
ЗООТЕХНИЯ, БИОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

Особенности транспортировки и созревания *in vitro* ооцит-кумулюсных комплексов крупного рогатого скота

**Валерия Андреевна Макутина[✉], Анна Сергеевна Кривоногова,
Альбина Геннадьевна Исаева, Ирина Михайловна Донник**

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр
Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия

[✉]Автор, ответственный за переписку: makutina_v@rambler.ru

Аннотация

Исследования направлены на оценку и оптимизацию методов транспортировки яичников крупного рогатого скота, а также методов созревания ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК) для последующего экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и культивирования эмбрионов до стадии бластоцисты *in vitro*. Апробированы температурные режимы транспортировки яичников при температуре +4°C и +37,5°C, а также 3 системы *in vitro* созревания – *in vitro* maturation (IVM) ооцитов крупного рогатого скота с использованием питательных сред промышленного производства для культивирования предимплантационных эмбрионов: BO-IVM (IVF-Bioscience), Continuous Single Culture Complete (CSCM–C) with Gentamicin and HSA (Irvine Scientific) с добавлением 50 мкг/мл хорионического гонадотропина человека и 5 мкг/мл фолликулостимулирующего гормона, а также метод CAPA-IVM (capacitation IVM) с добавлением в среду CSCM–C 1мМ N6,2'-О-дибутириладенозин 3',5'-цикломонофосфата и 0,5мМ 3-изобутил-1-метилксантина. По результатам сравнения режима транспортировки при температуре +4°C и +37,5°C были получены сопоставимые результаты. Уровень дозревания ооцитов методом CAPA-IVM на среде CSCM–C составил 52,4%, уровень формирования бластоцист – 14,8%, что сопоставимо с результатами контрольной группы на среде, разработанной для созревания, оплодотворения и культивирования эмбрионов крупного рогатого скота: BO-IVM/BO-IVF/BO-IVC (IVF-Bioscience) – 36,2 и 18,8% соответственно. Таким образом, метод CAPA-IVM, по результатам наших исследований, представляется перспективным для использования во вспомогательных репродуктивных технологиях крупного рогатого скота.

Ключевые слова

Эмбрионы, крупный рогатый скот, экстракорпоральное оплодотворение, *in vitro* maturation, созревание ооцитов *in vitro*

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда, проект № 19–76–10022 (<https://rscf.ru/project/19–76–10022>).

Для цитирования

Макутина В.А., Кривоногова А.С., Исаева А.Г., Донник И.М. Особенности транспортировки и созревания *in vitro* ооцит-кумулюсных комплексов крупного рогатого скота // *Известия Тюмриязевской сельскохозяйственной академии*. 2025. № 5. С. 111–122.

Features of transportation and *in vitro* maturation of bovine oocyte-cumulus complexes

Valery A. Makutina✉, Anna S. Krivonogova, Albina G. Isaeva, Irina M. Donnik

Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

✉Corresponding author: makutina_v@rambler.ru

Abstract

This study aimed to evaluate and optimize methods for transporting bovine ovaries, as well as methods for *in vitro* maturation (IVM) of oocyte-cumulus complexes (OCCs) for subsequent *in vitro* fertilization (IVF) and embryo culture to the blastocyst stage *in vitro*. Ovary transportation temperature regimes of +4°C and +37.5°C were tested, along with three *in vitro* maturation systems for bovine oocytes utilizing commercially available media designed for preimplantation embryo culture: BO-IVM (IVF-Bioscience), Continuous Single Culture Complete (CSCM–C) with Gentamicin and HSA (Irvine Scientific) supplemented with 50 µg/mL human chorionic gonadotropin and 5 µg/mL follicle-stimulating hormone, and the CAPA-IVM (capacitation IVM) method with the addition of 1mM N6,2'-O-dibutyryl adenosine 3',5'-cyclic monophosphate and 0.5mM 3-isobutyl-1-methylxanthine to CSCM–C medium. Comparable results were obtained between the transportation temperature regimes of +4°C and +37.5°C. The oocyte maturation rate using the CAPA-IVM method in CSCM–C medium was 52.4%, with a blastocyst formation rate of 14.8%. This is comparable to the results obtained in the control group utilizing media specifically formulated for bovine oocyte maturation, fertilization, and embryo culture – BO-IVM/BO-IVF/BO-IVC (IVF-Bioscience) – which yielded 36.2% and 18.8%, respectively. Therefore, based on our results, the CAPA-IVM method appears promising for use in assisted reproductive technologies in cattle.

