

ӘОЖ 618.177:57.086

РЕПРОДУКТИВТІ ЖАСУШАЛАР МЕН ЭМБРИОНДЫ КРИОСАҚТАУ

А.А. Сақан, Ұ. Маратқызы, М.Б. Қобылан, Н.Б. Жақсығали
4-курс студенттері, «Биотехнология» білім беру бағдарламасы,
жаратылыстану факультеті, биология кафедрасы,
Қ.Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік университеті, Ақтөбе қ., Қазақстан

Ғылыми жетекші: Р. Изимова медицина ғылымдарының кандидаты

Репродуктивті медицинада жыныс жасушалары мен эмбриондарды криоконсервациялау бедеулікті емдеудің және репродуктивті әлеуетті сақтаудың тиімді тәсілі саналады. Бұл мақалада аналық және аталық жыныс жасушалары мен эмбриондарды криосақтаудың негізгі әдістері — витрификация және баяу қатыру — қарастырылды. Зерттеу барысында аталық жыныс жасушаларының криотөзімділігі мен эмбриондардың морфологиялық сапасының сақталуы, сондай-ақ олардың клиникалық жүктілік нәтижелерімен байланысы талданады. Алынған нәтижелер криоконсервацияның биологиялық материалдардың өміршеңдігін жоғары деңгейде сақтайтынын және клиникалық тиімділігі эмбрионның бастапқы сапасына тікелей тәуелді екенін көрсетті.

Кілт сөздер: аналық және аталық жыныс жасушалары, эмбрион, витрификация, баяу қатыру, криопротектор, криоконсервация, қосалқы репродуктивтік технология, сұйық азот, бедеулік.

Қазіргі қоғамдағы өзекті мәселелердің бірі ер мен әйелдің репродуктивті денсаулық жағдайы ҚР Денсаулық сақтау министрлігінің ресми деректері бойынша 2019 жылы «бедеулік» диагнозымен 10 мыңға жуық адам, ал 2024 жылдың ортасына қарай 29,2 мың адам тіркелген. Соның ішінде 29,1 мың – әйел адам, 102 – ер адам. Репродуктивтік медицина орталықтары деректеріне сәйкес, соңғы 30 жыл ішінде ЭКО арқылы 39 мың сәби дүниеге келген. Бұл өз кезегінде криобиология саласындағы жетістіктердің айқын көріністерінің бірі [1].

Криобиология – бұл өте төмен температура арқылы биологиялық нысандарды ұзақ сақтау және қатыру процестерін зерттейтін ғылым саласы. Криобиология - XX ғасырдың II жартысында жеке ғылыми пән ретінде қалыптасқан салыстырмалы түрде жас ғылым саласы. Бірақ, жасушаларды қатыру арқылы сақтау XVIII ғасырдың 70 жылдары жүргізіле бастаған.

Алғашқы сәтті қатыру жұмысы бұқаның аталық жасушаларын криопротектор ретінде глициринді пайдалану арқылы сақтау болды. Алайда келесі талдау нәтижелері бойынша спермотозоидтардың қатыру мен ерітуден кейінгі өміршеңдігі тіпті бір жануар өмірінің түрлі кезеңдерінде өзгеше болған. Жануарлар оциттерінің криоконсервация жұмыстары нәтижесінде төмен температураға ұрықтанған ооциттердің ұрықтанбаған ооциттерге қарағанда төзімділігі анықталған. Бірақ, криопротекторларсыз жұмыртқа жасушалары ұрықтанған және ұрықтанбаған күйде де -76°C -қа төзімсіздік танытқан. Алғашқы адамның аналық без фолликуласынан тыс піскен аналық жұмыртқалар 1939 жылы алынған. 1949 ж Кристофер Полдж -79°C температурада адам аталық жыныс жасушасын сәтті криоконсервацияланған. Бұл ғылыми жаңалықтар жасушаларды ұзақ мерзімді сақтау мүмкіндігін дәлелдеп, репродуктивтік медицинада криобиология, экстракорпоралды ұрықтандыру және генетикалық материалды сақтау бағыттарының қалыптасуына негіз болды. Криобиологиялық сақтау әдістері репродуктивті денсаулық негізіндегі ерлер мен әйелдер жыныс жасушаларының фертильдік көрсеткіштері бойынша бала сүю мүмкіндігін материалды, морально және психологиялық дайын болу уақытына қарай 1 жылдан 10 жыл уақыт мерзіміне дейінге сақтауға мүмкіншілік береді [2].

