

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ДЕНУДАЦИИ ООЦИТОВ НА ИХ КОМПЕТЕНЦИЮ К РАЗВИТИЮ

**Ганджа А. И., Леткевич Л. Л., Симоненко В. П., Кириллова И. В.,
Ракович Е. Д., Журина Н. В., Ковальчук М. А.**

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

При проведении интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит (ИКСИ) необходимо искусственно преодолеть все три барьера, которые сперматозоид должен пройти в процессе естественного оплодотворения и обычного экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Поэтому перед проведением процедуры клетки кумулюса и лучистого венца необходимо удалить, чтобы определить зрелость ооцита и выполнить инъекцию сперматозоида.

Денудацию ооцитов выполняют следующими способами: при помощи фермента гиалуронидазы или механически путем пипетирования. Два других барьера, прозрачная оболочка и оолемма, преодолеваются путем прямой инъекции в ооцит. Отбирают качественные ооцит-кумулясные комплексы (ОКК) после созревания, которые соответствуют оценке 5 и 4 балла по шкале морфологической оценки [1].

Проведен анализ морфофункционального состояния трех групп гамет, у которых денудация проведена: 1 – после выделения, 2 – через 5-7 ч и 3 – через 22-24 ч после созревания.

Таблица – Влияние способа денудации ооцит-кумулясных комплексов на их компетенцию к развитию и оплодотворению

Показатели	Продолжительность созревания, ч					
	0		5-7		22-24	
Способ денудации	1*	2*	1*	2*	1*	2*
Получено ооцитов, n	52	64	38	71	65	49
в т. ч. оцененные:						
в 5 баллов, n-%	-	-	2-5,3	8-11,3	14-21,5	12-24,5
в 4 балла, n-%	2-3,8	4-6,3	7-18,4	14-19,7	16-24,6	15-30,6
в 3 балла, n-%	7-13,5	10-15,6	8-21,1	18-25,3	17-26,2	14-28,6
в 2 балла, n-%	43-82,7	50-78,1	21-55,2	31-43,7	18-27,7	8-16,3

Примечание – 1 – механический; 2* – ферментативный*

Результаты денудации непосредственно после извлечения из яичников не зависят от избранного способа. Так, после прохождения процедуры созревания гамет с оценкой 5 баллов не было получено, 4 балла – получено 3,8 и 6,3 %, 3 балла – 13,5 и 15,6 %. Выход непригодных

клеток для клеточных репродуктивных технологий составил 78,1 и 82,7 %. Таким образом, резерв для получения эмбрионов методом ИКСИ для данной группы ооцитов находился на уровне 17,3-21,9 %.

Временной интервал созревания в 5-7 ч до механической и ферментативной очистки от соматических клеток позволяет получить после полноценного созревания 5,3 и 11,3 % ооцитов с 5 баллами, 18,4 и 19,7 % – с 4 баллами, 21,1 и 25,3 % – с 3 баллами, 55,2 и 43,7 % – с 2 баллами. Резерв для получения эмбрионов методом ИКСИ в этой группе находился на уровне 39,5 и 45,0 %, что больше на 22,2 и 23,1 п. п. по сравнению с первой опытной группой (денудация без предварительного созревания). Необходимо отметить некоторое увеличение количественного резерва ооцитов на 5,5 п. п., очищенных ферментативным способом по сравнению с механическим. Этим же способом получено на 6,0 п. п. больше гамет с оценкой 5 баллов и меньше на 11,5 п. п. гамет неудовлетворительного качества в сравнении только с механической очисткой.

Установлено, что прохождение полноценного созревания ооцитокумулюсных комплексов в течение 22-24 ч культивирования до процедуры очистки от клеток кумулюса с последующей денудацией раствором гиалуронидазы в течение 30 с показало оправданность данного способа для выполнения мероприятий интрацитоплазматической инъекции. Ферментативная денудация через 22-24 ч созревания в условиях вне организма способствует получению 24,5 % ооцитов с оценкой 5 баллов, 30,6 % – с оценкой 4 балла, 28,6 % – 3 балла и 16,3 % – 2 балла. Данный способ позволяет получить из выделенного пула ооцитокумулюсных комплексов 83,7 % ооцитов, пригодных для использования в клеточных репродуктивных технологиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морфологическое состояние извлеченных ооцитов коров и критерии их классификации / В. П. Симоненко [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сб. науч. тр. – Горки: БГСХА, 2019. – Вып. 22, ч. 1. – С. 3-8.