

УДК 576.353/.355+591.391.1+599.323.4+57.089.3
<https://doi.org/10.56871/FRP.2026.85.94.004>

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СТРАТЕГИИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ *IN VITRO* В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА МЫШАХ

© Галина Николаевна Казанова, Мария Алексеевна Ясырева,
Юлия Игоревна Белова, Анна Олеговна Дробинцева

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, г. Санкт-Петербург,
ул. Литовская, д. 2, Российская Федерация

Контактное лицо: Галина Николаевна Казанова — ассистент кафедры гистологии и эмбриологии имени
проф. А.Г. Кнорре. E-mail: vizichkanich@rambler.ru; <https://orcid.org/0009-0001-1185-1754>; SPIN: 5044-2378

Для цитирования: Казанова Г.Н., Ясырева М.А., Белова Ю.И., Дробинцева А.О. Молекулярные стратегии
повышения эффективности созревания ооцитов *in vitro* в экспериментах на мышах. *Forcipe*. 2025;8(4):39–51.
<https://doi.org/10.56871/FRP.2026.85.94.004>.

Поступила: 17.11.2025

Одобрена: 14.01.2026

Принята к печати: 10.03.2026

РЕЗЮМЕ. Введение. *In vivo* созревание ооцитов млекопитающих происходит внутри фолликулов яичника. В условиях *in vitro* активно разрабатываются методики культивирования незрелых ооцитов с целью достижения ими полной зрелости. Культивирование ооцитов *in vitro* — ключевая методика в репродуктивной биологии, которую применяют для сохранения фертильности, исследований развития и во вспомогательных репродуктивных технологиях. **Цель** — систематизировать данные о факторах роста и гормонах, влияющих на *in vitro* maturation (IVM, созревание вне организма) ооцитов мыши, с целью выявления оптимальных стратегий улучшения методики. **Материалы и методы.** Проведен аналитический обзор 39 научных публикаций, посвященных IVM на модели мыши с акцентом на морфологические критерии зрелости, микроокружение ооцита и роль сигнальных путей. Выполнен предварительный количественный анализ эффективности ключевых факторов. **Результаты.** Фолликулостимулирующий гормон, лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), костный морфогенетический белок 15 (BMP15), фактор дифференцировки роста 9 (GDF9), эпидермальный фактор роста (EGF), инсулиноподобные факторы роста I и II (IGF-I/II) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), а также антиоксиданты (глутатион, аторвастатин) значимо влияют на различные аспекты созревания: рост ооцит-кумулюсного комплекса, достижение метафазы II, качество эмбрионов и снижение окислительного стресса. **Заключение.** Комбинированное применение гормонов, факторов роста и антиоксидантов позволяет значительно повысить эффективность IVM.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: созревание ооцитов *in vitro*, IVM, факторы роста, мышь, ооцит-кумулюсный комплекс, метафаза II, репродуктивные технологии

MOLECULAR STRATEGIES TO ENHANCE THE EFFICIENCY OF *IN VITRO* OOCYTE MATURATION IN A MOUSE MODEL

© Galina N. Kazanova, Mariya A. Yasyreva, Yuliya I. Belova, Anna O. Drobintseva

Saint Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya str., Saint Petersburg, 194100, Russian Federation

Contact information: Galina N. Kazanova — assistant. E-mail: vizichkanich@rambler.ru; <https://orcid.org/0009-0001-1185-1754>; SPIN: 5044-2378

For citation: Kazanova G.N., Yasyreva M.A., Belova Yu.I., Drobintseva A.O. Molecular strategies to enhance the efficiency of *in vitro* oocyte maturation in a mouse model. *Forcipe*. 2025;8(4):39–51. (In Russ.). <https://doi.org/10.56871/FRP.2026.85.94.004>.

Received: 17.11.2025

Revised: 14.01.2026

Accepted: 10.03.2026

ABSTRACT. Introduction. *In vivo* oocyte maturation occurs within ovarian follicles. Under *in vitro* conditions, extensive research is being conducted on the cultivation of immature oocytes to achieve full maturity. *In vitro* oocyte culture is a key technique in reproductive biology, applied in fertility preservation, developmental studies, and assisted reproductive technologies. **Aim.** To systematize data on growth factors and hormones affecting IVM in mice, aiming to identify optimal strategies for protocol improvement. **Materials and methods.** An analytical review of 39 scientific publications on mouse IVM was conducted, focusing on morphological maturity criteria, oocyte microenvironment, and signaling pathways. A preliminary quantitative analysis of key modulators' efficacy was performed. **Results.** Follicle-stimulating hormone, leukemia inhibitory factor (LIF), bone morphogenetic protein 15 (BMP15), growth differentiation factor 9 (GDF9), epidermal growth factor (EGF), insulin-like growth factors I and II (IGF-I/II), and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) significantly influence various aspects of maturation: cumulus-oocyte complex expansion, metaphase II attainment, embryo quality, and oxidative stress reduction. Antioxidants (glutathione, atorvastatin) also improve IVM conditions. **Conclusion.** Combined use of hormones, growth factors, and antioxidants can substantially enhance IVM efficiency. These findings may be extrapolated to human protocol development.

KEYWORDS: *in vitro* oocyte maturation, IVM, growth factors, mouse, cumulus-oocyte complex, metaphase II, reproductive technologies

ВВЕДЕНИЕ

Созревание ооцитов — сложный гормонозависимый многостадийный процесс прохождения ооцитами двух мейотических делений, *in vivo* происходит внутри фолликулов яичников под строгой гормональной регуляцией гипоталамо-гипофизарной системы. Активно ведутся исследования по культивированию незрелых ооцитов и стимуляции их созревания, то есть достижения ими полной зрелости *in vitro* [1]. Культивирование незрелых ооцитов *in vitro* — ключевая методика в репродуктивной биологии, которую применяют для разработки подходов сохранения фертильности, исследований развития и во вспомогательных репродуктивных технологиях (BPT) [2]. Выделяют два основных методических подхода к получению зрелых ооцитов *in vitro*: *in vitro* growth (IVG) и *in vitro*

maturation (IVM). IVM — методика, при которой извлекают ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) из фолликулов на поздних стадиях развития: это могут быть как преантральные, так и антральные фолликулы. Преантральные фолликулы используют только в экспериментах IVM. Основная цель IVM — довести ооциты до метафазы II, чтобы они могли быть оплодотворены. Обычно этот метод применяют в альтернативных протоколах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), поскольку он подразумевает минимальную гормональную стимуляцию и снижает риск гиперстимуляции яичников. IVG — методика, суть которой заключается в извлечении примордиальных фолликулов и обеспечении их роста *in vitro* до стадии антральных фолликулов. Таким образом, IVG служит подготовительным этапом для IVM [3–5].

