

Ю.О. Тіщенко, В.В. Кірошка

Динаміка морфогенезу і функціонального розвитку алотрансплантата оваріальної тканини щурів

В організмі кастрованих тварин-реципієнтів після алотрансплантації оваріальної тканини досліджували динаміку її фолікулогенезу та ендокринну функцію протягом 100 діб. Встановлено, що ріст і розвиток оваріальної тканини, а також її стероїдогенна функція при гетеротопічній трансплантації визначається її початковою морфологічною організацією. При алотрансплантації статевозрілої оваріальної тканини виявлено збереження її морфологічної структури, тоді як при трансплантації неонатальної оваріальної тканини відзначалося формування фолікулярних кіст. На 100-ту добу спостереження у кастрованих тварин-реципієнтів спостерігали відновлення вмісту статевих гормонів до фізіологічної норми при трансплантації як статевозрілої оваріальної тканини, так і неонатальної тканини 10-ї доби постнатального розвитку.

Ключові слова: неонатальні яєчники, трансплантація, оваріоектомія, реципієнт, морфологічний розвиток.

ВСТУП

У сучасній фізіології репродукції одним з найбільш не вивчених механізмів залишається гістогенез оваріальної тканини, оскільки практично відсутні дані про фактори, що контролюють цей процес. Згідно з сьогодинішнім уявленням, морфологічний розвиток оваріальної тканини у щурів завершується в ранній постнатальний період [1]. Яєчники щурів 1-ї доби після народження представлені гетерогенними типами клітин: первинними статевими (оогоніями), епітеліальними та мезенхімальними. Упродовж перших тижнів після народження щурів у яєчниках відбувається комплекс трансформацій, а саме міграція і диференціація клітин, у результаті чого формується пул примордіальних фолікулів [9]. Утворення фолікулярної одиниці в ранній постнатальний період контролюється багатьма ендокринними, паракринними і аутокринними факторами, тонка координація яких регулює численність фолікулів в яєчниках, що надалі визначає репродуктивну функцію у статевозрілих тварин [7].

Одним із сучасних експериментальних методів *in vivo*, який дає змогу вивчити ріст, морфологічний розвиток і функціонування оваріальної тканини неоднакових стадій гістогенезу в умовах різного ендокринного оточення, є гетеротопічна трансплантація [12]. Нині у літературі існують суперечливі дані про можливість повноцінного розвитку неонатальної оваріальної тканини при порушенні ендокринної та паракринної регуляції, а саме в організмі статевозрілого реципієнта при гетеротопічній трансплантації [5].

Також залишаються відкритими питання про значення стадії морфологічного розвитку оваріальної тканини для її тривалого функціонування в організмі статевозрілої особини.

Метою нашої роботи було визначити динаміку фолікулогенезу алотрансплантатів оваріальної тканини, різної за морфологічним розвитком, а також їх ендокринну функцію в організмі кастрованих тварин-реципієнтів упродовж тривалого спостереження.

© Ю.О. Тіщенко, В.В. Кірошка

МЕТОДИКА

Експерименти проведено на 72 самицях щурів лінії Вістар віком 3 міс, масою 120–165 г, які перебували в стандартних умовах віварію ІПКіК НАН України. Утримання та використання лабораторних тварин відповідало положенням «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986) і загальноприйнятим Національним нормам біоетики [15].

Тварини були розділені на 4 групи. До I групи ввійшли щури, яким трансплантували статевозрілу оваріальну тканину, до II, III і IV – неонатальну оваріальну тканину 1-, 3- і 10-ї доби постнатального розвитку відповідно. Контролем були інтактні тварини та тварини з двобічною оваріоектомією.

Операції тваринам проводили в стерильних умовах під комбінованим наркозом (кетамін – 0,1 мг, ксилазін – 0,25 мг на 100 г маси тіла), який вводили внутрішньоочередово.

