

Karateeva, O. I. MODERN METHODS OF ESTIMATION OF BODY WEIGHT HEIFERS WITH USE OF MATHEMATICAL MODELS

The use of mathematical models Gompertz B. and T. Bridges to describe and predict the dynamics of the live weight of heifers of different research groups indicates their high efficiency. Comparison of these models has revealed a high level of approximation with the actual data of live weight using the equation T. Bridges, and confirmed that the relevant parameters.

Key words: exponential growth curve, the kinetic growth curve model T. Bridges, model B. Gompertz

Дата надходження до редакції: 03.03.2017 р.

Рецензенти: доктор с.-г. наук, професор М. І. Гиль

доктор с.-г. наук, доцент Г. А. Коцюбенко

УДК 636.2.034:612.02

**ВЛИЯНИЕ ПОЛИПЕПТИДНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА
НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

И. В. Кириллова, кандидат сельскохозяйственных наук,

А. И. Ганджа, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,

В. П. Симоненко, кандидат сельскохозяйственных наук,

Л. Л. Леткевич, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,

О. П. Курак, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,

Н. В. Журина, кандидат сельскохозяйственных наук,

М. А. Ковальчук, кандидат сельскохозяйственных наук.

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

Изучено влияние полипептидных факторов роста на уровень созревания ооцитов крупного рогатого скота. Установлено, что использование эпидермального фактора роста в среде для культивирования в концентрации 200 нг/мл в течение 24 часов способствует созреванию 68,4 % ооцитов коров до стадии метафаза II, небольшое (26,8 %) по сравнению с контролем (43,2 %) число хромосомных нарушений свидетельствует о положительном эффекте данного фактора роста. При использовании инсулиноподобного фактора роста в концентрации 250 нг/мл – 67,7 % клеток достигают стадии метафаза II, доля ооцитов с нарушениями хромосом снижается на 9,4 % по сравнению с контролем.

Ключевые слова: ооцит-кумулюсный комплекс, созревание, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста

Введение. В настоящее время разработаны методы культивирования яйцеклеток, позволяющие получать достаточно высокий процент ооцитов на стадии метафаза II, однако при последующем оплодотворении лишь чуть больше трети из них развивается до стадий морулы и бластоцисты. При используемых методах выход эмбрионов на пре-имплантационных стадиях не достаточно стабилен, то есть процент получаемых качественных эмбрионов резко снижается в повторных экспериментах по сравнению с наиболее успешными отдельными опытами. Причин может быть несколько, одной из них является асинхронность ядерного и цитоплазматического созревания из-за отсутствия или недостаточного количества гонадотропных гормонов, стероидов, факторов роста и других биологически активных веществ, обеспечивающих в дальнейшем успешное оплодотворение созревшей яйцеклетки [1, 2, 3, 4, 5].

Факторами роста называют группу белковых молекул, индуцирующих синтез ДНК в клетке [6], они представляют собой небольшие полипептиды, которые стимулируют или ингибируют пролиферацию определенных типов клеток. Как правило, они секретируются одними клетками и дей-

ствуют на другие клетки, хотя иногда бывает так, что они действуют на те же клетки, которые их секретируют [7].

Как и в случае с гормонами, факторы роста взаимодействуют с соответствующими рецепторами и могут инициировать множественные эффекты: от процессов регуляции роста, дифференцировки и экспрессии генов до инициирования апоптоза, они также важны для процессов развития эмбриона и для поддержания клеточного баланса у взрослого организма. Эффекты факторов роста, в отличие от гормонов, могут продолжаться в течение нескольких дней [8, 9].

Большую роль в регуляции фолликулогенеза играют региональные ростовые факторы. Факторы роста циркулируют в крови и в больших количествах присутствуют в тканях яичников. Одним из наиболее изученных факторов роста является эпидермальный фактор роста (EGF). Максимальное содержание рецепторов к данному фактору обнаруживается в фолликулах в преовуляторной стадии и его высокие дозы подавляют физиологические эффекты фоллитропина на 70-90% [10].

Инсулиноподобные факторы роста (IGF) иг-

рают одну из ключевых ролей в передаче сигнала пролиферации и дифференцировки клеток теки и гранулезы от гипоталамо-гипофизарной системы. В условиях *in vitro* IGF-I активирует уровень экспрессии рецепторов к ЛГ, синтез эстрадиола, прогестерона в мелких и крупных фолликулах, а также синтез андростенедиона в крупных фолликулах [11, 12, 13].