Keywords

Embryos, bovine, *in vitro* fertilization, *in vitro* maturation, capacitation IVM

Acknowledgments

This research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 19–76–10022 (<https://rscf.ru/project/19–76–10022>).

For citation

Makutina V.A., Krivonogova A.S., Isaeva A.G., Donnik I.M. Features of transportation and *in vitro* maturation of bovine oocyte-cumulus complexes. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2025. No. 5. P. 111–122.

Введение Introduction

Для изучения предимплантационного эмбрионального развития сельскохозяйственных животных, в частности, крупного рогатого скота, а также для исследований, включающих в себя перенос ядер и трансгенные технологии, зачастую единственный способ получения ооцитов сельскохозяйственных животных – это отбор яичников постмортально с последующим выделением ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК)

и дозреванием ооцитов в лабораторных условиях. Проблемой при таком способе извлечения гамет является гетерогенность ооцитов, полученных из незрелых фолликулов, и их низкая компетентность к дальнейшему развитию, имплантации и живорождению. Разработка эффективной технологии извлечения антральных фолликулов и достижения ооцитами мейотической зрелости в условиях *in vitro* культивирования позволит обеспечить пул генетического эмбрионального материала для проведения исследовательских работ.

Успешное развитие эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro* зависит от различных факторов включая качество ооцитов и сперматозоидов, состав питательной среды и условия культивирования. Помимо самого процесса созревания ооцитов и развития предимплантационных эмбрионов в условиях инкубатора, критически важным этапом является процесс транспортировки отобранных постмортально яичников, поскольку для сохранения компетентности ооцитов необходимо соблюдение временных ограничений и температурного режима от момента забора яичника до поступления биоматериала в лабораторию. Во время транспортировки приток крови к яичникам останавливается, и ооциты в фолликулах оказываются в условиях снижения уровня кислорода и глюкозы, а также накопления продуктов обмена. Для снижения неблагоприятных эффектов необходимо минимизировать время доставки яичников, однако сроки транспортировки не всегда можно контролировать. Другим способом снизить неблагоприятные эффекты при отсутствии возможности быстро доставить биоматериал является транспортировка при пониженной температуре. Однако в ооцитах, подвергавшихся воздействию низких температур, нарушается веретено деления и цитоскелет, изменяется профиль транскрипции генов. Таким образом, режим транспортировки яичников необходимо выбирать в зависимости от предполагаемого срока их транспортировки и удаленности эмбриологической лаборатории.

Технология созревания незрелых ооцитов вне организма самки – *in vitro* maturation (IVM). Для использования в IVM ОКК может быть получен из любой стадии развития антрального фолликула от 1 мм до 20 мм. Известно, что фолликулярная среда яичников поддерживает мейотический арест ооцитов, поэтому аспирация ОКК из фолликула и культивирование ОКК *in vitro* в питательной среде приведут к тому, что большинство ооцитов спонтанно возобновят мейотическое деление созревания [1]. При стандартном протоколе IVM ОКК культивируются в среде с добавлением фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), хорионического гонадотропина (ХГЧ) или лютеинизирующего гормона (ЛГ) и других добавок в течение 24–48 ч для имитации пика ЛГ во время овуляции. Выбор гормональных добавок и их соответствующих концентраций является переменным у разных исследователей [2, 3]. Физиологически преовуляторный всплеск ЛГ необходим для запуска возобновления мейоза и ядерного созревания ооцитов *in vivo*. Однако влияние ЛГ и ХГЧ на созревание и развитие ооцитов *in vitro* в условиях инкубатора все еще остается недоказанным.

Несмотря на десятилетия исследований факторов, влияющих на компетентность ооцитов, и многочисленные опубликованные исследования на разных млекопитающих и человеке, IVM как в клинических условиях, так и в животноводстве применяется на практике с низкой эффективностью [4]. Большинство опубликованных работ свидетельствует о снижении компетентности к развитию ооцитов, созревших *in vitro*, по сравнению со зрелыми ооцитами, созревшими *in vivo*, а также, что более важно, о более низкой частоте наступления беременности после IVM [5, 6].

Известно, что одной из причин низкой эффективности IVM является асинхронное ядерное и цитоплазматическое созревание: ядерное созревание заканчивается

раньше, чем цитоплазматическое. В результате отставания цитоплазматического созревания морфологически созревший ооцит на стадии метафазы II мейотического деления не несет необходимых мРНК и не успевает синтезировать белки, необходимые для успешного процесса оплодотворения, завершения деления созревания и экструзии второго полярного тела. У млекопитающих показано, что ооцит удерживается в фазе ареста мейотического деления на стадии GV (germinal vesicle) за счет накопления в цитоплазме циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) [7]. Соответственно при аспирации ооцита из антрального фолликула происходит замена фолликулярной жидкости на питательную среду, что приводит к снижению внутриооцитарной концентрации цАМФ и, как следствие, к возобновлению мейоза.