Усім тваринам трансплантацію оваріальної тканини здійснювали одночасно з двобічною оваріоектомією. Для трансплантації статевозрілої оваріальної тканини яєчники фрагментували (до 1 мм³) і трансплантували по 3–4 фрагменти. Неонатальні яєчники виділяли на 1-, 3- або 10-ту добу після народження щурів та трансплантували за допомогою мікроскопа МБС-10 з холодним освітленням операційного поля.

Сайтом гетеротопічної трансплантації була капсула лівої нирки, оскільки вона є ідеальним місцем для трансплантації оваріальної тканини [18] у зв'язку з тим, що має інтенсивне кровопостачання. Вибір саме лівої нирки зумовлений її анатомічною рухливістю та зручністю для проведення процедури трансплантації. Час проведення трансплантації становив 30 хв. На 30-ту і 100-ту добу після трансплантації здійснювали евтаназію тварин за допомогою ефірного наркозу.

Для аналізу стероїдогенної функції трансплантатів оваріальної тканини внутріш-

ньосерцевою пункцією брали кров, центрифугували її при 3000 g 20 хв для отримання плазми. Вміст естрадіолу, прогестерону та тестостерону в плазмі крові тварин-реципієнтів визначали методом радіоімунологічного аналізу з використанням стандартних тест-наборів РІА-естрадіол-СТ I РІА-прогестерон-СТ (Білорусь) згідно з інструкцією.

Для морфологічних досліджень виділяли нирку з трансплантатом. Фіксували їх в 10-відсотковому розчині формаліну протягом 48 год, дегідрували і поміщали в парафінові блоки [8]. З кожного зразка робили серійні зрізи всього трансплантата товщиною 10 мкм. Кожен третій зріз фарбували гематоксилін-еозин. Аналізували гістологічні зрізи, вивчаючи тільки фолікули з видимим ядром ооцита для виключення повторного рахунку одного і того ж фолікула в аналізованому зрізі.

Ідентифікацію стадії розвитку фолікулів здійснювали згідно з класифікацією Oktay [9], модифікованою Gougeon [10]:

примордіальний – ооцит оточений одним шаром сплосчених гранульозних клітин;

первинний – ооцит оточений поодиноким шаром кубічних клітин гранульози;

преантральний – ооцит оточений більш ніж двома шарами гранульозних клітин, розташованих на базальній мембрані, навколо якої знаходяться поодинокі тека-клітини;

антральний – ооцит збільшений в об'ємі, оточений кількома шарами гранульозних клітин, формується порожнина, яка містить фолікулярну рідину

Дослідження гістологічних препаратів здійснювали за допомогою світлового мікроскопа при збільшеннях об'єктива у 20 і 40 разів. Мікрофотографії робили за допомогою мікроскопа Carl Zeiss Axio спостерігача Z1 і пакета прикладних програм для обробки зображення. Морфометрію аналізували за допомогою комп'ютерної програми AxioVision. Здійснювали вимірювання загальної площі зрізів трансплантатів і площі функціонуючої тканини, а також визначали фолікулярну щільність як кількість фолікулів на одиницю

площі функціонуючої тканини. Структуру естрального циклу вивчали за цитологією щоденних ранкових вагінальних мазків [3].

Статистичний аналіз був проведений за допомогою пакетів програм Microsoft Office 2003 Excel з використанням критерію t Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис.1 представлена морфологія оваріальної тканини на 30-ту добу після трансплантації. Видно, що структура тканини алотрансплантатів має якісні відмінності залежно від початкової морфологічної організації яєчників. Так, при трансплантації фрагментів статевозрілої оваріальної тканини (І група) на 30-ту добу спостерігалася структура морфологічно відповідна нормі яєчників (рис. 1,а). Відзначено фолікули різного ступеня зрілості, характерні як для ранніх стадій фолікулогенезу (примордіальні та первинні), так і для більш пізніх (преантральні та антральні), а також жовті тіла.

