

## REFERENCES

1. Yablons'kyi, V. A., Khomun, S. P., Kalynovs'kyi, H. M., Kharuta, G. G., Kharenko M. I., Zavrivukha, V. Y., Lubetskyi, V. Y. 2006. *Veterynarnе akusherstvo, hіnekolohiya ta biotekhnolohiya vidtvorennyia tvaryn z osnovamy androlohiyi : pidruchnyk. Vinnytsya : Nova knyha. – Veterinary obstetrics, gynecology and biotechnology of animal andrology with the basics.* Textbook, 592.
2. Kitajima, S. E., Liu J. 2009. Rabbit Biotechnology rabbit genomics, transgenesis, cloning and models / S. E. Kitajima, J. Liu // *World Rabbit Science.* 5(6): 37–48.
3. Live L. B., Choi Y. H., Love C. C. 2003. Effect of ovary storage and oocyte transport method on maturation rate of horse oocytes. *J. Theriogenology.* 59(3-4): 765–774.
4. Notarianni, E. 2011. Reinterpretation of evidence advanced for neo-oogenesis in mammals, in terms of a finite oocyte reserve. *J. Ovarian Research.* 4: 1–20.
5. Peters, H. K., Natty K. P. 1980. The Ovary: A Correlation of Structure and Function in Mammals. In Morphology of the ovary. 1st edition. Great Britain: Granada Publishing, 12–35.
6. Peters, H. K. 1969. The development of the mouse ovary from birth to maturity *Journal of Acta Endocrinologica.* 62: 98–116.
7. Shiomі, M. A. 2009. Rabbit as a model for the study of human diseases. *World Rabbit Science.* 7(1): 49–53.
8. Svensson, E., Markstrom E., Shao R. 2002. Survival factors regulating ovarian apoptosis – dependence on follicle differentiation. *Journal of Reproduction.* 123 (1): 23–30.
9. Tao, Y., Cao C., Zhang M. 2008. Effects of cumulus cells on rabbit oocyte in vitro maturation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 92(4): 438–447.
10. Tarkowski, A. K. 1966. An air – drying method for chromosome preparation from mouse eggs. *J. Cytogenetic.* 5(3): 394–400.
11. Watson, A. J. 2007. Oocyte cytoplasmic maturation: a key mediator of oocyte and embryo developmental competence. *Journal of Animal Science.* 85: 11–13.

УДК 620.3:57.089.3:576.31]:636.4

### ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА НА МОРФОЛОГИЮ И ИНТРАЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ ЛОКАЛИЗАЦИЮ ЛИПИДНЫХ КАПЕЛЬ В ООЦИТАХ СВИНЕЙ

Д. А. НОВИЧКОВА<sup>1</sup>, Т. И. КУЗЬМИНА<sup>1</sup>, О. В. ЩЕРБАК<sup>2</sup>, Н. П. ГАЛАГАН<sup>3</sup>,  
О. А. ЕПИШКО<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных» (Санкт-Петербург – Пушкин, Российская Федерация) prof.kouzmina@mail.ru

<sup>2</sup>Институт разведения и генетики животных имени М.В.Зубца НААН (Чубинское, Украина) ov19792006i@yandex.ru

<sup>3</sup>Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН (Киев, Украина)

<sup>4</sup>УО «Гродненский государственный аграрный университет» (Гродно, Республика Беларусь) dnateh@mail.ru

На основе визуализации флуоресцентным зондом (Nile Red) интрацеллюлярных липидов в ооцитах свиней, завершивших фазу роста *in vivo* или *in vitro*, охарактеризованы морфология и типы распределения липидных гранул в ооцитах до и после культивирования с наночастицами высокодисперсного кремнезема (0,001% ВДК). При культивировании ооцитов, завершивших фазу роста *in vivo*, с ВДК возрастает доля ооцитов с липидными каплями в виде гранул и диффузным типом распределения по сравнению с выше обозначенными показателями у ооцитов других исследованных групп. Результаты экспериментов позволяют интерпретировать полученные данные о форме липидов в виде

© Д. А. НОВИЧКОВА, Т. И. КУЗЬМИНА, О. В. ЩЕРБАК,  
Н. П. ГАЛАГАН, О. А. ЕПИШКО, 2017

гранул, як форму, детермінує високі потенції ооцитів к дальньому розвитку і передполагають расценивать трансформирование гранул в кластери при культивировании, як предиктор последующих деструктивных изменений в ооците.

