



## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИСКУССТВЕННОЙ АКТИВАЦИИ ООЦИТОВ ИОНОФОРАМИ КАЛЬЦИЯ В ПРОГРАММАХ ВРТ У ПАЦИЕНТОВ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ РЕПРОДУКТИВНЫМ АНАМНЕЗОМ: ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИСХОДЫ

<sup>1</sup>Попова О.О., <sup>1</sup>Шурыгина О.В., <sup>2</sup>Юхимец С.Н., <sup>1</sup>Сараева Н.В., <sup>1</sup>Петрова А.А.,  
<sup>1</sup>Минаева Т.В., <sup>3</sup>Шурыгин С.А.

<sup>1</sup>Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия; <sup>2</sup>Университет Святого Иосифа в Танзании, Дар-эс-Салам, Танзания; <sup>3</sup>Медицинский университет «Реавиз», Самара, Россия, e-mail: o.o.popova@samsmu.ru

### Резюме

**Актуальность.** Компетентность ооцита является определяющим фактором успешного оплодотворения и развития эмбриона. Низкое качество ооцитов может приводить к отсутствию оплодотворения или остановке развития эмбрионов *in vitro*. Для преодоления недостаточной активации ооцитов у пациенток с неудачами оплодотворения и неудовлетворительным качеством эмбрионов в анамнезе предлагается проведение искусственной активации ооцитов с помощью ионофоров кальция (АОА). Анализ эффективности использования данной технологии представляет интерес для специалистов фундаментальной медицины, а также клиник вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

**Цель исследования:** оценить эффективность активации ооцитов ионофором  $\text{Ca}^{2+}$  на эмбриологическом этапе программ ВРТ у пациентов с предыдущими неудачными попытками лечения бесплодия.

**Материалы и методы.** Проведено ретроспективное когортное сравнительное исследование на базе ЗАО «Клинический госпиталь «Мать и дитя»» (Самара) в период с января по декабрь 2024 года. Группа исследования (n=35): циклы с применением АОА ионофором кальция (A23187, Sigma) после ИКСИ по медицинским показаниям (низкий процент оплодотворения в анамнезе). Контрольная группа (n=61): циклы со стандартной процедурой ИКСИ без применения активации. Критерии включения: возраст 18–43 лет, использование спермы партнёра, наличие полных данных о культивировании до 5-х суток. Для подготовки клеток и проведения ИКСИ использовали среды Vitrolife (Sweden). Клетки получали путём трансвагинальной аспирации фолликулов через 36–37 часов после триггера овуляции. После ИКСИ клетки выдерживали в среде с ионофором  $\text{Ca}^{2+}$  (концентрация 10 мМ) 8–10 минут при 6%  $\text{CO}_2$ , 5%  $\text{O}_2$  и температуре +37°C. Для оценки качества эмбрионов использовали балльную систему, основанную на критериях Gardner et al. (1999), модифицированную с учётом дополнительных морфологических параметров.

**Результаты.** Основные параметры – частота оплодотворения, частота дробления и частота формирования blastocist – не имели значимых отличий между группами (p>0,05). Существенное отличие отмечено только по среднему баллу эмбрионов на перенос (2,91±2,09 vs 3,98±1,41, p=0,008). Показатели частоты наступления клинической беременности, подтверждённой УЗИ (36,0% vs 30,4%), и частоты имплантации (27,3% vs 23,8%) оставались сопоставимыми (p>0,05). Выявлен клинически значимый тренд к снижению разницы между показателями беременности, установленной по определению положительного уровня ХГЧ, и частотой клинической беременности (4% vs 10,7% в контроле), что может свидетельствовать о более высокой компетенции эмбрионов в группе АОА и снижении ранних репродуктивных потерь.

**Заключение.** Искусственная активация ооцитов ионофорами кальция не приводит к статистически значимому улучшению основных эмбриологических показателей, но демонстрирует тенденцию к снижению разницы между биохимической и клинической беременностью, что может указывать на повышение качества эмбрионов у пациентов с неблагоприятным репродуктивным анамнезом. Для получения более достоверных выводов требуется накопление информации и проведение мультицентровых рандомизированных исследований с увеличенным объёмом выборки.

**Ключевые слова** ооцит, человек, ИКСИ, ионофоры кальция, ВРТ.

**Для цитирования** Попова О.О., Шурыгина О.В., Юхимец С.Н., Сараева Н.В., Петрова А.А., Минаева Т.В., Шурыгин С.А. Эффективность применения искусственной активации ооцитов ионофорами кальция в программах ВРТ у пациентов с неблагоприятным репродуктивным анамнезом: эмбриологические и клинические исходы. Морфологические ведомости. 2025;33(4):991. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33\(4\).991](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33(4).991)

Статья поступила в редакцию 20 ноября 2025  
Статья принята к публикации 15 декабря 2025

## EFFECTIVENESS OF CALCIUM IONOPHORE ARTIFICIAL OOCYTE ACTIVATION IN ART PROGRAMS FOR PATIENTS WITH ADVERSE REPRODUCTIVE HISTORY: EMBRYOLOGICAL AND CLINICAL OUTCOMES

<sup>1</sup>Popova OO, <sup>1</sup>Shurygina OV, <sup>2</sup>Yukhimets SN, <sup>1</sup>Saraeva NV, <sup>1</sup>Petrova AA, <sup>1</sup>Minaeva TV, <sup>3</sup>Shurygin SA

<sup>1</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia; <sup>2</sup>Saint Joseph's University of Tanzania, Dar es Salaam, Tanzania; <sup>3</sup>Medical University Reaviz, Samara, Russia, e-mail: o.o.popova@samsmu.ru

### Summary

**Background.** Oocyte competence is a determinant of successful fertilization and embryo development. Poor oocyte quality may lead to fertilization failure or in vitro embryo developmental arrest. Artificial oocyte activation (AOA) using calcium ionophores has been proposed to overcome oocyte activation deficiency in patients with fertilization failure and unsatisfactory embryo quality. The effectiveness of this technology is of interest to fundamental medicine specialists and ART clinics.