Методика IVM более отработана и менее трудоемка. Опубликованы результаты множества исследований, выработаны подходы к IVM как для ооцитов человека, так и для ооцитов других млекопитающих. Вид *Mus musculus* широко используют в качестве модельного объекта в исследованиях механизмов IVM благодаря его генетической однородности, короткому репродуктивному циклу и высокой воспроизводимости экспериментальных данных. По теме IVM ооцитов на модели мыши накоплен большой объем данных о влиянии на эффективность методики разных концентраций факторов роста и гормонов, но эти данные фрагментарны и не систематизированы. Анализ и обобщение экспериментальных данных позволят в дальнейшем экстраполировать результаты и на культивирование ооцитов человека.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Систематизировать данные о факторах роста и гормонах, влияющих на IVM ооцитов мыши для выявления оптимальных стратегий улучшения методики. Провести предварительный количественный анализ эффективности факторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен систематический анализ 39 научных публикаций по теме IVM ооцитов на модели мыши, отобранных из баз данных PubMed, Scopus и eLibrary за 2000–2024 гг. Основное внимание уделено влиянию гормонов, факторов роста и антиоксидантов на морфологическую и функциональную зрелость ооцитов. Для оценки эффективности ключевых модуляторов выполнен предварительный количественный анализ с расчетом отношения шансов (OR) и 95% доверительного интервала (ДИ).

ТИПЫ КЛАССИФИКАЦИЙ ФОЛЛИКУЛОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Наиболее широко используют классификации по Торбену Педерсену (Torben Pedersen) и Тихиро Эмори (Chihiro Emori) [6–8]. Классификация Т. Эмори основана на морфологических критериях, в соответствии с которыми выделяют следующие стадии развития: примордиальные (ооцит, окруженный одним слоем плоских гранулезных клеток), первичные (один слой кубических гранулезных клеток), вторичные, преантральные

ные (многослойная гранулеза без антрума), третичные, антральные (с формированием антрума), и граафов пузырьки (преовуляторный фолликул, готовый к овуляции). Эта классификация наиболее признана и широко применяется как в исследованиях на млекопитающих, так и при работе с человеческими фолликулами [6, 7].

В отличие от нее, классификация Т. Педерсена (1968) основана на размерах ооцита и числе гранулезных клеток [8]. Согласно этой классификации выделяют малые фолликулы (типы 1–3а; до 60 клеток), средние (типы 3б–4; 61–400 клеток) и крупные (типы 5а–8; от 401 до более 600 клеток), причем наличие антрума характерно только для крупных фолликулов [8].

Обе классификации позволяют выделить ключевой переход в фолликулогенезе: до антральной стадии развитие происходит преимущественно под влиянием паракринных сигналов ооцита, например, фактора дифференцировки роста 9 (growth differentiation factor 9, GDF9), костного морфогенетического белка 15 (bone morphogenetic protein 15, BMP15), — это гормонезависимая фаза; начиная с антрального фолликула процесс становится зависимым от гонадотропинов — фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), который индуцирует рост фолликула, и лютеинизирующего гормона (ЛГ), который запускает овуляцию и трансформацию фолликула в желтое тело [6, 7].

КРИТЕРИИ ЗРЕЛОСТИ ООЦИТА

При культивировании IVM зрелость ооцита определяется его переходом на стадию метафазы II. На основе изученных работ мы выделили основные параметры, характеризующие зрелость ооцита. Данные характеристики оценивают с помощью разных методов, таких как метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH), секвенирование и иммуногистохимические методы.

Ядерная зрелость ооцита определяется диаметром и расположением ядра, организацией хроматина [9]. Для зрелого ооцита характерны большие размеры, смещение ядра с периферии в центр, переход организации хроматина от NSN (non-surrounded nucleolus, не окружающий ядрышко) к SN (surrounded nucleolus, окружающий ядрышко) типу. Типы организации хроматина NSN и SN отличаются степенью конденсирования хроматина.

В ядрах ооцитов типа NSN хроматин менее конденсирован и располагается диффузно, в ядрах ооцитов хроматин типа SN сильно конденсирован и образует нитевидные скопления, которые располагаются по периферии и окольцовывают ядрышко — ring of Hoechst-positive chromatin [10–12]. Следовательно, в ядрах с типом хроматина NSN активно идут процессы транскрипции и синтеза РНК (рибонуклеиновая кислота), в то время как в ядрах с хроматином типа SN транскрипция практически не происходит.

Цитоплазматическая зрелость ооцита определяется накоплением поли(А)-РНК и белков. Поли(А)-РНК — продукт посттрансляционных модификаций в ооците, управляющий транскриптонами, необходимыми для РНК-белковых и белок-белковых каскадных взаимодействий, обеспечивающих цитоплазматическое созревание ооцита. Также при достижении ооцитом цитоплазматической зрелости снижается уровень циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в цитоплазме. Помимо этого, изменяется положение цитоскелета в клетке, а именно смещение его микрофиламентов к периферии клетки [9, 13, 14].

Геномная зрелость определяется подавлением активности генов FOXO3 (forkheadbox O-3) и mTOR (mammalian target of rapamycin). Комбинация активных генов FOXO3 и mTOR (ген серин треониновой киназы) — это супрессор мейоза, основной геномный фактор, определяющий покой фолликула/ооцита. Когда в яичниках мыши запускается сигнальный путь Kit–PI3K–PTEN–AKT (Kit — рецептор; PI3K — фосфатидилинозитол-3-киназа; PTEN — белок; AKT — протеинкиназа В), активная AKT мигрирует в ядро ооцита и подавляет экспрессию гена FOXO3, которая приводит к подавлению экспрессии гена mTOR [5–17].

Выделяют ряд параметров, позволяющих определить зрелость фолликулов и ооцитов. Готовность фолликула к овуляции зависит от его размера и строения. Зрелость ооцита складывается из трех параметров: ядерной, цитоплазматической и геномной зрелости. Для того чтобы ооцит можно было отнести к зрелым, все эти три параметра должны достигаться синхронно.

ЗНАЧЕНИЕ МИКРООКРУЖЕНИЯ ООЦИТА

Рост гранулезных клеток (кумулюса) — один из ключевых факторов, обеспечивающих

созревание ооцита за счет взаимодействия Kit/KitL. На поверхности цитоплазматической мембраны ооцита имеются рецепторы Kit, активируемые лигандом — KitL. Белковые молекулы KitL экспрессируются в клетках гранулезы и оказывают паракринное действие на рецепторы ооцита, запуская каскад киназных реакций фосфорилирования. В ооците активируются сигнальные пути митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase, MAPK), протеинкиназ В и АКТ (PKB/AKT) и фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), что обеспечивает ФСГ-независимые рост и созревание ооцита. Однако для созревания ооцита все-таки необходим баланс — правильное соотношение концентрации ФСГ и активности пути Kit/KitL [15, 17, 18].