При трансплантації неонатальних яєчників на 30-ту добу у всіх тварин відзначався розвиток фолікулярних кіст різного розміру (рис. 1,в,г). Морфологічно кісти являли собою порожнини з прозорим або зі слабо забарвленим еозином секретом, оточені кількома шарами витягнутих фібробластоподібних клітин. Слід зазначити, поряд з фолікулярними кістами наявні ділянки тканини, морфологія якої характерна для яєчників статевозрілих тварин (див. рис. 1,б,в,г). На гістологічних препаратах відзначалися як примордіальні, так і зростаючі фолікули діаметром $167,77 \text{ мкм} \pm 20,85 \text{ мкм}$ (преантральні фолікули) і $358,55 \text{ мкм} \pm 57,91 \text{ мкм}$ (антральні фолікули). Відповідно до морфометричного аналізу (таблиця), площа оваріальної тканини зі структурними елементами, відповідними фізіологічній нормі, при трансплантації яєчників 3-ї і 10-ї доби постнатального роз-

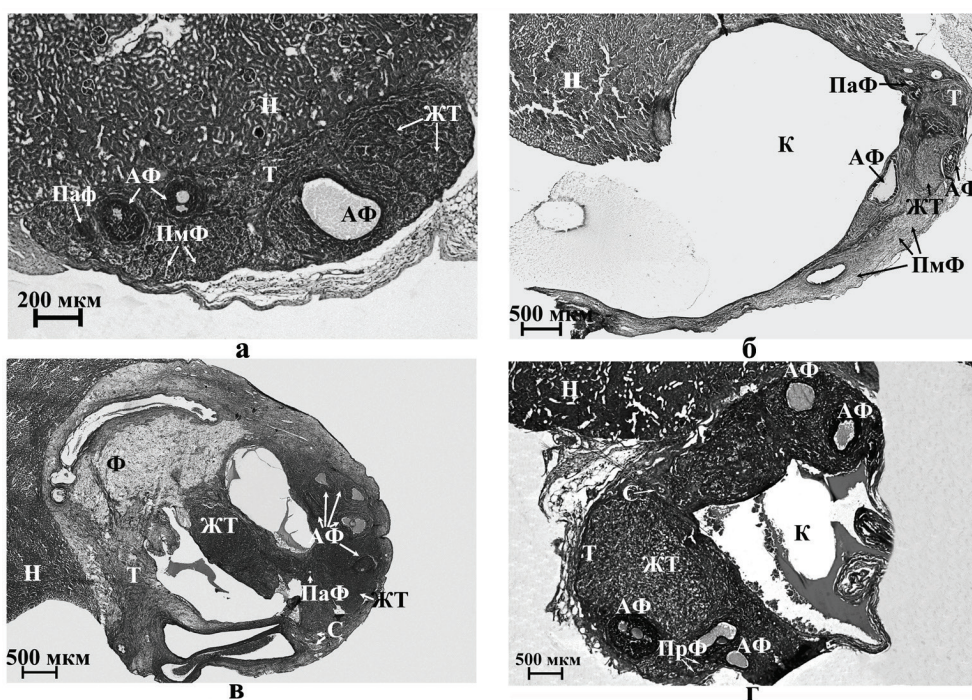


Рис. 1. Морфологія трансплантатів оваріальної тканини на 30-ту добу спостереження: а – трансплантати статевозрілої оваріальної тканини, б, в, г – трансплантати оваріальної тканини 1, 3 і 10-ї доби відповідно; ПмФ – примордіальний фолікул, ПаФ – преантральний фолікул, АФ – антральний фолікул, ЖТ – жовте тіло, С – судина, К – кіста, Ф – фіброз, Н – нирка, Т – трансплантат

витку (III і IV групи) була подібна такої при трансплантації статевозрілих яєчників (I група), тоді як при трансплантації яєчників 1-ї доби постнатального розвитку (II група) площа цієї ділянки тканини була в 5-6 разів меншою. При цьому кількість фолікулів на одиницю площі функціонуючої тканини в цих групах не мала достовірних відмінностей і становила $111,80 \pm 25,72$ (II група), $69,43 \pm 19,15$ (III група) та $90,58 \pm 12,68$ (IV група).

Аналіз ендокринної функції трансплантатів показав, що на 30-ту добу спостереження

концентрація естрадіолу та прогестерону у тварин I групи знаходяться в межах фізіологічної норми, тоді як у тварин усіх інших груп ці показники були достовірно нижчими від значень інтактних тварин, проте істотно вищими у порівнянні зі значеннями тварин після оваріоектомії (рис. 2).

