму при активации. В случае повышенной экспрессии FOXO3 у женщин формируется преждевременная недостаточность яичников. Необходимо отметить, что экспрессия FOXO3 в яичниках женщины в значительной степени отличается от описанной у мышей, у которых FOXO3 в основном экспрессируется в ядре всех примордиальных ооцитов, и его транслокация в цитоплазму совпадает с активацией и ростом фолликулов [27, 28]. В отличие от того, что наблюдается у мышей и других мышевидных грызунов, примордиальные фолликулы во взрослом яичнике млекопитающих, не являющихся грызунами, включая приматов, не являющихся людьми, не экспрессируют FOXO3 [29]. Исследования показали, что экспрессия FOXO3, в зависимости от возраста, варьировалась от очень низкой на стадии зародыша до более высокой в яичниках в пубертатном и старшем возрасте. В любом случае очевидное увеличение числа ооцитов, экспрессирующих FOXO3, в примордиальных фолликулах следует рассматривать осторожно, и в дальнейшем требуется провести углубленный анализ.

Предполагается, что PTEN и FOXO3, как часть пути PI3K/AKT, по-видимому, не играют существенной роли в формировании пула, активации и росте фолликулов в течение эмбрионального периода человека. Известно, что в младенческом и подростковом возрасте определяются примордиальные фолликулы, экспрессирующие FOXO3. Однако большинство фолликулов, которые начинают расти на этой стадии развития, будут подвергаться процессу атрезии через апоптоз [24], чему может способствовать экспрессия FOXO3, а также экспрессия PTEN в клетках гранулезы антральных фолликулов [25]. Было показано, что FOXO3 активирует апоптоз за счет усиления регуляции белков, содержащих только BH3, или за счет внешних апоптотических факторов, таких как FASL и TRAIL [30].

Таким образом, экспрессия ядерного FOXO3 в примордиальном фолликуле может указывать на неизбежность их апоптоза или, в качестве альтернативы, на предотвращение активации и дальнейшего развития, как это наблюдается у мышей. Результаты ограниченных исследований, основанных на наблюдательном описании и небольшом количестве образцов, не позволяют дифференцировать эти возможности. Однако низкая распространенность цитоплазматического FOXO3 может указывать на роль в предотвращении активации, а не в участии в апоптозе. Более того, яичник человека, по сравнению с млекопитающими, демонстрирует самый высокий показатель элиминации внутриутробных половых клеток путем апоптоза. При этом к половому созреванию остается примерно лишь 5% заложенного во время внутриутробной жизни [31]. Данный феномен позволяет предположить, что экспрессия ядерного FOXO3 сохраняет определенный пул фолликулов от активации и, следовательно, фертильность во взрослой репродуктивной жизни является ограниченной временным фактором. В то же время наличие в яичниках «спящих» примордиальных фолликулов открывает определенные горизонты их использования, если представленное предположение верно.

В яичниках ключевой киназой в сигнальном пути PI3K/AKT/mTOR является AKT, которая экспрессируется как в ооцитах, так и в клетках гранулезы фолликулов человека. AKT имеет широкий спектр субстратов, играющих как прямую, так и косвенную роль в активации фолликулов.

Система IGF

В синергизме с гонадотропинами рассматривают систему IGF, которая может участвовать в процессах сохранения и выживания яйцеклеток. Система IGF, которая состоит из инсулина и инсулиноподобных факторов роста 1 (IGF-1) и 2 (IGF-2), участвует в росте, пролиферации и выживании клеток [31]. IGF, в частности IGF-1, могут синергически взаимодействовать с гонадотропинами для стимуляции фолликулярного стероидогенеза [32]. IGF-1 как самостоятельно, так и с ФСГ может увеличивать фосфорилирование AKT в клетках гранулезы [33].

Ras/ERK/MEK сигнальный путь

Ряд экспериментальных исследований показал, что параллельно с сигнальным путем PI3K/AKT/mTORC1