TZP (TransZonal Projections) — это тонкие трансзональные цитоплазматические выросты клеток гранулезы, проходящие через zona pellucida и образующие адгезивные (из белков Е-кадгерина в ооците и N-кадгерина в клетках кумулюса) и щелевые (из белка коннексина-37 в обоих типах клеток) контакты на поверхности ооцита. Через эти контакты могут передаваться молекулы матричной РНК; продукты экспрессии генов клеток гранулезы, отсутствующие в ооците; пируват, необходимый для синтеза АТФ ооцитом, и другие сигнальные молекулы, необходимые для созревания ооцита. Ооциты, выделенные из окружения кумулюса, не способны поглощать некоторые аминокислоты, в том числе незаменимые — аланин, глицин и пролин, из внешней среды. Нарушение взаимодействия TZP останавливает переход ооцита к заключительным стадиям роста и развития, наблюдается асинхронизация цитоплазматической и ядерной зрелости [15, 19, 20].

СТРАТЕГИИ ОПТИМИЗАЦИИ МЕТОДИКИ IVF

Несмотря на то что IVF является прогрессивной техникой, демонстрирующей положительные результаты во время лабораторных исследований, на данный момент ведется разработка различных способов ее оптимизации.

Методы оптимизации IVF можно классифицировать в зависимости от действующего фактора.

Гормональные воздействия предполагают применение различных биологически активных веществ и их комбинаций. Часто используют ЛГ, индуцирующий каскад реакций и способствующий возобновлению мейоза;

ФСГ, стимулирующий рост кумулюсных клеток; агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона (агонисты ГнРГ), предотвращающие спонтанную овуляцию после контролируемой гиперстимуляции, и PMSG (pregnant mare's serum gonadotropin, сывороточный гонадотропин беременной кобылы), увеличивающий количество преовуляторных фолликулов и повышающий компетентность ооцитов GV во время IVM [16, 21–23].

Биохимические модификации включают изменение состава культуральной среды, добавление антиоксидантов, энергетических субстратов. Добавление к культуральной среде факторов роста может способствовать улучшению результатов IVM. Например, использование эпидермального фактора роста (epidermal growth factor, EGF) индуцирует рост клеток кумулюса и способствует прохождению эмбрионом ранних стадий развития. Особой группой факторов роста считаются нейтрофины — водорастворимые факторы роста, способные воздействовать на ранние стадии фолликулогенеза и зрелость ооцитов. Например, нейтрофин-4 (NT-4) может благоприятно влиять на технику IVM, способствуя цитоплазматической и ядерной зрелости ооцитов *in vitro* за счет взаимодействия с сигнальным путем EGFR — рецептора фактора роста [15, 18, 24], усиливать фармакокинетическое действие некоторых препаратов, например, таких как метаформин, аторвастатин, мелатонин, оказывающих антиоксидантный эффект. Избыточное образование активных форм кислорода в клетке приводит к нарушению целостности биологических мембран и структуры нуклеиновых кислот. Препараты активируют работу каталаз и антиоксидантных ферментов, а также могут утилизировать свободные радикалы и образующиеся в ходе химических реакций токсичные метаболиты [25–27].

Технология сокультивирования. Использование глиальных клеток в технологии IVM — новое направление, еще не получившее широкого распространения. Точные механизмы влияния глиальных клеток на фертильность еще не установлены, однако есть предположения о возможности передачи информации и сигнальных молекул клетками глии нейроэндокринным клеткам, вырабатывающим либерины [18, 24].

Физические факторы: температура, pH, газовый состав, механическая стимуляция [9].

В настоящее время разрабатываются разные подходы к оптимизации IVM. Особый

интерес представляет комбинированный подход — двухфазная система IVG/IVM, позволяющая моделировать полный цикл фолликулогенеза *in vitro*.

МЕХАНИЗМЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ РОСТА НА ООЦИТ

Лейкемия-ингибирующий фактор

LIF (leukemia inhibitory factor) — это плейотропный цитокин с широким спектром действия, его функциональные рецепторы располагаются во многих органах и системах нашего организма, в том числе на поверхности ооцитов. Цепи и субъединицы этого фактора роста связаны с тирозинкиназами семейства янус-киназ (Janus kinase, JAK), которые в обычных условиях находятся в неактивном состоянии, но быстро активируются при воздействии фактора LIF на собственный рецептор. При этом одна из тирозинкиназ становится индуктором каскада реакций фосфорилирования тирозина, который активирует сигнальные пути, способствующие дифференцировке, выживанию, самообновлению и адгезии клеток бластоцисты. Находясь в фазе гормонозависимого роста, во время повышения уровня ЛГ (и хорионического гонадотропина человека) ооцит начинает выделять спектр факторов роста (например, insulin-like growth factor I, IGF-I, инсулиноподобный фактор роста I) и сигнальных молекул, влияющих на клетки гранулезы. Таким образом ооцит индуцирует эти клетки к синтезу матричной РНК LIF. Посредством TZP происходит транспорт накопленных молекул в цитоплазму ооцита, где начинается экспрессия рецептора фактора роста, синтез собственно самого фактора роста и активация сигнальных путей [28, 29].

Эпидермальный фактор роста и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

EGF — цитокин, стимулирующий клеточный рост, дифференцировку эпителиоцитов и ангиогенез зародыша. GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) — индуктор пролиферации клеток кумулюса. Механизм действия этих факторов аналогичен цитокину LIF. Всплеск гормонов индуцирует синтез EGF кумулюсными клетками и GM-CSF клетками теки во время овуляции. Факторы оказывают паракринное влияние на ооцит, связываясь с рецептором и стимулируя активность внутриклеточных тирозинкиназ, запускающих

биохимические изменения в ооците. EGF также способен регулировать воздействие BMP15, блокируя рецепторы к этому цитокину, а GM-CSF может увеличивать поглощение глюкозы кумулюсными клетками, повышая интенсивность метаболических процессов [16, 30, 31].

Костный морфогенетический белок 15 и фактор дифференцировки роста 9

BMP15 и GDF9 — это цитокины, относящиеся к семейству трансформирующего ростового фактора- β (transforming growth factor- β , TGF- β). Данные факторы роста играют важную роль на всех этапах фолликулогенеза и положительно влияют на качество ооцитов и эмбрионов. Уже со стадии первичного фолликула у мышей GDF9 и BMP15 экспрессируются в ооцитах и значительно воздействует на ооцит в период гормонезависимого роста. GDF9 контролирует не только экспрессию генов, способствующих расширению клеток кумулюса, но и одновременно с этим координирует экспрессию гена *GREM1* — антагониста BMP15. Избыток белка, продукта экспрессии гена антагониста, ведет к ингибированию BMP15, отвечающего за построение тканей. Однако, если действие всех генов и факторов строго координировано, рост будет находиться под контролем его синергиста — фактора GDF9 [32, 33].

Инсулиноподобные факторы роста I и II

Высокая концентрация фактора GDF9 может быть также индикатором экспрессии данных ростовых факторов в гранулезных клетках и клетках теки. IGF-I и IGF-II, подобно GDF9, становятся триггером пролиферации клеток гранулезы и экспрессии рецептора ФСГ, что повышает чувствительность клеток к данному гонадотропину. Взаимодействие IGF с рецепторами инициирует каскад реакций фосфорилирования внутриклеточных белков и липидных элементов, что вновь приводит к активации различных сигнальных путей внутри ооцита [34, 35].

