

УДК 612.621.38.014:57.043

В.А. Шаблій

*Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин
МОЗ України, м. Київ
ТОВ «Інститут клітинної терапії», м. Київ*

КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ОВАРІАЛЬНОЇ ТКАНИНИ ТА ЇЇ ВИКОРИСТАННЯ В РЕПРОДУКТИВНІЙ МЕДИЦИНІ

Огляд літератури присвячений аналізу різних методів кріоконсервування оваріальної тканини та шляхів її використання в репродуктивній медицині. Головну увагу приділено сайтам трансплантації тканини, динаміці росту фолікулів та секреторній функції тканини яєчника. Розглянуто також ефективність використання методів запліднення *in vitro* після трансплантації, перераховані основні чинники, які лежать в основі затухання оваріальної функції трансплантата.

Ключові слова: оваріальна тканина, трансплантація, фолікули, естрадіол, запліднення *in vitro*.

Кріоконсервована оваріальна тканина (КОТ) після ретельного тестування на наявність ракових клітин використовується як немедикаментозний метод корекції гормонального фону та для відновлення репродуктивної функції у жінок після хіміо- та радіотерапії при лікуванні різноманітних онкологічних захворювань (лімфома Ходжкіна, лімфогранульоматоз, рак матки), після оваріоектомії при ендометріозі, ендометріомі, фіброміомі та ін. [1–4].

Однак довготривале функціонування розмороженої тканини після трансплантації можливо в тому випадку, якщо після кріоконсервування зберігається її морфофункціональна активність. Ефективність кріоконсервування тканини яєчника значною мірою залежить від використаних кріозахисних середовищ (КС) та протоколів охолодження–відтаювання [5].

Методи кріоконсервування оваріальної тканини людини. В літературі описано різноманітні КС та режими кріоконсервування для тканини яєчників людини. Найчастіше використовують КС, які складаються з 1,5 М ДМСО з 0,1 М розчином цукрози та 10 % сироватки крові в середовищі Лейбовітц-*L-15* або ін. [5]. Автори препарували кортикальний шар яєчника на фрагменти (5×5×2 мм), інкубували 30 хв у КС при +4 °С та заморожували в 1,5-мілілітрових кріопробірках по двохетапній програмі з сидінгом при –7 °С.

Кріопробірки з фрагментами яєчника розморожували у день трансплантації при кімнатній температурі протягом 2 хв та на водяній бані при +25 °С — 2 хв. Оваріальну тканину промивали у розчинах із поступовим зниженням концентрації кріопротектора [6]. В роботі Ісаченка та ін. також використовували 1,5 М ДМСО з середовищем *L-15* з *L*-глутаміном + 10 % SSS (синтетичний замітник сироватки). Тканину з середовищем для кріоконсервування еквілібрували на льоду протягом 30 хв, переносили в охолоджену до +2 °С кріокамеру, заморожували від +2 до –6 °С зі швидкістю 2 °С/хв, при –6 °С — температурна зупинка протягом 10 хв, від –6 до –40 °С — швидкість охолодження була 0,3 °С/хв, від –40 до –140 °С — швидкість 10 °С/хв, потім кріопробірки переносили в рідкий азот [7].

Інші дослідники оваріальну тканину поміщали у 800 мкл у середовище МЕМ + Glutamax™ при 0 °С, потім замінювали його на 10 % ДМСО з 2 % альбуміну сироватки людини в середовищі Лейбовітц. Заморожування проводили за протоколом: від 0 до –8 °С зі швидкістю охолодження 2 °С/хв, при –8 °С — ручний сидінг, від –8 до –40 °С — зі швидкістю 0,3 °С/хв, потім занурення в рідкий азот. Відтаювання проходило при кімнатній температурі протягом 2 хв та на водяній бані (+37 °С). Фрагменти оваріальної тканини після розморожування