Исходя из вышесказанного, представляется актуальным выполнение исследований, направленных на поиск наиболее эффективных видов и доз использования полипептидных факторов роста в среде для культивирования и изучение их влияния на уровень созревания ооцитов крупного рогатого скота до стадии оплодотворения.

Цель исследований: изучение влияния полипептидных факторов роста на уровень созревания ооцитов крупного рогатого скота до стадии метафаза II.

Материал и методы исследований. Исследования выполнены в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».

Яичники получали на Минском, Борисовском мясокомбинатах и убойном цехе ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области после убоя животного путем отсекаания от матки с помощью ножниц. Доставляли материал в лабораторию в стерильном солевом растворе Хенкса с добавлением 200 ед./мл пенициллина и 100 ед./мл стрептомицина в бытовом термосе. Перед извлечением яйцеклеток из яичников их дважды промывали раствором Хенкса с добавлением антибиотиков. Извлечение ооцитов проводили путем рассечения ткани яичников лезвием безопасной бритвы в растворе Хенкса в чашке Петри с добавлением 10 ед./мл гентамицина, 1 ед./мл гепарина и 1 % инактивированной фетальной сыворотки. После выделения ооцитов, их поиск и морфологическую оценку качества полученных ооцит-кумулясных комплексов осуществляли по разра-

ботанной нами 5-бальной шкале [14] под бинокулярным микроскопом МБС-10 при 16- и 56-кратном увеличении.

Для дальнейшей работы отбирали клетки с многослойным компактным или слегка разрыхленным кумулюсом, плотно прилегающим к зоне пеллюцида, мелкозернистой или имеющей небольшие участки гранулярной конденсации ооплазмы, равномерно заполняющей прозрачную оболочку, которая равномерна по толщине, не имеет никаких дефектов, округлая по форме. Ооциты созревали в CO₂-инкубаторе в течение 3-24 часов при максимальной влажности и содержании 5 % CO₂ в воздухе с добавлением в среду для культивирования ооцитов эпидермального фактора роста в дозах 100 нг/мл, 150 нг/мл, 200 нг/мл, 250 нг/мл и 300 нг/мл, либо с добавлением инсулиноподобного фактора роста в дозах 100 нг/мл, 150 нг/мл, 200 нг/мл, 250 нг/мл и 300 нг/мл.

Через 3, 6, 9, 12, 18 и 24 часа проводили анализ эффективности созревания ооцитов крупного рогатого скота в динамике. Для этого изготавливали цитогенетические препараты для анализа ядерного материала ооцит-кумулясных комплексов по методу Тарковского [15]. Ооциты помещали на 5-10 мин. в теплый (37°C) гипотонический раствор 3-х замещенного цитрата натрия (0,9% р-р в дистиллированной воде), затем механически очищали от кумулюса и переносили на сухое обезжиренное стекло. Фиксировали смесь метанола и уксусной кислоты (3:1). Высохшие препараты окрашивали по Романовскому-Гимза (азур-эозин) в течение 5-10 минут и промывали водой, затем 70%-ным этанолом. Под микроскопом анализировали стадии мейоза ооцитов коров.

Результаты исследований. На начальном этапе исследований определяли способность ооцитов к реинициации мейоза культивируемых с добавлением EGF через 18 часов культивирования (таблица 1).

Таблица 1

Влияние концентрации EGF на развитие ооцитов коров

Группа	Концентрация EGF, нг/мл	Кол-во ооцитов, n	Доля ооцитов на стадиях, %						Доля ооцитов с нарушениями хромосом, %
			диплотены	диакинеза	метафаза I	анафаза	телофаза	метафаза II	
I	100	33	9,1	9,1	24,2	-	48,5	9,1	15,2
II	150	37	-	2,7	5,4	8,1	32,4	51,4	16,2
III	200	41	-	4,9	2,4	4,9	34,1	53,7	14,6
IV	250	27	-	3,7	3,7	7,4	33,3	51,9	14,8
V	300	37	8,2	5,4	27,0	-	32,4	27,0	24,3
VI	0-контроль	27	7,4	-	22,2	22,2	26,0	22,2	29,6