**Ключевые слова:** ооциты свиньи, липидные капли, Nile red, BCB-тест, высокодисперсный кремнезем

## **INFLUENCE OF NANOPARTICLES OF ULTRAFINE SILICA ON MORPHOLOGY AND INTRACYTOPLASMIC LOCALIZATION OF LIPID DROPLETS IN PORCINE OOCYTES**

**D. A. Novichkova, T. I. Kuzmina, O. V. Shcherbak, N. P. Galagan, O. A. Epishko**

<sup>1</sup>*Federal State Budgetary Scientific Institutions «All-Russian Research Institute of Genetics & Breeding Farm Animal (St.Petersburg – Pushkin, Russian Federation) prof.kouzmina@mail.ru*

<sup>2</sup>*Institute of Animal Breeding and Genetics nd.a. M.V.Zubets NAAS (Chubinske, Ukraine) ov19792006i@yandex.ru*

<sup>3</sup>*Chuiko Institute of Surface Chemistry NAS (Kiev, Ukraine)*

<sup>4</sup>*UO «Grodno State Agrarian University» (Grodno, Republic of Belarus) dnateh@mail.ru*

*Based on the visualization by the fluorescent probe (Nile red) of intracellular lipids in porcine oocytes that have finished growth phase in vivo or in vitro morphology and distribution of lipid drops in oocytes before and after cultivation with nanoparticles of ultrafine silica (0.001% of UFS) have been characterized. In the cultivation of oocytes with UFS the level of oocytes that have finished growth phase in vitro with lipid droplets in the form of granules and diffuse type of distribution increases in comparison with the above-indicated markers in the oocytes of the other studied groups. The results of the experiments make it possible to interpret the obtained data on the form of lipids in the form of granules, as a form that determines the high potencies of oocytes for further development and assume that the transformation of granules into clusters during cultivation is considered as a predictor of subsequent destructive changes in the oocyte.*

**Key words:** porcine oocytes, lipid droplets, Nile red, BCB-test, ultrafine silica

## **ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ НА МОРФОЛОГІЮ ТА ІНТРАЦИТОПЛАЗМАТИЧНУ ЛОКАЛІЗАЦІЮ ЛІПІДНИХ КРАПЕЛЬ В ООЦИТАХ СВИНЕЙ**

**Д. А. Новічкова, Т. І. Кузьміна, О. В. Щербак, Н. П. Галаган, О. А. Епішко**

<sup>1</sup>*Федеральна державна бюджетна наукова установа «Всеросійський науко-дослідний інститут генетики та розведення сільськогосподарських тварин» (Санкт-Петербург – Пушкін, Російська Федерація)*

<sup>2</sup>*Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)*

<sup>3</sup>*Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН (Київ, Україна)*

<sup>4</sup>*УО «Гродненський державний аграрний університет» (Гродно, Республіка Білорусь)*

*На основі візуалізації флуоресцентним зондом (Nile Red) інтрацелюлярних ліпідів в ооцитах свиней, які завершили фазу росту in vivo або in vitro, охарактеризовані морфологія і типи розподілу ліпідних гранул в ооцитах до і після культивування з наночастинками ВДК (0,001% високодисперсного кремнезему). За культивування ооцитів, які завершили фазу зростання in vivo, з ВДК підвищується відсоток ооцитів з ліпідними краплями у вигляді гранул і дифузним типом розподілу в порівнянні з вище означеними показниками у ооцитів інших досліджених груп. Результати експериментів дозволяють інтерпретувати отримані дані про форму ліпідів у вигляді гранул, як форму, що детермінує високу потенцію ооцитів до подальшого розвитку і гіпотетично можна оцінити трансформування гранул в кластери за культивування, як предиктор наступних деструктивних змін в ооциті.*

**Ключові слова:** ооцити свині, ліпідні краплі, Nile red, BCB-тест, високодисперсний кремнезем

**Введение.** Интенсификация внедрения инновационных клеточных репродуктивных технологий в практику животноводства, биомедицину, вызывает необходимость совершенствования методов экстракорпорального созревания донорских ооцитов, включая модернизацию состава сред для культивирования и оценку качества гамет [1]. Извлеченные из постмортальных яичников ооциты свиней успешно завершают ядерное созревание, однако, показатели их оплодотворяемости значительно ниже, чем у ооцитов, созревших и оплодотворенных *in vivo* [2]. Причины низкого выхода эмбрионов на завершающих стадиях доимплантационного развития исследователи склонны видеть в незавершенности цитоплазматического созревания ооцитов, в процесс которого вовлечены компартменты ооплазмы, в том числе интрацитоплазматические липиды. Наличие большого количества интрацеллюлярных липидов в ооцитах свиней во многом определяет проблемы, связанные с их витрификацией [3]. Липидные капли – динамичные органеллы, которые меняют свою форму, объем и локализацию в ооплазме при созревании гамет. Жирные кислоты в липидных каплях используются для мембранного синтеза, производства сигнальных молекул, модификации белков, выработки энергии [3]. Повышенное содержание липидных капель в цитоплазме женских гамет свиней затрудняет создание эффективных моделей для экстракорпорального созревания нативных и девитрифицированных ооцитов [4]. В то же время, высокие показатели содержания липидов в ооците свиньи, в сравнении с другими видами животных, делают его информативной моделью для понимания значимости липидов и жирных кислот в процессах созревания, оплодотворения и развития доимплантационных эмбрионов [5].