© В.А. Шаблій, 2011

поміщали у чашку Петрі та триразово промивали по 5 хв у середовищі MEM + Gluta-max [6]. У [7] подрібнені фрагменти (2–3 мм³) заморожували після еквілібрації при 4 °С протягом 10 хв у розчині, що містить 0,7 М ДМСО, 20 % сироватки людини в середовищі RPMI 1640. Кріопробірки охолоджували по двохетапній програмі з сидінгом при –7 °С. Розморожування проводили таким чином: кріопробірки поміщали в водяну баню +37 °С до повного відтаювання; потім вміст пробірок переносили в чашку Петрі та додавали кожної хвилини (протягом 7 хв) подвійний об'єм середовища RPMI 1640 з 4 % сироватки крові людини при +4 °С до 0,14 М кінцевої концентрації ДМСО та еквілібрували протягом 3 хв до перенесення в Flushing Medium, де інкубували 25 хв при +37 °С з 5 % CO₂ [8].

У 80-х роках минулого століття в Україні був розроблений метод кріоконсервування оваріальної тканини по трьохетапній програмі охолодження під захистом 10 % поліетиленоксиду молекулярної маси 400 (ПЕО-400) [9].

Крім того, для кріоконсервування тканини яєчників людини використовували КС на основі комерційного середовища Freeze-Kit 1® (Vitrolife), що містить фосфатний буфер та 25 мг/мл НАS [10], розчин № 1 — 1,5 М пропандіол (PrOH), розчин № 2 — 1,5 М PrOH із 0,1 М розчином цукрози. Фрагменти тканини інкубували при кімнатній температурі послідовно у Freeze-Kit 1® — 5 хв, у розчині № 1 — 10 хв, у розчині № 2 — 5 хв, потім поміщали у кріопробірки (Nunc) з 1 мл розчину № 2 та заморожували по програмі: охолодження до –6,5 °С зі швидкістю 2 °С/хв, ручний сидінг при –6,5 °С, температурна зупинка при –6,5 °С 10 хв, охолодження до –35 °С зі швидкістю 0,3 °С/хв і перенесення у рідкий азот. Розморожували зразки яєчника поетапно (на повітрі при кімнатній температурі — 30 с, водяна баня (+40 °С) — до появи рідкої фази) із використанням розчину Thaw Kit 1® з 1,0 М PrOH та 0,2 М розчином цукрози — 5 хв, 0,5 М PrOH і 0,2 М цукрози — 5 хв, 0,2 М цукрози — 10 хв і останній розчин лише cryo-PBS — 10 хв при кімнатній температурі [5].

Для кріоконсервування тканини яєчника Шмідт та ін. використовували 1,5 М розчин етиленгліколю в фосфатному буфері з 30 мл 0,1 М розчином цукрози, в якому тканину еквілібрували 30 хв при 1 °С, потім переносили в 1,8 мл кріоампули і заморожували на «Planer» зі швидкістю охолодження

2 °С/хв до –9 °С, 5 хв витримки, потім сидінг, охолодження зі швидкістю 0,3 °С/хв до –40 °С, від –40 до –140 °С — зі швидкістю 10 °С/хв і переносили в рідкий азот. Відігрів проводили на водяній бані +37 °С [7, 11].

Таким чином, на сьогодні впроваджено багато різноманітних протоколів кріоконсервування тканини яєчника, які дають змогу зберегти її морфофункціональні характеристики, а також 30–80 % примордіальних фолікулів [5].

Ауто трансплантація кріоконсервованої оваріальної тканини людини. У роботі Санчез та ін. було продемонстровано функціонування свіжої оваріальної тканини людини після трансплантації її 12 пацієнткам. Хоча середній вік пацієнток був (40,8±0,7) року, у 91,6 % відбувалася овуляція, у 75 % спостерігався овуляторний цикл упродовж 2 років після трансплантації та у 5 пацієнток (41,7 %) рівень ФСГ був у межах норми [8]. Підвищення рівня ФСГ після трансплантації свіжої оваріальної тканини протягом 3–6 місяців описано іншими дослідниками [7, 13–15].

В експериментальних дослідженнях хірургічна процедура трансплантації оваріальної тканини проходить досить швидко, але ішемічне ушкодження тканини може тривати протягом 3–7 днів до реваскуляризації, що призводить до втрати більш ніж 50 % примордіальних та дозріваючих фолікулів [10]. Після атрофії великих фолікулів продукція естрогенів знижується до гранично низького рівня протягом, щонайменше, одного тижня. Як показали експерименти [8], відновлення гормонального тла після трансплантації оваріальної тканини відбувається швидше у кастрованих тварин. У літературних джерелах наведено багато досліджень про народження нормального потомства у мишей [16], щурів [17] та овець [10] після трансплантації КОТ або цілісного яєчника.