активируется Ras/ERK/MEK путь. Дефекты в пути Ras/RAF/митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) играют роль в росте и пролиферации клеток через активацию пути ERK. МАРК (митоген протеинкиназы) экспрессируется в нескольких тканях млекопитающих и играет важную роль в регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки, реакции на стресс и иммунных реакций [34–37]. Активность МАРК3/1 изучалась у самок мышей в течение многих лет, и нарушение активности МАРК3/1 в клетках гранулезы яичников мыши показало, что эти киназы необходимы для возобновления процессов мейоза, овуляции и лютеинизации ооцитов, индуцированных ЛГ [36]. Исследования на яичниках крыс показали, что лечение PD98059 (inhibitor of the activation of mitogen-activated protein kinase) ингибитором МАРК значительно подавляет активацию первичных фолликулов [38]. Недавнее исследование продемонстрировало, что ингибирование передачи сигналов МАРК3/1 в яичниках мыши с помощью ингибитора МАРК3/1 U0126 (highly selective inhibitor of both MEK1 and MEK2) уменьшает количество растущих фолликулов, уровни фосфорилирования Tsc2 (Tuberous Sclerosis Complex 2), S6K1 (Ribosomal protein) и rpS6 (Ribosomal Protein) и экспрессию KITL (KIT-ligand), что указывает на то, что передача сигналов МАРК3/1 участвует в активации первичных фолликулов посредством передачи сигналов mTORC1–KITL в клетках гранулезы. Кроме того, U0126 снижает уровни фосфорилирования Akt, что позволяет предположить, что сигнализация МАРК3/1 регулирует активацию первичных фолликулов через сигнал PI3K в ооцитах [39]. Следовательно, активность МАРК3/1 играет важную роль в активации первичных фолликулов через сигнальный путь mTORC1–KITL в клетках до гранулезы и через сигнализацию KIT–PI3K в ооцитах [31]. В свою очередь, пути АКТ и МАРК3 участвуют в опосредовании эффектов гонадотропинов и IGF на пролиферацию фолликулярных клеток и развитие фолликулов [40], а IGF-1 может способствовать росту первичных фолликулов через сигнальный путь PI3K/АКТ [41].

Группа белков TGF β

Семейство трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) представляет собой большую группу структурно родственных клеточных регуляторных белков, названо в честь своего первого члена, TGF- β 1. TGF- β регулирует множество биологических процессов у млекопитающих, влияя на пролиферацию, рост, дифференцировку и апоптоз клеток [41, 42]. TGF- β связывается с рецепторами серин/треонин-протеинкиназы типов I и II на поверхности клетки с образованием комплекса, который активирует сигнальный путь Smad посредством фосфорилирования белков Smad. Фосфорилированные белки Smad затем связываются с общим Smad4 и перемещаются из цитоплазмы в ядро, где они регулируют транскрипцию гена-мишени [44–46].

Некоторые исследования показали, что IGF-1 пересекается с компонентами сигнального пути TGF- β на нескольких уровнях в клеточных линиях [47], хотя необходимы дальнейшие исследова-

ния для изучения взаимосвязи между этими двумя основными сигнальными путями в яичниках. Было выявлено, что TGF- β 1 участвует в поддержании первичных фолликулов у мышей [48]. В культуре яичников мыши *in vitro* с TGF- β 1 значительно ингибируется активация первичных фолликулов, TGF- β 1 индуцирует апоптоз ооцитов и подавляет пролиферацию соматических клеток посредством регуляции сигнального пути TSC/mTORC1.

Таким образом, несмотря на скудные и далеко не однозначные сведения, полученные в основном на животных, определяются наиболее вероятные пути исследований. Это путь PI3K/АКТ и связанные с ним части PTEN и FOXO3, при участии системы IGF, которая состоит из инсулина, IGF-1 и IGF-2. Объектом для изучения являются белки семейства TGF- β , МАРК, которые, вероятно, взаимодействуют с основными сигнальными путями. Скорее всего, не только эти системы задействованы в обеспечении сложных процессов внутрияичникового фолликулогенеза, поэтому перспективным направлением исследований является поиск основных, наиболее значимых звеньев в этой цепочке.

Клинические работы, основанные на воздействии на внутрияичниковые сигнальные пути

Клинические работы, базирующиеся на указанной гипотезе, далеко неоднозначны и пока не поддержаны мировым сообществом. Так, в исследовании К. Kawamiga у женщин с преждевременной недостаточностью яичников проводили активацию примордиальных фолликулов за счет стимулирования АКТ путем ингибирования PTEN в кортикальных фрагментах яичников *in vitro* с последующим выполнением ретрансплантации овариальной ткани. Исследователи зафиксировали случаи живорождения после данной процедуры [49]. В свою очередь, было продемонстрировано, что использование ингибирования PTEN для инициации активации примордиальных фолликулов влияет на выживаемость фолликулов, в то время как на животных моделях, наоборот, наблюдалось прекращение репарации ДНК, приводящее к атрезии фолликулов. Таким образом, этот метод требует дальнейшего изучения для использования в клинической практике.