Существуют подходы к задержке ядерного деления путем добавления в среду культивирования цАМФ для повышения его внутриклеточной концентрации, что обеспечивает завершение цитоплазматического созревания. В этой связи различные подходы использовались для ингибирования возобновления мейотического деления в незрелых ооцитах: культивирование в фолликулярной жидкости, культивирование в присутствии париетальных гранулезных клеток, добавление форсколина (ФСК) и 3-изобутил-1-метилксантина (ИБМХ) [8], созревание в присутствии натрийуретического пептида С-типа (CNP) [9]. ФСК активирует фермент аденилатциклазу, что приводит к повышению внутриклеточного уровня цАМФ. ИБМХ блокирует неселективную активность фосфодиэстеразы 3А, предотвращая инактивацию внутриклеточного цАМФ. CNP, секретируемый клетками гранулезы, индуцирует выработку циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). цГМФ в свою очередь регулирует уровни цАМФ, конкурируя за гидролизующую активность специфической для ооцитов фосфодиэстеразы 3А. В совокупности такой подход был назван изначально как SPOM – Simulated Physiological Oocyte Maturation – симуляция физиологичного созревания ооцитов, а позднее переименован в САРА-IVM (saracitation IVM). После предварительной инкубации ОКК в присутствии ингибиторов ядерного деления следует непосредственно IVM – созревание ооцита с завершением ядерного и цитоплазматического деления, выбросом первого полярного тела и образованием ооцита на стадии МП (метафаза II) – зрелого ооцита, готового к оплодотворению.

Цель исследований: оценить возможность применения метода САРА-IVM для физиологичного созревания постмортально извлеченных ОКК крупного рогатого скота путем предварительного инкубирования в среде с 1 мМ N6,2'-О-дибутириладенозин 3',5'-цикломонофосфата и 0,5 мМ 3-изобутил-1-метилксантина в течение 2 ч.

Методика исследований

Research method

Исследования выполнены в 2019–2023 гг. Яичники коров отбирали постмортально на специализированном убойном пункте и транспортировали в лабораторию при температуре +37–38°C или +4°C в течение 4–6 ч после получения. Контроль температурных условий осуществляли с помощью специализированного транспортного термоконтейнера. В лаборатории яичники промывали физиологическим раствором и аспирировали фолликулы размером от 2 до 10 мм с помощью шприцев объемом 5–10 мл с иглой 18G. Из нестимулированных яичников (без гормонального праймирования) удавалось получить от 0 до 10 ОКК разной степени зрелости. Для экспериментов были отобраны ОКК с тремя и более слоями клеток кумюлюса и морфологически гомогенной цитоплазмой.

Созревание ооцитов (IVM) проводилось тремя способами:

1. С использованием специализированной среды промышленного производства для созревания ооцитов крупного рогатого скота BO-IVM (IVF-Bioscience). ОКК помещали в 500 мкл среды созревания, покрытой минеральным маслом для клеточных культур (Sage, США), на 24–26 ч при уровне углекислого газа 6,5%, кислороде 5,0% и температурном режиме +38,5 °С.

2. С использованием среды промышленного производства для культивирования эмбрионов человека Continuous Single Culture Medium Complete (CSCM–C, Irvine Scientific, США) с добавлением 50 мкг/мл ХГЧ (Хорионический гонадотропин человека, РФ) и 0,5 мкг/мл ФСГ (Гонал, Serono). В 500 мкл среды с добавленными гормонами под минеральным маслом помещали ОКК на 24–26 ч при уровне углекислого газа 6,5%, кислороде 5,0% и температурном режиме +38,5 °С.

3. ОКК помещали на 2 ч в среду CSCM–C, содержащую 1мМ N6,2'-О-дибутириладенозин 3',5'-цикломонофосфата (Sigma) и 0.5мМ 3-изобутил-1-метилксантин (IBMX, Sigma). Через 2 ч ОКК переносили в среду CSCM–C с 0,1 МЕ ФСГ под минеральным маслом на 22–24 ч культур при уровне углекислого газа 6,5%, кислороде 5,0% и температурном режиме +38,5 °С.