Әйелдердің жүкті болу қабілетінің жоғары деңгейі 23-40 жас аралығын қамтиды. Жалпы жүкті болу қабілетінің генетикалық ақаулардың көбеюіне байланысты нашарлауы, негізінде түсік тастау мен табиғи түрде немесе жасанды жолмен жүкті болуы төмендейді. Сонымен қатар, 40 жас жүкті болу көрсеткішін төмендетеді, ықтималдылығы шамамен 30% деңгейде. Әйел ағзасындағы аналық жыныс жасуша қоры әр менструалды цикл кезінде 1000 жыныс жасушаның жойылуына байланысты, 35 жас көрсеткішінде репродуктивті жасуша қорының 10% ғана сақталады. Жас ұлғаюы кезінде жыныс жасушаның саны ғана емес сапасының әлсіреуіне байланысты биологиялық құндылығы төмендейді. Аналық без ұлпасын сақтау және кейін қайта енгізу аутоотрансплантация әдісі – фолликулогенездің, гормон түзілуінің және сау бала тууының сәтті жағдайларын көрсетеді [3].

Ерлер жыныс жасушаларының белсенділігі жас көрсеткіші мен өмір салтына тікелей байланысты саналады. Криоконсервациялық сақтау әдісін жүргізу үшін алдын-ала жыныс жасушасының сапасы 4 деңгейлік шкала бойынша бағаланып, жалпы саны анықталынады. Жасуша тұтқырлығы, агглютинациясы, формасымен лейкоцит, эпителий мөлшері негізінде жалпы есепке алынады. Нәтиженің оң болуына байланысты Mar test талдауын жүргізу арқылы жыныс жасушалары арасындағы бірінші активтілік деңгейіндегі жасушалар анықталады. Кейіннен криоконсервациялық сақтау кезінде жасушаның зақымдануының алдын алу мақсатында арнайы криопротекторлар қосылып, жасушалар толық батырыңқы күйінде баяу қатыру жүргізіледі.

Эмбриондарды криоконсервациялық сақтау үшін бластоцисталық даму кезеңіндегі сапалық көрсеткіштері анықталады. Осы бағалау нәтижелеріне сәйкес эмбриондарды сақтау үшін витрификация және баяу қатыру әдістері қолданылды, ол жасушалардың құрылымын сақтауға және тіршілікке қабілеттілігін арттыруға мүмкіндік берді. Криоконсервация әдістері эмбриондардың, ооциттердің, зиготта және бластоцисттердің жоғары деңгейде сақталуына мүмкіндік береді. Оны қолдану барысында қауіптер де бар: клеткалық құрылымға зақым келуі, контаминация және криопротекторлардың токсикалық әсері. Дегенмен, заманауи ашық және жабық крионосителиерді қолдану арқылы қауіптерді айтарлықтай төмендетуге болады [4].

Витрификация әдісі белгілі бір концентрациядағы крипротекторларды қолданумен және температураны тез төмендету арқылы жүргізілетін жасушаларды қатыру түрі. Витрификация судың жасушалардан тез шығарылуы арқылы су молекулаларының кристаллизациясын тежейтін процесс. Зерттеу жұмыстары бойынша сусыздандырылған жасушаларды сұйық азотқа орналастыру адам эмбриондарының өміршеңдігін әлдеқайда ұзақ сақтауға мүмкіндік бергені анықталды. Бұл әдістің артықшылығы – жасушаішілік құрылымдардың мұз кристалдары арқылы зақымдану қаупі болмайды және аз уақыт жұмсалады. Әдістің әлсіз тұсы - криопротекторлардың жоғары концентрациясы уытты әсер етіп, биоматериялдың зат алмасу процесіне зиян тигізуі мүмкін [5].

Баяу қатыру - бұл биоматериялды салыстырмалы түрде төмен жылдамдықпен бірнеше кезең арқылы крисконсервациялау. Процесс барысында биоматериял алдымен 4°C-қа дейін салқындатылып, кейін температура минутына 1-10°C-қа дейін азайып отырады. Сонымен қатар, -80°C шамасында бірінші сұйық азот буында алдынала қатырылып, ары қарай сұйық азоттың өзіне түсіріледі. Баяу қатыру әдісінің артықшылығы - жасушаларға елеулі зиян келтірмейтін мұз кристалдарының түзілу процесін бақылауға және жасушаішілік осмостық тепе-теңдікті баяулап сақтауға мүмкіндік береді [6].