Нанотехнологии в качестве отдельного поля научных знаний сформировались около 25 лет назад. Несомненным достижением нанотехнологий является возможность конструирования структур, универсальных для работы с биообъектами. Уникальность свойств наноразмерного аморфного кремнезема, или высокодисперсного кремнезема (ВДК), обусловлена нанодисперсностью частиц в сочетании с химической активностью поверхности, что проявляется при непосредственном контакте с клеточными мембранами. Ряд свойств нанокремнезёма нашли применение в биологии и медицине. Высокодисперсный кремнезем обладает уникальным комплексом физико-химических и биологических свойств: высокая сорбционная емкость белков, отсутствие аллергенного и токсического воздействия на клетки [6], гидрофильность, способность к агглютинации микроорганизмов, воздействие на биологические объекты при контакте с клеточной мембраной [7]. Ранее в наших исследованиях показано, что внесение в среду культивирования наночастиц ВДК способствует синхронизации ядерно-цитоплазматического созревания ооцита *in vitro*, формированию зигот и дроблению эмбрионов свиней до стадии ранней морулы [6]. Внутриклеточные механизмы воздействия наночастиц ВДК на женские гаметы не выяснены. Учитывая важность интрацеллюлярных липидов, как клеточных компартментов, в формировании яйцеклетки, представляет интерес идентификации эффектов воздействия наночастиц ВДК на морфологию липидных капель и их транслокацию в ооплазме при созревании ооцита *in vitro*. В связи с вышеизложенным, цель настоящего исследования – охарактеризовать эффекты наночастиц высокодисперсного кремнезема на морфологию и локализацию липидных капель, визуализированных флуоресцентным зондом Nile red, в женских гаметах свиней до и после культивирования.

**Материалы и методы исследований.** Объект исследования – ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) свиней породы ландрас в возрасте 6–8 месяцев. ОКК аспирировали из постмортальных яичников. При проведении экспериментов использовали ооциты с гомогенной ооплазмой, равномерной по ширине зоной пеллюцида и окруженные 5–6 и более слоями кумулюса. После визуальной морфологической оценки ОКК подвергали ВСВ-диагностике с целью идентификации функционального состояния ооцита (растущие или завершившие фазу роста). Для этого ОКК отмывали в растворе Дюльбекко с добавлением 0,4% бычьего сывороточного альбумина (А-7888), затем помещали на 90 минут в 13  $\mu$ M раствор ВСВ (В-5388, Sigma), приготовленный на основе Дюльбекко. Выбор концентрации основывался на данных, полученных Egerszegi I. С. с соавторами [8]. После воздействия раствора ВСВ ОКК отмывали в растворе Дюльбекко и, в соответствии с выявленным

эффектом, делили на: VCB<sup>+</sup> – ооциты с окрашенной ооплазмой (завершившие фазу роста *in vivo*) и VCB<sup>-</sup> – неокрашенные ооциты (растущие). Культивирование ОКК контрольной группы проводили в Sage Media Cleavage («Coopersurgical», США) с 5% Serum Protein Substitut («Coopersurgical», США) и 10 М.Е. хорионического гонадотропина человека (Московский эндокринный завод, Российская Федерация). Опытную группу клеток культивировали в контрольной среде, дополненной 0,001% высокодисперсным кремнеземом (Украина, г. Калуш Ивано-Франковской области). Режим культивирования ооцитов свиней соответствовал описанному в методических рекомендациях, разработанных в лаборатории биологии развития ФГБНУ ВНИИГРЖ [9].

Визуализацию липидных гранул осуществляли окрашиванием флуоресцентным зондом Nile red в концентрации 1 mM в среде для культивирования. Для этого ОКК помещали в раствор Nile red и выдерживали 5 минут при комнатной температуре в темноте. Далее клетки отмывали в среде для культивирования. Морфологию липидных капель оценивали с помощью микроскопа Carl Zeiss Axio Imager.A2m (длины волн – Ex / Em = 552/636 nm). Для проведения статистического анализа полученных данных использовали критерий  $\chi^2$ . Данные обрабатывали с помощью статистической программы Sigma Stat. Достоверность различия сравниваемых средних значений оценивали при трех уровнях значимости: P<0,05; P<0,01; P<0,001, для 3-5 независимых экспериментов.

**Результаты исследований.** Липидные капли – энергетический источник, обеспечивающий процессы созревания ооцита, его оплодотворение и раннее развитие эмбрионов [10, 11]. По морфологии липидные капли представлены двумя группами. Первая группа – гранулы, это мелкие, отдельные липидные капли с четкой различимой округлой формой, в диаметре составляющие максимально 10% от диаметра ооцита. Вторая группа – кластеры, крупные липидные шарики с довольно четким очертанием, в диаметре составляющие более 10% от диаметра ооцита. В работе Niu Y. и др. (2015) отмечается, что наличие мелких липидных капель в ооцитах при завершении созревания детерминирует успешное оплодотворение. Количество и тип распределения липидных капель в ооцитах и эмбрионах связывают с компетентностью к развитию ранних эмбрионов до стадии бластоцисты [11]. При вступлении фолликулов в фазу регрессии происходит увеличение объема липидных капель. В ооцитах с признаками дегенерации из атретических фолликулов наблюдаются крупные липидные капли (кластеры). В ооцитах, с положительными качественными морфологическими характеристиками липидные капли представлены в виде гранул [12].