Экстракорпоральное оплодотворение проводили с применением криоконсервированных сперматозоидов племенного быка, замороженных в соломинах объемом 0,5 мл, согласно ранее описанной методике [10]. Обработку сперматозоидов проводили методом центрифугирования в градиенте плотности: 3 мл 80% Percoll (ORIGIO Gradien 40/80, Дания) в течение 15 мин 1500 об/мин при комнатной температуре. Осадок сперматозоидов после центрифугирования промывали буферной средой Sperm Wash (ORIGIO, Дания), содержащей 3 МЕ гепарина, в течение 10 мин при 1000 об/мин. После центрифугирования и отмывки образца вносили в среду оплодотворения с ОКК сперматозоиды в концентрации $1,0\text{--}2,0 \times 10^6$ подвижных сперматозоидов на 1 мл среды. В качестве среды оплодотворения использовали для первой группы BO-IVF (IVF-Bioscience), для второй и третьей групп – CSCM–C. Инкубировали ОКК в среде под минеральным маслом при том же температурном и газовом режиме. Через 16–18 ч после инсеминации комплексы полностью очищали от кумулюсных клеток и сперматозоидов и переносили в среду культивирования: для первой группы – BO-IVC (IVF-Bioscience), для второй и третьей групп – CSCM–C. Эмбрионы культивировали при тех же условиях без смены среды весь период развития до стадии бластоцисты, что составило в среднем 180–190 ч после оплодотворения.

Таблицы сопряженности 2×2 и критерий χ^2 использовали для анализа различий между группами. Статистическую значимость определяли достоверной при уровне $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

Согласно полученным нами данным, представленным в таблице 1, транспортировка яичников при двух температурных режимах +4 °С и +38,0 °С в течение 4–6 ч приводила к схожим результатам по уровню дробления эмбрионов и по количеству сформированных бластоцист. Тенденция увеличения количества формирующихся бластоцист при транспортировке яичников КРС при температурном режиме +38,0 °С не достигала статистической значимости.

Таблица 1

Результаты транспортировки яичников при температуре +4°C и +38,0°C

Table 1

Results of ovary transportation at +4°C and +38.0°C

Температура транспортировки, °C	+4	+38
Количество ооцит-кумулюсных комплексов, шт.	113	203
Ооциты, начавшие дробление	26 (23,0%)	61 (30,5%)
Сформированные бластоцисты	3 (11,5%)	12 (19,7%)

Статистически значимых различий не выявлено.

Морфология извлеченных ОКК различалась по структуре кумулюса, его многослойности, по состоянию ооплазмы (рис. 1). По нашим данным, ооциты, полученные из комплексов (рис. 1а, 1б, 1в), были компетентны к созреванию, оплодотворению и последующему дроблению. Расширенные ОКК (рис. 1г) характерны для зрелых ооцитов на стадии МП. Желеобразные ОКК (рис. 1д, 1е) характерны для неовулировавших лютеинизированных фолликулов, ооциты из комплексов такого типа не дозревали и не оплодотворялись в наших условиях.

Через 24–26 ч после культивирования в среде для IVM ооцит-кумулюсные комплексы КРС морфологически изменялись, увеличивались в размере, клетки кумулюса расширялись и становились менее уплотненными (рис. 2).