**Aim.** To evaluate the effectiveness of calcium ionophore-mediated oocyte activation at the embryological stage of assisted reproductive technology (ART) programs in patients with previous unsuccessful infertility treatments.

**Materials and Methods.** A retrospective cohort comparative study was conducted at the Clinical Hospital "Mother and Child" (Samara) from January to December 2024. Study group (n=35): cycles with AOA using calcium ionophore (A23187, Sigma) after ICSI by medical indications (low fertilization rate in history). Control group (n=61): cycles with standard ICSI procedure without activation. Inclusion criteria: age 18–43 years, partner sperm use, complete data on culture up to day 5. Vitrolife media (Sweden) were used for cell preparation and ICSI. Cells were obtained by transvaginal follicular aspiration 36–37 hours after ovulation trigger. After ICSI, cells were incubated in medium with Ca<sup>2+</sup> ionophore (10 mM concentration) for 8–10 minutes at 6% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, and +37°C. Embryo quality was assessed using a scoring system based on Gardner et al. (1999) criteria, modified with additional morphological parameters.

**Results.** Main parameters—fertilization rate, cleavage rate, and blastocyst formation rate—showed no significant differences between groups (p>0.05). A significant difference was observed only in mean embryo score at transfer (2.91±2.09 vs 3.98±1.41, p=0.008). Clinical pregnancy rate confirmed by ultrasound (36.0% vs 30.4%) and implantation rate (27.3% vs 23.8%) remained comparable (p>0.05). A clinically significant trend toward reduced difference between positive hCG and clinical pregnancy rate (4% vs 10.7% in control) was revealed, suggesting higher embryo competence in the AOA group and reduced early reproductive loss.

**Conclusion.** Calcium ionophore artificial oocyte activation does not lead to statistically significant improvement in main embryological parameters but demonstrates a trend toward reducing the gap between biochemical and clinical pregnancy, which may indicate improved embryo quality in patients with adverse reproductive history. Data accumulation and multicenter randomized studies with increased sample size are required for more reliable conclusions.

### Keywords

oocyte, human, ICSI, calcium ionophores, ART.

### For the citation

Popova OO, Shurygina OV, Yukhimets SN, Saraeva NV, Petrova AA, Minaeva TV, Shurygin SA. Effectiveness of calcium ionophore artificial oocyte activation in ART programs for patients with adverse reproductive history: embryological and clinical outcomes. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter*. 2025;33(4):991. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33\(4\).991](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33(4).991)

Article received 20 November 2025  
Article accepted 15 December 2025

## ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) стало мировым стандартом терапии бесплодия: ежегодно проводится более 2,5 миллионов циклов [1]. С развитием технологий всё большую популярность приобретают дополнительные процедуры, направленные на повышение эффектив-

ности эмбриологического этапа программ ВРТ. К числу наиболее востребованных вмешательств относятся видеомониторинг развития эмбрионов (time-lapse), вспомогательный хетчинг, использование среды, обогащённой гиалуроновой кислотой (PICSI или физиологическое ICSI – предварительный отбор сперматозоидов на основе взаимодействия рецепторов мембраны их головки с

гиалуроновой кислотой), искусственная активация ооцитов ионофором  $\text{Ca}^{2+}$  (АОА) и др.

Тем не менее, результаты систематических обзоров показывают противоречивые результаты их эффективности [2]. Исключение может составлять комбинация ИКСИ и искусственной активации ооцитов, для которой ряд авторов отмечает достоверное увеличение вероятности оплодотворения и наступления беременности [3–7]. АОА с применением ионофоров  $\text{Ca}^{2+}$  представляет собой стратегию преодоления отсутствия оплодотворения или снижения его показателя, низкого качества эмбрионов в предыдущих программах. Причины данных проблем, как правило, связаны с отклонениями в гаметогенезе и образованием компетентных сперматозоидов и ооцитов. Это приводит к нарушению взаимодействия гамет в процессе оплодотворения и, как следствие, к нарушению формирования качественных эмбрионов.

Мы предлагаем рассматривать распространённый в практической эмбриологии термин «качество эмбриона» как совокупность морфологических и цитофизиологических характеристик, позволяющих реализовать его способность к имплантации и дальнейшему развитию.