Данные мониторинга ооцитов по морфологии липидных капель представлены на рис. 1. В растущих или завершивших фазу роста *in vivo* ооцитах, хроматин которых находится на стадии диплотены (до культивирования), липиды представлены преимущественно в виде гранул. После 44 часов культивирования в контрольной среде (без ВДК) доли VCB<sup>+</sup> и VCB<sup>-</sup> ооцитов со смешанной формой значительно превысили таковые в некультивированных ооцитах (24% (19/79) против 2% (2/82) и 36% (19/53) против 8% (6/79), соответственно, P<0,01. При этом отмечается достоверное снижение уровня гамет с гранулированной формой липидов. При введении в среду культивирования наночастиц ВДК после 44 часов экспозиции уровень ооцитов с гранулярной формой липидов снижается незначительно в группе VCB<sup>+</sup> ооцитов 98% (80/82) против 90% (54/60). Достоверное снижение доли VCB<sup>-</sup> ооцитов с гранулярной формой до 65% (33/51) в сравнении с VCB<sup>-</sup> ооцитами отмечено в группе VCB<sup>-</sup>, не подвергшихся культивированию (92% (73/79), P<0,01). Соответственно, выявлено достоверное увеличение доли гамет со смешанной формой липидных капель у растущих от 8% (6/79) до 35% (18/51) и завершивших фазу роста от 2% (2/82) до 10% (6/60) ооцитов, (P<0,01).

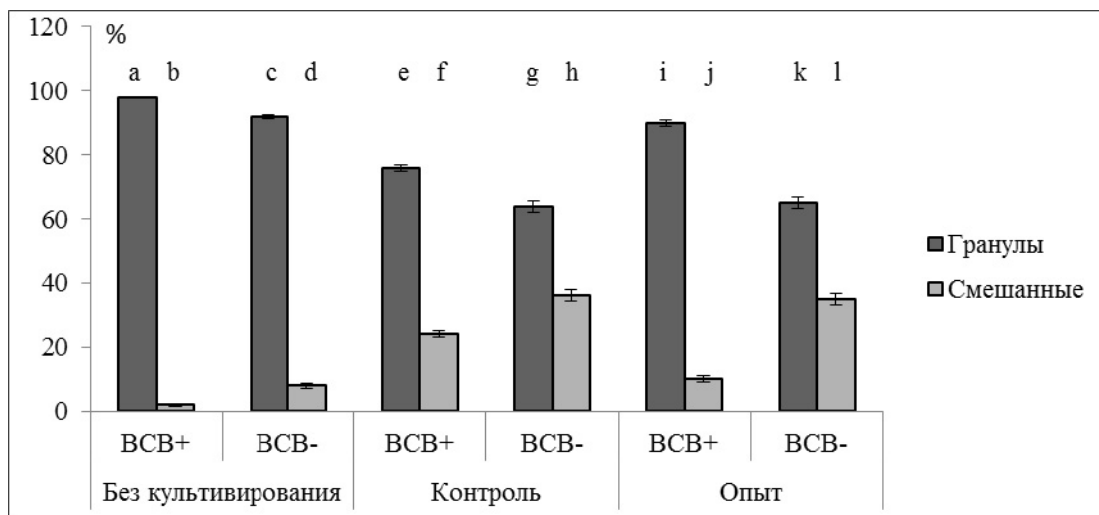


Рис. 1. Морфология липидных капель в ооцитах свиней после 44 часов культивирования (визуализация Nile red, число ооцитов – 394, число повторностей – 3). Контроль – среда Sage Media Cleavage + 5% Serum Protein Substitut + 10 М.Е. ХГЧ. Опыт – среда Sage Media Cleavage + 5% Serum Protein Substitut + 10 М.Е. ХГЧ + 0,001% ВДК. Гранулы – гранулярная форма липидных капель; смешанные – гранулярная и кластерная формы липидных капель. Достоверные различия по критерию  $\chi^2$  - тест: a,e; c,g; e,f; i,k; j,l; b,f; d,h; d,l  $p < 0,01$ ; e,l; f,j  $p < 0,05$ .

В следующей серии экспериментов представлены данные о типах локализации липидных гранул в интактных и прокультивированных с наночастицами ВДК (или в их отсутствии) ооцитах, диагностированных после ВСВ-теста, как растущие или завершившие фазу роста *in vivo*. Анализ локализации липидных гранул, визуализированных флуоресцентным зондом Nile red, проводили в соответствии с классификацией, представленной в работе Ariu F. с соавторами [13]. Визуализированы следующие типы локализации (распределения) липидных гранул: хаотичная (неравномерное расположение по всей ооплазме), диффузная (равномерное расположением липидных капель в цитоплазме) и периферийно-перинуклеарная (периферийное и околоядерное распределение) локализация (рис. 2).

