

Влияние кремнийсодержащих гидрогелей на качество ооцит-кумулюсных комплексов свиней после интраовариальной витрификации

Д. А. СТАРИКОВА, Т. И. КУЗЬМИНА

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального исследовательского центра ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Московское ш., 55 а, Пушкин, Санкт-Петербург, 196601, Российская Федерация

Резюме. Перспективное направление сохранения генетического разнообразия высокопродуктивных и исчезающих видов сельскохозяйственных животных – интраовариальная витрификация женских гамет. Исследования проводили с целью оценки эффектов введения кремнийсодержащих гидрогелей в состав криопротекторных сред на показатели криорезистентности ооцитов, подвергшихся воздействию ультранизких температур, для совершенствования этапов технологии витрификации донорских ооцитов свиней. Определяли морфологию кумулюса, целостность ооцит-кумулюсных коммуникаций (уровня денудированных ооцитов) и показатели функциональной активности липидома женских гамет свиней, подвергшихся интраовариальной витрификации с введением в состав криопротекторных сред диметилглицеролата кремния (ДМГК), кремнийсодержащего глицерогидрогеля (КГГ), тетраполиэтиленгликоля кремния (СТП_{EG}) в концентрации 2 %. Ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) выделяли из девитрифицированных фрагментов яичников (ФЯ) свиней породы ландрас. После этого гаметы витрифицировали открытым способом в марлевых мешочках в жидком азоте (-196 °С) и содержали в азоте не менее 24 ч. ФЯ оттаивали в двух растворах для размораживания, затем выделяли из них ОКК и подвергали комплексной морфофункциональной оценке. При введении в состав криопротекторной среды 2 % КГГ происходило снижение доли денудированных гамет, в сравнении с контролем, зафиксирован высокий уровень ооцитов с гранулированными липидными каплями (62 %) и диффузным распределением (90 %), что свидетельствует о повышении криорезистентности гамет. Использование ДМГК и СТП_{EG} при интраовариальной витрификации не оказывало цитотоксического действия на исследуемые морфофункциональные показатели жизнеспособности девитрифицированных ооцитов. Состав криопротекторных сред для интраовариальной витрификации женских гамет свиней целесообразно модифицировать путем введения кремнийсодержащего глицерогидрогеля в концентрации 2 %.

Ключевые слова: ооцит, свинья, кремнийсодержащие гидрогели, криопротектор, липидом, кумулюсные клетки, витрификация.

Сведения об авторах: Д.А. Старикова, кандидат биологических наук, научный сотрудник (e-mail: live8avis@mail.ru); Т.И. Кузьмина, доктор биологических наук, главный научный сотрудник (e-mail: prof.kouzmina@mail.ru)

Для цитирования: Старикова Д. А., Кузьмина Т. И. Влияние кремнийсодержащих гидрогелей на качество ооцит-кумулюсных комплексов свиней после интраовариальной витрификации // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. №8. С. 56–61. doi: 10.53859/02352451_2024_38_8_56

Effect of silicon-containing hydrogels on the quality of oocyte-cumulus complexes in pigs after intraovarian vitrification

D. A. Starikova, T. I. Kuz'mina

All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals, branch of Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Moskovskoe sh., 55a, Pushkin, Sankt-Peterburg, 196601, Russian Federation