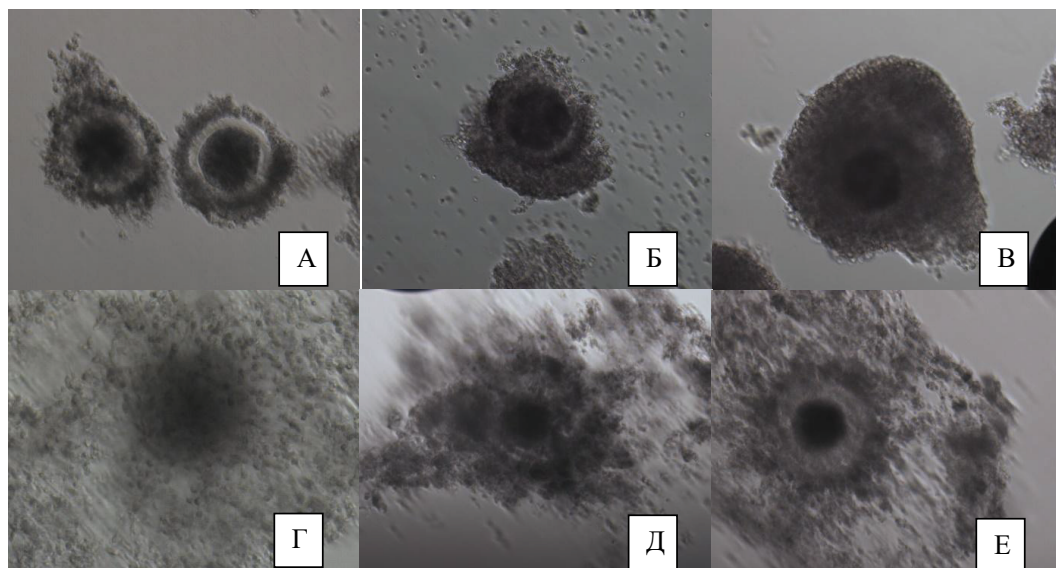


Рис. 1. Ооцит-кумулюсные комплексы, полученные постмортально из донорского материала (увеличение $\times 40$): а, б, в-полученные из комплексов; г – расширенные; д, е – желеобразные (ориг.)

Figure 1. Oocyte-cumulus complexes obtained *post mortem* from donor material ($\times 40$ magnification): a, b, c – obtained from complexes; d – expanded; e, f – gelatinous (original)

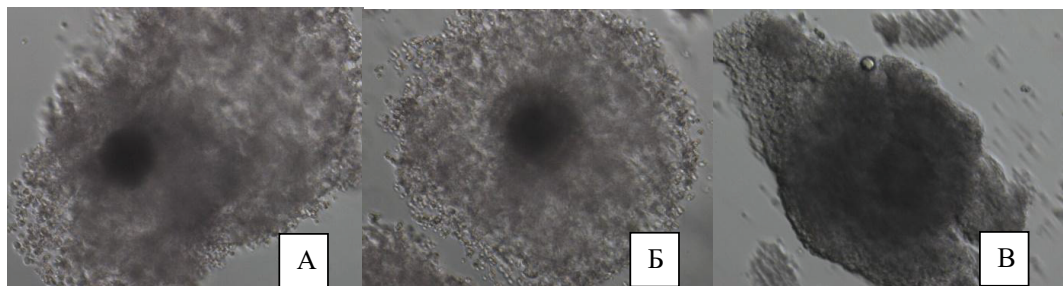


Рис. 2. Ооцит-кумулюсные комплексы через 24 ч созревания, увеличение $\times 40$ (ориг.)

Figure 2. Oocyte-cumulus complexes after 24 hours of maturation ($\times 40$ magnification) (original)

Количество и качество ОКК извлеченных из нестимулированных яичников постмортально существенно различаются у разных особей. Из яичников удавалось получить от 0 до 30 ОКК. Среднее полученное количество ОКК на яичник составило 2,5. При использовании яичников, полученных *post mortem*, животные не подвергаются предварительному воздействию экзогенного ФСГ, поэтому в яичниках преобладают некрупные антральные фолликулы. В целом посмертное извлечение и созревание ооцитов накладывают на исследовательскую работу ряд ограничений – таких, как неизвестная стадия цикла, возраст и состояние животных. При этом все перечисленные факторы могут негативным образом сказаться на качестве полученного генетического материала и, как следствие, на уровне формирующихся бластоцист, приемлемых для переноса в полость матки корове-реципиенту [11]. В ряде случаев яичники содержали крупные доминантные фолликулы или желтые тела, свидетельствующие об овуляции. В таких случаях антральные фолликулы могут содержать ооциты со сниженной компетентностью к дальнейшему развитию, так как *in vivo* овуляторный пик ЛГ уже прошел, доминантный фолликул овулировал, а остальные антральные фолликулы не развиваются и подвергаются атрезии. Такие яичники были нами исключены из работы.

Результаты созревания ооцитов, оплодотворения и культивирования эмбрионов до стадии бластоцисты приведены в таблице 2.

Таблица 2

Данные по созреванию ооцитов КРС в трех системах ИВМ

Table 2

Results on bovine oocyte maturation in three IVM systems

Показатель	1 группа	2 группа	3 группа
Среда, методика	ВО-IVM	CSCM-C + ХГЧ + ФСГ	CSCM-C + CAPA-IVM
Количество ооцит-кумулюсных комплексов	425	118	103
Количество делящихся эмбрионов	154 (36,2%)	44 (37,3%)	54 (52,4%)*
Количество бластоцист	29 (18,8%)	3 (6,8%)*	8 (14,8%)

*Статистическая достоверность отличий между группами $p \leq 0,05$.