У разі цитологічного аналізу вагінальних мазків виявлено наявність епітеліальних і ороговілих клітин, характерних для стадій проєструсу та еструсу, у тварин I групи вже на 12–14-ту добу, у тварин III і IV груп – на

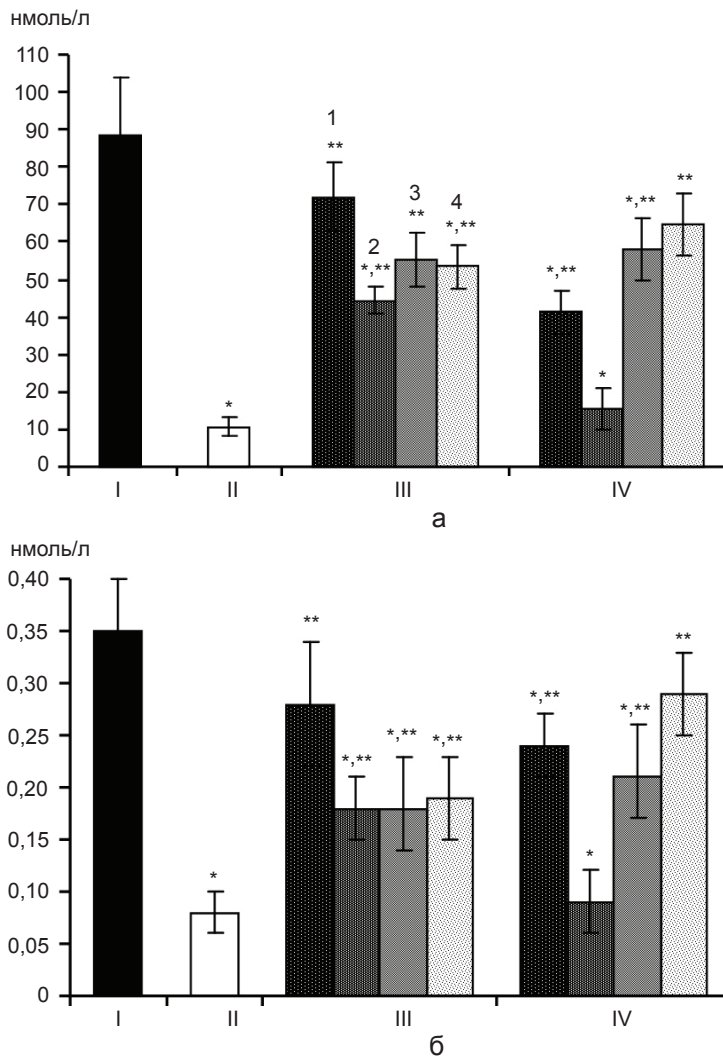


Рис. 2. Концентрація естрадіолу (а) та прогестерону (б) у тварин, яким трансплантували статевозрілу оваріальну тканину (1), неонатальну оваріальну тканину 1-ї доби (2), 3-ї доби (3) та 10-ї доби (4) постнатального розвитку на 30-ту (III) і 100-ту добу спостереження; I – інтактні тварини, II – тварини після оваріоектомії. * $P < 0,05$ відносно значень у інтактних тварин, ** $P < 0,05$ відносно значень тварин після оваріоектомії

12–15-ту добу, тоді як у тварин II групи – лише на 17–20-ту добу після трансплантації. Слід зазначити, що у тварин I, III і IV груп спостерігалось циклічне чергування стадій естрального циклу на відміну від самок II групи.