Abstract. A promising direction for preserving the genetic diversity of highly productive and endangered species of farm animals is intraovarian vitrification of female gametes. The studies were conducted to assess the effects of introducing silicon-containing hydrogels into cryoprotective media on the cryoresistance indices of oocytes exposed to ultra-low temperatures to improve the stages of vitrification technology for donor oocytes in pigs. The morphology of the cumulus, the integrity of oocyte-cumulus communications (the level of denuded oocytes) and the indices of the functional activity of the lipidome of female gametes in pigs subjected to intraovarian vitrification with the introduction of silicon dimethylglycerolate (DMG), silicon-containing glycerohydrogel (SCG), and silicon tetrapolyethyleneglycolate (STP_{EG}) at a concentration of 2% into the cryoprotective media were determined. Oocyte-cumulus complexes (OCC) were isolated from devitrified ovarian fragments (OF) of Landrace pigs. After that, the gametes were vitrified by the open method in cheesecloth bags in liquid nitrogen (-196 °C) and kept in nitrogen for at least 24 h. The OF were thawed in two defrosting solutions, then OCC were isolated from them and subjected to a comprehensive morphofunctional assessment. When 2% SCG was introduced into the cryoprotective medium, the proportion of denuded gametes decreased compared to the control, a high level of oocytes with granulated lipid droplets (62%) and diffuse distribution (90%) was recorded, indicating an increase in gamete cryoresistance. The use of DMG and STP_{EG} in intraovarian vitrification did not have a cytotoxic effect on the studied morphofunctional indices of devitrified oocyte viability. It is advisable to modify the composition of cryoprotective media for intraovarian vitrification of female pig gametes by introducing silicon-containing glycerohydrogel at a concentration of 2%.

Keywords: oocyte; pig; silicon-containing hydrogels; cryoprotectant; lipidome; cumulus cells; vitrification

Author Details: D. A. Starikova, Cand. Sc. (Biol.), research fellow (e-mail: live8avis@mail.ru); T. I. Kuz'mina, D. Sc. (Biol.), chief research fellow (prof.kouzmina@mail.ru)

For citation: Starikova DA, Kuz'mina TI. [Effect of silicon-containing hydrogels on the quality of oocyte-cumulus complexes in pigs after intraovarian vitrification]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(8):56–61. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_8_56

Большое значение в решении задач по сохранению генетического разнообразия высокопродуктивных и исчезающих видов животных имеет криоконсервация с последующим долгосрочным сохранением генетического материала в криобанках. Одно из перспективных направлений замораживания репродуктивных клеток животных – интраовариальная витрификация или быстрая заморозка с моментальным погружением образцов в жидкий азот.

К преимуществам витрификации, перед криоконсервацией, относится максимальное уменьшение образования кристаллов льда, которые, как известно, вызывают физи-

ческое и механическое повреждение клеток в процессе охлаждения [1, 2]. При интраовариальной витрификации снижается риск контаминации и прямого воздействия криопротекторов на гаметы [3]. Кроме того, процедура выгодна тем, что не требует специального и дорогостоящего оборудования.

Благодаря использованию этой технологии в последние годы улучшилось качество оттаянных ооцитов. При витрификации клетки или органы охлаждают с 37 °С до -196 °С для остановки биохимических процессов с минимумом льдообразования [4, 5]. Несмотря на это, качество

оттаянных женских гамет все еще не соответствует качеству нативных ооцитов. В связи с чем, продолжают работы по совершенствованию технологии витрификации, в том числе модернизация состава криопротекторных сред путем введения различных веществ, включая сложносоставные глицерогели. Например, широко используют вещества, содержащие эссенциальный элемент кремний, который присутствует почти во всех тканях и органах животных [6]. В организме млекопитающих и человека он содержится в небольшом количестве, исчисляемом тысячными долями процента (10^{-3} %), а эмбрионы млекопитающих отличаются повышенным содержанием этого элемента. Кремний участвует в обмене фтора, магния, алюминия, установлено особенно тесная его связь со стронцием и кальцием. Кроме того, элемент способен снижать уровень холестерина [7]. Однако биологическая роль кремния до конца не изучена [7, 8].

В создании структуры различных кремнийорганических композитных материалов ключевую роль играют высокомолекулярные органические полимеры, к числу которых относятся полиэтиленгликоль (ПЭГ). Он содержит гидрофобные углеводородные фрагменты и гидрофильные кислородные мостики, что позволяет этому полимеру изменять свою полярность в зависимости от растворителя или других компонентов системы [9, 10].

Благодаря образованию водородных связей между группами Si-OH на поверхности кремнезема и эфирными атомами кислорода в ПЭГ полимерные молекулы способны флокулировать частицы золя кремнезема. Это приводит к формированию различных пространственных структур гидрогеля, в зависимости от молекулярной массы и фракции ПЭГ, определяющих морфологию и конечные свойства кремнийорганических нанокомпозитов [11]. Важные характеристики гелей полиэтиленгликоля – стабильность при хранении и легкий переход в мазеобразное состояние при диспергировании [12]. К модификациям глицерогелей, содержащих в своем составе кремний, относятся диметилглицеролат кремния (ДМГК), кремнийсодержащий глицерогидрогель (КГГ) и тетраполиэтиленгликолят кремния (СТР_{ЭГ}).