ОБЩАЯ СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТОВ

В проанализированных работах прослеживается единый принцип подготовки и проведения экспериментов. В качестве экспериментальных животных использовали мышей различных пород и возрастов. За 24–48 ч до овариэктомии самкам внутрибрюшинно вводили PMSG, стимулирующий фолликулогенез

и овуляцию. После овариэктомии проводили пункцию фолликулов с помощью микроигл, после чего извлекали ооциты или ОКК. Затем ОКК помещали в специализированные питательные среды для культивирования *in vitro*. Наиболее часто в качестве базовой среды применяли α -MEM (Minimum Essential Medium Eagle, alpha modification, альфа-модификация минимальной питательной среды Игла), содержащую 13 аминокислот, 6 водорастворимых витаминов, холин, инозит, а также в отдельных случаях липоевую кислоту и нуклеозиды [32]. Использовали и другие среды: TCM199 (для IGF-I), стандартную среду (для BMP15), Waymouth MB 752/1, а также коммерческие составы LAG и NON-LAG (для EGF) с вариациями концентраций компонентов [33, 34].

Подбор контрольной группы зависел от дизайна исследования: в одних работах контролем служили незрелые ооциты, культивируемые без добавления исследуемых факторов (ФСГ + глутатион, LIF, BMP15, GM-CSF) [32, 36, 37], в других — ооциты, созревавшие *in vivo* [28], в третьих — клеточная линия HEK293, выращенная в стандартной среде (для GDF9) [33]. В ряде случаев контрольная группа отсутствовала и сравнение проводили между различными экспериментальными группами (например, при тестировании коммерческих сред для IGF-I) [34, 38]. Наиболее технически сложным было исследование, посвященное влиянию IGF-II на созревание ооцитов [35].

По завершении ооциты IVМ оценивали по степени зрелости, морфологическому качеству и отсутствию цитоплазматических или ядерных дефектов. В большинстве протоколов оплодотворение проводили не позднее чем через 5 ч после достижения метафазы II. Зрелые ооциты помещали в чашку Петри, добавляли сперматозоиды донора и отслеживали эмбриональное развитие. Эффективность IVМ определяли по частоте оплодотворения, числу полученных blastocysts и их качеству — на основании количества клеток и целостности плазматических мембран.

СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГОРМОНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА НА ООЦИТЫ IVМ МЫШИ

По проанализированным литературным данным нами была составлена табл. 1. Результат анализа литературы позволяет системати-

Таблица 1

Влияние гормонов, факторов роста и антиоксидантов на эффективность IVM ооцитов у мыши

Table 1

Effects of hormones, growth factors, and antioxidants on the efficacy of *in vitro* oocyte maturation in mice

Фактор / Их сочетание / Factor / Their combination	Влияние / Influence
ФСГ / FSH [28, 36]	• Стимулирует достижение ядерной зрелости ооцитом / Stimulates the achievement of nuclear maturity by the oocyte; • инициирует созревание ОКК / initiates the maturation of OCCs
ФСГ + глутатион / FSH + glutathione [36]	• Способствует росту ОКК / Promotes the growth of OCC
LIF [28, 29]	• Способствует росту ОКК / Promotes the growth of OCC; • коронарная болезнь развивается больше в сравнении с ФСГ / coronary artery disease grows more in comparison with FSH
ФСГ + LIF / FSH + LIF [28]	• Увеличивает количество зародышей на стадии двух бластомеров / Increases the number of embryos at the two-blastomere stage
BMP15 [32]	• Стимулирует переход ооцита к МП / Stimulates the transition of the oocyte to MP; • стимулирует рост преантральных фолликулов и их превращение в антральные фолликулы / stimulates the transition of the oocyte to MP; • стимулирует рост клеток гранулезы и теки / stimulates the growth of granulosa and theca cells
GDF9 [15, 16, 33]	• Сохраняет целостность кумулюса (в его отсутствие кумулюс разрушается) / Maintains the integrity of the cumulus (in its absence, the cumulus is destroyed)
GDF9 + ФСГ + EGF / GDF9 + FSH + EGF [29, 30, 33]	• Способствует росту кумулюсных клеток / Promotes the growth of cumulus cells; • улучшает качество бластоцисты: способствует увеличению размеров эмбриобласта и трофобласта / improves blastocyst quality: promotes an increase in the size of the embryoblast and trophoblast
IGF-I [34]	• Увеличивает количество зародышей на стадии двух бластомеров / Increases the number of embryos at the two-blastomere stage; • увеличивает частоту образования бластоцист / increases the frequency of blastocyst formation; • улучшает показатели дальнейшего оплодотворения / improves further fertilization rates
IGF-II [35]	• Увеличивает частоту образования бластоцист / Increases the frequency of blastocyst formation; • улучшает качество бластоцист / improves blastocyst quality; • снижает индекс АФК (показатель, характеризующий количество активных форм кислорода в клетке) / reduces the ROS index (an indicator characterizing the amount of active oxygen forms in the cell); • уменьшает частоту дефектов веретена деления и хромосом / reduces the incidence of spindle and chromosome defects; • повышает функциональную активность митохондрий / increases the functional activity of mitochondria
GM-CSF [37]	• Не влияет на созревание ооцитов / Does not affect oocyte maturation; • увеличивает частоту образования бластоцист / increases the frequency of blastocyst formation; • улучшает качество бластоцист (способствует увеличению размеров эмбриобласта и трофобласта) / improves the quality of blastocysts (promotes an increase in the size of the embryoblast and trophoblast); • увеличивает частоту имплантации и количество зародышей / increases the frequency of implantation and the number of embryos
Глутатион / Glutathione [36]	• Способствует устранению АФК в ооците / Increases the frequency of implantation and the number of embryos

Окончание табл. 1 / Ending of the table 1

Фактор / Их сочетание / Factor / Their combination	Влияние / Influence
Аторвастатин (важна дозировка) / Atorvastatin (dosage is important) [26]	• Увеличивает экспрессию генов GDF9 + BMP15 в ооците / Increases the expression of GDF9 + BMP15 genes in oocytes; • опосредованно улучшает результат IVM / indirectly improves the outcome of IVM

Примечание: ОКК — ооцит-кумулусный комплекс; ФСГ — фолликулостимулирующий гормон; АФК — активные формы кислорода; IVM — *in vitro* maturation (созревание вне организма); МП — метафаза II; LIF — лейкемия-ингибирующий фактор; GDF9 — фактор дифференцировки роста 9; EGF — эпидермальный фактор роста; IGF-II — инсулиноподобный фактор роста II; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.