Так, в контрольной группе, при культивировании в среде, не содержащей эпидермальный фактор роста, доля ооцитов на завершающих стадиях мейоза (телофаза-метафаза II) составила 48,2 %, при этом 29,6 % от поставленных на культивирование клеток имело хромосомные нарушения – слипание, деспирализация, фрагментация и элиминация. Введение в среду 100 нг/мл эпидермального фактора роста на 90,9 % иницииро-

вало мейоз, а число ооцитов с нарушениями хромосом уменьшилось до 15,2 %. При использовании EGF в концентрации 150 нг/мл реинициация мейоза через 18 часов культивирования составила 100 %, а выход дегенерированных ооцитов – 16,2 %. В варианте с добавлением 200 нг/мл EGF 87,8 % клеток вступали в стадии телофаза и метафаза II, причем большая половина клеток (53,7%) находилась на стадии метафаза II.

Число дегенерированных ооцитов в среде с 100-250 нг/мл эпидермального фактора роста было почти в 2 раза меньше (14,6-16,2 %), чем в контрольной группе (29,6 %). При увеличении концентрации EGF до 300 нг/мл резко увеличивалась доля клеток с хромосомными нарушениями. Следовательно, диапазон концентраций эпидермального фактора роста от 150 до 250

нг/мл был оптимальным для созревания ооцитов, так как в этих условиях на 100 % достигалась инициация мейоза, а число дегенерированных клеток находилось в пределах 14,6-16,2 %.

В следующей серии опытов изучали динамику созревания ооцитов с добавлением эпидермального фактора роста в концентрации 200 нг/мл (таблица 2).

Таблица 2

Динамика созревания ооцитов с добавлением эпидермального фактора роста

Время культивирования, ч	Группы	Кол-во ооцитов, n	Доля ооцитов на стадиях, %						Доля ооцитов с нарушениями хромосом, %
			диплотены	диакинеза	метафаза I	анафаза	телофаза	метафаза II	
3	опыт	49	80,0	14,3	5,7	–	–	–	26,5
	контроль	69	85,5	14,5	–	–	–	–	27,5
6	опыт	32	18,8	68,7	9,4	–	–	3,1	28,1
	контроль	30	50,0	40,0	6,7	–	–	3,3	30,0
9	опыт	31	9,7	16,1	58,1	–	9,7	6,4	22,6
	контроль	29	20,7	27,7	41,4	3,4	3,4	3,4	24,1
12	опыт	33	–	6,1	6,1	–	78,8	9,0	21,2
	контроль	32	9,4	12,5	62,5	6,2	–	9,4	31,3
18	опыт	34	–	5,9	–	5,9	35,3	52,9	11,8
	контроль	31	6,5	–	22,6	22,7	25,6	22,6	22,6
24	опыт	41	–	2,4	7,3	2,4	19,5	68,4	26,8
	контроль	37	2,7	2,7	16,2	2,7	51,4	24,3	43,2

Через 3 часа культивирования число клеток на стадии диплотены в опытной и контрольной группах составляло 80,0 и 85,5 % соответственно, что указывает на торможение процесса мейоза. При этом доля ооцитов с хромосомными нарушениями в этих группах была примерно одинаковой. При увеличении времени культивирования до 6 часов в опытной группе 81,2 % ооцитов реиницировали мейоз и доля клеток с хромосомными нарушениями составила 28,1 %. В течение этого времени в контрольной группе у 50% ооцитов наблюдались мейотические преобразования хромосом. Через 9 часов культивирования в среде с добавлением EGF более половины ооцитов достигли стадии метафаза I (58,1 %), а через 12 часов отмечен синхронный выход клеток на стадии телофаза (78,8 %).

В условиях более продолжительного культивирования, с эпидермальным фактором роста (18 часов), более половины ооцитов достигло стадии метафаза II, а через 24 часа 87,9% ооцитов находилось на завершающих стадиях развития (телофаза-метафаза II), тогда как в контрольной группе – 75,7 %. В контроле обнаружено большое число ооцитов с хромосомными нарушениями (43,2 %), в то время как в опыте их доля продолжа-

ла оставаться довольно низкой – на уровне исходной популяции ооцитов.