#### ***Механизм действия искусственной активации ооцитов***

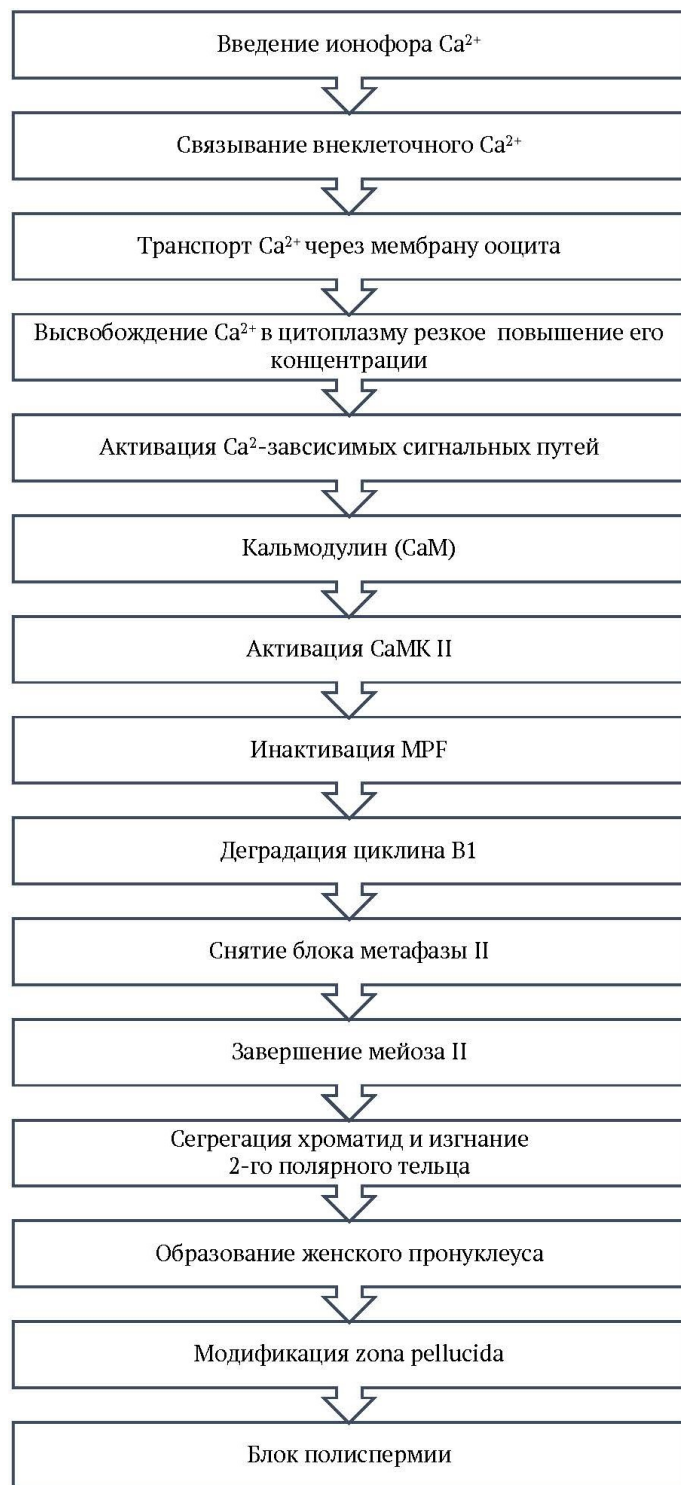
Метод искусственной активации ооцитов (АОА) целенаправленно воспроизводит ключевые этапы оплодотворения – завершение мейотического деления ооцита и кортикальную реакцию. Однако динамика кальциевого сигнала при АОА отличается от естественной. Механизм действия заключается в следующем: ионофор в культуральной среде связывается с ионами кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Образовавшийся комплекс проходит через клеточную мембрану ооцита, доставляя внутрь него  $\text{Ca}^{2+}$ . Этот искусственный приток кальция служит триггером для запуска последующих процессов развития. Таким образом, АОА эффективно инициирует процесс оплодотворения, хотя и использует для этого упрощённую, по сравнению с природной, кальциевую сигнализацию.

В цитоплазме, где базальная концентрация свободного  $\text{Ca}^{2+}$  составляет ~100 нМ, происходит диссоциация комплекса с высвобождением ионов кальция. Важно отметить, что ионофор при этом рециркулирует к внешней поверхности мембраны, обеспечивая многократный транспортный цикл [5]. Данный процесс индуцирует резкий транзиент (от англ. transient – временный, преходящий) внутриклеточного кальция (>1 мкМ), имитирующий начальную фазу физиологической кальциевой волны, инициируемой спермальным фактором PLC $\zeta$  (phospholipase C zeta) при естественном оплодотворении.

Взросшая концентрация цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$  активирует каскад кальций-зависимых сигнальных путей внутри ооцита. Ключевым событием является конформационное изменение кальмодулина (CaM) при связывании с  $\text{Ca}^{2+}$  [8], что в свою очередь приводит к активации кальмодулин-зависимой киназы II (CaMKII) через фосфорилирование остатка Thr286 [9]. Активированная CaMKII инициирует фосфорилирование компонентов комплекса, стимулирующего анафазу (APC/C), запуская убиквитин-опосредованную протеасомальную деградацию циклина B1 – регуляторной субъединицы M-фазного стимулирующего фактора (MPF) [10].

Деградация циклина B1 приводит к инактивации MPF (комплекса Cyclin B1/CDK1), что снимает блок метафазы II мейоза. Последующее завершение второго мейотического деления включает сегрегацию хроматид, экструзию второго полярного тельца и формирование женского пронуклеуса посредством деконденсации хромосом и образования ядерной оболочки [11]. Параллельно кальциевый сигнал индуцирует экзоцитоз кортикальных гранул, чьё содержимое (включая ово-трансферазу и N-ацетилглюкозаминидазу) модифицирует гликопротеины блестящей оболочки (ZP2/ZP3), создавая биохимический барьер против полиспермии.

Следует подчеркнуть, что в отличие от физиологических  $\text{Ca}^{2+}$ -осцилляций при оплодотворении (15–30 волн за 4–6 часов), ионофор индуцирует монофазный транзиент [12].



**Рис. 1.** Механизм искусственной активации яйцеклеток человека ионофорами  $\text{Ca}^{2+}$  (систематизация литературных данных): MPF – митоз-стимулирующий фактор; CaMK II-кальмодулин – зависимая протеинкиназа II; Zona pellucida – блестящая оболочка

### Клиническое значение АОА

Особое значение АОА приобретает при полной неудаче оплодотворения (Total Fertilization Failure, TFF) – полной неспособности любого из полученных зрелых ооцитов на стадии МII к оплодотворению в цикле экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) или ИКСИ. В настоящее время одной из главных причин возникновения TFF считается недостаточная активация ооцитов, напрямую связанная с нарушением кальциевой сигнализации. После оплодотворения в ооцитах должны развиваться специфические осцилляции  $\text{Ca}^{2+}$ , критично важные для триггера активации; нарушение этих процессов может объяснять TFF [13].