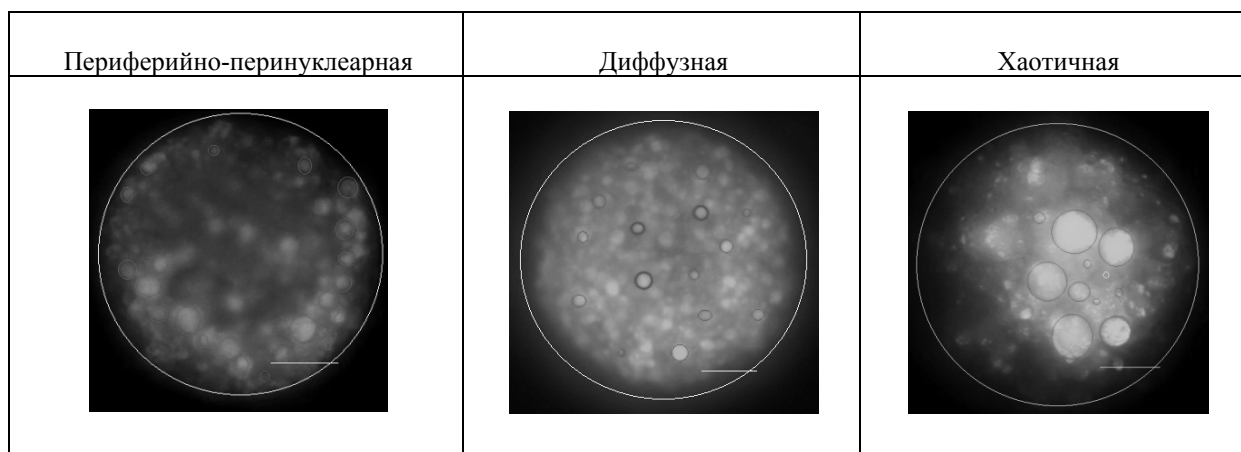


Рис. 2. Типы локализации липидных капель в цитоплазме ооцита. Шкала 150  $\mu\text{m}$ . Увеличение – 10x20.

В наших исследованиях зафиксирована дислокация липидных капель в процессе созревания ооцитов. Последнее согласуется с данными, полученными ранее Sturmeу R. G. и др. 2006 [10]. Выявлено, что до культивирования преобладает диффузное распределение липидных капель в ооплазме, как в BCB<sup>+</sup> [54% (50/93)], так и в BCB<sup>-</sup> [65% (55/85)] ооцитах (рис. 3). Некультивированные клетки отмечены также высокими показателями хаотичного распределения цитоплазматических липидов [26% (22/85) BCB<sup>-</sup> и 39% (36/93) BCB<sup>+</sup>]. После культивирования, в контрольной и в опытной средах отмечалась общая тенденция роста

доли клеток с диффузной локализацией и снижения уровня ооцитов с хаотичной локализацией липидных капель. Процентное количество ооцитов, завершивших фазу роста с равномерным диффузным распределением липидных капель 55% (45/82), превышает уровень растущих ооцитов 33% (19/58) с таким же распределением капель. Добавление наночастиц высокодисперсного кремнезема в среду привело к увеличению процентного показателя (доли) как растущих 52% (26/50), так и завершивших фазу роста 79% (50/63) гамет с диффузным распределением цитоплазматических липидных капель. Добавление ВДК повысило уровень завершивших фазу роста ооцитов с диффузным распределением капель до 79% (50/63), что достоверно превышает долю этой группы клеток, созревших в контрольной среде 55% (45/82),  $P < 0,01$ . При этом ВСВ<sup>+</sup> ооциты, культивированные в опытной среде, имеют больший процент клеток с диффузной локализацией 79% (50/63), относительно некультивированных ооцитов 54% (50/93),  $P < 0,01$ . Напротив, уровень ВСВ<sup>-</sup> ооцитов с диффузным распределением липидных капель, культивированных в контрольной среде 33% (19/58) достоверно снизился относительно доли некультивированных ооцитов 65% (55/85),  $P < 0,01$ . При культивировании в среде с ВДК доля растущих ооцитов с равномерным диффузным распределением липидных капель достоверно превышала уровень ВСВ<sup>-</sup> клеток, созревших в контрольной среде на 20% [52% (26/50) против 33% (19/58),  $P < 0,01$ ].