Цель исследования – оценить эффекты введения кремнийсодержащих гидрогелей (диметилглицеролата кремния – ДМГК, кремнийсодержащего глицерогидрогеля – КГГ, тетраполиэтиленгликоля кремния – СТР_{ЭГ}) в состав криопротекторных сред на показатели криорезистентности (морфологию кумулюса, целостность ооцит-кумулюсных коммуникаций, уровень денудированных ооцитов и функциональную активность липидома) ооцитов, подвергшихся воздействию ультралинизких температур, для совершенствования этапов технологии витрификации донорских ооцитов свиней.

Условия, материалы и методы. В соответствии с протоколом исследования (рис. 1), выделенные из овариозэктомированных яичников фрагменты подвергали

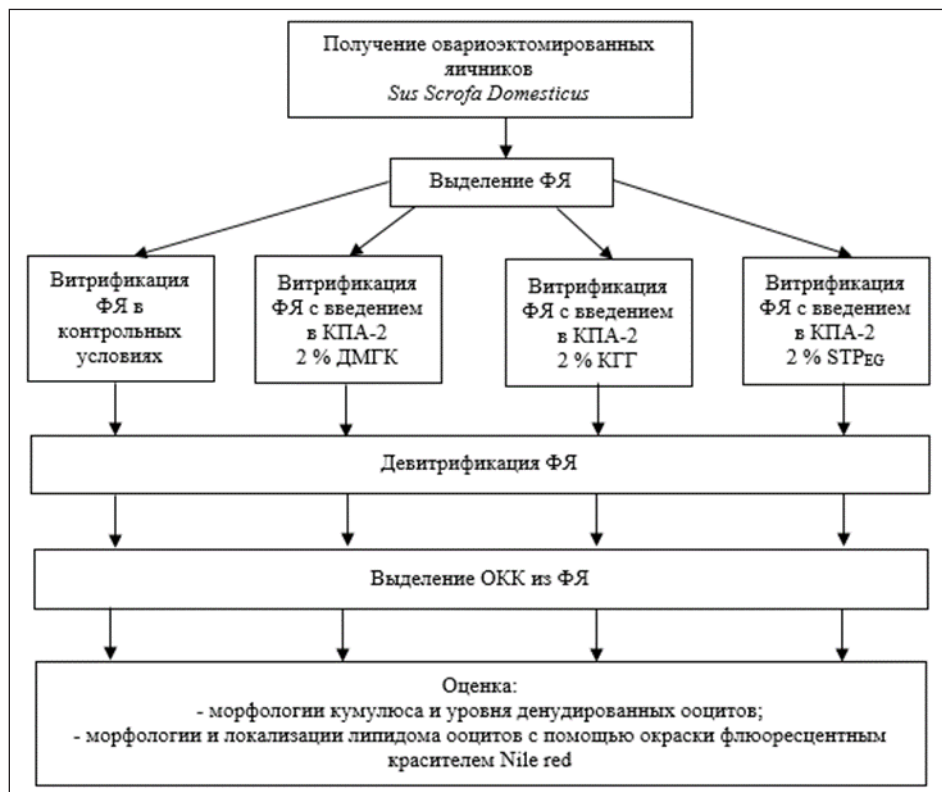


Рис. 1. Схема экспериментов (ФЯ – фрагменты яичников; КПА – криопротекторный агент; ДМГК – диметилглицеролат кремния; КГГ – кремнийорганический глицерогидрогель; СТР_{ЭГ} – тетраполиэтиленгликолят кремния; ОКК – ооцит-кумулюсный комплекс).

витрификации с использованием криопротекторных сред с различными глицерогелями. Затем, фрагменты яичников (ФЯ) девитрифицировали, выделяли ооцит-кумулюсные комплексы и оценивали морфологию кумулюса; долю денудированных ооцитов; морфологию и локализацию липидных капель ооцитов.