Однак перший випадок відновлення функціонування яєчника у людини після ортотопічної трансплантації кріоконсервованого кортикального шару тканини яєчників був описаний у 2000 році [18], а перша дитина народилася у 2004-му [9, 13].

Показано, що як після ортотопічної, так і після гетеротопічної трансплантації оваріальної тканини, а також при одночасній гетеро- і ортотрансплантації КОТ у жінок спостерігався фолікулогенез, який супроводжувався овуляцією.

При гетеротопічній імплантації КОТ містили під шкіру на животі, тоді як при

ортотопічний — використовували два сайти імплантації: перитонеальний карман, який формували при лапароскопії із тазової очередини оваріальної ямки, і атрофованій яєчник. Трансплантацію КОТ виконували через тиждень у неоваскуляризований сайт при проведенні другої лапароскопії [19]. Було встановлено, що сайт трансплантації може впливати на подальший розвиток фолікулів. При комбінованій трансплантації КОТ розвиток домінуючих фолікулів відбувається більш часто в оваріальному сайті трансплантації у порівнянні з перитонеальним та підшкірним. Це вказує на те, що локальні умови залишеного яєчника покращують відновлення оваріальної функції при трансплантації КОТ. Але потрібно відмітити, що можливість трансплантації КОТ у яєчник після лікування онкологічних захворювань є обмеженою у зв'язку з малими розмірами (0,3–1,3 см³) атрофованого органа [11].

Аутоотрансплантація КОТ була описана [20] у пацієнтки з лімфомаю Ходжкіна при лікуванні передчасної оваріальної дисфункції. Пацієнтці було проведено унілатеральну оофоректомію після першої хіміотерапії (ABVD — доксорубіцин, блеоміцин, вінкрисдин, декарбазин) і кріоконсервовано 40 фрагментів кортикального шару тканини яєчника. Після трансплантації кісткового мозку пацієнтка видужала, але діагностична біопсія атрофованого яєчника показала відсутність фолікулів. Пацієнтка виявила бажання щодо трансплантації КОТ, яка була проведена як ортотопічно (перитонеальний та оваріальний сайти), так і гетеротопічно (абдомінальний сайт). Перед трансплантацією було зроблено ретельне гістологічне дослідження тканини на наявність метастазів та щільності фолікулів (12 фолікулів/мм²). Трансплантація аутологічної КОТ привела до відновлення менструального циклу. Після 6-го циклу пацієнтка завагітніла, але вагітність перервалася у зв'язку із генетичним порушенням розвитку плоду (анеуплоїдія). Через 1 рік після трансплантації КОТ у пацієнтки спостерігалось зростання рівня ФСГ та зниження — інгібіну В, що вказувало на виснаження оваріального резерву та втрати функціональної активності трансплантата. Стимуляція яєчників не привела до відновлення функції. Тому пацієнтці була проведена повторна трансплантація КОТ шляхом двохступінчастої лапароскопії. Чотири фрагменти оваріальної тканини було трансплантовано

у яєчник та два — під шкіру на животі. Протягом перших 3 місяців базальний рівень ФСГ залишався підвищеним (>20 mIU/ml), хоча у пацієнтки відбулася овуляція. Ріст фолікулів спостерігався як у яєчнику, так і у місці гетеротопічної трансплантації. Після третього менструального циклу базальна концентрація ФСГ повернулася до пременопаузного рівня (<10 mIU/ml). Протягом 5-го спонтанного циклу у яєчнику спостерігався розвиток 2 фолікулів (по 15 мм у діаметрі перед овуляцією). Тест на лХГ був позитивним на 14-й день лютеїнової фази циклу та клінічна вагітність підтверджувалася ультразвуковим дослідженням (УЗД). На 41-му тижні вагітності пацієнтка народила здорову дитину [20].