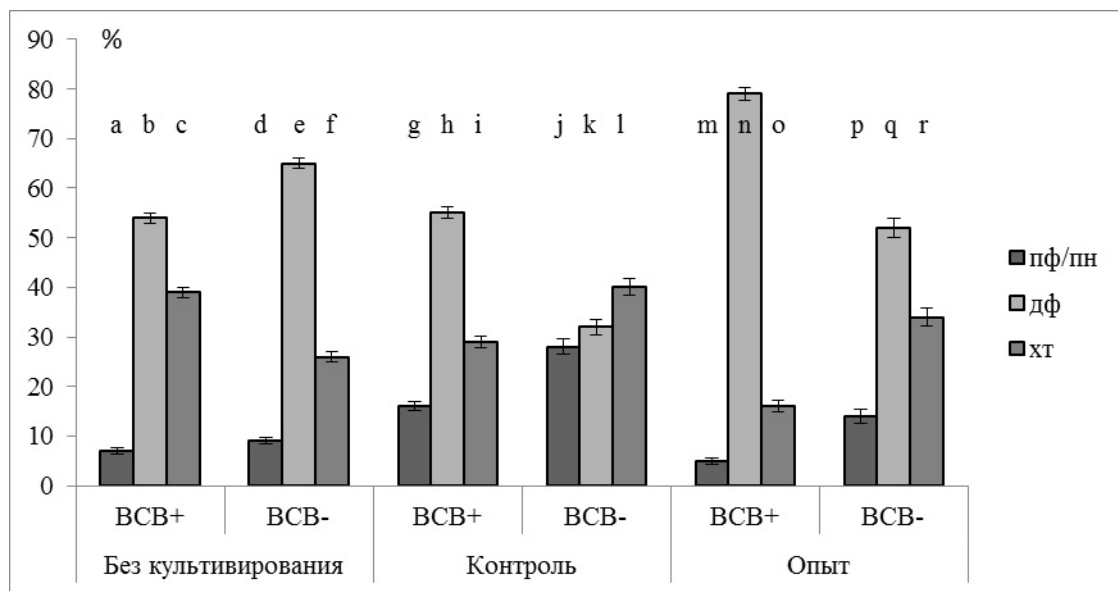


Рис. 3. Локализация липидных капель ооцитов свиней после окраски Nile red (культивирование 44 часа) (всего ооцитов – 466, число повторностей – 3). Пф/пн – периферийно-перинуклеарный, дф- диффузный, хт – хаотичный типы локализации липидных капель. Контроль – среда Sage Media Cleavage + 5% Serum Protein Substitut + 10 М.Е. ХГЧ. Опыт – среда Sage Media Cleavage + 5% Serum Protein Substitut + 10 М.Е. ХГЧ + 0,001% ВДК. Достоверные различия по критерию  $\chi^2$  - тест: b:n; d:j; e:k; h:k; h:n;n;q; c:o; p<0.01; g:m; k;q; p<0.05.

Диффузное и периферийно-перинуклеарное распределение липидных капель в ооцитах способствует более активному участию их во взаимодействии с митохондриями, усиливая тем самым генерацию АТФ через бета-окисление липидов [14]. Поскольку липидные капли тесно взаимосвязаны с другими органеллами клеток, то процесс транспорта липидов от центра к периферии может зависеть от их перемещения [15]. Механизм транспорта липидных капель во время созревания ещё до конца не выявлен. Известно, что связь липидных капель с гладкой эндоплазматической сетью и митохондриями вызывает липолиз на периферии ооцитов. После культивирования цитоплазматическая концентрация кислорода на границе ооцита выше, чем до культивирования [15]. Dadarwal D. и др. (2015) выявили, что липидные капли в ооцитах во время созревания дислоцируются и располагаются в ооплазме равномерно (диффузный тип) [12]. Нами установлено, что после 44 часов культивирования в среде с добавлением ВДК возрастает доля ВСВ<sup>+</sup> ооцитов с диффузной локализацией гранулированных липидных капель. В группе растущих ооцитов, прокультивированных в контрольной среде, отмечен высокий уровень клеток с хаотичной

локализацией липидных капель, тогда как при культивировании в среде с добавлением наночастиц ВДК наблюдается преобладание диффузного распределения капель. Из этого следует, что добавление в среду созревания наночастиц ВДК влияет на трансформацию и локализацию липидных капель в созревающих ооцитах, что, по-видимому, свидетельствует о различиях в показателях липидного метаболизма в ооцитах, тестированных до культивирования, как завершившие фазу роста *in vivo* или *in vitro*.

**Выводы.** С использованием технологии экстракорпорального созревания исследованы эффекты наночастиц высокодисперсного кремнезема на морфологию и локализацию интрацитоплазматических липидов в растущих или завершивших фазу роста *in vivo* ооцитах свиней. Представленные нами ранее результаты, свидетельствуют о положительном влиянии 0,001% высокодисперсного кремнезема на экспансию кумулюсных клеток и показатели ядерного созревания ооцитов свиней [16]. Эти результаты позволяют интерпретировать полученные данные о форме липидов в виде гранул, в завершивших фазу роста ооцитах, прокультивированных с высокодисперсным кремнеземом, как форме, детерминирующей высокие потенции ооцитов к дальнейшему развитию. Результаты экспериментов также предполагают расценивать трансформирование гранул в кластеры при культивировании, как предиктор последующих деструктивных изменений в ооците.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Кузьмина, Т. И. Инновационные в репродукции животных: от фундаментальных исследований к практике / Т. И. Кузьмина, Х. Торнер, Х. Альм / Достижения науки и техники АПК. – 2010. – № 4. – С. 66–67.
2. Кузьмина, Т. И. Моделирование систем созревания ооцитов свиней *in vitro* / Т. И. Кузьмина, Д. А. Новичкова, Н. А. Волкова // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 2. – С. 52–57.
3. Prates, E. G. A Role of Lipid Metabolism during Cumulus-Oocyte Complex Maturation: Impact of Lipid Modulators to Improve Embryo Production / E. G. Prates, J. T. Nunes, R. M. Pereira // Mediators of Inflammation. – 2014. – V. 2014. – P. 11.
4. Fat area and lipid droplet morphology of porcine oocytes during *in vitro* maturation with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid and forskolin / E. G. Prates, C. C. Marques, M. C. Baptista [et al.] // Animal. – 2013. – V. 7. – P. 602–609.
5. Identification of the lipid droplets of immature porcine oocytes during the different stage of folliculogenesis / I. Milaković, Š. Hanuláková, M. Ješeta, D. Knitlová, K. Hanzalová, R. Horský, L. Máchal // Proceedings of International Ph.D. Students Conference. – 2008. – P. 973–980.
6. Застосування наноматеріалу в ембріогенетичній системі *in vitro* отримання ембріонів свиней / А. Б. Зюзюн, О. В. Щербак, О. С. Осипчук, С. І. Ковтун, В. В. Дзіцюк // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2015. – Т.17. – С. 164–168.
7. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / под редакцией академика НАН Украины А. А. Чуйко. – Киев, 2003 – 416 с.
8. Meiotic progression, mitochondrial features and fertilisation characteristics of porcine oocytes with different G6PDH activities / I. Egerszegi, H. Alm, J. Rátky, B. Heleil, K. P. Brüssow, H. Torner // Reprod., Fertil. and Dev. – 2010. – V.22. – P. 830–838.
9. Кузьмина, Т. И. Методы получения эмбрионов свиней *in vitro* / Т. И. Кузьмина, Х. Альм, Х. Торнер // – СПб–Пушкин, 2008 – 36 с.
10. Fluorescence resonance energy transfer analysis of mitochondrial: lipid association in the porcine oocyte / R. G. Sturmey, P. J. O'Toole, H. J. Leese // Reproduction. – 2006. – V.132. – P. 829–837.
11. Niu, Y. Distribution and content of lipid droplets and mitochondria in pig parthenogenetically activated embryos after delipitation / Y. Niu, Ch. Wang, Q. Xiong, X. Yang, D. Chi, P. Li, H. Liu, J. Li, R. Huang // Theriogenology. – 2015. – V. 83. – P.131–138.