Отдельные работы демонстрируют, что сперматозоиды, неспособные активировать ооцит даже в условиях ИКСИ, частично или полностью лишены потенциала к запуску осцилляций  $\text{Ca}^{2+}$ , либо вызывают только редуцированные или аномальные амплитуды кальциевых колебаний [14, 15].

Тем не менее, окончательный вопрос о влиянии АОА на частоту наступления беременности и рождение живого ребёнка остаётся нерешённым. Согласно части работ, эффективность метода проявляется в основном у пациентов со снижением способности к оплодотворению, а для других категорий статистически значимых различий не выявляется. Современные метаанализы отмечают: для пациентов с трудностями или невозможностью оплодотворения применение АОА может позитивно сказываться на клинических перспективах беременности и её пролонгировании.

Однако следует отметить, что большинство работ по положительному влиянию АОА носили характер отдельных наблюдений и небольших серий [16, 17]. В исследовании Яхьяровой М.П. была продемонстрирована эффективность применения ионофора  $\text{Ca}^{2+}$  для коррекции локализации пронуклеусов в ооцитах после ИКСИ у пациенток с недостаточной активацией и неудачными попытками оплодотворения в анамнезе [18]. Однако систематический обзор Sfontouris и

соавт. [19] подчёркивает отсутствие убедительных доказательств эффективности АОА, а вопросы безопасности процедуры до сих пор не решены. В связи с этим необходимо дальнейшее накопление данных.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** оценить эффективность активации ооцитов ионофором  $\text{Ca}^{2+}$  на эмбриологическом этапе программ ВРТ у пациентов с предыдущими неудачными попытками лечения бесплодия.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное когортное сравнительное исследование на базе ЗАО «Клинический госпиталь "Мать и дитя"» (Самара) в период с января по декабрь 2024 года.

**Критерии включения в исследование:** возраст пациенток от 18 до 43 лет, использование спермы партнёра (без применения донорских программ), наличие полных данных об исходе культивирования до 5-х суток.

Единицей наблюдения являлся цикл ИКСИ. Для исключения статистической зависимости данных в случаях повторных обращений одной и той же пациентки в анализ включался только первый цикл, проведённый в указанный период времени.

### Группы исследования:

- **Группа I** (группа исследования,  $n=35$ ) – циклы с применением метода искусственной активации ооцитов (АОА) ионофором кальция после ИКСИ по медицинским показаниям (низкий процент оплодотворения в анамнезе).

- **Группа II** (контрольная группа,  $n=61$ ) – циклы со стандартной процедурой ИКСИ без применения активации, соответствующие критериям включения.

Исследование одобрено локальным Комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (протокол №240 от 19 ноября 2021 года).

### Эмбриологические процедуры

Для подготовки клеток и проведения процедуры ИКСИ использовали среды производства

Vitrolife (Sweden). Клетки получали путём трансвагинальной аспирации фолликулов через 36–37 часов после назначения триггера овуляции. Сбор ооцит-кумулясных комплексов (ОКК) проводили в стерильных условиях ламинарного потока воздуха при соблюдении температурного режима  $+37^\circ\text{C}$ .

ОКК идентифицировали под контролем стереомикроскопа (Nikon SMZ18, Япония), помещали в среду для сбора ооцитов Gmops Plus (Vitrolife, Sweden). После отмывки от фолликулярной жидкости и крови в буферном растворе ОКК выдерживали 2–3 часа в культуральной среде IVF Plus (Vitrolife, Sweden) при концентрации 6%  $\text{CO}_2$ , 5%  $\text{O}_2$  и температуре  $+37^\circ\text{C}$  до момента денудации.

После окончания предварительной инкубации проводили денудирование ооцитов (механическое и энзимное удаление клеток кумулюса). Сначала ОКК помещали на 20–30 секунд в раствор гиалуронидазы (Vitrolife, Sweden), затем отмывали от фермента в буферной среде механическим путём. Для предотвращения повреждения ооцита использовали пипетки с соответствующим размером просвета ( $d=175$  мкм), избегая слишком энергичного пипетирования. После денудации ооциты тщательно промывали в буферном растворе Gmops Plus для удаления остатков гиалуронидазы.

Оценку степени зрелости ооцитов фиксировали в эмбриологическом протоколе. Процедуру ИКСИ производили только ооцитам на стадии МII через 20–30 минут после денудации. В качестве среды для проведения процедуры ИКСИ использовали Gmops Plus (Vitrolife, Sweden). Для оплодотворения использовали морфологически нормальные сперматозоиды. Инъекцию сперматозоида в цитоплазму ооцита производили стандартным способом.

### Процедура искусственной активации ооцитов

Чашки с каплями среды, содержащей ионофор  $\text{Ca}^{2+}$ , за 2–3 часа до начала процедуры ИКСИ помещали в инкубатор для уравнивания при концентрации  $\text{CO}_2$  6%. Непосредственно после завершения процедуры ИКСИ

клетки выдерживали в среде с добавлением ионофора  $\text{Ca}^{2+}$  (calcium ionophore A23187, Sigma) при концентрации  $\text{CO}_2$  6%,  $\text{O}_2$  5% и температуре  $+37^\circ\text{C}$  на протяжении 8–10 минут в соответствии с рекомендациями производителя.

Для приготовления базового раствора 5 мг ионофора  $\text{Ca}^{2+}$  разводили в 1250 мкл DMSO (Sigma). Приготовленный базовый раствор аликвотировали по 25 мкл в пробирки Эппендорфа и хранили в морозильной камере при  $-20^\circ\text{C}$ . Для достижения рабочей концентрации раствора к 25 мкл базового раствора добавляли 475 мкл буферного раствора. Для достижения разведения  $\times 40$  и необходимой концентрации 10 мМ к 25 мкл

подготовленного раствора добавляли 975 мкл культуральной среды.