Notes: OCC — oocyte-cumulus complex; FSH — follicle-stimulating hormone; ROS — reactive oxygen species; IVM — *in vitro* maturation (maturation outside the body); MII — metaphase II; LIF — leukemia inhibitory factor; GDF9 — growth differentiation factor 9; EGF — epidermal growth factor; IGF-II — insulin-like growth factor II; GM-CSF — granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Таблица 2

Количественные данные и результаты расчета по влиянию факторов роста и антиоксидантов на эффективность IVM у мышей

Table 2

Quantitative data and calculated effects of growth factors and antioxidants on the efficacy of IVM in mice

Фактор / Factor	Ссылка / Link	Эффект / Effect	Контроль / Control	+	Эксперимент / Experiment	+	OR, 95% ДИ / OR, 95% CI
GM-CSF	[37]	Бластоцисты / Blastocysts	112	78	108	92	2,52 (1,42–4,47)
IGF-II	[35]	Бластоцисты / Blastocysts	132	58	128	89	2,88 (1,84–4,51)
LIF	[28]	Двухклеточные эмбрионы / Two-cell embryos	100	61	100	83	3,07 (1,63–5,78)
IGF-I	[34]	Бластоцисты / Blastocysts	120	54	120	78	2,83 (1,73–4,63)
Глутатион + ФСГ / Glutathione + FSH	[36]	Переход в МП / Transition to MII	100	70	100	85	2,25 (1,19–4,26)

Примечание: ФСГ — фолликулостимулирующий гормон; МП — метафаза II; LIF — лейкемия-ингибирующий фактор; EGF — эпидермальный фактор роста; IGF-I — инсулиноподобный фактор роста I; IGF-II — инсулиноподобный фактор роста II; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.

Notes: FSH — follicle-stimulating hormone; MII — metaphase II; LIF — leukemia inhibitory factor; EGF — epidermal growth factor; IGF-I — insulin-like growth factor I; IGF-II — insulin-like growth factor II; GM-CSF — granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

зировать действие изученных факторов по основным этапам созревания ооцитов и последующего эмбриогенеза. Рост ОКК стимулируют следующие агенты: комбинация ФСГ с глутатионом, LIF, а также совместное применение GDF9, ФСГ и EGF [28, 33, 36]. Переход ооцита в метафазу II достоверно ускоряется под действием BMP15 [32]. На стадии дробления положительное влияние — в виде увеличения числа эмбрионов на стадии двух бластомеров — оказывают комбинация ФСГ + LIF и IGF-I [34].

Качество бластоцисты (по критериям количества клеток и целостности морфологических структур) улучшают GDF9 + ФСГ + EGF, IGF-II и GM-CSF [35, 37]. Общее количество сформированных бластоцист увеличивается при добавлении в культуральную среду IGF-I, IGF-II или GM-CSF. В качестве антиоксидантной защиты, направленной на снижение уровня активных форм кислорода и улучшение условий созревания, в среду могут быть включены глутатион или низкие дозы аторвастатина.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Несмотря на то что большинство исследований по IVM ооцитов мыши носят качественный характер, ряд работ предоставляет количественные данные, позволяющие провести предварительный синтез. На основе анализа пяти ключевых факторов — GM-CSF, IGF-II, LIF, IGF-I и глутатиона — были извлечены точные показатели эффективности IVM: частота достижения ооцитами метафазы II (МП), доля двухклеточных эмбрионов и выхода бластоцист — из пяти независимых исследований, опубликованных в открытом доступе (табл. 2) [28, 34–37].

Для количественной оценки эффекта каждого фактора был использован показатель OR с 95% ДИ. Этот подход является стандартным в количественном анализе бинарных исходов (например, бластоциста образовалась / не образовалась), поскольку позволяет сравнивать результаты между исследованиями с разными объемами выборок и протоколами. OR >1 указывает на положительный эффект добавления фактора, а если 95% ДИ не включает значение 1, эффект считается статистически значимым. OR, 95% ДИ рассчитывали с использованием программного обеспечения RevMan.

Объединенный анализ по модели фиксированных эффектов показал: обобщенный OR=2,9, 95% ДИ (1,99; 3,37). Такие результаты означают, что добавление любого из этих факторов в культуральную среду в среднем увеличивает шансы на успешное завершение IVM с последующим развитием эмбрионов до стадии бластоцисты почти в три раза по сравнению с контролем. Хотя полученные результаты демонстрируют статистически значимый эффект, объем выборки недостаточен для проведения полноценного количественного анализа с высокой доказательной силой. Тем не менее полученные результаты подтверждают перспективность дальнейших исследований.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно аналитическому обзору эффективность ооцитов IVM мышей зависит от сложного взаимодействия гормональной регуляции, паракринных сигналов ооцита и среды культивирования. Наиболее значимыми факторами, повышающими как частоту достижения метафазы II, так и качество последующих эмбрионов, оказались комбинации факторов роста и гормонов, такие как GDF9 + ФСГ + EGF

или IGF-I/II + GM-CSF, а также антиоксидантные добавки: глутатион и аторвастатин (в низких дозах).

Особое внимание заслуживает роль паракринной коммуникации между ооцитом и клетками кумулюса через TZP. Нарушение этой связи, как показано в ряде работ, приводит к асинхронизации ядерной и цитоплазматической зрелости. Это подтверждает необходимость сохранения целостности ОКК при проведении IVM, а также обосновывает использование факторов, поддерживающих экспрессию адгезивных и щелевых белков, таких как коннексин-37 и кадгерина.

Некоторые факторы, не влияющие напрямую на созревание ооцита (GM-CSF), все же значительно улучшают последующее эмбриональное развитие, что указывает на их действие на ранние этапы эпигенетической дифференцировки. Это согласуется с современными представлениями о том, что цитоплазматическая зрелость, включающая накопление материнских матричных РНК и белков, играет решающую роль в формировании полноценного эмбриона.

Следует отметить, что большинство исследований используют предварительную гормональную стимуляцию *in vivo* (pregnant mare serum gonadotrophin, PMSG), что ограничивает применимость протоколов IVM в клинической практике, где важна возможность работы с незрелыми фолликулами без стимуляции. В этом контексте особенно перспективны данные по BMP15 и GDF9, которые способны запускать рост преантральных фолликулов *in vitro*, потенциально расширяя возможности применения IVM у пациенток с онкологическими заболеваниями или преждевременной недостаточностью яичников.

Несмотря на высокую воспроизводимость данных на модели мыши, необходимо с осторожностью подходить к экстраполяции результатов на человека. Тем не менее благодаря консервативности сигнальных путей Kit/P13K/AKT, MAPK, TGF- β и сходству механизмов фолликулогенеза у млекопитающих мышь можно рассматривать как валидную модель для разработки и оптимизации протоколов IVM.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ 39 научных публикаций позволил систематизировать данные о ключевых факторах, влияющих на эффективность ооцитов

IVM у мышей. Наибольший эффект достигается при комбинированном применении гормонов (ФСГ, ЛГ), факторов роста (EGF, GDF9, BMP15, IGF-I/II, GM-CSF) и антиоксидантов (глутатион, аторвастатин). Такой подход обеспечивает синхронизацию ядерной и цитоплазматической зрелости, снижает окислительный стресс и повышает качество получаемых эмбрионов.

Предварительный количественный анализ показал, что добавление любого из указанных факторов увеличивает шансы на успешное завершение IVM и развитие до стадии бластоцисты почти в три раза. Эти данные подтверждают целесообразность дальнейших исследований, направленных на стандартизацию двухфазных систем IVG/IVM и разработку минимально инвазивных протоколов, пригодных для клинического применения.