12. Dadarwal, D. Organelle reorganization in bovine oocytes during dominant follicle growth and regression / D. Dadarwal, G. P. Adams, P. Hyttel, G. M. Brogliatti, S. Caldwell, J. Singh // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2015. – V.13. – P. 124.
13. Lipid droplet distribution of immature canine oocytes in relation to their size and the reproductive stage / F. Ariu, A. Strina, O. Murrone, L. Falchi, D. Bebbere, S. Ledda, M. T. Zedda, S. Pau, L. Bogliolo // *Animal Science Journal.* – 2016. – V.87. – P.147–150.
14. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development / K. R. Dunning, K. Cashman, D. L. Russell, J. G. Thompson, R. J. Norman, R. L. Robker // *Biol. Reprod.* – 2010. – V.83. P. 909–918.
15. Walther, T. C. Lipid droplets and cellular lipid metabolism / T. C. Walther, R. V. Farese // *Journal review of biochemistry.* – 2012. – V.81. – P. 687–714.
16. . Использование наноматериалов в биотехнологии экстракорпорального созревания донорских ооцитов свиней / Д. А. Новичкова, Т. И. Кузьмина, С. И. Ковтун, Н. П. Галаган // III Международная выставка-конференция «БИОИНДУСТРИЯ 2013», 16-18 октября 2013 г. Санкт-Петербург. – 2013. – С. 31–32.

#### REFERENCES

1. Kuz'mina, T. I., Kh. Torner, and Kh. Al'm. 2010. Innovatsionnye embriotekhnologii v reproduksii zhivotnykh: ot fundamental'nykh issledovaniy k praktike – Innovative embryotechnology in the reproduction of animals: from basic researches to practice. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK – Scientific and technological AIC.* 4:66–67 (in Russian).
2. Kuzmina, T. I., D. A. Novichkova, and N. A. Volkova. 2013. Modelirovanie sistem sozrevaniya ootsitov sviney *in vitro* – Modelling of maturation systems for porcine oocytes *in vitro*. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya – Agricultural Biology.* 2:52–57 (in Russian).
3. Prates, E. G., J. T. Nunes and R. M. Pereira. 2014. A Role of Lipid Metabolism during Cumulus-Oocyte Complex Maturation: Impact of Lipid Modulators to Improve Embryo Production. *Mediators of Inflammation.* 2014:11.
4. Prates, E. G., C. C. Marques, M. C. Baptista, M. I. Vasques, N. Carolino, A. E. M. Horta, R. Charneca, J. T. Nunes and R. M. Pereira. 2013. Fat area and lipid droplet morphology of porcine oocytes during *in vitro* maturation with trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid and forskolin. *Animal.* 7:602–609.
5. Milaković, I., Š. Hanuláková, M. Ješeta, D. Knitlová, K. Hanzalová, R. Horský and L. Máchal. 2008. Identification of the lipid droplets of immature porcine oocytes during the different stage of folliculogenesis. *Proceedings of International Ph.D. Students Conference.*: 973–980.
6. Zuzun, A. B., O. V. Shcherbak, O. S. Osipchuk, S. I. Kovtun and V.V. Dzitsyuk. 2015. Zastosuvannya nanomaterialu v embriogenetichnii sistemi *in vitro* otrimannya embrioniv svinei – The use of nanomaterials in embriohenetichnii system *in vitro* embryos of pigs receiving. *Factors of experimental evolution of organisms.* 17:164–168 (in Ukrainian).
7. Chuyko, A.A. 2003. Meditsinskaya khimiya i klinicheskoe primenenie dioksida kremniya – Medicinal chemistry and clinical application of silica, *pod red. A.A. Chuyko – under red. A.A. Chuyko* Kiev, Naukova dumka, 415 (in Russian).
8. Egerszegi, I., H. Alm, J. Rátky, B. Heleil, K. P. Brüssow, H. Torner. 2010. Meiotic progression, mitochondrial features and fertilisation characteristics of porcine oocytes with different G6PDH activities. *Reproduction, Fertility and Development.* 22:830–838.
9. Kuzmina, T. I., H. Alm and J. Torner. 2008. *Methods for producing of porcine embryos in vitro.* St.-Petersburg–Pushkin, 36 (in Russian).
10. Sturmei, R. G., P. J. O'Toole, H. J. Leese. 2006. Fluorescence resonance energy transfer analysis of mitochondrial: lipid association in the porcine oocyte. *Reproduction.* 32:829–837.
11. Niu, Y., Ch. Wang, Q. Xiong, X. Yang, D. Chi, P. Li, H. Liu, J. Li, R. Huang. 2015. Distribution and content of lipid droplets and mitochondria in pig parthenogenetically activated embryos after delipitation. *Theriogenology.* 83:131–138.