Мы сравнили три метода созревания ооцитов, в том числе на средах для культивирования эмбрионов человека с добавлением гормонов и с пре-культивированием по методу CAPA-IVM. Сравнительный анализ трех систем созревания ооцитов крупного рогатого скота показал, что наиболее эффективно дозревание происходит при использовании метода CAPA-IVM (52,4%), что достоверно выше, чем при использовании среды BO-IVM (36,2%) и при добавлении ФСГ/ХГЧ в среду CSCM-C (37,3%). Однако уровень формирования бластоцист сопоставим как при использовании метода CAPA-IVM (14,8%) на среде CSCM-C, так и при применении линейки сред IVF-Bioscience, специализированной для КРС (18,8%). При этом добавление ХГЧ и ФСГ в используемых нами концентрациях в среду CSCM-C с последующим культивированием в этой среде оказалось значимо менее эффективно по уровню эмбрионов, сформировавших бластоцисту (6,8%). Однако необходимо отметить, что используемая в качестве контроля линейка сред IVF-Bioscience поставляется производителем, будучи уже готовой к использованию. Кроме того, производитель не раскрывает состав среды в инструкции, поэтому мы сочли, что добавление ФСГ + ХГЧ или dbcAMP + IBMX к среде BO-IVM может привести к непрогнозируемому результату.

В качестве среды для метода CAPA-IVM и IVM с добавлением гонадотропинов использовали CSCM-C, разработанную для культивирования эмбрионов человека. В дальнейшем, каждую группу продолжали культивировать на выбранной линейке сред. Высокий уровень дозревания в группе CAPA-IVM, значимым образом превышающий контрольные значения, не привел к высокому выходу бластоцист в этой группе. Возможно, среда, предназначенная для развития эмбрионов человека, неполностью соответствует потребностям предимплантационных эмбрионов крупного рогатого скота. Тем не менее метод CAPA-IVM, по результатам наших исследований, оказался достаточно перспективным. В отличие от этого в стандартной схеме IVM с добавлением гонадотропинов ооциты созревают спонтанно при удалении из фолликулярной жидкости, что приводит к преждевременному возобновлению мейоза без сложного каскада молекулярных сигналов, способствующих дозреванию цитоплазмы. Культуральная среда для созревания ооцитов при этом содержит гонадотропины (ЛГ/ХГЧ и ФСГ), имеющиеся в норме в организме в процессе оогенеза.

Пик ЛГ возникает *in vivo* в период созревания ооцитов перед овуляцией. При антральной стадии фолликулогенеза необходим также и ФСГ, который оказывает влияние на взаимодействие клеток ОКК с ооцитом через щелевые контакты. Клетки гранулезы регулируют созревание ооцитов путем изменения внутриооцитарной концентрации цАМФ, цГМФ, метаболитов и РНК [12, 13]. После овуляции ооцита из фолликула уровень цАМФ в его цитоплазме снижается, что приводит к возобновлению мейотического деления. Все эти взаимодействия являются определяющими факторами созревания ооцита и возобновления мейоза, а также компетенции ооцита к дальнейшему развитию.

Гетерогенный источник аспирированных постмортально незрелых ооцитов, извлеченных из фолликулов на разных фазах роста, приводит к нарушению способности ооцита к дальнейшему развитию ввиду нарушения мейотического деления созревания. Процесс созревания ооцита в организме млекопитающего достаточно длительный, при этом созревание в условиях лаборатории IVM составляет 24–48 ч. В результате в цитоплазме ооцита не накапливается достаточно мРНК, необходимых белков и не происходит своевременного перераспределения внутриклеточных органелл, что приводит к несинхронному ядерному и цитоплазматическому созреванию [14, 15]. Несмотря на то, что некоторые ооциты в малых антральных фолликулах

способны развиваться до бластоцисты, необходим дополнительный преинкубационный период для их правильного созревания. Поэтому метод «предварительного созревания» САРА-IVM, который имитирует естественный физиологический рост циклических нуклеотидов во время созревания фолликула, способен увеличить компетентность ооцита, его способность созреть, успешно оплодотвориться и сформировать бластоцисту.

Необходимым является проведение дальнейших исследований для оптимизации методики САРА-IVM, в том числе с использованием другой культуральной среды, поддерживающей дробление эмбрионов крупного рогатого скота.

Выводы

Conclusions

Сопоставимые исходы по уровню дозревания и формирования бластоцист были получены при транспортировке яичников коров при температуре как +4°C, так и +38,5°C. Тенденция увеличения количества формирующихся бластоцист при транспортировке яичников КРС при температурном режиме +38,0°C не достигала статистической значимости.