Также были проведены исследования на человеческих фолликулах, обработанных в условиях *in vitro* ингибитором mTORC1, которые продемонстрировали частичное снижение количества растущих фолликулов и последующее снижение экспрессии мРНК TSC1 (*Tuberous sclerosis 1*), что подтверждает роль этого каскада в активации первичных фолликулов.

Несмотря на экспериментальные доказательства того, что сигнальные пути PI3K/АКТ/mTOR широко задействованы как в активации первичных фолликулов, так и в поддержании покоя, фундаментальное понимание этих процессов все еще очень ограничено, особенно у человека.

«Защита яичников» от повреждающего воздействия химиопрепаратов

Потеря или резкое снижение функции яичников, вызванное химиотерапией у женщин, больных раком, заставляет решать проблему защиты яичников, что тесно связано с исследованиями внутрияичникового фолликулогенеза и рекрутинга фолликулов. В исследовании K.N. Goldman провели ингибирование mTORC1 с помощью низкомолекулярных ингибиторов [50]. В качестве модели использовали яичники мышей, которые подвергли воздействию циклофосфамидом, и одновременно провели ингибирование комплекса mTOR-mTORC1 клинически одобренным препаратом эверолимус (RAD001) или mTORC1/2 – экспериментальным препаратом INK128 (potent and selective TORC1/2 inhibitor). Результаты показали, что ингибирование mTOR сохраняет резерв яичников, количество примордиальных фолликулов, уровни антимюллера гормона в сыворотке и фертильность. Животные, получавшие химиотерапию, имели значительно меньше потомков по сравнению со здоровыми животными, тогда как совместное с химиопрепаратами назначение ингибиторов mTOR (the mechanistic target of rapamycin) сохраняло нормальную фертильность.

Также в контексте изучения механизмов формирования «ооцитарного» фактора бесплодия и разработки эффективных способов его преодоления чрезвычайно интересным представляется изучение динамики экспрессии генов и транскрипционной характеристики ооцитов на разных этапах фолликулогенеза. Так, в недавнем исследовании показано, что, по аналогии с морфологической классификацией, при транскриптомном анализе обнаруживается 5 различных субпопуляций фолликулов [51]. Профили транскриптома ооцитов отражают физиологический статус созревания, а не индивидуальный генетический фон.

Заключение

Представленные исследования демонстрируют интерес ученых к изучению сложных вопросов внутрияичникового фолликулогенеза, роли сигнальных путей в этом процессе, затрагивают вопросы молекулярно-генетического участия и транскриптомного анализа. Пока мало знаний для формирования целостного понимания происходящих процессов, но ясно одно: без накопления этих знаний и проведения фундаментальных исследований не произойдет дальнейшего развития репродуктивной медицины и решения вопросов патологии репродукции, тех ситуаций, которые сейчас мы не можем объяснить, а следовательно, эффективно лечить.

Литература/References

1. Kwintkiewicz J., Giudice L.C. The interplay of insulin-like growth factors, gonadotropins, and endocrine disruptors in ovarian follicular

development and function. *Semin. Reprod. Med.* 2009; 27(1): 43-51. <https://dx.doi.org/10.1055/s-0028-1108009>.

2. Macklon N.S., Fauser B.C. Aspects of ovarian follicle development throughout life. *Horm. Res.* 1999; 52(4): 161-70. <https://dx.doi.org/10.1159/000023456>.

3. Назаренко Т.А., Мартirosян Я.О., Бирюкова А.М., Джанашивили Л.Г., Иванец Т.Ю., Сухова Ю.В. Опыт стимуляции яичников в режиме «random-start» протоколов для сохранения репродуктивного материала онкологических больных. *Акушерство и гинекология.* 2020; 4: 52-8. [Nazarenko T.A., Martirosyan Ya.O., Biryukova A.M., Dzhanaashvili L.G., Ivanets T.Yu., Sukhova Yu.V. Experience in random-start ovarian stimulation for preserving reproductive material of cancer patients. *Obstetrics and Gynecology.* 2020; 4: 52-8. (in Russian)]. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.4.52-5>.

4. Jin B., Niu Z., Xu B., Chen Q., Zhang A. Comparison of clinical outcomes among dual ovarian stimulation, mild stimulation and luteal phase stimulation protocols in women with poor ovarian response. *Gynecol. Endocrinol.* 2018; 34(8): 694-7. <https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2018.1435636>.

5. Baerwald A.R., Adams G.P., Pierson R.A. Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women. *Biol. Reprod.* 2003; 69(3): 1023-31. <https://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.103.017772>.