По окончании инкубирования клетки тщательно промывали и переносили в капли со свежей средой GTL (Vitrolife, Sweden) при концентрации  $\text{O}_2$  5% и температуре  $+37^\circ\text{C}$ . Через 16–18 часов проводили оценку оплодотворения.

**Оценка качества эмбрионов**

Для оценки качества развивающихся эмбрионов использовали собственную балльную систему, основанную на критериях оценки бластоцист по D.K. Gardner et al. (1999), модифицированную с учётом дополнительных морфологических критериев (табл. 1) [20, 21].

**Таблица 1.** Система оценки качества эмбрионов 5–6-х суток развития

<b>Оценка качества эмбриона</b>	<b>Морфологическая характеристика эмбриона</b>
Эмбрион отличного качества	Бластоциста категории AA, AB, BA 3,4,5,6 степени экспансии, с фрагментацией 0-10%, без вакуолей, фрагментации и атрезивных клеток
Эмбрион хорошего качества	Бластоциста категории BB, CA, AC, 3,4,5,6 степени экспансии, ранняя бластоциста, начало кавитации с фрагментацией (0–10%), с единичными вакуолями в ТБ или ВКМ, единичными атрезивными клетками
Эмбрион удовлетворительного качества	Бластоциста категории BC, CB, CC, 3,4,5,6 степени экспансии, ранняя бластоциста, начало кавитации с множественными вакуолями в ТБ/ВКМ или фрагментацией (более 25%), с атрезивными клетками (более 25%), наличие аномалий формы
Эмбрион посредственного качества	Бластоциста категории CC, ранняя бластоциста, морула, начало кавитации с множественными вакуолями в ТБ/ВКМ или фрагментацией (более 50%), с атрезивными клетками (более 50%), наличие аномалий формы
Эмбрион, остановившийся в развитии	Эмбрион с признаками тотальной атрезии, без прогрессивных морфологических изменений в развитии

**Статистический анализ**

Для оценки эффективности эмбриологического и клинического этапов использовали стандартные критерии в соответствии с рекомендациями Vienna Consensus (2017) [22].

Использовались описательные статистические показатели: среднее значение, медиана, стандартное отклонение, 95% доверительный интервал для среднего, межквартильный размах. Для сравнения двух групп применяли различные статистические методы в зависимости от типа данных. Для параметрических переменных использовали независимый t-критерий Стьюдента. В случае непараметрических показателей использовали критерий Манна – Уитни.

Для количественных непараметрических данных применяли z-тест для пропорций с поправкой на непрерывность. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Группы исследования и контроля были сопоставимы по основным демографическим и анамнестическим характеристикам: средний возраст женщин и среднее число предшествующих попыток лечения бесплодия методами ВРТ статистически не различались между группами (табл. 2).

Однако обращает на себя внимание показатель продолжительности бесплодия. В группе

исследования средняя продолжительность бесплодия была выше. Статистический анализ продемонстрировал существенные различия в медианной длительности бесплодия между группами. Так, в контрольной группе медианная длительность бесплодия составила 4,0 года [межквартильный размах (IQR): 2,0–7,0], в то время как в группе исследования этот показатель был достоверно выше – 7,5 года (IQR: 4,0–10,0;  $p < 0,001$  по U-критерию Манна – Уитни).

Распределение длительности бесплодия в контрольной группе было правоасимметричным. Большинство пациенток (65,0%,  $n=41$ ) имели историю бесплодия продолжительностью  $\leq 5$  лет. Случаи с длительностью  $\geq 12$  лет были редки (6,4%,  $n=4$ ). Контрольная группа репре-

зентирует когорту пациенток, которые в среднем обратились за помощью на более ранних сроках наступления бесплодия по сравнению с группой исследования. Учёт этого значимого различия является критически важным для последующего сравнительного анализа исходов лечения между группами.

Результаты анализа свидетельствуют о том, что по большинству ключевых эмбриологических и клинических параметров существенных различий между группами не выявлено (табл. 3). Доля зрелых ооцитов, частота оплодотворения, дробления и формирования бластоцист статистически значимо не отличались между группами ( $p > 0,05$ ).

**Таблица 2.** Сравнительная характеристика клиничко-анамнестических данных групп исследования и контроля

Показатель	Группа исследования	Группа контроля
Ср. количество попыток	2,6	2,4
Ср. возраст (лет)	33,97 $\pm$ 4,37	34,51 $\pm$ 4,68
Ср продолжительность бесплодия (лет)	7,86 $\pm$ 4,00	5,90 $\pm$ 4,28
Количество полученных ооцитов	6,1	5,9
Количество МП ооцитов	4,5	4,6