В роботі Файн–Кахн та ін. [21] було показано використання методу трансплантації КОТ при лікуванні посткастраційного синдрому (ПС), після радикального хірургічного втручання при лікуванні пограничних пухлин яєчника (ППЯ), у випадках, коли обстеження показало непридатність використання органозберігаючого консервативного лікування рецидивів ППЯ. У цих випадках для збереження фертильності проводили сальпінг-оофоректомію із подальшим відбором нормальної оваріальної тканини для кріоконсервування, однак головним фактором, що обмежує використання КОТ, є мала кількість морфологічно нормальної тканини в яєчнику. Оваріальну тканину кріоконсервують лише у випадку, коли при макроскопічному дослідженні спостерігаються морфологічно не уражені фрагменти розміром >4–5 мм та проводять гістологічний аналіз фрагментів як морфофункціональне «дзеркало» замороженої тканини. Другим обмеженням є виявлення злоякісного рецидиву. Потенційний ризик контамінації атиповими клітинами зростає у пацієнток із мікропапілярним серозним ППЯ, а також при більш прогресивних стадіях захворювання, при яких неможливо використовувати аутологічну КОТ [21].

Вибір місця реімплантації при гетеротопічній трансплантації відіграє велику роль на функціонування оваріальної тканини. Так, у 2 пацієнток (46 та 49 років), яким проводили трансплантацію оваріальної тканини (кортикальний шар товщиною 1–2 мм) у передпліччя руки, відновлення оваріальної функції відбувалося після 3–4 місяців і відповідно рівень естрадіолу та ФСГ підтримувався протягом подальших 2–4 місяців. Але у обох пацієнток не спостерігався

ріст доміантного фолікула та утворення жовтого тіла. Крім того, за даними [8], після трансплантації КОТ (40–45 фрагментів 2–3 мм³) у прямий м'яз черева пацієнтки (47 років) спостерігався ріст фолікула до 16 мм у діаметрі при рівні естрадіолу 383 пМ/л та функціонування КОТ тривало протягом 5–6 місяців. Однак великою проблемою при гетеротопічній трансплантації яєчника є нездатність примордіальних фолікулів до прямого з'єднання із кровоносними судинами, що призводить до гіпоксії протягом періоду проростання новими кровоносними судинами. Коли яєчник фрагментований на малі сегменти, ішемія та дегенеративні зміни мінімізовані тому, що процес ревазуляризації залежить від розміру тканини. При цьому гарно васкуляризована абдомінальна мускулатура покращує виживання трансплантата та його ендокринну активність.

Розвиток примордіальних фолікулів до преантральних розмірів у людини триває протягом 85 днів, тоді як фінальне дозрівання великих преантральних фолікулів до преовуляторної фази відбувається протягом 14 днів (тривалість фолікулярної фази). Тривалість латентного періоду після трансплантації оваріальної тканини до відновлення гормонального тла становить приблизно 3 місяці, що співпадає з часом, що потрібен для розвитку примордіальних фолікулів до преовуляторних. У всіх пацієнток після КОТ зростає рівень ФСГ у 2–7 разів на тлі нормальної секреції естрадіолу [8], що співпадає з результатами, які отримані на вівцях [10]. Зростання рівня ФСГ асоційовано із повільним ростом фолікулів та зниженим рівнем секреції інгібінів [4].

Ауто трансплантація кортикального шару яєчника може бути використана для уникнення передчасної оваріальної дисфункції після лікування онкозахворювань опроміненням тазової зони та проходженням хіміотерапевтичної терапії [15].

Потрібно відмітити, що гормональне тло не завжди відповідає функціональному стану яєчників. Так, було описано [22], що після аутологічної імплантації КОТ в різні сайти (перший сайт був карманом в очеревині, другий — широка зв'язка нижче правої фалопієвої труби) через 2,5 року, в період ремісії пухлини прямої кишки, спостерігалася різниця в активності цих трансплантатів. Через 3 місяці після трансплан-