6. Ginther O.J., Gestal E.L., Gestal M.O., Bergfelt D.R., Baerwald A.R., Pierson R.A. Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biol. Reprod.* 2004; 71(4): 1195-201. <https://dx.doi.org/10.1080/09513590.2018.1435636>.

7. Edwards R.G. Maturation in vitro of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. *Nature.* 1965; 208(5008): 349-51. [https://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(65\)92903-x](https://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(65)92903-x).

8. Abir R., Ben-Aharon I., Garor R., Yaniv I., Ash S., Stemmer S.M. et al. Cryopreservation of in vitro matured oocytes in addition to ovarian tissue freezing for fertility preservation in paediatric female cancer patients before and after cancer therapy. *Hum. Reprod.* 2016; 31(4): 750-62. <https://dx.doi.org/10.1093/humrep/dew007>.

9. Woodruff T.K., Snyder K.A. *Oncofertility: fertility preservation for cancer survivors.* New York: Springer; 2007. 263p.

10. Macklon N.S., Fauser B.C. Aspects of ovarian follicle development throughout life. *Horm. Res.* 1999; 52(4): 161-70. <https://dx.doi.org/10.1159/000023456>.

11. Baerwald A.R., Adams G.P., Pierson R.A. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Hum. Reprod.* 2012; 18(1): 73-91. <https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmr039>.

12. Adhikari D., Liu K. Molecular mechanisms underlying the activation of mammalian primordial follicles. *Endocr. Rev.* 2009; 30(5): 438-64. <https://dx.doi.org/10.1210/er.2008-0048>.

13. Johnson J., Canning J., Kaneko T., Pru J.K., Tilly J.L. Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature.* 2004; 428(6979): 145-50. <https://dx.doi.org/10.1038/nature02316>.

14. Virant-Klun I., Stimpfel M., Skutella T. Ovarian pluripotent/multipotent stem cells and in vitro oogenesis in mammals. *Histol. Histopathol.* 2011; 26(8): 1071-82. <https://dx.doi.org/10.14670/hh-26.1071>.

15. Petrucelli N., Daly M.B., Pal T. BRCA1- and BRCA2-Associated hereditary breast and ovarian cancer. In: Adam M.P., Ardinger H.H., Pagon R.A., Wallace S.E., Bean L.J.H., Gripp K.W. et al., eds. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. 1998 Sep 4 [updated 2016 Dec 15].

16. Zheng W., Nagaraju G., Liu Z., Liu K. Functional roles of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) signaling in the mammalian ovary. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2012; 356(1-2): 24-30. <https://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2011.05.027>.

17. Zhang H., Risal S., Gorre N., Busayavalasa K., Li X., Shen Y. et al. Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice. *Curr. Biol.* 2014; 24(21): 2501-8. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.023>.

18. Liu P., Cheng H., Roberts T.M., Zhao J.J. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009; 8(8): 627-44. <https://dx.doi.org/10.1038/nrd2926>.