Таким образом, оптимизация IVM представляет собой перспективное направление в репродуктивной медицине, способное повысить эффективность вспомогательных репродуктивных технологий и расширить подходы к сохранению фертильности.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в концепцию обзора, поиск и анализ литературы, написание и редактирование текста, а также одобрили окончательную версию рукописи к публикации.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие как явных, так и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования СПбГПМУ.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the review, literature search and analysis, drafting and revising the manuscript, and approved the final version for publication.

Competing interests. The authors declare no actual or potential conflicts of interest related to this publication.

Funding. This work was carried out within the framework of budgetary funding provided by the Saint Petersburg State Pediatric Medical University.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шабалов Н.П., Цвелев Ю.В., Кира Е.Ф. Основы перинатологии. Под ред. Н.П. Шабанова, Ю.В. Цвелева. М.: МЕДпресс-информ; 2002. EDN: VXHJOZ.
2. Дробинцева А.О., Фролов В.К., Боголюбова И.О., Савельева О.Е., Кулева С.А. Созревание ооцитов *in vitro*: биологические основы и перспективы клинического использования. Цитология. 2025;67(2):65–79. <https://doi.org/10.31857/S0041377125020015>.
3. Доброхотова Ю.Е., Лапина И.А., Малахова А.А., Сорокин Я.А., Чирвон Т.Г. *In vitro* maturation for fertility preservation in patients with cancer: A review. Гинекология. 2023;25(3):186–192. <https://doi.org/10.26442/20795696.2023>.
4. Элленбоген А., Шалом-Пац Е., Аншина М.Б., Смирнова А.А. Дозревание ооцитов *in vitro*. Показания, техника и результаты. Проблемы репродукции. 2015;21(5):32–40.
5. Telfer E.E., Andersen C.Y. *In vitro* growth and maturation of primordial follicles and immature oocytes. Fertil Steril. 2021;115(5):1116–1125. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.03.004>.
6. Edson M.A., Nagaraja A.K., Matzuk M.M. The Mamalian Ovary from Genesis to Revelation. Endocr Rev. 2009;30(6):624–712. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0041>.
7. Monniaux D., editor. Folliculogenesis. Cham: Springer; 2018. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-75969-3>.
8. Pedersen T., Peters H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. J Reprod Fertil. 1968;17(3):555–557. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0170555>.
9. Jiang Y., Adhikari D., Li C., Zhou X. Spatiotemporal regulation of maternal mRNAs during vertebrate oocyte meiotic maturation. Biol Rev Camb Philos Soc. 2023;98(3):900–930. <https://doi.org/10.1111/brv.12928>.
10. Ma J.Y., Li M., Luo Y.B. et al. Maternal factors required for oocyte developmental competence in mice. Transcriptome analysis of non-surrounded nucleolus (NSN) and surrounded nucleolus (SN) oocytes. Cell Cycle. 2013;12(12):1928–1938. <https://doi.org/10.4161/cc.24733>.
11. Shishova K.V., Lavrentyeva E.A., Khamidullina A.I., Zatssepina O.V. Position of the nucleus in mouse germinal vesicle-stage oocytes with different chromatin configurations. Ontogenez. 2016;47(5):331–338. <https://doi.org/10.1134/S009545271605008X>.
12. Zuccotti M., Ponce R.H., Boiani M., Guizzardi S., Govoni P. et al. The analysis of chromatin organisation allows selection of mouse antral oocytes competent for development to blastocyst. Zygote. 2002;10(1):73–78. <https://doi.org/10.1017/s0967199402001098>.
13. Fox C.A., Sheets M.D., Wahle E., Wickens M. Polyadenylation of maternal mRNA during oocyte matu-

- ration: poly(A) addition in vitro requires a regulated RNA binding activity and a poly(A) polymerase. *EMBO J.* 1992;11(13):5021–5032. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992.tb05607.x>.
14. Reyes J.M., Ross P.J. Cytoplasmic polyadenylation in mammalian oocyte maturation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA.* 2016;7(1):71–89. <https://doi.org/10.1002/wrna.1317>.
15. Блашкв Т.В., Шепель А.А., Вознесенская Т.Ю. Экспрессия генов клетками кумулюсного окружения ооцита в период овуляции и оплодотворения (обзор литературы). *Проблемы репродукции.* 2014;20(1):55–58.
16. Strączyńska P., Papis K., Morawiec E., Czerwiński M., Gajewski Z. et al. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):158. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01054-1>.
17. Thomas F.H., Vanderhyden B.C. Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006;4:19. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-19>.
18. Петров И.А., Дмитриева М.Л., Тихоновская О.А., Петрова М.С., Логвинов С.В. Тканевые и молекулярные основы фолликулогенеза. Механизмы раннего фолликулярного роста. *Проблемы репродукции.* 2017;23(6):33–41.
19. Clarke H.J. Transzonal projections: Essential structures mediating intercellular communication in the mammalian ovarian follicle. *Mol Reprod Dev.* 2022;89(9):509–525. <https://doi.org/10.1002/mrd.23597>.
20. Orisaka M., Tajima K., Tsang B.K., Kotsuji F. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. *J Ovarian Res.* 2009;2(1):9. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-2-9>.
21. Gurbuz A.S., Gode F., Uzman M.S. et al. GnRH agonist triggering affects the kinetics of embryo development: a comparative study. *J Ovarian Res.* 2016;9(1):42. <https://doi.org/10.1186/s13048-016-0253-0>.
22. Chen L., Russell P.T., Larsen W.J. Sequential effects of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone on mouse cumulus expansion in vitro. *Biol Reprod.* 1994;51(2):290–295. <https://doi.org/10.1095/biolreprod51.2.290>.
23. Son Y.B., Jeong Y.I., Hossein M.S., Yu X., Olsson P.O. et al. Influence of PMSG on Super stimulation and Embryo Development Following Somatic Cell Nuclear Transfer in Holstein Cows in the United Arab Emirates. *Frontiers in Veterinary Science.* 2022;9:895325. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.895325>.
24. Desroziers E. Unusual suspects: Glial cells in fertility regulation and their suspected role in polycystic ovary syndrome. *J Neuroendocrinology.* 2022;34(7):e13136. <https://doi.org/10.1111/jne.13136>.
25. Mesbah F., Zare Shahneh F., Vojdani Z., Mirkhani H. Does metformin improve in vitro maturation and ultrastructure of oocytes retrieved from estradiol valerate polycystic ovary syndrome-induced rats. *J Ovarian Res.* 2015;8(1):45. <https://doi.org/10.1186/s13048-015-0172-3>.
26. Sadeghi M., Chegini R., Khafaei M., Sabbagh Ziarni F., Zafari F. Association of Atorvastatin with GDF9 and BMP15 Expression and in vitro Maturation of Mouse Oocytes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2023;19(3):188–193.
27. Tamura H., Nakamura Y., Korkmaz A. et al. The role of melatonin as an antioxidant in the follicle. *J Ovarian Res.* 2012;5(1):5. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-5-5>.
28. De Matos D.G., Cervera R.P., Sirard M.A. Leukemia inhibitory factor induces cumulus expansion in immature human and mouse oocytes and improves mouse two-cell rate and delivery rates when it is present during mouse in vitro oocyte maturation. *Fertil Steril.* 2008;90(6):2367–2375. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.10.020>.
29. Zhao T., Pan Y., Li Q., Ding T., Niayale R. et al. Leukemia inhibitory factor enhances the development and subsequent blastocysts quality of yak oocytes in vitro. *Frontiers in Veterinary Science.* 2022;9:885325. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.885325>.
30. Budna J., Rybska M., Ciesiółka S. et al. Expression of genes associated with BMP signaling pathway in porcine oocytes before and after IVM — a microarray approach. *Reprod Biol Endocrinol.* 2017;15(1):43. <https://doi.org/10.1186/s12958-017-0259-8>.
31. Dimitrakakis C., Zhou J., Bondy C.A. Androgens and mammary growth and neoplasia. *Fertil Steril.* 2002;77(2 Suppl 2):S26–S33. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(01\)02965-1](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)02965-1).
32. Shekarian A., Sharifi Z.N., Nazarnejad M.M., Saeinia A., Abdi Sh. In Vitro Culture of Mouse Preantral Follicle in Supplemented Medium with Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15). *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):112. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00671-0>.
33. Yeo C.X., Gilchrist R.B., Thompson J.G., Lane M. Exogenous growth differentiation factor 9 in oocyte maturation media enhances subsequent embryo development and fetal viability in mice. *Hum Reprod.* 2008;23(1):67–73. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem318>.
34. Akbartabar Toori M., Mosavi E., Sadeghi M., Chegini R. et al. Influence of Insulin-Like Growth Factor-I on Maturation and Fertilization Rate of Immature Oocyte and Embryo Development in NMRI Mouse with TCM199 and α -MEM Medium. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(12):CC05–CC12. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/10330.5275>.
35. Wan Y., Muhammad T., Huang T., Lv Y., Sha Q. et al. IGF2 reduces meiotic defects in oocytes from obese mice and improves embryonic developmental competency. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):159. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01055-0>.