Зерттеу жұмысының негізіне ҚР 2020 жылғы 7 шілдеде қабылданған «Халық денсаулығы және денсаулық сақтау жүйесі туралы» Кодексінің 146-бабының 4-тармағы алынды. Тәжірибе «ЭкоМед-Ақтөбе» Эко зертханасында 17.09.2025 ж. – 21.11.2025 ж. уақыт аралығында орындалды. Барлық зерттеу кезеңдері талаптарға сай жүргізіліп, зерттелетін биологиялық материалдармен жұмыс істеу кезінде қауіпсіздік және этикалық талаптар қатаң сақталды.

Зерттеу жұмысының нысаны ретінде эмбриондар мен аталық жыныс жасушалары қолданылды. Аталық жыныс жасушаларының криотөзімділігін анықтау бойынша 16 дені сау ер адамның жыныс жасушасы ДДСҰ талаптарына сәйкес А, В, С және D категориялары бойынша жіктелді. Ал эмбриондық зерттеуде морфологиялық сапасын сараптау бойынша витрификациялық қатыру әдісі пайдаланылды. Алынған нәтижелер аталық жыныс жасушалардың

криотөзімділігі айтарлықтай жеке ерекшеліктерге байланысты өзгеретінін және эмбриондардың витрификациялаудан кейінгі жүктіліктің орын алуына байланысты бағаланды.

Зерттелген үлгілердің басым бөлігінде — 16 адамның 12-сінде, яғни 75% — жібітілгеннен кейінгі қозғалыс белсенділігінің төмендеуі 0–5% аралығында болды. Бұл диапазон криотөзімділіктің жақсы сақталғанын білдіреді, яғни қатыру үдерісі прогрессивті қозғалғыш жасушалардың санына айтарлықтай әсер етпеген. Мұндай жағдайларда аталық жыныс жасушалардың құрылымдық және функционалдық бүтіндігі жақсы деңгейде сақталған деп есептеледі. Қалған 3 үлгісінде (18,7%) қозғалыс белсенділігінің 5–20% төмендеуі байқалды. Бұл топта криотөзімділіктің орташа деңгейде әлсірегені айқын көрінеді. Мұндай төмендеу жібіту барысында мембраналық құрылымдардың ішінара зақымдануымен және жасуша қозғалысына жауап беретін митохондриялық белсенділіктің аздап бұзылуымен байланысты болуы мүмкін. Дегенмен, бұл өзгерістер аталық жыныс жасушалардың жалпы функционалдық қабілетін толық жоғалтпайды, тек олардың сапасын салыстырмалы түрде азайтады (1-кесте).

1-кесте. Аталық жыныс жасушаларының функционалдық қабілеттілігі

Параметр	A (%) дейін	A (%) кейін	B (%) дейін	B (%) кейін	C (%) дейін	C (%) кейін	D (%) дейін	D (%) кейін
Орта мән (Mean)	20.25	19.25	26.63	26.06	24.13	24.06	29.31	30.94
Стандартты ауытқу (SD)	7.95	7.55	5.75	5.40	5.68	4.19	11.62	11.42
Мин	0	0	15	15	10	15	15	17
25% перцентиль	15	14.5	24.5	22.75	20	21.5	20	21.75
Медиана (50%)	25	23	25	26	24	25	27.5	30.5
75% перцентиль	25	25	30	30	30	28	36.25	38.5
Макс	27	27	35	35	30	29	60	60

Тәжірибенің эмбриондармен жүргізілуі. Зерттеуде 20 пациенттен алынған эмбриондардың криоконсервацияға дейінгі және жібітілгеннен кейінгі морфологиялық сапасы, сондай-ақ олардың клиникалық жүктілік нәтижелері талданды. Зерттеудің мақсаты — эмбриондардың сапалық өзгерістері, қатыру–жібіту процесіне төзімділігі және олардың жүктілікпен аяқталу ықтималдығы арасындағы байланысты анықтау.

Жалпы пациенттер арасында жүктіліктің оң нәтижесі (Б+) тек 3 жағдайда тіркелді, бұл жалпы топтың 15%-ын құрады. Жүктіліктің болмауы 13 пациентте (65%) анықталды, ал жағымсыз жүктілік нәтижелері — түсік 2 пациентте (10%) және тоқыраған жүктілік 1 пациентте (5%) — қосымша 15%-ды құрады. Бұл көрсеткіштер эмбрион трансферінің клиникалық нәтижесінің әртүрлі факторларға тәуелді екенін көрсетеді.

