

УДК 591.392

# МЕЙОТИЧНЕ ДОЗРІВАННЯ ООЦИТІВ МИШЕЙ ЗА ВАРІАЦІЙ ВМІСТУ ПІРУВАТУ ТА ОБ'ЄМУ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ КРАПЛІ

I. В. Лобачова, зав. лабораторії біології відтворення с.-г. тварин  
LIV-post@ukr.net

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова «Асканія-Нова», смт Асканія-Нова

Піруват є основним енергетичним субстратом для ооцитів та ранніх зародків ссавців. Для визначення оптимальних умов культивування досліджували вплив різних концентрацій пірувату та варіацій об'єму культуральної краплі на мейотичне дозрівання ооцитів лабораторних мишей *in vitro*. Середовища компонували на основі розчину SOF з неорганічними солями за Н. R. Tervit (1972), доповненому бичачим сироватковим альбуміном (3 мг/мл, A9647, «Sigma»), глутаміном (0,1 мг/мл, «Реахим») та сумішами мінімальних (MEM, M7145, «Sigma») і базових (BME, B6766, «Sigma») амінокислот в асортименті за Іглом (кожну додавали у кількості 1 % за об'ємом). Вміст пірувату становив 0, 0,03 або 0,3 мг/мл. Інших енергетичних речовин та будь-яких гормонів не додавали. Ооцит-кумулясні комплекси оцінювали за станом цитоплазми та наявністю кумулюсних клітин і ділили на 2 групи: 1 — I і II, 2 — VI і IVKK категорії разом. До I категорії відносили ооцити з багатопаровою, рівно окресленою *corona radiata*. II категорію склали ооцити з 3–4 непереривними шарами кумулюсних клітин. IV становили повністю оголені, а IVKK — ооцити з оголеною понад 60 % площі прозорої оболонки. Комплекси з темними включеннями у цитоплазмі або нерівномірною конденсацією клітин кумулюсу не використовували. Культивування здійснювали в герметично зачиненому ексікаторі з 5–10 %-м вмістом вуглекислого газу в повітрі. Тривалість культивування становила 17 год.

За відсутності пірувату та об'єму культуральної краплі 0,5 мл жоден із ооцитів далі стадії метафаза-1 не просунувся. При зменшенні об'єму до 0,1 мл біля 20 % ооцитів з кумулюсом досягли M2-стадії, а серед оголених зросла частка клітин, хромосоми яких утворили відокремлені біваленти.

Внесення пірувату у кількості 0,03 мг/мл позитивно вплинуло на розвиток ооцитів усіх категорій. Позитивний ефект був сильнішим при об'ємі краплі 0,1 мл. Збільшення концентрації до 0,3 мг/мл сприяло ще значнішому зростанню частки мейотично зрілих ооцитів, але, як і в попередніх варіантах, ефект був відчутнішим при малих об'ємах краплі. Слід відмітити, що з підвищенням концентрації пірувату до 0,3 мг/мл відмічено яйцеклітини, в яких виділене полярне тіло за розмірами майже не поступалось цитоплазмі. Останнє свідчить про можливість порушення процесу поділу цитоплазми ооцитів високими дозами пірувату.

Отже, внесення пірувату в культуральне середовище позитивно впливає на мейотичне дозрівання ооцитів мишей *in vitro*. Цей вплив проявляє залежність від об'єму культуральної краплі. Слід відмітити, що при концентрації пірувату 0,03 мг/мл, яка наближена до його рівня у фолікулярній рідині мишей, навіть за достатньої загальної кількості цієї речовини у краплі (за рахунок збільшення об'єму останньої), повноцінний розвиток значної частки ооцитів не підтримується. Це свідчить про те, що головним чинником виступає не загальна кількість пірувату у краплі, а створюваний ним парціальний тиск.

Результати дослідів підтвердили існування аутокринного механізму підсилення розвитку ооцитів, прояв якого збільшується зі зменшенням об'єму культуральної краплі. При цьому «ефект самопідсилення», притаманний як ооцитам з кумулюсом, так і оголеним, і його прояв певною мірою не залежить від наявності пірувату у середовищі.

Таблиця

## Результати мейотичного дозрівання ооцитів мишей у безгормональному середовищі SOFaa, доповненому піруватом

Категорії ооцитів	Вміст пірувату, мг/мл	N/n	Ооцитів на краплю, шт.	Частка ооцитів з хромосомами на стадії, %			
				ДД–ДФ	Дк–М1	А–Т	М2
об'єм краплі 0,1 мл							
I, II	0,0	3/34	11±1	31,0±20,04 <sup>a,b</sup>	44,4±6,81 <sup>a</sup>	4,2±5,10 <sup>a</sup>	20,4±10,50 <sup>a,c</sup>
I, II	0,03	3/64	21±3	6,2±3,80 <sup>a,c</sup>	35,9±7,17 <sup>a,b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	57,9±3,81 <sup>b</sup>
I, II	0,3	3/52	17±2	0,0 <sup>a</sup>	19,6±9,82 <sup>a,b</sup>	7,0±4,33 <sup>a</sup>	73,3±13,90 <sup>b</sup>
IV, IV КК	0,0	3/47	12±1	83,7±11,79 <sup>b</sup>	16,2±11,80 <sup>a,b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
IV, IV КК	0,03	3/49	16±6	18,0±4,33 <sup>c</sup>	39,4±6,90 <sup>a,b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	42,6±6,92 <sup>b,c</sup>
IV, IV КК	0,3	3/40	13±4	15,5±4,13 <sup>c</sup>	11,6±8,32 <sup>b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	73,0±8,93 <sup>b</sup>
об'єм краплі 0,5 мл							
I, II	0,0	3/32	11±1	70,4±12,63 <sup>a</sup>	29,6±12,63 <sup>a,b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
I, II	0,03	3/23	8±1	0,0 <sup>b</sup>	62,6±24,08 <sup>a,b</sup>	5,6±6,81 <sup>a</sup>	31,8±19,55 <sup>a,b</sup>
I, II	0,3	3/24	8±1	8,3±5,10 <sup>b</sup>	26,4±7,41 <sup>a,b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	65,3±11,91 <sup>b</sup>
IV, IVКК	0,0	3/30	10±0	96,3±4,54 <sup>a</sup>	3,7±4,54 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
IV, IV КК	0,03	3/43	14±1	4,3±2,64 <sup>b</sup>	53,9±13,88 <sup>b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	41,8±13,11 <sup>b</sup>
IV, IV КК	0,3	3/39	13±1	17,2±11,80 <sup>b</sup>	35,6±7,24 <sup>b</sup>	0,0 <sup>a</sup>	47,2±4,68 <sup>b</sup>

Примітка: N — кількість повторів, n — кількість культивованих ооцитів. ДД — дифузна диплотена, ДФ — фібрилярна диплотена, Дк — діакінез, M1 — метафаза-1, A — анафаза, T — телофаза, M2 — метафаза-2