Более эффективным для созревания ооцитов КРС стало применение метода САРА-IVM с добавлением в среду CSCM–C1мМ N6,2'-О-дибутириладенозин 3',5'-цикломонофосфата и 0,5мМ 3-изобутил-1-метилксантина. При этом уровень оплодотворенных и дробящихся ооцитов достигал 50%, что было значимо выше контрольных показателей в группе ооцитов, культивируемых на среде IVF-Biosciense. Формирование бластоцист при этом составило около 15%, что сопоставимо с контрольными значениями.

Добавление гормонов ФСГ и ХГЧ в используемых нами концентрациях в среду CSCM–C эффективно поддерживало созревание ооцитов и их последующее оплодотворение и дробление, однако уровень формирования бластоцист в данной группе был достоверно ниже.

Список источников

1. Gilchrist R.B., Smits J. Oocyte in vitro maturation: physiological basis and application to clinical practice. *Fertil Steril*. 2023;119(4):524-539. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.02.010>
2. Никитин Г.С. Современные подходы при получении и криоконсервации эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro* // *Международный вестник ветеринарии*. 2021. № 3. С. 192–205. <https://doi.org/10.17238/issn2072-2419.2021.3.192>
3. Yang H., Kolben T., Meister S., Paul C., et al. Factors Influencing the In Vitro Maturation (IVM) of Human Oocyte. *Biomedicines*. 2021;9(12):1904. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121904>
4. Михайлова Н.Д., Мишиева Н.Г., Кириллова А.О., Мартазанова Б.А. и др. Дозревание ооцитов *in vitro*. // *Акушерство и гинекология*. 2021. № 11. С. 64–70. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.64-70>
5. Ji K., Park K., Kim D., Kim E., Kil T., Kim M. Accomplishment of canine cloning through in vitro matured oocytes: a pioneering milestone. *J Anim Sci Technol*. 2024;66(3):577-586. <https://doi.org/10.5187/jast.2024.e18>
6. Shani A.K., Naham L.M., Balakier H., Kuznyetsova I. et al. The developmental potential of mature oocytes derived from rescue in vitro maturation. *Fertil Steril*. 2023;120(4):860-869. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.05.163>

7. Strączyńska P., Papis K., Morawiec E., Czerwiński M. et al. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):37. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00906-5>
8. Leal G.R., Monteiro C.A.S., Carnevali L.R., Souza-Fabjan J.M.G. The Simulated Physiological Oocyte Maturation (SPOM) system in domestic animals: A systematic review. *Theriogenology.* 2022; 188:90-99. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.05.023>
9. Zhao Y., Liao X., Krysta A.E., Bertoldo M.J. et al. Capacitation IVM improves cumulus function and oocyte quality in minimally stimulated mice. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2020; 37(1): 77-88. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01610-x>
10. Макутина В.А., Кривоногова А.С., Донник И.М., Исаева А.Г. Time-lapse культивирование in vitro эмбрионов крупного рогатого скота до стадии бластоцисты // *Вестник КрасГАУ.* 2025. № 3 (216). С. 106–117. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2025-3-106-117>
11. Souza-Fabjan J.M.G., Leal G.R., Monteiro C.A.S., Batista R.I.T.P., Barbosa N.O., Freitas V.J.F. In vitro embryo production in small ruminants: what is still missing? *Anim Reprod.* 2023;20(3): e20230055. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2023-0055>
12. Bongkoch Turathum, Er-Meng Gao, Ri-Cheng Chian. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. *Cells.* 2021;10(9):2292. <https://doi.org/10.3390/cells10092292>
13. Martinez C.A., Rizos D., Rodriguez-Martinez H., Funahashi H. Oocyte-cumulus cells crosstalk: New comparative insights. *Theriogenology.* 2023;205:87-93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.04.009>
14. Strączyńska P., Papis K., Morawiec E., Czerwiński M. et al. Signaling mechanisms and their regulation during in vivo or in vitro maturation of mammalian oocytes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):37. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00906-5>
15. Torkashvand H., Shabani R., Amiri I., Darakhshan R. et al. Exploring the Potential of In vitro Maturation (IVM) of Oocytes: Indications, Applications, and Treatment Protocols. *Avicenna J Med Biotechnol.* 2024;16(3):156-164. <https://doi.org/10.18502/ajmb.v16i3.15741>