Объектом исследования служили ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК), выделенные из *post mortem* яичников 6...8 месячных свиней породы ландрас (мясокомбинат ОАО «Тосненский», Ленинградская обл., г. Тосно). Для экспериментов отбирали яичники на стадии фолликулярного роста. Перед витрификацией их разделяли на 6...7 фрагментов (ФЯ) размером 15×20 мм (рис. 2).

Для витрификации использовали криопротекторные агенты (КПА), приготовленные на фосфатно-солевом буфере (ФСБ) с добавлением фетальной бычьей сыворотки (ФБС) в концентрации 20 %. Фрагменты яичников погружали на 25 минут в КПА-1 состава 7,5 % ЭГ + 7,5 % ДМСО, а затем в КПА-2 (15 % ЭГ, 15 % ДМСО и 0,5 М сахарозы) на 15 минут. В КПА-2 экспериментальных групп вносили ДМГК, КГГ или СТР_{ЭГ} в концентрации 2 %. При отборе концентрации руководствовались рекомендациями разработчиков конструкций глицерогелей (Институт органического синтеза УрО РАН им. И.Я. Постовского), в том числе представленными в патенте RU2322448C2. В исследовании ис-

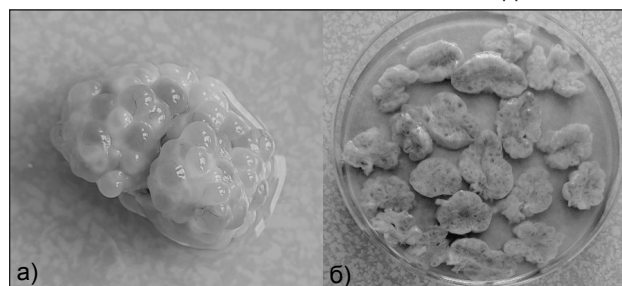


Рис. 2. Яичник свиньи (а) и фрагменты яичников (б).

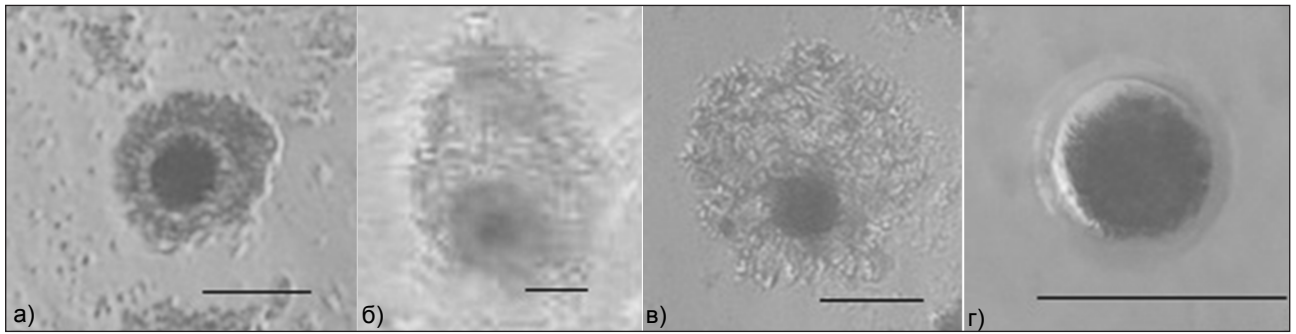


Рис. 3. Варианты ооцит-кумулюсных комплексов по морфологии кумулюса: а) компактный; б) неоднородный; в) рыхлый; г) денудированный ооцит (масштаб 150 мкм).

пользовали открытый способ витрификации ФЯ в марлевых мешочках, погруженных в жидкий азот (-196°C) не менее чем на сутки. Оттаивание проводили с использованием двух растворов (температура $38,5^{\circ}\text{C}$) следующего состава: 1 – 80 % ФСБ, 20 % ФБС, 0,5 моль/л сахарозы, 2 – 80 % ФСБ, 0,25 моль/л сахарозы. Размораживали ФЯ поочередным погружением в раствор 1 на 1 минуту и в раствор 2 на 5 минут. Затем ФЯ переносили в теплый ФСБ ($38,5^{\circ}\text{C}$) до полного оттаивания фрагментов.