Ріст і розвиток трансплантатів оваріальної тканини залежно від початкової морфологічної організації на тривалих строках після трансплантації (100 діб) представлено на рис. 3. На 100-ту добу трансплантати статевозрілої оваріальної тканини продовжували розвиватись і зберігати морфологічну структуру, відповідну фізіологічній нормі (див. рис. 3,а). Проте площа функціонуючої тканини та кількість фолікулів на її одиницю (див. таблицю) були значно нижчими у порівнянні з 30-ю добою спостереження у цій групі тварин. Морфологічна структура трансплантатів неонатальних яєчників на тривалих строках залежала від термінів постнатального розвитку оваріальної тканини. На

100-ту добу у тварин II групи трансплантати були представлені склерозованою тканиною, тоді як у тварин III і IV групи відзначалося збільшення площі функціонуючої тканини порівняно з раннім терміном спостереження внаслідок утворення значної кількості жовтих тіл і зниження розмірів фолікулярних кіст (див. рис. 3,в,г). Згідно з результатами, представленими у таблиці, фолікулярна щільність у трансплантатах тварин IV групи була подібною до такої у тварин I групи.

Вивчення ендокринної функції на 100-ту добу спостереження показало, що вміст естрадіолу і прогестерону тільки у тварин після трансплантації неонатальної оваріальної тканини 10-ї доби постнатального розвитку (IV група) був у межах фізіологічної норми ($0,29 \pm 0,04$ і $64,74$ нмоль/л $\pm 8,33$ нмоль/л відповідно; див. рис. 2). Слід зазначити, що концентрації статевих гормонів у тварин після трансплантації як статевозрілої, так і неонатальної оваріальної тканини 3-ї доби (I і III

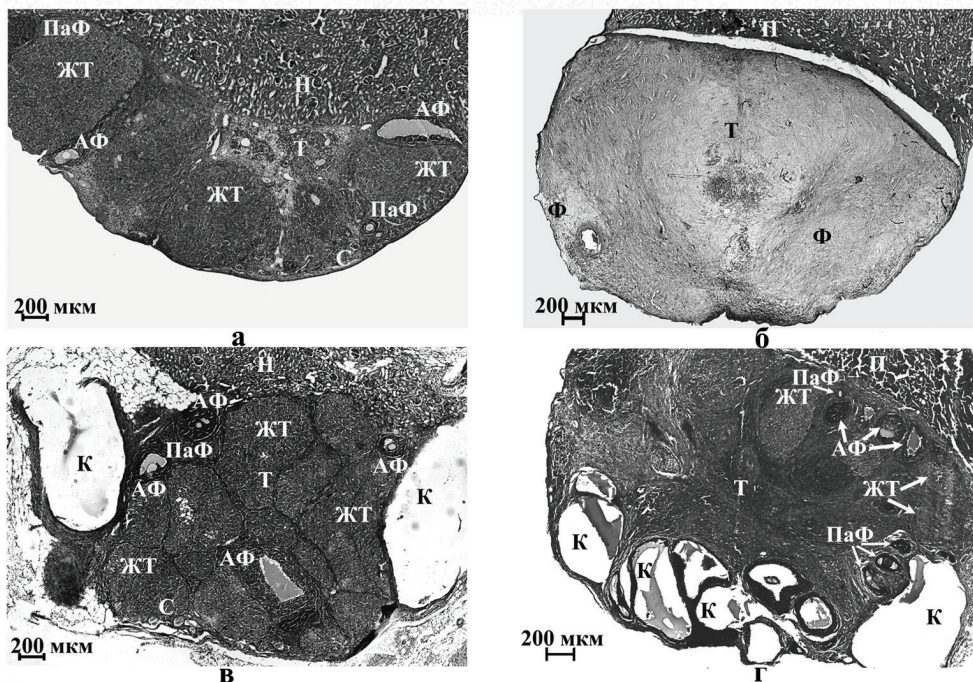


Рис. 3. Морфологія трансплантатів оваріальної тканини на 100-ту добу спостереження: а – трансплантати статевозрілої оваріальної тканини, б, в, г – трансплантати оваріальної тканини 1, 3 і 10-ї доби відповідно; ПмФ – примордіальний фолікул, ПаФ – преантральний фолікул, АФ – антральний фолікул, ЖТ – жовте тіло, С – судина, К – кіста, Ф – фіброз, Н – нирка, Т – трансплантат

групи) були достовірно вищими від значень щурів після оваріоектомії. Тоді як у тварин, яким трансплантували неонатальні яєчники 1-ї доби (II група), ці показники були в межах значень кастрованих щурів ($0,09 \pm 0,03$, $15,50$ нмоль/л $\pm 5,74$ нмоль/л відповідно).