**Таблица 3.** Сравнительная характеристика эмбриологических и клинических показателей

Показатель	Группа	N	Медиана	Среднее $\pm$ SD	95% ДИ среднего	25-й перц.	75-й перц.	IQR	p-value
Доля МП ооцитов при ИКСИ (%)	исследования	35	83,33	78,85 $\pm$ 20,97	72,17–85,53	66,67	100,00	33,33	0,567
	контроль	61	83,33	81,21 $\pm$ 20,39	76,25–86,17	66,67	100,00	33,33	
Доля оплодотворения (%)	исследования	35	100,00	85,74 $\pm$ 19,78	78,87–92,61	76,39	100,00	23,61	0,479
	контроль	61	87,50	82,67 $\pm$ 20,15	77,35–87,99	75,00	100,00	25,00	
Доля дробления (%)	исследования	35	100,00	95,70 $\pm$ 7,87	92,68–98,73	100,00	100,00	0,00	0,968
	контроль	61	100,00	95,59 $\pm$ 7,81	91,59–99,59	100,00	100,00	0,00	
Доля дорастания до бластоцисты (%)	исследования	35	50,00	43,59 $\pm$ 30,93	32,10–55,07	17,14	66,67	49,52	0,827
Доля дорастания до бластоцисты (%)	контроль	61	40,00	41,92 $\pm$ 38,23	32,34–51,50	0,00	75,00	75,00	
Средний балл эмбриона на перенос (ПЭ)	исследования	35	3,50	2,91 $\pm$ 2,34	2,23–3,60	0,00	4,75	4,75	0,008
	контроль	61	4,00	3,85 $\pm$ 1,01	3,50–4,20	3,00	5,00	2,00	
Частота положительных ХГЧ (%)	исследования	35	40,0	40,0 $\pm$ 8,4	23,9–54,9	40,0	40,0	0,0	0,500
	контроль	61	41,1	41,1 $\pm$ 6,6	28,3–53,9	41,1	41,1	0,0	
Частота наступления клин. беременности (ЧКБ, %)	исследования	35	36,0	36,0 $\pm$ 9,8	23,9–57,1	36,0	36,0	0,0	0,200
	контроль	61	30,4	30,4 $\pm$ 8,1	16,8–49,4	30,4	30,4	0,0	
Частота имплантации (ЧИ, %)	исследования	35	27,3	27,3 $\pm$ 7,6	16,8–47,2	27,3	27,3	0,0	0,300
	контроль	61	23,8	23,8 $\pm$ 5,7	12,0–35,6	23,8	23,8	0,0	

Однако средний балл эмбрионов на перенос составил  $2,91 \pm 2,09$  (95% ДИ: 2,23–3,60) в группе исследования и  $3,98 \pm 1,41$  (95% ДИ: 3,50–4,20) в контрольной группе (рис. 2); при этом единственное статистически значимое различие было отмечено именно по этому показателю (t-критерий Стьюдента:  $p=0,008$ ).

Клинические исходы также были сопоставимы. Частота биохимической беременности (ХГЧ+) составила 40,0% в группе исследования против 41,1% в контрольной; частота клинической беременности (визуализация плодного яйца на УЗИ) – 36,0% против 30,4%; частота имплантации – 27,3% против 23,8%. Для всех этих показателей статистические тесты не выявили значимых различий ( $p > 0,05$ ).

Тем не менее, были обнаружены позитивные тенденции при использовании АОА. Последова-

тельное повышение ключевых показателей в группе исследования (формирование бластоцист +1,7%, частота клинической беременности +5,6%, частота имплантации +3,5%) показывает биологически значимый тренд. Различия  $\geq 5\%$  по частоте клинической беременности считаются клинически важными (рис. 2).

Разница между показателями положительного ХГЧ и частоты клинической беременности в группе, где ооцитам была проведена АОА (4% vs 10,7% в контроле), указывает на снижение частоты биохимических беременностей (OR 0,37, 95% CI 0,16–0,85 в косвенном расчёте). Это свидетельствует о более высоком потенциале эмбрионов к имплантации и снижению ранних репродуктивных потерь (рис. 3).

Сравнение среднего балла качества эмбрионов на перенос

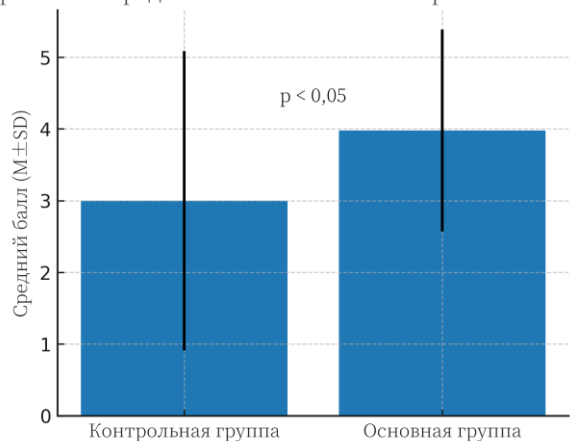


Рис. 2. Сравнение среднего балла качества эмбрионов на перенос в группах сравнения (M ± SD).

Примечание: различия статистически значимы ( $p < 0,05$ )

## ОБСУЖДЕНИЕ

Искусственная активация ооцитов с использованием ионофоров  $Ca^{2+}$  обеспечивает приток ионов кальция в цитоплазму ооцита. Это приводит к инициации процессов экзоцитоза кортикальных гранул, окончанию мейоза и запуску молекулярных каскадов дальнейшего оплодотворения. Искусственная активация ооцитов компенсирует дефекты кальциевой сигнализа-

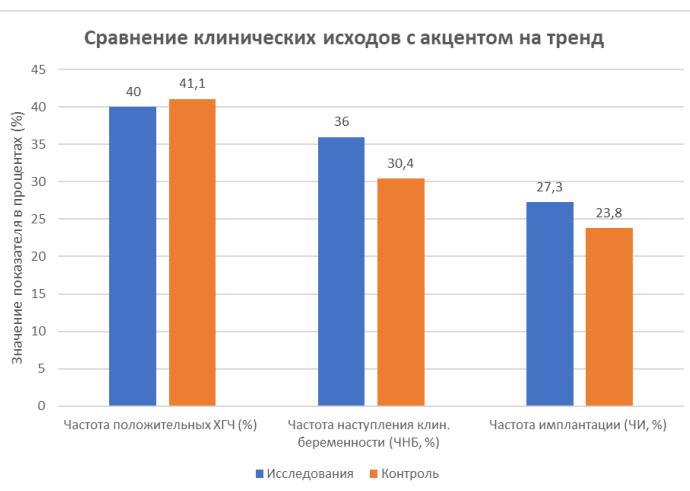


Рис. 3. Сравнение клинических исходов с акцентом на тренд

ции и позволяет избежать полной неудачи оплодотворения (TFF).