Таким образом, использование эпидермального фактора роста в среде для культивирования в концентрации 200 нг/мл способствует созреванию 68,4 % ооцитов коров до стадии метафаза II в течение 24 часов. Небольшое (26,8 %) по сравнению с контролем (43,2 %) число хромосомных нарушений также свидетельствует о положительном эффекте эпидермального фактора роста.

Существует еще один способ действия факторов роста, который получил название интракринального [16]. Факторы роста при этом не секретируются и не нуждаются в поверхностных рецепторах, опосредующих их активность. Они остаются внутри клетки и действуют в качестве посредников, регулируя ее функции. Инсулиноподобный фактор роста (IGF) не относится к панкреатическим гормонам, но, тем не менее, близок к инсулину по структуре и функции. IGF представляет собой одноцепочечный полипептид, состоящий из 70 аминокислот. Для начала определяли способность ооцитов к реинициации мейоза культивируемых с добавлением IGF через 18 часов культивирования (таблица 3).

Таблица 3

Влияние концентрации инсулиноподобного фактора роста на развитие ооцитов коров

Группа	Концентрация IGF, нг/мл	Кол-во ооцитов, n	Доля ооцитов на стадиях, %						Доля ооцитов с нарушениями хромосом, %
			диплотены	диакинеза	метафаза I	анафаза	телофаза	метафаза II	
I	100	34	11,8	11,8	11,8	5,8	29,4	29,4	17,7
II	150	39	7,7	10,3	5,1	12,8	30,8	33,3	18,0
III	200	28	3,6	3,6	10,7	14,3	32,1	35,7	17,9
IV	250	30	-	6,6	10,1	13,3	33,4	36,6	13,3
V	300	31	9,7	3,1	9,7	12,9	32,3	32,3	16,1
VI	0-контроль	28	7,1	3,6	14,3	25,0	28,6	21,4	25,6

Так, в контрольной группе, не содержащей инсулиноподобный фактор роста, доля ооцитов на завершающих стадиях мейоза (телофаза-метафаза II) составила 50,0 %, при этом 25,6 % ооцитов имели хромосомные нарушения в виде слипания, диспирализации, фрагментации или элиминации. При использовании IGF в концентрации 100 нг/мл инициация мейоза наступила у 88,2 % ооцитов, а завершающих стадий развития достигало уже 58,8 % клеток, при этом доля ооцитов с нарушениями хромосом уменьшилась на 7,9 %.

Увеличение концентрации инсулиноподобного фактора роста до 150 нг/мл позволило увеличить долю созревших ооцитов до 92,3 %, однако увеличилось и количество ооцитов с вышеуказанными нарушениями. Увеличение концентрации IGF до 250 нг/мл позволило максимально увеличить долю созревших ооцитов (до 100 %) и снизить долю ооцитов с нарушениями хромосом до

13,3 %, что на 12,3 % ниже, чем в контрольной группе, при этом завершающих стадий мейоза уже достигало 70,0 % клеток. При дальнейшем возрастании концентрации до 300 нг/мл количество нормально созревших ооцитов находилось практически на одном уровне (90,3 %), а доля дегенерированных ооцитов увеличилась до 16,1 %.

Таким образом, диапазон концентрации инсулиноподобного фактора роста 250-300 нг/мл был оптимальным для созревания ооцитов, так как в данных условиях 90,3-100 % ооцитов инициировали мейоз, а доля ооцитов с нарушениями хромосом составляла 13,3-16,1 %, что на 12,3-9,5 % ниже контрольных показателей.

На следующем этапе исследований была изучена динамика созревания ооцитов с добавлением инсулиноподобного фактора роста в концентрации 250 нг/мл (таблица 4).