Цитологічний аналіз вагінальних мазків показав, що упродовж 100 діб естральний цикл тривалістю 6–8 діб зберігався у всіх тварин I і IV груп, а також у 30 % тварин III групи, тоді як у більшості тварин II групи спостерігався ациклічний характер естрального циклу.

Наші результати вказують на те, що динаміка росту і розвитку оваріальної тканини, а також її стероїдогенна функція в умовах гетеротопічної трансплантації залежать від її початкової морфологічної організації. Так, характерною рисою морфологічного розвитку неонатальних яєчників (II, III і IV групи) після їх трансплантації статевозрілим тваринам було утворення фолікулярних кіст (див. рис. 1, 3). Цей факт, вочевидь, можна пояснити порушенням ендокринної регуляції на завершальних стадіях гістогенезу неонатальної оваріальної тканини в умовах гетеротопічної трансплантації, а саме виникненням гормонального дисбалансу гіпофізарних і статевих гормонів. З одного боку, в наших експериментальних умовах виникає дефіцит фолікулолестимулювальних гормонів (ФСГ),

потрібний для формування пулу примордіальних фолікулів [16]. Так, у нормі його вміст у 8–16-добових щурів у кілька разів вищий, ніж у статевозрілих [8]. З іншого боку, в такій постановці експерименту ми маємо відхилення від концентрацій статевих гормонів, необхідних для формування неонатальної оваріальної тканини. Наприклад, підвищений вміст фетальних андрогенів призводить не тільки до розвитку полікістозних яєчників, а й до виснаження фолікулярного пулу, оскільки спостерігається атрезія на стадії утворення преантрального фолікула [17]. Згідно з даними Kezele та Skinner [11], підвищена концентрація естрадіолу в ранній постнатальний період призводить до зміни морфології яєчників, а саме до зменшення загального фолікулярного пулу, гіперплазії стромальних елементів і виникнення полікістозних утворень. Прогестерон інгібує апоптоз у неонатальній оваріальній тканині та пов'язаний з цим процес трансформації примордіальних фолікулів у первинні [11].

Динаміка розвитку неонатальних яєчників в організмі статевозрілих тварин, що показана в нашій роботі, а саме формування фолікулярних кіст, також є характерною рисою для трансгенної лінії мишей, в яких спостерігається дефіцит рецепторів до ФСГ [16], та для мишей з мутацією α -субодиниць естрогенчутливих рецепторів [4]. Отже, мож-

Морфометричні показники трансплантатів оваріальної тканини на 30-ту і 100-ту добу спостереження

Трансплантати	Площа зрізу трансплантатів, мм ²		Площа функціонуючої тканини, мм ²		Фолікулярна щільність	
	30 діб	100 діб	30 діб	100 діб	30 діб	100 діб
Статевозрілої оваріальної тканини	3,15 \pm 1,6	1,96 \pm 0,63	3,15 (100%)	1,17 (60 %)	50,48 \pm 7,45	18,71 \pm 1,45
Неонатальної оваріальної тканини						
1-ї доби	8,05 \pm 1,75	3,24 \pm 1,74	0,56 (7 %)	0	111,80 \pm 15,72	0
3-ї доби	6,94 \pm 0,49	6,56 \pm 4,72	3,05 (44 %)	4,26 (65 %)	69,43 \pm 9,15	12,08 \pm 2,58
10-ї доби	5,35 \pm 3,45	7,83 \pm 3,54	2,78 (52 %)	7,83 (100%)	90,58 \pm 12,68	20,22 \pm 1,73

на припустити, що утворення фолікулярних кіст у трансплантатах неонатальних яєчників зумовлено гормональним дисбалансом, який в свою чергу, призводить до порушення регуляції гістогенезу оваріальної тканини.