Эмбрион сапасының криоконсервация кезіндегі тұрақтылығын бағалау нәтижесінде 20 пациенттің 15-інде (75%) эмбриондар қатыру–жібіту процесінен кейін морфологиялық сапасын толық сақтағаны анықталды. Мысалы, BL4AA → BL4AA, BL4AB → BL4AB, BL4BB → BL4BB сияқты өзгерістер байқалды. Бұл эмбриондардың криоконсервациядан кейін морфологиялық тұрақтылығын растайды. Ал 3 пациенттің (15%) эмбриондарының сапасы төмендеді, мысалы BL4BB → BL4BC немесе күрделі морфологиялық комбинациялардың әлсіреуі байқалды. Эмбрион сапасының жақсаруы бірде-бір жағдайда тіркелген жоқ, бұл физиологиялық үрдіске сәйкес келеді [7].

Эмбрион сапасы мен клиникалық жүктілік нәтижесі арасындағы байланысты қарастырғанда, жүктілікпен аяқталған үш жағдайдың барлығында эмбрион сапасы жоғары деңгейде болып, криоконсервациядан кейін өзгермегені анықталды. Белсенді жүктілікке BL4AA, BL4AB және BL4BB/BL3BC үлгілері әкелді. Бұл қатырылған эмбриондардың клиникалық тиімділігінің олардың бастапқы морфологиялық сапасына және жібітілгеннен кейінгі тұрақтылығына тікелей байланысты екенін көрсетеді. Сонымен қатар, сапасы төмендеген барлық эмбриондарда жүктілік байқалмаған, бұл сапаның төмендеуі клиникалық нәтижеге теріс әсер ететінін дәлелдейді.

Жалпы, алынған мәліметтер криоконсервацияланған эмбриондардың сапасын сақтау көрсеткіші жоғары екенін (75%) көрсетті, алайда олардың клиникалық жүктілікке әкелу ықтималдығы төмен болып қалды. Жүктіліктің оң нәтижесі тек бастапқы морфологиялық сапасы жоғары және криоконсервациядан кейін өзгермей сақталған эмбриондарда тіркелді. Осылайша, эмбрион сапасының тұрақтылығы, бастапқы морфологиялық деңгейі және криогендік төзімділігі жүктіліктің қалыптасуына әсер ететін негізгі факторлар болып табылады (2-кесте).

2-кесте. Жүктілік ағымының нәтижелері бойынша көрсеткіші

Санат	Саны	%
Б+	3	15%
Б-	13	65%
Түсік	2	10%
Дамымаған жүктілік	1	5%
Барлығы	20	100%

Қорытындылай келе, жыныс жасушалары мен эмбриондарды криоконсервациялау, әсіресе витрификация әдісі, репродуктивті медицинаның маңызды бөлігі болып табылады. Ашық тасымалдағыштарды қолдану эмбриондардың өміршеңдігін сақтап, жүктілік ықтималдығын арттырады.

Аталық жыныс жасуша 75%-ында криотөзімділік сақталып, қозғалғыштық минималды төмендеді, ал 18,7%-ында орташа деңгейде әлсіреді.

Эмбриондардың 75%-ы криоконсервациядан кейін морфологиялық сапасын толық сақтады, ал сапасы төмендеген эмбриондарда жүктілік тіркелмеді.

Бұл зерттеу көрсеткендей, эмбрионның бастапқы сапасы, криогендік төзімділік және криоконсервациядан кейінгі тұрақтылығы клиникалық нәтиже—жүктіліктің қалыптасуына шешуші әсер етеді. Витрификация жасушаларды қорғап, процесті жылдам жүргізсе, баяу қатыру жасушалардың осмостық тепе-теңдігін сақтауға мүмкіндік береді.