Таблица 4

Динамика созревания ооцитов с добавлением инсулиноподобного фактора роста

Время культивирования, ч	Группы	Кол-во ооцитов, п	Доля ооцитов на стадиях, %						Доля ооцитов с нарушениями хромосом, %
			диплотены	диакинеза	метафазы I	анафазы	телофазы	метафазы II	
3	опыт	39	79,5	15,4	5,1	–	–	–	25,6
	контроль	43	86,1	11,6	2,3	–	–	–	27,9
6	опыт	28	25,0	64,3	10,7	–	–	–	17,9
	контроль	32	50,0	40,6	6,3	3,1	–	–	25,0
9	опыт	29	13,9	17,2	44,8	13,8	6,9	3,4	27,6
	контроль	38	23,6	29,0	39,5	5,3	2,6	–	18,4
12	опыт	34	2,9	11,8	23,5	8,8	41,2	11,8	17,7
	контроль	26	11,5	15,4	34,6	7,7	15,4	15,4	26,9
18	опыт	41	–	7,3	9,7	12,2	34,2	36,6	17,1
	контроль	24	8,3	4,2	12,5	25,0	29,2	20,8	29,2
24	опыт	31	–	3,2	–	6,5	22,6	67,7	22,6
	контроль	25	8,0	4,0	12,0	8,0	32,0	36,0	32,0

Через 3 часа культивирования стадии диплотены достигли 86,1 % ооцитов в контрольной группе, что на 6,6 % превышало опытную, однако в опытной группе уже 15,4 % клеток достигло стадии диакинеза и 5,1 % – метафазы I.

Через 6 часов до стадии диакинеза в опытной группе созрело 64,3 % ооцитов, что на 23,7 % выше контрольных показателей. Анализ созревания ооцитов после 9-часового культивирования показал, что в опытной группе уже 3,4 % ооцитов достигли стадии метафаза II, а стадии анафаза – 13,8 % и стадии телофаза – 6,9 %, что на 8,5 и 4,3 % выше, чем в контроле. В контрольной группе на данное время 23,6 и 29,0 % ооцитов остались на стадии диплотена-диакинеза. После 12-часового культивирования 53,0 % ооцитов опытной находилось на стадии телофаза-метафаза II, что превышало результаты контрольной группы на 22,2 %. Количество ооцитов с дегенерированными хромосомами в опыте было на 9,2 % меньше чем в контроле. Через 24 часа созревания стадии оплодотворения достигли 90,3 % ооцитов опытной группы, против 68,0 % – в контроле. Доля ооцитов

с нарушениями хромосом при этом в опыте составила 22,6 %, что на 9,4 % ниже, чем в контрольной группе.

Выводы. 1. Использование эпидермального фактора роста в концентрации 200 нг/мл в среде для культивирования способствует созреванию 68,4 % ооцитов коров до стадии метафаза II в течение 24 часов. Небольшое (26,8 %) по сравнению с контролем (43,2 %) число хромосомных нарушений свидетельствует о положительном эффекте эпидермального фактора роста.

2. При культивировании ооцитов в среде, содержащей инсулиноподобный фактор роста в концентрации 250 нг/мл в течение 24 часов стадии метафаза II достигли 67,7 % клеток, при этом доля ооцитов с нарушениями хромосом, в сравнении с контролем, снизилась на 9,4 %.

Перспективы дальнейших исследований. Эпидермальный и инсулиноподобный факторы роста будут использованы для разработки эффективных систем культивирования ооцитов крупного рогатого скота с целью дальнейшего их использования для экстракорпорального оплодотворения.

Список использованной литературы:

1. Applewhile, A. In vitro culture of bovine embryos in MB MOC and CR2 / A. Applewhile, M. Westhusin // *Theriogenology*. - 1997. – Vol. 3, № 3. – P. 243-247.
2. Lim, J. Culture of the bovine embryos in a dynamic culture system: effect of bovine oviduct epithelial cells on the development of 8-cell embryos to the blastocyst stage / J. Lim, B. Reggio, R. Godke // *Theriogenology*. – 1996. - Vol. 45, № 1. - P. 102-106.
3. Fukui, Y. Effect of sera, hormones and granulosa cells added to culture medium for in vitro maturation, fertilization, cleavage and development of bovine oocytes / Y. Fukui, H. Ono // *J. Reprod. Fert.* - 1989. – № 86. – P. 501-506.
4. The effects of amanitin and cycloheximide on nuclear progression protein synthesis and phosphorylation during bovine maturation in vitro / P. M. Kastrop [et al.] // *Mol. Reprod. Dev.* – 1991. – № 28. – P. 249-254.
5. Thompson, J. Analysis of culture systems for bovine in vitro embryo production reported in abstracts of proceedings of the International Embryo Transfer Society / J. Thompson, D. Duganzich // *Theriogenology*. – 1996. – Vol. 45. – P.195.
6. Growth Factors and Cancer / A. S. Goustin etc. // *Cancer Research*. – 1986. – Vol. 46, N 3. – P. 1015-1029.
7. Scatter factor is a fibroblast-derived modulator of epithelial cell mobility / M. Stoker [etc.] // *Nature*. – 1987. – Vol. 327. – P. 239-242.
8. Surveyor, G. A. Localization of connective tissue growth factor during the period of embryo implantation in the mouse / G. A. Surveyor, A. K. Wilson, D. R. Brigstock // *Biol. Reprod.* - 1998. – Vol. 59(5). – P. 1207-1213.
9. Deuel, T. F. Polypeptide growth factors: roles in normal and abnormal cell growth / T. F. Deuel // *Annu. Rev. Cell Biol.* – 1987. – Vol. 3. – P. 443-492.
10. Данилов, П. К. Общая и медицинская эмбриология / П. К. Данилов, Т. Г. Боровая. – СПб : СпецЛит, 2003. – 231 с.
11. Insulin-Like Growth Factor-1 Regulates the Expression of Luteinizing Hormone Receptor and Steroid Production in Bovine Granulosa Cells / A. Rawan [etc.] // *Reprod. Domest. Anim.* - 2015. - P. 1-9
12. Long-term in vitro culture of ovarian cortical tissue in goats: effects of FSH and IGF-I on preantral follicular development and FSH and IGF-I receptor mRNA expression / D. M. Magalhães-Padilha [etc.] // *Cell Tissue Res.* - 2012. - Vol. 350. - P. 503–511.
13. Growth and antrum formation of bovine preantral follicles in long-term culture in vitro / C. G. Gutierrez [etc.] // *Biol. Reprod.* - 2000. - Vol. 62. - P. 1322–1328.
14. Усовершенствованная технология получения ранних зародышей вне организма для ускоренного размножения и сохранения высокоценных животных в скотоводстве : мет. рек. / А. И. Ганджа [и др.] ; Министерство с.-х. и продовольствия Респ. Беларусь, НАН Республики Беларусь. – Жодино, 2005. – 35 с.
15. Tarkowski, A. An air-drying method for chromosomal preparation from mouse eggs / A. Tarkowski // *Cytogenetic.* – 1966. – Vol. 1. – P. 394-400.
16. Logan, A. Intracrine regulation at the nucleus - a further mechanism growth factor activity? / A. Logan // *J. Endocr.* – 1990. – Vol. 125. – P. 339-343.

REFERENCES

1. Applewhile, A., M. Westhusin. 1997. In vitro culture of bovine embryos in MB MOC and CR2. *Theriogenology*. 3(3):243-247.
2. Lim, J., B. Reggio, R. Godke. 1996. Culture of the bovine embryos in a dynamic culture system: effect of bovine oviduct epithelial cells on the development of 8-cell embryos to the blastocyst stage. *Theriogenology*. 45(1):102-106.
3. Fukui, Y., H. Ono. 1989. Effect of sera, hormones and granulosa cells added to culture medium for in vitro maturation, fertilization, cleavage and development of bovine oocytes. *J. Reprod. Fert.* 86:501-506.
4. Kastrop, P. M., S. C. Hulshof, M. M. Bevers, O. H. J. Destree and T. A. M. Kruij. 1991. The effects of amanitin and cycloheximide on nuclear progression protein synthesis and phosphorylation during bovine maturation in vitro. *Mol. Reprod. Dev.* 28:249-254.
5. Thompson, J., D. Duganzich. 1996. Analysis of culture systems for bovine in vitro embryo production reported in abstracts of proceedings of the International Embryo Transfer Society. *Theriogenology*. 45:195.
6. Goustin, A. S., E. B. Leof, G. D. Shipley and H. L. Moses. 1986. Growth Factors and Cancer. *Cancer Research*. 46(3):1015-1029.
7. Stoker, M., E. Gherardi, M. Perryman und J. Gray. 1987. Scatter factor is a fibroblast-derived modulator of epithelial cell mobility. *Nature*. 327:239-242.
8. Surveyor, G. A., A. K. Wilson and D. R. Brigstock. 1998. Localization of connective tissue growth factor during the period of embryo implantation in the mouse. *Biol. Reprod.* 59(5):1207-1213.