36. Silvia R., Catt S., Pangestu M. The Effects of FSH and Glutathione Supplementation to the in Vitro Maturation Media on Mouse Oocyte Maturation. In: Proceedings of the 1st EAI International Conference on Medical and Health Research. 2019. <https://doi.org/10.4108/eai.13-7-2019.2286875>.
37. Iyer N. Comparison of two commercial in-vitro maturation culture systems with standard IVM media: what works best for mouse oocytes. *MOJ Anatomy & Physiology*. 2016;2(4):61–67.
38. Saini A., McPherson N.O., Nottle M. Addition of GM-CSF during in vitro oocyte maturation improves embryo development and implantation and birth rate in mice. *Reprod Fertil*. 2024;70(4):411–417. <https://doi.org/10.1262/jrd.2023-120>.
39. Kim M., Hwang S.U., Yoon J.D. et al. Supplementation During in vitro Maturation of Porcine Cumulus-Oocyte Complexes and Subsequent Embryonic Development After Parthenogenetic Activation. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021;8:779298. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.779298>.
40. Ptak G., Matsukawa K., Palmieri C. et al. Developmental and functional evidence of nuclear immaturity in prepubertal oocytes. *Hum Reprod*. 2006;21(9):2228–2237. <https://doi.org/10.1093/humrep/del178>.
41. Yan F., Zhao Q., Li Y., Zheng Z. et al. The role of oxidative stress in ovarian aging: a review. *J Ovarian Res*. 2022;15(1):118. <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01010-3>.
7. Monniaux D., editor. *Folliculogenesis*. Cham: Springer; 2018. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-75969-3>.
8. Pedersen T., Peters H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J Reprod Fertil*. 1968;17(3):555–557. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0170555>.
9. Jiang Y., Adhikari D., Li C., Zhou X. Spatiotemporal regulation of maternal mRNAs during vertebrate oocyte meiotic maturation. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2023;98(3):900–930. <https://doi.org/10.1111/brv.12928>.
10. Ma J.Y., Li M., Luo Y.B. et al. Maternal factors required for oocyte developmental competence in mice. Transcriptome analysis of non-surrounded nucleolus (NSN) and surrounded nucleolus (SN) oocytes. *Cell Cycle*. 2013;12(12):1928–1938. <https://doi.org/10.4161/cc.24733>.
11. Shishova K.V., Lavrentyeva E.A., Khamidullina A.I., Zatschina O.V. Position of the nucleus in mouse germinal vesicle-stage oocytes with different chromatin configurations. *Ontogenez*. 2016;47(5):331–338. <https://doi.org/10.1134/S009545271605008X>.
12. Zuccotti M., Ponce R.H., Boiani M., Guizzardi S., Govoni P. et al. The analysis of chromatin organisation allows selection of mouse antral oocytes competent for development to blastocyst. *Zygote*. 2002;10(1):73–78. <https://doi.org/10.1017/s0967199402001098>.
13. Fox C.A., Sheets M.D., Wahle E., Wickens M. Polyadenylation of maternal mRNA during oocyte maturation: poly(A) addition in vitro requires a regulated RNA binding activity and a poly(A) polymerase. *EMBO J*. 1992;11(13):5021–5032. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1992.tb05607.x>.
14. Reyes J.M., Ross P.J. Cytoplasmic polyadenylation in mammalian oocyte maturation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*. 2016;7(1):71–89. <https://doi.org/10.1002/wrna.1317>.
15. Blashkiv T.V., Shepel A.A., Voznesenskaya T.Yu. Gene expression by cells of the cumulus environment of the oocyte during ovulation and fertilization (literature review). *Problemy reproduktivnii*. 2014;20(1):55–58. (In Russ.).
16. Strączyńska P., Papis K., Morawiec E., Czerwiński M., Gajewski Z. et al. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes. *Reprod Biol Endocrinol*. 2022;20(1):158. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01054-1>.
17. Thomas F.H., Vanderhyden B.C. Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;4:19. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-19>.
18. Petrov I.A., Dmitrieva M.L., Tikhonovskaya O.A., Petrova M.S., Logvinov S.V. Tissue and molecular bases of folliculogenesis. Mechanisms of early follicular growth. *Problemy reproduktivnii*. 2017;23(6):33–41. (In Russ.).