ОКК выделяли резекцией ФЯ, затем проводили оценку степени экспансии кумулюсных клеток и анализировали характер ооцит-кумулюсных коммуникаций. Ооциты ранжировали по морфологии окружающего их кумулюса: компактный; неоднородный (компактный и рыхлый); рыхлый. В отдельную группу выделяли денудированные гаметы, не имеющие кумулюсных клеток (рис. 3).

Оттаянные ооциты денудировали для дальнейшей оценки липидома. Анализ его морфофункциональных показателей проводили с помощью окраски гамет флуоресцентным специфическим к триглицеридам красителем Nile red. Для этого ооциты погружали в раствор ФСБ с $1\text{ }\mu\text{M}$ Nile red и оставляли на 5 минут при 24°C в темноте. Отмытые в ФСБ ооциты переносили на предметное стекло, рядом наносили раствор DABCO и глицерина (1:3), после чего накрывали гаметы покровным стеклом.

Показатели морфофункционального состояния липидома ооцитов оценивали на флуоресцентном микроскопе Carl Zeiss Axio Imager.A2m (длины волн $\text{Ex}/\text{Em} = 552/636\text{ nm}$). Микрофотографии гамет обрабатывали с помощью программы JMicroVision 1.3.4. Гаметы ранжировали по морфологии и размеру липидных капель (ЛК): ЛК диаметром менее 10 % от диаметра ооцита тестировали, как гранулы; а ЛК диаметром более 10 %, как кластеры (рис. 4). Одновременно определяли локализацию ЛК: диффузная (равномерное распределение), периферически-перинуклеарная и хаотичная (рис. 5).

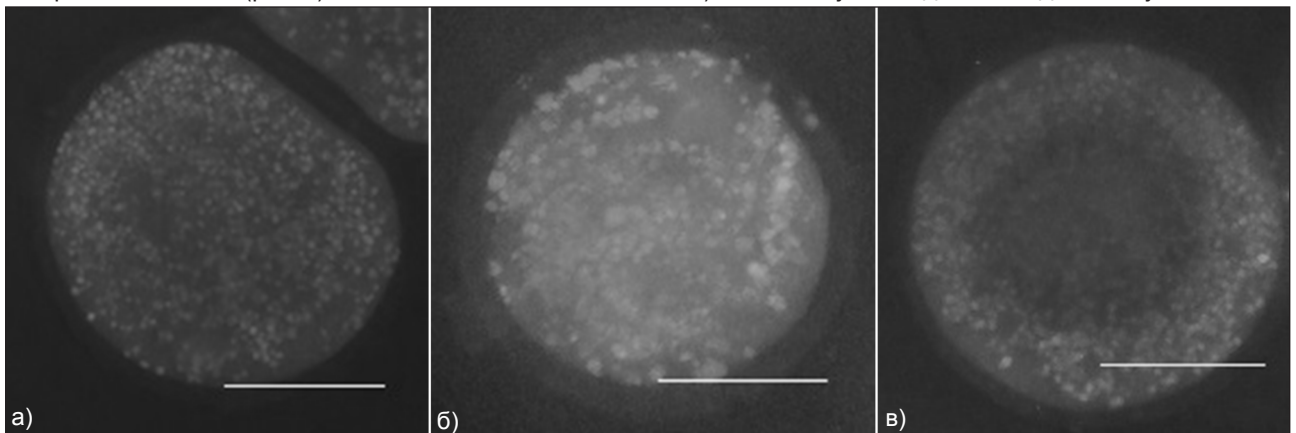


Рис. 5. Ооциты с диффузной (а), хаотичной (б) и периферически-перинуклеарной (в) локализацией липидных капель в цитоплазме (масштаб 50 мкм).

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с использованием критерия χ^2 и критерия Фишера с использованием программы SPSS. Достоверность различия сравниваемых средних значений оценивали при четырех уровнях значимости: $p < 0,01$; $p < 0,05$, $p < 0,001$; $p < 0,005$ для трех независимых экспериментов.