тації зростала концентрація естрадіолу в крові (4 місяці — 155 пг/мл, через 4 тижні — 436 пг/мл), зниження рівня гонадотропінів почалося через 2,5 місяця, а розвиток антрального фолікула (лише у першому сайті) — через 5 місяців. На 11-му місяці пацієнтці, після підвищення ФСГ та ЛГ до кастраційного рівня, було проведено додаткову трансплантацію КОТ у черевну стінку навпроти першого сайту. Під час лапароскопії було видалено тканину яєчника з сайтів попередньої трансплантації. Гістологічний аналіз цих фрагментів показав наявність білого тіла та відсутність примордіальних, первинних, преантральних та антральних фолікулів у першому сайті, тоді як у другому було знайдено фолікули на всіх стадіях розвитку. Із вказаного випливає, що, хоча параметри гормонального тла вказують на відсутність розвитку фолікулів, вони можуть існувати в фрагменті тканини. Тому стан трансплантата треба контролювати даними УЗ-дослідження. Різниця у тривалості латентного періоду після імплантації може бути пов'язана із використанням цілісного кортикального шару та наявністю нормально сформованої медулярної частини яєчника.

Після трансплантації оваріальної тканини вагітність досягається як природним шляхом, так і за допомогою методів ЗІВ та ін'єкції сперматозоїда в яйцеклітину (ICSI IMSI). Було виявлено [23], що після проведення циклів стимуляції суперовуляції у пацієнток з ортотопічною трансплантацією оваріальної тканини (20 жінок віком 28–43 роки) частота пустих фолікулів складала 29 % (6/20), тоді як у загальній популяції жінок, що проходять програму ЗІВ, вона складає до 7 %. У цих жінок було отримано більше аномальних ооцитів у циклах ЗІВ після трансплантації КОТ, показник заплідненості є меншим (50 %), ніж у загальній популяції (70 %), що свідчить про порушення дозрівання ооцитів.

Отже, можна з впевненістю стверджувати, що трансплантації ауто- чи алогенної КОТ є перспективним методом для відновлення репродуктивної та гормональної функції у пацієнток після проходження променевої чи хіміотерапії, а також після радикальних оперативних втручань, але метод потребує подальших досліджень для отримання повноцінних ооцитів та ембріонів у програмах ЗІВ, ICSI, IMSI.