References

1. Gilchrist R.B., Smits J. Oocyte in vitro maturation: physiological basis and application to clinical practice. *Fertil Steril.* 2023;119(4):524-539. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.02.010>
2. Nikitin G.S. Modern approaches for obtaining and cryoconservation of cattle embryos in vitro. *International Bulletin of Veterinary Medicine.* 2021;(3):192-205. (In Russ.) <https://doi.org/10.17238/issn2072-2419.2021.3.192>
3. Yang H., Kolben T., Meister S., Paul C. et al. Factors Influencing the In Vitro Maturation (IVM) of Human Oocyte. *Biomedicines.* 2021;9(12):1904. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121904>
4. Mikhailova N.D., Mishieva N.G., Kirillova A.O., Martazanova B.A. et al. In vitro oocyte maturation. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2021;(11):64-70. (In Russ.) <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.11.64-70>
5. Ji K., Park K., Kim D., Kim E. et al. Accomplishment of Canine Cloning Through In Vitro Matured Oocytes: A Pioneering Milestone. *J Anim Sci Technol.* 2024;66(3):577-586. <https://doi.org/10.5187/jast.2024.e18>
6. Shani A.K., Haham L.M., Balakier H., Kuznyetsova I. et al. The Developmental Potential of Mature Oocytes Derived from Rescue In Vitro Maturation. *Fertil Steril.* 2023;120(4):860-869. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.05.163>

7. Strączyńska P., Papis K., Morawiec E., Czerwiński M. et al. Signaling Mechanisms and Their Regulation During In Vivo or In Vitro Maturation of Mammalian Oocytes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):37. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00906-5>
8. Leal G.R., Monteiro C.A.S., Carnevali L.R., Souza-Fabjan J.M.G. The Simulated Physiological Oocyte Maturation (SPOM) System in Domestic Animals: A Systematic Review. *Theriogenology.* 2022;188:90-99. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.05.023>
9. Zhao Y., Liao X., Krysta A.E., Bertoldo M.J. et al. Capacitation IVM Improves Cumulus Function and Oocyte Quality in Minimally Stimulated Mice. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2020;37(1):77-88. <https://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01610-x>
10. Makutina V.A., Krivonogova A.S., Donnik I.M., Isaeva A.G. Time-lapse in vitro cultivation of cattle embryos to the blastocyst stage. *Bulletin of KSAU.* 2025;(3(216)):106-117. (In Russ.) <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2025-3-106-117>
11. Souza-Fabjan J.M.G., Leal G.R., Monteiro C.A.S., Batista R.I.T.P. et al. In Vitro Embryo Production in Small Ruminants: What Is Still Missing? *Anim Reprod.* 2023;20(3):e20230055. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2023-0055>
12. Turathum B., Gao E.-M., Chian R.-C. The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. *Cells.* 2021;10(9):2292. <https://doi.org/10.3390/cells10092292>
13. Martinez C.A., Rizo D., Rodriguez-Martinez H., Funahashi H. Oocyte-cumulus Cells Crosstalk: New Comparative Insights. *Theriogenology.* 2023;205:87-93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.04.009>
14. Strączyńska P., Papis K., Morawiec E., Czerwiński M. et al. Signaling Mechanisms and Their Regulation During In Vivo or In Vitro Maturation of Mammalian Oocytes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2022;20(1):37. <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00906-5>
15. Torkashvand H., Shabani R., Amiri I., Darakhshan R. et al. Exploring the Potential of In vitro Maturation (IVM) of Oocytes: Indications, Applications, and Treatment Protocols. *Avicenna J Med Biotechnol.* 2024;16(3):156-164. <https://doi.org/10.18502/ajmb.v16i3.15741>

Сведения об авторах

Валерия Андреевна Макутина, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; 620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а; e-mail: makutina_v@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1127-2792>

Анна Сергеевна Кривоногова, д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; 620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а; e-mail: tel-89826512934@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>

Альбина Геннадьевна Исаева, д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; 620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а; e-mail: isaeva.05@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8395-1247>

Ирина Михайловна Донник, д-р биол. наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр» Уральского отделения Российской академии наук; 620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а; e-mail: ktqrjp7@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8349-3004>

Information about the authors

Valery A. Makutina, CSc (Bio), Senior Research Associate, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 112a Belinskogo St., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: makutina_v@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1127-2792>

Anna S. Krivonogova, DSc (Bio), Associate Professor, Leading Research Associate, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 112a Belinskogo St., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: tel-89826512934@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1918-3030>

Albina G. Isaeva, DSc (Bio), Associate Professor, Leading Research Associate, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 112a Belinskogo St., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: isaeva.05@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8395-1247>

Irina M. Donn timer, DSc (Bio), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Research Associate, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 112a Belinskogo St., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation; e-mail: ktqrjp7@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8349-3004>