Результаты и обсуждение. Один из главных показателей, отражающих качество ооцита, – морфология кумулюса. Доля денудированных гамет контрольной группы (65 %) была достоверно выше уровней клеток, витрифици-

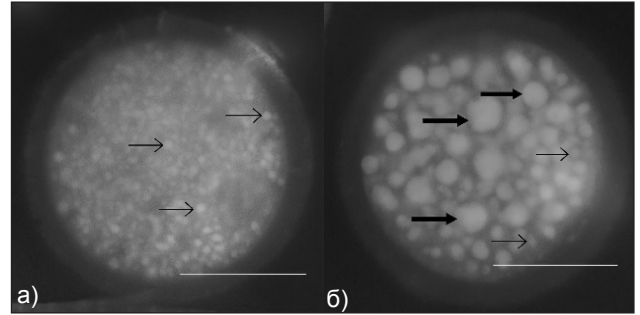
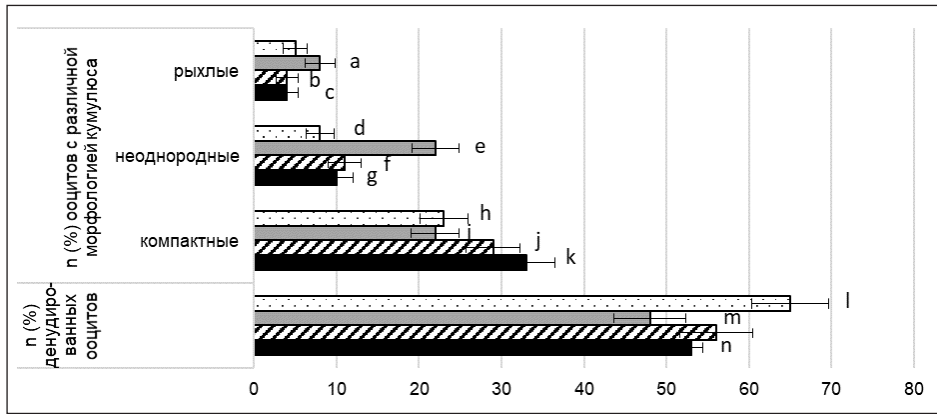


Рис. 4. Ооциты с гранулированной (а) и смешанной (б) морфологией липидных капель в цитоплазме (тонкие стрелочки указывают на гранулы, жирные – на кластеры; масштаб 50 мкм).

рованных с ДМГК (48 %, $p < 0,001$) или STP_{EG} (53 %, $p < 0,05$). Уровень гамет с компактным кумулюсом в третьей опытной группе (33 %) был достоверно выше, чем в контрольной (23 %) и первой опытной (22 %) группах (рис. 6). Доля ооцитов с неоднородной морфологией кумулюса, витрифицированных с ДМГК (22 %), значительно превышала уровни гамет контрольной (8 %, $p < 0,001$), второй (11 %, $p < 0,005$) и третьей опытных (10 %, $p < 0,001$) групп. Доля гамет с рыхлой морфологией кумулюса (8 %) в первой опытной группе превысила ($p < 0,05$) уровни гамет с аналогичной морфологией кумулюсных клеток во второй и третьей опытных группах (по 4 %). Анализ полученных данных свидетельствует о позитив-



было достоверно ($p < 0,05$) ниже (77% в обоих вариантах), чем в контрольной группе (94%) и в варианте с использованием КГГ (90%). Напротив, доли гамет с хаотичным липидом в контрольной (2%) и второй опытной группах (2%) были существенно ($p < 0,05$) ниже, чем в остальных опытных группах (по 8%). Доли гамет с периферически-перинуклеарной локализацией липидных капель в 1 и 3 опытных группах (по 15%) были достоверно ($p < 0,05$) выше, чем в контроле (4%). Представленные результаты свидетельствуют о положительном влиянии введения 2% КГГ в состав второго

Рис. 6. Морфология кумулюса и уровень денудированных ооцитов после интраовариальной витрификации с использованием глицерогелей (3 повторности, $N = 929$): контроль – ооциты, витрифицированные в контрольных условиях; опыт 1 – ооциты, витрифицированные с ДМГК 2%; опыт 2 – ооциты, витрифицированные с КГГ 2%; опыт 3 – ооциты, витрифицированные с STP_{EG} 2% (достоверные различия по критерию χ^2 : $t_{m, d, e, g} p < 0,001$, $i, k p < 0,01$, $e, f p < 0,005$, $t, n, h, k, j, k, a, b, a, c p < 0,05$); □ – контроль, ■ – опыт 1, ▨ – опыт 2, ■ – опыт 3.