Аналізуючи представлені вище експериментальні результати, слід вказати на те, що при трансплантації яєчників 3-ї та 10-ї доби постнатального розвитку на 30-ту добу на гістологічних препаратах площа функціонуючої тканини в кілька разів вище, ніж при трансплантації неонатальних яєчників 1-х діб постнатального розвитку (див. таблицю). Збільшення термінів спостереження до 100 діб призвело до більш виражених морфологічних відмінностей трансплантатів у тварин II, III і IV груп (рис. 3). Якісні відмінності росту та розвитку неонатальних яєчників різних термінів гістогенезу в умовах трансплантації статевозрілим тваринам-реципієнтам, очевидно, можна пояснити порушенням регуляції процесу утворення пулу одиничних примордіальних фолікулів під час розриву кластерів, який відбувається протягом перших 48 год після народження тварини [18]. Ймовірно, значно більший пул фолікулів у неонатальних яєчниках у тварин III і IV груп зумовлений тим, що розрив кластерів і формування основного пулу фолікулів, а також диференціація клітин гранульози відбулися в організмі неонатальної тварини до моменту їх трансплантації. Це і визначило динаміку фолікулогенезу, а також стероїдогенну функцію трансплантатів оваріальної тканини в тривалому періоді. Слід зазначити, що у тварин IV групи відновлюється гормональний статус до фізіологічної норми до 100-ї доби спостереження.

Аналіз динаміки розвитку статевозрілої оваріальної тканини при гетеротопічній трансплантації виявив збереження її морфологічної структури та ендокринної функції на всьому терміні спостереження (до 100 діб), що, цілком імовірно, пов'язано з відновленням як мікроциркуляторного русла, так і нейроендокринної регуляції.

На закінчення, можна сказати, що зростання, розвиток і ендокринна функція оваріальної тканини в умовах гетеротопічної трансплантації визначається її морфологічною організацією, з одного боку, і гормональною регуляцією, з іншого. При алотрансплантації статевозрілої оваріальної тканини зазначалося збереження її морфологічної структури і відновлення гормонального статусу тварин-реципієнтів за весь період спостереження. У разі трансплантації неонатальної оваріальної тканини виявлені відхилення її морфологічного розвитку від фізіологічної норми на початковому етапі (30 діб), а саме формуються фолікулярні кісти, які характеризують виникнення гормонального дисбалансу і порушення системи регуляції формування оваріальної тканини в ранній постнатальний період. На тривалих термінах після трансплантації оваріальної тканини 10-ї доби постнатального розвитку фолікулярний профіль трансплантатів подібний до таких при трансплантації статевозрілої тканини, при цьому відновлюється гормональний статус кастрованих тварин-реципієнтів.

Ю.О. Тищенко, В.В. Кірошка

ДИНАМИКА МОРФОГЕНЕЗА И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ОВАРИАЛЬНОЙ ТКАНИ КРЫС

В организме кастрированных животных-реципиентов после аллотрансплантации овариальной ткани исследовали динамику ее фолликулогенеза и эндокринную функцию в течение 100 сут. Установлено, что рост и развитие овариальной ткани, а также ее стероидогенная функция при гетеротопической трансплантации определяется ее первоначальной морфологической организацией. При аллотрансплантации половозрелой овариальной ткани выявлено сохранение ее морфологической структуры, тогда как при трансплантации неонатальной овариальной ткани отмечалось формирование фолликулярных кист. На 100-е сутки наблюдения у кастрированных животных-реципиентов восстанавливалось содержание половых гормонов до физиологической нормы при трансплантации как половозрелой овариальной ткани, так и неонатальной ткани 10-х суток постнатального развития.

Ключевые слова: неонатальные яичники, трансплантация, овариоэктомия, реципиент, морфологический розвиток.