19. Cully M., You H., Levine A.J., Mak T.W. Beyond PTEN mutations: The PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat. Rev. Cancer.* 2006; 6(3): 184-92. <https://dx.doi.org/10.1038/nrc1819>.
20. Mora A., Komander D., van Aalten D.M., Alessi D.R. PDK1, the master regulator of AGC kinase signal transduction. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2004; 15(2): 161-70. <https://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2003.12.022>.
21. Manning B.D., Cantley L.C. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell.* 2007; 129(7): 1261-74. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.009>.
22. Viglietto G., Motti M.L., Bruni P., Melillo R.M., D'Alessio A., Califano D. et al. Cytoplasmic relocalization and inhibition of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) by PKB/Akt-mediated phosphorylation in breast cancer. *Nat. Med.* 2002; 8(10): 1136-44. <https://dx.doi.org/10.1038/nm762>.
23. Liang J., Zubovitz J., Petrocchi T., Kotchetkov R., Connor M.K., Han K. et al. PKB/Akt phosphorylates p27, impairs nuclear import of p27 and opposes p27-mediated G1 arrest. *Nat. Med.* 2002; 8(10): 1153-60. <https://dx.doi.org/10.1186/2bcr596>.
24. Shin I., Yakes F.M., Rojo F., Shin N.Y., Bakin A.V., Baselga J., Arteaga C.L. PKB/Akt mediates cell-cycle progression by phosphorylation of p27(Kip1) at threonine 157 and modulation of its cellular localization. *Nat. Med.* 2002; 8(10): 1145-52. <https://dx.doi.org/10.1038/nm759>.
25. Meng Q., Xia C., Fang J., Rojanasakul Y., Jiang B.H. Role of PI3K and AKT specific isoforms in ovarian cancer cell migration, invasion and proliferation through the p70S6K1 pathway. *Cell. Signal.* 2006; 18(12): 2262-71. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2006.05.019>.
26. Robertson G.P. Functional and therapeutic significance of Akt deregulation in malignant melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2005; 24(2): 273-85. <https://dx.doi.org/10.1007/s10555-005-1577-9>.
27. Hosaka T., Biggs W.H., Tieu D., Boyer A.D., Varki N.M., Cavenee W.K., Arden K.C. Disruption of forkhead transcription factor (FOXO) family members in mice reveals their functional diversification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(9): 2975-80. <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.0400093101>.
28. Castrillon D.H., Miao L., Kollipara R., Horner J.W., DePinho R.A. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science.* 2003; 301(5630): 215-8. <https://dx.doi.org/10.1126/science.1086336>.
29. Myatt S.S., Brosens J.J., Lam E.W. Sense and sensitivity: FOXO and ROS in cancer development and treatment. *Antioxid. Redox Signal.* 2011; 14(4): 675-87. <https://dx.doi.org/10.1089/ars.2010.3383>.
30. Annunziata M., Granata R., Ghigo E. The IGF system. *Acta Diabetol.* 2011; 48(1): 1-9. <https://dx.doi.org/10.1007/s00592-010-0227-z>.
31. Zhao Y., Zhang Y., Li J., Zheng N., Xu X., Yang J. et al. MAPK3/1 participates in the activation of primordial follicles through mTORC1-KITL signaling. *J. Cell. Physiol.* 2018; 233(1): 226-37. <https://dx.doi.org/10.1002/jcp.25868>.
32. Kwintkiewicz J., Giudice L.C. The interplay of insulin-like growth factors, gonadotropins, and endocrine disruptors in ovarian follicular development and function. *Semin. Reprod. Med.* 2009; 27: 43-51. <https://dx.doi.org/10.1055/s-0028-1108009>.
33. Zhou P., Baumgarten S.C., Wu Y.G., Bennett J., Winston N., Hirshfeld-Cytron J., Stocco C. IGF-1 signaling is essential for FSH stimulation of AKT and steroidogenic genes in granulosa cells. *Mol. Endocrinol.* 2013; 27(3): 511-23. <https://dx.doi.org/10.1210/me.2012-1307>.
34. Cargnello M., Roux P.P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2011; 75: 50-83. <https://dx.doi.org/10.1128/mmr.00031-10>.
35. Boutros T., Chevet E., Metrakos P. Mitogen-activated protein (MAP) kinase/MAP kinase phosphatase regulation: roles in cell growth, death, and cancer. *Pharmacol. Rev.* 2008; 60(3): 261-310. <http://dx.doi.org/10.1124/pr.107.00106>.
36. Liu Y., Shepherd E.G., Nelin L.D. MAPK phosphatases—regulating the immune response. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7(3): 202-12. <https://dx.doi.org/10.1038/nri2035>.
37. Fan H.Y., Liu Z., Shimada M., Sterneck E., Johnson P.F., Hedrick S.M., Richards J.S. MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility. *Science.* 2009; 324(5929): 938-41. <https://dx.doi.org/10.1126/science.1171396>.
38. Du X.Y., Huang J., Xu L.Q., Tang D.F., Wu L., Zhang L.X. et al. The proto-oncogene c-src is involved in primordial follicle activation through the PI3K, PKC and MAPK signaling pathways. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10: 58. <https://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-10-58>.
39. Li-Ping Z., Da-Lei Z., Jian H., Liang-Quan X., Ai-Xia X., Xiao-Yu D. et al. Proto-oncogene c-erbB2 initiates rat primordial follicle growth via PKC and MAPK pathways. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2010; 8: 66. <https://dx.doi.org/10.1186/2F1477-7827-10-58>.
40. Ryan K.E., Glister C., Lonergan P., Martin F., Knight P.G., Evans A.C. Functional significance of the signal transduction pathways Akt and Erk in ovarian follicles: In vitro and in vivo studies in cattle and sheep. *J. Ovarian Res.* 2008; 1(1): 2. <https://dx.doi.org/10.1186/1757-2215-1-2>.
41. Bezerra M.E.S., Barberino R.S., Menezes V.G., Gouveia B.B., Macedo T.J.S., Santos J.M.S. et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) promotes primordial follicle growth and reduces DNA fragmentation through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signalling pathway. *Reprod. Fertil. Dev.* 2018; 30(11): 1503-13. <https://dx.doi.org/10.1071/rd17332>.
42. Godkin J. Transforming growth factor beta and the endometrium. *Rev. Reprod.* 1998; 3(1): 1-6. <https://dx.doi.org/10.1530/ror.0.0030001>.
43. Shull M.M., Doetschman T. Transforming growth factor-beta1 in reproduction and development. *Mol. Reprod. Dev.* 1994; 39(2): 239-46. <https://dx.doi.org/10.1002/mrd.1080390218>.
44. Heldin C.H., Miyazono K., ten Dijke P. TGF-β signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature.* 1997; 390(6659): 465-71. <https://dx.doi.org/10.1038/37284>.
45. Drummond A.E. TGFbeta signalling in the development of ovarian function. *Cell Tissue Res.* 2005; 322(1): 107-15. <https://dx.doi.org/10.1007/s00441-005-1153-1>.
46. Kaivo-oja N., Jeffery L.A., Ritvos O., Mottershead D.G. Smad signalling in the ovary. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2006; 4, 21. <https://dx.doi.org/10.1186/1477-7827-4-21>.
47. Danielpour D., Song K. Cross-talk between IGF-I and TGF-beta signaling pathways. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006; 17(1-2): 59-74. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cytogr.2005.09.007>.
48. Wang Z.P., Mu X.Y., Guo M., Wang Y.J., Teng Z., Mao G.P. et al. Transforming growth factor-beta signaling participates in the maintenance of the primordial follicle pool in the mouse ovary. *J. Biol. Chem.* 2014; 289(12): 8299-311. <https://dx.doi.org/10.1074/jbc.M113.532952>.
49. Vo K.C.T., Kawamura K. In vitro activation early follicles: from the basic science to the clinical perspectives. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(7): 3785. <https://dx.doi.org/10.3390/ijms22073785>.
50. Goldman K.N., Chenette D., Arju R., Duncan F.E., Keefe D.L., Grifo J.A., Schneider R.J. mTORC1/2 inhibition preserves ovarian function and fertility during genotoxic chemotherapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(12): 3186-91. <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1617233114>.
51. Chronowska E. High-throughput analysis of ovarian granulosa cell transcriptome. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 213570. <https://dx.doi.org/10.1155/2014/213570>.