На молекулярном уровне преимущество АОА заключается во включении сигнальных путей, ответственных за завершение второго мейотического деления, экспрессию ранних инициационных генов эмбриона, а также структурную реорганизацию пронуклеусов. Она может восполнить недостаточную мобилизацию кальция и вызвать

активацию кальций-зависимых ферментов, в том числе кальмодулин-киназ, необходимых для формирования и развития эмбриона в случаях, когда естественные механизмы нарушены.

Тем не менее, искусственная активация не полностью имитирует природный паттерн повторяющихся быстрых кальциевых осцилляций, что может иметь значение для точности регуляции экспрессии ряда генов или процессов компартиментализации в ооплазме. Однако в строго определённых патологических сценариях её применение позволяет достичь наступления оплодотворения и ранних стадий эмбриогенеза, что не было бы возможно исключительно при физиологической кальциевой сигнализации.

Полученные данные, несмотря на ограниченный объём выборки, выявляют клинически значимую тенденцию к улучшению репродуктивных исходов в группе АОА. Ключевые индикаторы эффективности программ ВРТ, а именно уменьшение дельты между ХГЧ и частотой клинической беременности, рост частоты имплантации, свидетельствуют о повышении качества эмбрионов. Вероятнее всего, это является следствием вклада искусственной активации ооцитов как биологического механизма, направленного на коррекцию сигнальных дефектов.

Развитие специальных дополнительных технологий (add-on) в ВРТ предопределено высоким спросом как со стороны пациентов, так и медицинских специалистов, стремящихся повысить успех программ лечения бесплодия. Несмотря на это, внедрение инноваций должно базироваться на принципах безопасности, доказательности и рационального распределения ресурсов. Применение большинства специальных техник характеризуется слабой клинически

доказанной базой. Тем не менее, выявление положительных тенденций предполагает использование искусственной активации ооцитов в индивидуальных случаях.

Полученные результаты демонстрируют целесообразность АОА в селективных когортах (повторные неудачи ВРТ) и необходимость дальнейших проспективных исследований с увеличенной выборкой. Накопление данных и их анализ является важнейшей задачей для специалистов в области репродуктивной медицины.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Искусственная активация ооцитов ионофорами кальция позволяет, по всей вероятности, улучшить их цитофизиологические характеристики и приводит к формированию качественных эмбрионов, способных к имплантации, у пациентов с предыдущими неудачными попытками лечения бесплодия.

Полученные данные свидетельствуют о том, что основные эмбриологические показатели (частота оплодотворения, дробления, формирования бластоцист) и клинические исходы в группах АОА и контроля сопоставимы. Однако выявлен клинически значимый тренд к снижению разницы между биохимической и клинической беременностью в группе АОА (4% vs 10,7% в контроле), что может указывать на повышение качества эмбрионов и снижение ранних репродуктивных потерь.

Для получения более достоверных выводов требуется накопление информации и проведение мультицентровых рандомизированных исследований с увеличенным до расчётного объёмом выборки.

### Литература

#### References

- 1 Smeenk J, Wyns C, Kupka M, et al. ART in Europe, 2020: results generated from European registries by ESHRE European IVF Monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod*. 2024;39(6):1268–1285. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae080>
- 2 Glatthorn HN, Decherney A. The efficacy of add-ons: selected IVF "add-on" procedures and future directions. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39(4):827–838. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02420-7>

