

УДК 591.392

МОДИФІКАЦІЯ ГЛЮКОЗОЮ ВПЛИВУ ГОНАДОТРОПІНІВ НА МЕЙОТИЧНЕ ДОЗРІВАННЯ ООЦИТІВ МИШЕЙ *IN VITRO*

I. В. Лобачова, зав. лабораторії біології відтворення с.-г. тварин

LIV-post@ukr.net

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

Визначали особливості впливу фолікулостимулюючого (ФСГ, F8174, «Sigma») та лютеїнізуючого (ЛГ, C1063, «Sigma») гормонів поодиночі та разом на мейотичне дозрівання ооцитів лабораторних мишей *in vitro* у розчинах з різною концентрацією глюкози. 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). Концентрація глюкози становила 0, 0,1 або 1,0 мг/мл. Інших енергетичних речовин та гормонів не додавали. Гонадотропіни вносили в однаковій концентрації 10 мкг/мл. Використовували лише ооцити, оточені кількома неперервними шарами кумулюсних клітин, без ознак дегенерації в цитоплазмі та кумулюсі. Культивування здійснювали в герметично зачиненому ексікаторі з 5–10 % вмістом вуглекислого газу в повітрі. Тривалість культивування становила 17 год. Для запобігання прояву «ефекту самопідсилення» об'єм культуральної краплі становив 0,5 мл.

У варіанті без гонадотропінів (дослід 1) позитивний ефект глюкози проявився лише при концентрації 1 мг/мл — знизилась частка ооцитів, хромосоми яких зупинились на стадії диплотени, та зросла кількість ооцитів на стадії метафаза-2. Відмітимо, що навіть за відсутності енергетичних речовин та гормонів хромосоми частки ооцитів проявляють здатність ініціювати мейоз та утворити відокремлені біваленти.

Таблиця

Результати мейотичного дозрівання ооцитів мишей за доповнення середовищ гонадотропінами та глюкозою

Вміст глюкози, мг/мл	N/n	Ооцитів на краплю, шт.	Частка ооцитів з хромосомами на стадії, %			
			ДД–ДФ	Дк–М1	А–Т	М2
дослід 1, без гормонів						
0,0	3/32	11±1	70,4±12,63 ^a	29,6±12,63 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
0,1	3/29	10±1	81,5±16,35 ^a	14,8±12,0 ^a	3,7±4,54 ^a	0,0 ^a
1,0	3/32	11±1	31,5±13,25 ^a	34,4±3,60 ^a	3,3±4,08 ^a	30,7±11,82 ^a
дослід 2, ФСГ 10 мкг/мл						
0,0	3/28	9±1	100,0±0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
0,1	3/30	10±1	22,2±15,71 ^b	50,0±7,86 ^b	0,0 ^a	27,8±7,86 ^b
1,0	3/30	10±1	16,7±14,72 ^b	26,7±16,33 ^{a,b}	6,7±8,16 ^a	50,0±18,71 ^{a,b}
дослід 3, ЛГ 10 мкг/мл						
0,0	3/27	9±1	59,3±11,34 ^a	22,0±6,92 ^{a,c}	0,0 ^a	18,7±4,97 ^a
0,1	3/30	10±0	30,0±7,07 ^a	63,3±10,80 ^b	0,0 ^a	6,7±8,16 ^a
1,0	3/32	11±1	24,4±8,92 ^a	41,9±9,11 ^{b,c}	0,0 ^a	33,7±14,28 ^a
дослід 4, ФСГ 10 мкг/мл і ЛГ 10 мкг/мл						
0,0	3/30	10±0	56,7±16,33 ^a	30,0±18,71 ^a	0,0 ^a	13,3±4,08 ^a
0,1	3/30	10±0	21,5±15,74 ^a	43,0±8,07 ^a	0,0 ^a	35,6±8,31 ^{a,b}
1,0	3/35	9±1	13,0±8,18 ^a	22,6±14,02 ^a	0,0 ^a	64,5±6,39 ^b

Примітки: N — кількість повторів, n — кількість культивованих ооцитів. ДД — дифузна диплотена, ДФ — фібрилярна диплотена, Дк — діакінез, М1 — метафаза-1, А — анафаза, Т — телофаза, М2 — метафаза-2.

При додаванні ФСГ (дослід 2) за відсутності глюкози ініціація мейозу в ооцитах повністю інгібувалась. Внесення глюкози обернуло негативний вплив ФСГ на позитивний. Ефект глюкози прямо залежав від її дози.

Внесення тільки ЛГ (дослід 3) посилювало ініціацію мейозу та сприяло просуванню хромосом певної частки ооцитів до стадії метафаза-2. Додаткове введення глюкози незначно збільшувало позитивний вплив гормону на ініціацію мейозу та показник зрілих ооцитів.

При сумісному додаванні ФСГ і ХГ (дослід 4) за відсутності глюкози розподіл хромосом після процедури дозрівання був схожим з результатами дослідів 3, а за наявності — з дослідом 2.

Результати дослідів свідчать, що ЛГ відіграє ведучу роль в ініціюванні мейозу, але незначну — в подальшій його підтримці. Цей вплив ЛГ не проявляє значної залежності від присутності глюкози. Вплив ФСГ, навпаки, дуже залежить від наявності моносахариду. Синергізм дії ФСГ і глюкози добре проявився експансією кумулюсу, яку не фіксували при додаванні лише глюкози, або лише ФСГ, або лише ФСГ та пірувату чи лактату, або лише ЛГ та будь-якої енергетичної речовини.

Таким чином, глюкоза дозалежно модифікує вплив гонадотропінів на мейотичне дозрівання ооцитів лабораторних мишей *in vitro*.