Список літератури

1. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy / D. Meirow, J. Levron, T. Eldar-Geva [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — V. 353. — P. 318–321.
2. Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients / Meirow Dror, Hardan Izhar, Dor Jehoshua [et al.] // *Human Reproduction.* — 2008. — V. 23, № 5. — P. 1007–1013.
3. Do cycle disturbances explain the age-related decline of female fertility? Cycle characteristics of women aged over 40 years compared with a reference population of young women / P. Van Zonneveld, G. J. Scheffer, F. J. M. Broekmans [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2003. — V. 18. — P. 495–501.
4. The significance of elevated basal follicle stimulating hormone in regularly menstruating infertile women / N. A. Ahmed Ebbiary, E. A. Lenton, C. Salt [et al.] // *Hum. Reprod.* — 1994. — V. 9. — P. 245–252.
5. Cryopreservation of follicles in human ovarian cortical tissue. Comparison of serum and human serum albumin in the cryoprotectant solutions / J. Hreinsson, P. Zhang, M. L. Swahn [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2003. — V. 18. — P. 2420–2428.
6. Survival of human pre-antral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicular isolation and *in vitro* culture in a calcium alginate matrix / Christiani A. Amorim, Anne Van Langendonck [et al.] // *Human Reproduction.* — 2009. — V. 24, № 1. — P. 92–99.
7. Simplified technique of human ovarian tissue freezing: quick cooling from -36°C / V. Isachenko, E. Isachenko, J. Reinsberg [et al.] // *CryoLetters.* — 2008. — V. 29, № 3. — P. 261–268.
8. Long-term ovarian function evaluation after autografting by implantation with fresh and frozen-thawed human ovarian tissue / J. Callejo, C. Salvador, A. Miralles [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2001. — V. 86. — P. 4489–4494.
9. А. с. № 1017251. Способ консервирования ткани яичника человека / Грищенко В. И., Лобинцева Г. С. и др. — Опубл. 1983, Б. И. № 18.
10. *Gosden R. G.* Ovary and uterus transplantation / R. G. Gosden // *Reproduction.* — 2008. — V. 136. — P. 671–680.
11. Follow-up of ovarian function post-chemotherapy following ovarian cryopreservation and transplantation / K. L. Schmidt, C. Yding Andersen, A. Loft [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2005. — V. 20. — P. 3539–3546.
12. Fresh human orthotopic ovarian cortex transplantation: long-term results / M. Sanchez, P. Alama, B. Gadea [et al.] // *Human Reproduction.* — 2007. — V. 22, № 3. — P. 786–791.
13. Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anaemia: case report / J. Donnez, M. M. Dolmans, D. Demylle [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2006. — V. 21. — P. 183–188.
14. Fresh autologous transplantation of ovarian cortical strips to the anterior abdominal wall at the pfannenstiel incision site / G. Kiran, H. Kiran, Y. K. Coban, [et al.] // *Fertil. Steril.* — 2004. — V. 82. — P. 954–956.
15. Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm / K. Oktay, K. Economos, M. Kan [et al.] // *JAMA.* — 2001. — V. 286. — P. 1490–1493.
16. *Parrott D. M. V.* The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue / D. M. V. Parrott // *J. Reprod. Fertil.* — 1960. — V. 1. — P. 230–241.
17. Cryopreservation and orthotopic transplantation of rat ovaries as a means of gamete banking / Martina M. Dorsch, Dirk Wedekind, Kenji Kamino and Hans J. Hedrich // *Laboratory Animals Ltd. Laboratory Animals.* — 2007. — V. 41. — P. 247–254.
18. *Oktay K.* Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue / K. Oktay, G. Karlikaya // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — V. 342, № 25. — P. 1919.
19. Ovarian function and spontaneous pregnancy after combined heterotopic and orthotopic cryopreserved ovarian tissue transplantation in a patient previously treated with bone marrow transplantation: case report / I. Demeestere, P. Simon, F. Buxant [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2006. — V. 21. — P. 2010–2014.
20. Fertility preservation: successful transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a young patient previously treated for Hodgkin's disease / I. Demeestere, P. Simon, S. Emiliani [et al.] // *Oncologist.* — 2007. — V. 12. — P. 1437–1442.
21. Feasibility of ovarian cryopreservation in borderline ovarian tumours / V. Fain-Kahn, C. Poirot, C. Uzan [et al.] // *Human Reproduction.* — 2009. — V. 1, № 1. — P. 1–6.
22. Hormonal and histologic finding in human cryopreserved ovarian autografts / R. Dittrich, A. Muller, T. Maltaris [et al.] // *Fertility and Sterility.* — 2009. — V. 91, № 4. — P. 1503–1505.
23. IVF outcome in patients with orthotopically transplanted ovarian tissue / M. M. Dolmans, J. Donnez, A. Camboni [et al.] // *Human Reproduction.* — 2009. — V. 24, № 11. — P. 2778–2787.

В.А. Шаблій

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ ОВАРИЛЬНОЙ ТКАНИ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В РЕПРОДУКТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Обзор литературы посвящен анализу различных методов криоконсервирования овариальной ткани и путей ее использования в репродуктивной медицине. Главное внимание уделено сайтам трансплантации ткани, динамике роста фолликулов и секреторной функции ткани яичника. Рассмотрена также эффективность использования методов оплодотворения *in vitro* после трансплантации, перечислены основные факторы, которые лежат в основе затухания овариальной функции трансплантата.

Ключевые слова: овариальная ткань, трансплантация, фолликулы, эстрадиол, оплодотворение *in vitro*.

V.A. Shablii

CRYOPRESERVATION OF OVARIAN TISSUE AND ITS USE IN REPRODUCTIVE MEDICINE

A literary review is devoted to the analysis of different methods of cryopreservation of ovarian tissue and ways of its use in reproductive medicine. The main attention is given to sites of tissue transplantation, the dynamics of follicular growth and secretory function of ovarian tissue. We also consider the effectiveness of methods for *in vitro* fertilization after transplantation are listed the key factors underlying the attenuation function of ovarian transplant.

Key words: ovarian tissue transplantation, follicles, estradiol, *in vitro* fertilization.