- 3 Vanden Meerschaut F, Nikiforaki D, De Roo C, et al. Assisted oocyte activation following ICSI fertilization failure. *Reprod Biomed Online*. 2012;24(6):621–631. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.02.010>
- 4 Adamson GD, de Mouzon J, Chambers GM, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology: world report on assisted reproductive technology, 2018. *Hum Reprod*. 2023;38(2):164–179. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac243>
- 5 Kashir J, Ganesh D, Jones C, et al. Oocyte activation deficiency and assisted oocyte activation: mechanisms, obstacles and prospects for clinical application. *Hum Reprod Open*. 2022;2022(2):hoac003. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac003>
- 6 Ruan JL, Liang SS, Pan JP, et al. Artificial oocyte activation with Ca<sup>2+</sup> ionophore improves reproductive outcomes in patients with fertilization failure and poor embryo development in previous ICSI cycles. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1244507. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1244507>
- 7 Caglar Aytac P, Bulgan Kilicdag E, Haydardedeoglu B, et al. Can calcium ionophore "use" in patients with diminished ovarian reserve increase fertilization and pregnancy rates? A randomized, controlled study. *Fertil Steril*. 2015;104(5):1168–1174. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.07.1157>
- 8 Swann K, Yu Y. The dynamics of calcium oscillations that activate mammalian eggs. *Int J Dev Biol*. 2008;52(5-6):585–594. <https://doi.org/10.1387/ijdb.072530ks>
- 9 Backs J, Backs T, Neef S, et al. The delta isoform of CaM kinase II is required for pathological cardiac hypertrophy and remodeling after pressure overload. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(7):2342–2347. <https://doi.org/10.1073/pnas.0813013106>
- 10 Madgwick S, Jones KT. How eggs arrest at metaphase II: MPF stabilisation plus APC/C inhibition equals cytostatic factor. *Cell Div*. 2007;2:4. <https://doi.org/10.1186/1747-1028-2-4>
- 11 Ducibella T, Fissore R. The roles of Ca<sup>2+</sup>, downstream protein kinases, and oscillatory signaling in regulating fertilization and the activation of development. *Dev Biol*. 2008;315(2):257–279. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.12.012>
- 12 Kashir J, Deguchi R, Jones C, Coward K. Comparative biology of oocyte activation in mammals: new insights from the sperm factor paradigm. *Reproduction*. 2016;152(1):R1–R14. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0057>
- 13 Nomikos M, Kashir J, Lai FA. The role and mechanism of action of sperm PLC-zeta in mammalian fertilisation. *Biochem J*. 2017;474(21):3659–3673. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160521>
- 14 Yoon SY, Jellerette T, Salicioni AM, et al. Human sperm devoid of PLC, zeta 1 fail to induce Ca<sup>2+</sup> release and are unable to initiate the first step of embryo development. *J Clin Invest*. 2008;118(11):3671–3681. <https://doi.org/10.1172/JCI36942>
- 15 Heytens E, Parrington J, Coward K, et al. Reduced amounts and abnormal forms of phospholipase C zeta (PLCζ) in spermatozoa from infertile men. *Hum Reprod*. 2009;24(10):2417–2428. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep207>
- 16 Darwish E, Magdi Y. A preliminary report of successful cleavage after calcium ionophore activation at ICSI in cases with previous arrest at the pronuclear stage. *Reprod Biomed Online*. 2015;31(6):799–804. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.08.012>
- 17 Ebner T, Oppelt P, Wöber M, et al. Treatment with Ca<sup>2+</sup> ionophore improves embryo development and outcome in cases with previous developmental problems: a prospective multicenter study. *Hum Reprod*. 2015;30(1):97–102. <https://doi.org/10.1093/humrep/deu285>
- 18 Yakh'yarova M.P., Zastavskiy I.A., Nastupov A.V. Nastupleniye beremennosti i rody u patsiyentok posle korrektsii raspolozheniya pronukleusov v ootsitakh s ispol'zovaniyem ionofora kal'tsiya. *Reproduktivnaya meditsina*. 2022;3:87–92. <https://doi.org/10.37800/RM.3.2022.87-92> *In Russian*
- 19 Sfontouris IA, Kolibianakis EM, Lainas TG, et al. Clinical applications of artificial oocyte activation: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Reprod Update*. 2015;21(6):695–706. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv034>
- 20 Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril*. 2000;73(6):1155–1158. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00518-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00518-5)
- 21 Shurygina OV, Yuldasheva SZ, Ivanova OV, Demidova NN. Otsenka vyzhivayemosti vitrifitsirovannykh embrionov v zavisimosti ot stadii razvitiya. *Journal of Biomimetics, Biomaterials and Biomedical Engineering*. 2020;45:22–27. *In Russian*
- 22 ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(5):494–510. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.06.015>
- 23 Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011;26(6):1270–1283. <https://doi.org/10.1093/humrep/der037>
- 24 Ferraretti AP, Goossens V, Kupka M, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2009: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2013;28(9):2318–2331. <https://doi.org/10.1093/humrep/det278>
- 25 Montag M, Toth B, Strowitzki T. New approaches to embryo selection. *Reprod Biomed Online*. 2013;27(5):539–546. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.05.013>

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Попова Ольга Олеговна**, аспирант кафедры гистологии и эмбриологии Самарского государственного медицинского университета, Самара, Россия;  
**e-mail:** popovaoo@outlook.com

**Шурыгина Оксана Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии и эмбриологии и кафедры репродуктивной медицины, клинической эмбриологии и генетики Самарского государственного медицинского университета, Самара, Россия;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

**Юхимец Сергей Николаевич**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии Медицинского колледжа Университета Святого Иосифа в Танзании, Дар-эс-Салам, Танзания;  
**e-mail:** sergei.iukhimets@sjchs.sjuit.ac.tz

**Сараева Наталья Владимировна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры репродуктивной медицины, клинической эмбриологии и генетики, Самарского государственного медицинского университета; заведующая отделением Медицинской компании ИДК группы компаний «Мать и дитя», Самара, Россия;  
**e-mail:** kuzichkina@gmail.com

**Петрова Альбина Анатольевна**, кандидат биологических наук, врач эмбриолог Медицинской компании ИДК группы компаний «Мать и дитя», Самара, Россия;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

**Минаева Татьяна Васильевна**, врач эмбриолог Медицинской компании ИДК группы компаний «Мать и дитя», Самара, Россия;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

**Шурыгин Сергей Александрович**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анатомии и морфологии Медицинского университета «Реавиз», Самара, Россия;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

#### INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Ol'ga O. Popova**, Postgraduate student of the Department of Histology and Embryology of the Samara State Medical University, Samara, Russia;  
**e-mail:** popovaoo@outlook.com

**Oksana V. Shurygina**, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Histology and Embryology and the Department of Reproductive Medicine, Clinical Embryology and Genetics of the Samara State Medical University, Samara, Russia;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

**Sergey N. Yukhimets**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Anatomy at the Medical College of the St. Joseph University in Tanzania, Dar es Salaam, Tanzania;  
**e-mail:** sergei.iukhimets@sjchs.sjuit.ac.tz

**Natal'ya V. Saraeva**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Reproductive Medicine, Clinical Embryology and Genetics, Samara State Medical University; Head of the Department of the Medical Company IDK of the «Mother and Child» Group of Companies, Samara, Russia;  
**e-mail:** kuzichkina@gmail.com

**Al'bina A. Petrova**, Candidate of Biological Sciences, Doctor of Embryology of the Medical Company IDK of the «Mother and Child» Group of Companies, Samara, Russia;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

**Tat'yana V. Minaeva**, Doctor of Embryology of the Medical Company IDK of the «Mother and Child» Group of Companies, Samara, Russia;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru

**Sergey A. Shurygin**, Candidate of Medical Sciences, assistant of the Department of Anatomy and Morphology of the Medical University Reaviz, Samara, Russia;  
**e-mail:** oks-shurygina@yandex.ru