12. Dadarwal, D., G. P. Adams, P. Hyttel, G. M. Brogliatti, S. Caldwell, J. Singh. 2015. Organelle reorganization in bovine oocytes during dominant follicle growth and regression. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 13:124.
13. Ariu, F., A. Strina, O. Murrone, L. Falchi, D. Bebbere, S. Ledda, M. T. Zedda, S. Pau, L. Bogliolo. 2016. Lipid droplet distribution of immature canine oocytes in relation to their size and the reproductive stage. *Animal Science Journal*. 87:147–150.
14. Dunning, K. R., K. Cashman, D. L. Russell, J. G. Thompson, R. J. Norman, R. L. Robker. 2010. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development. *Biology Reproduction*. 83:909–18.
15. Walther, T. C. and R. V. 2012. Faresse Lipid droplets and cellular lipid metabolism. *Journal – Annual review of biochemistry*. 81:687-714.
16. Novichkova, D. A., T. I. Kuzmina, S. I. Kovtun, N. P. Galagan. 2013. Ispol'zovanie nanomaterialov v biotekhnologii extracorporal'nogo sozrevania donorskih oozitov svinei – Use of nanomaterials in biotechnology of extracorporeal maturation of donor oocytes of pigs. *III Mezdunarodnaya vistavka-konferenzia "Bioindustria 2013", 16-18 oktyabrya, Sankt-Peterburg*. 31-32.



УДК 636.2:[57.086.13:591.3:57.086.3]

## ДО ПИТАННЯ УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

С. О. СІДАШОВА<sup>1</sup>, С. І. КОВТУН<sup>2</sup>, В. Ф. СТАХОВСЬКИЙ<sup>2</sup>, А. Б. ЗЮЗЮН<sup>2</sup>

<sup>1</sup>СТОВ «АФ «Петродолинське» (Одеська обл., Україна)

<sup>2</sup>Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)  
[sidashova2013@yandex.ua](mailto:sidashova2013@yandex.ua)

Викладено порівняння результатів роботи з трансплантації розморожених ембріонів телицям за різних методичних підходів до підготовки реципієнтів. При застосуванні мінімізованих доз гормональної стимуляції, з призначенням строків синхронізації відносно пальпаторних даних функціонального стану гонад телиць з попередньою пробіотичною підготовкою (введення препарату «Мультибактерін ветеринарний Bs + La») слизових оболонок репродуктивного тракту. Встановлено суттєво більший (вищий) (на 71,9%) вихід позитивних реципієнтів на день планового трансферу, ніж за протоколом Ovsynch. Крім того, приживлення ембріонів в експериментальній групі вище на 10%, що в цілому, показало більшу ефективність експериментальної схеми підготовки до трансплантації ембріонів з метою швидкого покращення генетичного потенціалу стада шляхом використання телят-трансплантантів.

**Ключові слова:** телиці-реципієнти, кріоконсервовані ембріони, трансплантація, синхронізація, яєчники, жовте тіло, простагландини, пробіотики, нормофлоризація, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*

## THE QUESTION OF IMPROVEMENT TECHNOLOGY TRANSPLANTATION OF CRYOPRESERVED EMBRYOS CATTLE

S. O. Sidashova<sup>1</sup>, S. I. Kovtun<sup>2</sup>, V. F. Stahovskyy<sup>2</sup>, A. B. Zyuzyun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>TOV "AF" Petrodolynske "(Odessa region., Ukraine)

<sup>2</sup>Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M.V.Zubets of NAAS (Chubynske, Ukraine)

© С. О. СІДАШОВА, С. І. КОВТУН,  
В. Ф. СТАХОВСЬКИЙ, А. Б. ЗЮЗЮН, 2017