Пайдаланылған әдебиеттер тізімі

1. <https://ranking.kz/kz/sholu/regions-kz/kazakstanda-tuu-korsetkishi-kurt-tomendeude-sebebi-nede.html>
2. Белоус А. М., Грищенко В. И. Криобиология. – 1994.
3. Одинцова И. А. и др. Криоконсервация половых клеток: история и современное состояние вопроса //Гены и клетки. – 2021. – Т. 16. – №. 3. – С. 44-51.
4. Уркимбаева Д.М., Байкошкарлова С.Б., Отарбаев М.К., Ибрагимов А.К., Устенов Г.Е., Махамбетова А.М., Мынбаева М.Ж. Влияние коллабирования бластоцист перед замораживанием на выживаемость и частоту наступления клинической беременности. // Ежегодная международная конференция РАРЧ “Репродуктивные технологии сегодня и завтра”. 8–12 сентября 2020 г. Сборник тезисов.
5. Шурыгина О. В. и др. Витрификация гамет и эмбрионов-эффективный инструмент повышения результативности программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) //Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №. 4. – С. 54-54.
6. Григорьева А. А. и др. Криоконсервация гамет человека в присутствии криопротекторов, модифицированных яичным желтком //новейшие достижения и успехи развития естественных и математических наук. – 2016. – с. 28-32.
7. Корсак В.С. Руководство по клинической эмбриологии: сделано в МЦРМ //Москва 2011г. Стр. 157-165.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК И ЭМБРИОНОВ

А.А. Сакан, Ұ. Мараткызы, М.Б. Кобылан, Н.Б. Жаксығали

Научный руководитель: Р. Изимова, кандидат медицинских наук

В репродуктивной медицине криоконсервация половых клеток и эмбрионов является эффективным методом лечения бесплодия и сохранения

репродуктивного потенциала. В данной статье рассмотрены основные методы криоконсервации женских и мужских половых клеток и эмбрионов — витрификация и медленное замораживание. В ходе исследования проанализированы криоустойчивость мужских половых клеток, сохранность морфологического качества эмбрионов, а также их связь с клиническими исходами беременности. Полученные результаты показали, что криоконсервация обеспечивает высокий уровень сохранения жизнеспособности биологического материала, а её клиническая эффективность напрямую зависит от исходного качества эмбриона.

Ключевые слова: женские и мужские половые клетки, эмбрион, витрификация, медленное замораживание, криопротектор, криоконсервация, вспомогательные репродуктивные технологии, жидкий азот, бесплодие.

CRYOPRESERVATION OF REPRODUCTIVE CELLS AND EMBRYOS

A.A. Sakan, U. Maratkyzy, M.B. Kobylan, N.B. Zhaksigali

Scientific supervisor: R. Izimova, Candidate of Medical Sciences

In reproductive medicine, cryopreservation of gametes and embryos is an effective method for the treatment of infertility and the preservation of reproductive potential. This article examines the main methods of cryopreservation of female and male reproductive cells and embryos—vitrification and slow freezing. The study analyzes the cryoresistance of male gametes, the preservation of the morphological quality of embryos, and their relationship with clinical pregnancy outcomes. The results obtained demonstrated that cryopreservation ensures a high level of viability of biological material, and its clinical effectiveness directly depends on the initial quality of the embryo.

Keywords: female and male reproductive cells, embryo, vitrification, slow freezing, cryoprotectant, cryopreservation, assisted reproductive technologies, liquid nitrogen, infertility.

REFERENCES

1. Ranking.kz. (n.d.). Why the birth rate in Kazakhstan is rapidly declining. Retrieved from: <https://ranking.kz/kz/sholu/regions-kz/kazakstanda-tuu-korsetkishi-kurt-tomendeude-sebebi-nede.html>
2. Belous, A. M., & Grishchenko, V. I. (1994). Cryobiology.
3. Odintsova, I. A., et al. (2021). Cryopreservation of germ cells: history and current state of the issue // Genes and Cells. – Vol. 16. – No. 3. – pp. 44–51.

4. Urkimbaeva, D. M., Baykoshkarova, S. B., Otarbaev, M. K., Ibragimov, A. K., Ustenov, G. E., Makhambetova, A. M., & Mynbayeva, M. Zh. (2020). The effect of blastocyst collapse before freezing on survival and clinical pregnancy rates // Annual International Conference of RARCH “Reproductive Technologies Today and Tomorrow”, September 8–12, 2020. Book of abstracts.
5. Shurygina, O. V., et al. (2016). Vitrification of gametes and embryos as an effective tool for improving the outcomes of assisted reproductive technology (ART) programs // Modern Problems of Science and Education. – No. 4. – p. 54.
6. Grigorieva, A. A., et al. (2016). Cryopreservation of human gametes in the presence of cryoprotectants modified with egg yolk // Latest Achievements and Successes in the Development of Natural and Mathematical Sciences. – pp. 28–32.
7. Korsak, V. S. (2011). Guide to Clinical Embryology: Made at the MCRM. Moscow. – pp. 157–165.