Поступила 30.09.2021

Принята в печать 14.12.2021

Received 30.09.2021

Accepted 14.12.2021

Сведения об авторах:

Соколова Юлия Владимировна, эмбриолог, НИИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, julietsok@gmail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Мартиросян Яна Ованнесовна, м.н.с., НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, marti-yana@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9304-4410>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Назаренко Татьяна Алексеевна, профессор, д.м.н., директор института репродуктивной медицины, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, t.nazarenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5823-1667>, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Бирюкова Альмина Михайловна, к.м.н., заведующая по клинической работе НОЦ ВРТ с клиническим подразделением им. Ф. Паулсена, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, alma21@list.ru, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Хубаева Диана Гураимовна, студент, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), +7(495)622-98-20, khubaeva.d@mail.ru, 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Краснова Валерия Георгиевна, ординатор, НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, +7(495)438-13-41, lkrasnova27@mail.com, 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

Authors' information:

Julia V. Sokolova, embryologist, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynaecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(495)438-13-41, julietsok@gmail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Yana O. Martirosyan, Junior Researcher of the Scientific and Educational Center for ART with the Clinical Division named after F. Paulsen, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynaecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(925)124-99-99, marti-yana@index.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9304-4410>, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Tatiana A. Nazarenko, MD, PhD, Head of the Institute of Reproductive Technologies, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynaecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(915)322-08-79, t.nazarenko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5823-1667>, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Almina M. Birukova, MD, PhD, Head on Clinical Work of the Scientific and Educational Center for ART with the Clinical Division named after F. Paulsen, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynaecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, alma21@list.ru, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.

Diana G. Khubaeva, student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University), +7(495)622-98-20, khubaeva.d@mail.ru, 119991, Russia, Moscow, Trubetskaya str., 8-2.

Valeria G. Krasnova, student of the Scientific and Educational Center for ART with the Clinical Division named after F. Paulsen, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynaecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, +7(925)124-99-99, lkrasnova27@mail.com, 117997, Russia, Moscow, Ac. Oparina str., 4.