9. Deuel, T. F. 1987. Polypeptide growth factors: roles in normal and abnormal cell growth. *Annu. Rev. Cell Biol.* 3:443-492.
10. Danilov, R. K., T. G. Borovaja. 2003. General and medical embryology = Obsshaja i medicinskaja jemбриologija. St. Petersburg : SpetsLit, 231 (in Russian)
11. Rawan, A., S. Yoshioka, H. Abe and T. Acosta. 2015. Insulin-Like Growth Factor-1 Regulates the Expression of Luteinizing Hormone Receptor and Steroid Production in Bovine Granulosa Cells. *Reprod. Domest. Anim.* 1-9
12. Magalhães-Padilha, D. M., G. R. Fonseca, K. T. Haag, A. Wischral, M. O. Gastal, K. L. Jones, J. Geisler-Lee, J. R. Figueiredo and E. L. Gastal. 2012. Long-term in vitro culture of ovarian cortical tissue in goats: effects of FSH and IGF-I on preantral follicular development and FSH and IGF-I receptor mRNA expression. *Cell Tissue Res.* 350:503–511.
13. Gutierrez, C. G., J. H. Ralph, E. E. Telfer, I. Wilmut and R. Webb. 2000. Growth and antrum formation of bovine preantral follicles in long-term culture in vitro. *Biol. Reprod.* 62:1322–1328.
14. Gandzha, A. I. 2005. Improved technology for obtaining early embryos outside the body for accelerated reproduction and conservation of high-value animals in cattle breeding = Uovershenstvovannaja tehnologija poluchenija rannih zarodyshej вне организма dlja uskorennogo razmnozhenija i sohraneniya vysokocennyh zhivotnyh v skotovodstve : Methodical recommendations. *Zhodino*, 35 (in Russian).
15. Tarkowski, A. 1966. An air-drying method for chromosomal preparation from mouse eggs. *Cytogenetic.* 1:394-400.
16. Logan, A. 1990. Intracrine regulation at the nucleus - a further mechanism growth factor activity? *J. Endocr.* 125:339-343.

Кириллова И.В., Ганджа А.И., Симоненко В.П., Леткевич Л.Л., Курак О.П., Журина Н.В., Ковальчук М.А. ВЛИЯНИЕ ПОЛИПЕПТИДНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Изучено влияние полипептидных факторов роста на уровень созревания ооцитов крупного рогатого скота. Установлено, что использование эпидермального фактора роста в среде для культивирования в концентрации 200 нг/мл в течение 24 часов способствует созреванию 68,4 % ооцитов коров до стадии метафаза II, небольшое (26,8 %) по сравнению с контролем (43,2 %) число хромосомных нарушений свидетельствует о положительном эффекте данного фактора роста. При использовании инсулиноподобного фактора роста в концентрации 250 нг/мл – 67,7 % клеток достигают стадии метафаза II, доля ооцитов с нарушениями хромосом снижается на 9,4 % по сравнению с контролем.

Ключевые слова: ооцит-кумулюсный комплекс, созревание, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста.

Kirilova I.V., Gandja A.I., Simonenko V.P., Letekovich L.L., Kurak O.P., Zhurina N.V., Kovalchuk M.A. EFFECT OF POLYPEPTIDE FACTORS OF GROWTH ON EFFICIENCY OF CATTLE OOCYTES MATURATION

The effect of polypeptide growth factors on the level of cattle oocytes maturation was studied. It was determined that the use of epidermal growth factor in a culture medium at concentration of 200 ng/ml for 24 hours promotes maturation of 68.4% of cows oocytes to the stage of metaphase II, small (26.8%), compared to control (43.2%), number of chromosomal abnormalities indicates the positive effect of this growth factor. When using insulin-like growth factor at concentration of 250 ng/ml - 67.7% of the cells reach the metaphase II stage, the number of oocytes with chromosomal abnormalities decreases by 9.4% compared to the control one.

Key words: oocyte-cumulus complex, maturation, epidermal growth factor, insulin-like growth factor.

Дата поступления в редакцию: 15.04.2017 г.

Рецензенты: доктор с.-х. наук, М. А. Горбуков

доктор с.-х. наук, доцент Р. И. Шейко