REFERENCES

1. Shabalov N.P., Tsvelev Yu.V., Kira E.F. *Fundamentals of Perinatology*. Edited by N.P. Shabanov, Yu.V. Tsvelev. MEDpress-inform; 2002. (In Russ.). EDN: VXHJOZ.
2. Drobintseva A.O., Frolov V.K., Bogolyubova I.O., Savelyeva O.E., Kuleva S.A. In vitro oocyte maturation: biological basis and prospects for clinical use. *Tsitologiya*. 2025;67(2):65–79. (In Russ.). <https://doi.org/10.31857/S0041377125020015>.
3. Dobrokhotova Yu.E., Lapina I.A., Malakhova A.A., Sorokin Ya.A., Chirvon T.G. In vitro maturation for fertility preservation in patients with cancer: A review. *Ginekologiya*. 2023;25(3):186–192. (In Russ.). <https://doi.org/10.26442/20795696.2023>.
4. Ellenbogen A., Shalom-Paz E., Anshina M.B., Smirnova A.A. In vitro oocyte maturation. Indications, technique and results. *Problemy reproduktivnii*. 2015;21(5):32–40. (In Russ.).
5. Telfer E.E., Andersen C.Y. In vitro growth and maturation of primordial follicles and immature oocytes. *Fertil Steril*. 2021;115(5):1116–1125. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.03.004>.
6. Edson M.A., Nagaraja A.K., Matzuk M.M. The Mammalian Ovary from Genesis to Revelation. *Endocr Rev*. 2009;30(6):624–712. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0041>.

19. Clarke H.J. Transzonal projections: Essential structures mediating intercellular communication in the mammalian ovarian follicle. *Mol Reprod Dev.* 2022;89(9):509–525. <https://doi.org/10.1002/mrd.23597>.
20. Orisaka M., Tajima K., Tsang B.K., Kotsuji F. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preant-ral follicular development. *J Ovarian Res.* 2009;2(1):9. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-2-9>.
21. Gurbuz A.S., Gode F., Uzman M.S. et al. GnRH agonist triggering affects the kinetics of embryo development: a comparative study. *J Ovarian Res.* 2016;9(1):42. <https://doi.org/10.1186/s13048-016-0253-0>.
22. Chen L., Russell P.T., Larsen W.J. Sequential effects of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone on mouse cumulus expansion in vitro. *Biol Reprod.* 1994;51(2):290–295. <https://doi.org/10.1095/biolreprod51.2.290>.
23. Son Y.B., Jeong Y.I., Hossein M.S., Yu X., Olsson P.O. et al. Influence of PMSG on Super stimulation and Embryo Development Following Somatic Cell Nuclear Transfer in Holstein Cows in the United Arab Emirates. *Frontiers in Veterinary Science.* 2022;9:895325. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.895325>.
24. Desroziers E. Unusual suspects: Glial cells in fertility regulation and their suspected role in polycystic ovary syndrome. *J Neuroendocrinology.* 2022;34(7):e13136. <https://doi.org/10.1111/jne.13136>.
25. Mesbah F., Zare Shahneh F., Vojdani Z., Mirkhani H. Does metformin improve in vitro maturation and ultrastructure of oocytes retrieved from estradiol vale-rate polycystic ovary syndrome-induced rats. *J Ovarian Res.* 2015;8(1):45. <https://doi.org/10.1186/s13048-015-0172-3>.
26. Sadeghi M., Chegini R., Khafaei M., Sabbagh Ziara-ni F., Zafari F. Association of Atorvastatin with GDF9 and BMP15 Expression and in vitro Maturation of Mouse Oocytes. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sci-ences.* 2023;19(3):188–193.
27. Tamura H., Nakamura Y., Korkmaz A. et al. The role of melatonin as an antioxidant in the follicle. *J Ovarian Res.* 2012;5(1):5. <https://doi.org/10.1186/1757-2215-5-5>.
28. De Matos D.G., Cervera R.P., Sirard M.A. Leukemia inhibitory factor induces cumulus expansion in imma-ture human and mouse oocytes and improves mouse two-cell rate and delivery rates when it is present during mouse in vitro oocyte maturation. *Fertil Steril.* 2008;90(6):2367–2375. <https://doi.org/10.1016/j.fertn-ster.2007.10.020>.
29. Zhao T., Pan Y., Li Q., Ding T., Niayale R. et al. Leu-kemia inhibitory factor enhances the development and subsequent blastocysts quality of yak oocytes in vitro. *Frontiers in Veterinary Science.* 2022;9:885325. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.885325>.
30. Budna J., Rybska M., Ciesiółka S. et al. Expression of genes associated with BMP signaling pathway in porcine oocytes before and after IVM — a microar-ray approach. *Reprod Biol Endocrinol.* 2017;15(1):43. <https://doi.org/10.1186/s12958-017-0259-8>.
31. Dimitrakakis C., Zhou J., Bondy C.A. Androgens and mammary growth and neoplasia. *Fertil Steril.* 2002;77(2 Suppl 2):S26–S33. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(01\)02965-1](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)02965-1).
32. Shekarian A., Sharifi Z.N., Nazarnejad M.M., Saeinia A., Abdi Sh. In Vitro Culture of Mouse Preantral Follicle in Supplemented Medium with Bone Morphogenetic Protein 15 (BMP15). *Reprod Biol Endocrinol.* 2020;18(1):112. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00671-0>.
33. Yeo C.X., Gilchrist R.B., Thompson J.G., Lane M. Ex-ogenous growth differentiation factor 9 in oocyte matu-ration media enhances subsequent embryo development and fetal viability in mice. *Hum Reprod.* 2008;23(1):67–73. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem318>.
34. Akbartabar Toori M., Mosavi E., Sadeghi M., Chegini R. et al. Influence of Insulin-Like Growth Factor-I on Matu-ration and Fertilization Rate of Immature Oocyte and Em-bryo Development in NMRI Mouse with TCM199 and α -MEM Medium. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(12):CC05–CC12. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/10330.5275>.
35. Wan Y., Muhammad T., Huang T., Lv Y., Sha Q. et al. IGF2 reduces meiotic defects in oocytes from obese mice and improves embryonic developmental compe-tency. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):159. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-01055-0>.
36. Silvia R., Catt S., Pangestu M. The Effects of FSH and Glutathione Supplementation to the in Vitro Matura-tion Media on Mouse Oocyte Maturation. In: Proceed-ings of the 1st EAI International Conference on Medi-cal and Health Research. 2019. <https://doi.org/10.4108/eai.13-7-2019.2286875>.
37. Iyer N. Comparison of two commercial in-vitro matu-ration culture systems with standard IVM media: what works best for mouse oocytes. *MOJ Anatomy & Phy-siology.* 2016;2(4):61–67.
38. Saini A., McPherson N.O., Nottle M. Addition of GM-CSF during in vitro oocyte maturation improves embryo development and implantation and birth rate in mice. *Reprod Fertil.* 2024;70(4):411–417. <https://doi.org/10.1262/jrd.2023-120>.
39. Kim M., Hwang S.U., Yoon J.D. et al. Supplementation During in vitro Maturation of Porcine Cumulus-Oocyte Complexes and Subsequent Embryonic Development After Parthenogenetic Activation. *Frontiers in Veteri-nary Science.* 2021;8:779298. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.779298>.
40. Ptak G., Matsukawa K., Palmieri C. et al. Developmen-tal and functional evidence of nuclear immaturity in prepubertal oocytes. *Hum Reprod.* 2006;21(9):2228–2237. <https://doi.org/10.1093/humrep/del178>.
41. Yan F., Zhao Q., Li Y., Zheng Z. et al. The role of oxidative stress in ovarian aging: a review. *J Ovarian Res.* 2022;15(1):118. <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01010-3>.