Yu.O.Tischenko, V.V.Kiroshka

DYNAMICS OF MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL DEVELOPMENT OF OVARIAN TISSUE ALLOGRAFTS

We examined the dynamics of folliculogenesis in ovarian tissue allograft and its endocrine function in an organism of castrated recipient rats during 100 days. Growth and development of ovarian tissue and its steroidogenic function in heterotopic transplantation were determined by its initial morphological organization. Allotransplantation of mature ovarian tissue was found to cause preservation of its morphological structure, whereas the transplantation of neonatal ovarian tissue caused formation of follicular cysts. At 100th day of observation, we observed a recovery of the levels of sex hormones to the physiological norm after transplantation of both mature ovarian tissue and neonatal tissue of 10-days of postnatal development. Key words: neonatal ovary, transplantation, ovariectomy, recipient, morphological development.

Institute for problems of cryobiology and cryomedicine of the National academy of sciences of Ukraine, Kharkiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Боярский К.Ю. Молекулярные основы формирования фетального яичника и получение гамет из стволовых клеток // Пробл. репродукции. – 2004. – № 5. – С. 15–21.
2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
3. Эскин И.А. Основы физиологии эндокринных желез. – М.: Высш. школа, 2-е изд., 1975.
4. Abbott D.H., Padmanabhan V., Dumesic D.A. Contributions of androgen and estrogen to fetal programming of ovarian dysfunction // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2006. – **17**, № 4. – P. 1–8.
5. Abir R., Biron-Shental T., Orvieto R. Transplantation of frozen-thawed late-gestational-age human fetal ovaries into immunodeficient mice. – Fertil. and Steril. – 2009. – **92**, № 2. – P. 770–777.
6. Balla A., Danilovich N., Yang Y., Sairam M.R. Dynamics of ovarian development in the FORKO immature mouse: structural and functional implications for ovarian reserve // Biol. Reprod. – 2003. – № 69. – P. 1281–1293.
7. Demeestere I., Centner J., Gervy C., Englert Y., Delbaere A. Impact of various endocrine and paracrine factors on in vitro culture of preantral follicles in rodents // Reproduction. – 2005. – № 130. – P. 147–156.
8. Hirshfield A.N., DeSanti A.M. Patterns of ovarian cell proliferation in rats during the embryonic period and the first three weeks postpartum // Biol. Reprod. – 1995. – № 53. – P. 1208–1221.
9. Hirshfield A.N. Heterogeneity of cell populations that contribute to the formation of primordial follicles in rats // Ibid. – 1992. – № 47. – P. 466–472.
10. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results // Hum. Reprod. – 1986. – № 1. – P. 81–87.
11. Kezele P., Skinner M.K. Regulation of ovarian primordial follicle assembly and development by estrogen and progesterone: endocrine model of follicle assembly // Endocrinology. – 2003. – № 144. – P. 3329–3337.
12. Marano J., Sun D., Zama A.M. Orthotopic transplantation of neonatal GFP rat ovary as experimental model to study ovarian development and toxicology // Reprod. Toxicol. – 2008. – № 26. – P. 3–4.
13. Oktay K., Newton H., Mullan J., Gosden R.G. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone // Hum. Reprod. – 1998. – **13**, № 5. – P. 1133–1138.
14. Pepling M.E., Spradling A.C. Mouse ovarian germ cell cysts undergo programmed breakdown to form primordial follicles // Dev. Biol. – 2001. – № 234. – P. 339–351.
15. Protocol of amendment to the european convention for the protection of vertebrate animals used for the experimentation and other scientific purposes – Strasbourg, 1998.
16. Roy S.K., Albee L. Requirement for follicle-stimulating hormone action in the formation of primordial follicles during perinatal ovarian development in the hamster // Endocrinology. – 2000. – № 141. – P. 4449–4456.
17. Uzumcu M., Zachow R. Developmental exposure to environmental endocrine disruptors: consequences within the ovary and on female reproductive function // Reprod. Toxicol. – 2007. – **23**, № 3. – P. 337–352.
18. Yang H.Y., Cox S.L., Jenkin G. Graft site and gonadotrophin stimulation influences the number and quality of oocytes from murine ovarian tissue grafts // Reproduction. – 2006. – **131**, № 5. – P. 851–859.

Ин-т проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків
E-mail: tischenko.kh@gmail.com

Матеріал надійшов до редакції 07.06.2012