ном влиянии 2% ДМГК на сохранность ооцит-кумулюсных контактов и морфологию клеток кумулюса.

Выявление особенностей функционирования клеточных компартов гамет после воздействия ультранизких температур – важный раздел криобиологии. В наших исследованиях была проведена оценка показателей функциональной активности липидома – морфологии и локализации липидных капель в ооцитах после интраовариальной витрификации с использованием изучаемых глицерогелей. Липидные капли состоят из нейтральных липидов, в основном триглицеридов и эфиров холестерина, и представляют собой субстраты для производства энергии, сигнальных липидов и компонентов мембран. Во время оогенеза липидные капли в цитоплазме представлены мелкими гранулами и крупными кластерами. При *in vitro* созревании в цитоплазме ооцитов наблюдается большое количество гранулированных липидных капель [13], вероятно, образованных путем распада больших липидных капель, что увеличивает их поверхность для взаимодействия с другими компартами клетки. Согласно изложенному, липидные капли в форме гранул свидетельствуют об активном вовлечении липидома в функционирование гаметы [14, 15]. После витрификации такие формы наблюдаются в гаметах. После оттаивания ФЯ, морфология ЛК в ооцитах трансформируется из гранулированной, наблюдаемой в нативных клетках, в смешанную [16]. В связи с этим, морфологию ЛК можно расценивать как маркер функционального статуса оттаянных гамет.

Доля гамет с гранулированными липидными каплями (рис. 7) после интраовариальной витрификации в присутствии 2% КГГ была существенно выше, чем в варианте с 2% STP_{EG} (62% и 45% соответственно), а доля гамет со смешанными формами липидных капель, напротив, достоверно ($p < 0,05$) ниже (38% и 55%).

Другой морфофункциональный показатель качества оттаянного ооцита – локализация липидных капель в цитоплазме гаметы (рис. 8). В нашем исследовании доли гамет с диффузной локализацией, витрифицированных при введении ДМГК и STP_{EG} в криопротекторы, после оттаивания

криопротектора, что подтверждает высокий уровень гамет с гранулированным липидом, а также с диффузной локализацией ЛК, обеспечивающей активное вовлечение липидома в метаболизм созревающего ооцита [16].

Результаты анализа существующих протоколов интра- и экстра-овариальной витрификации женских гамет сельскохозяйственных животных свидетельствуют о необходимости их модификации, в связи с низким качеством девитрифицированных ооцитов [1, 16, 17]. Модернизация протокола интраовариальной витрификации ооцитов свиней введением 2% КГГ в состав КПА-2 способствовала лучшему сохранению гамет, что подтверждают снижение доли денудированных гамет, в сравнении с контролем, высокий уровень ооцитов с гранулированными липидными каплями (62%) и их диффузным распределением (90%). Такой эффект можно объяснить тем, что в водном растворе КГГ при активном ресуспендировании образует эмульсию, в результате чего, вероятно, может обволакивать ФЯ, проявляя свойства непроницающего криопротектора, аналогично сахарозе, обеспечивающего осмотическое сжатие фрагментов перед заморозкой и контроль регидратации при размораживании [18]. Кроме того, благодаря особенностям полимерной структуры КГГ, представляющего собой прозрачный упругий гель, сохраняется стабильным при любых значениях pH, что немаловажно при длительной обработке биологических образцов [12]. Таким образом, подготовка ФЯ к витрификации путем экспозиции в криопротекторе с 2% КГГ обеспечила высокий уровень переживаемости гамет при обработке сверхнизкими температурами.

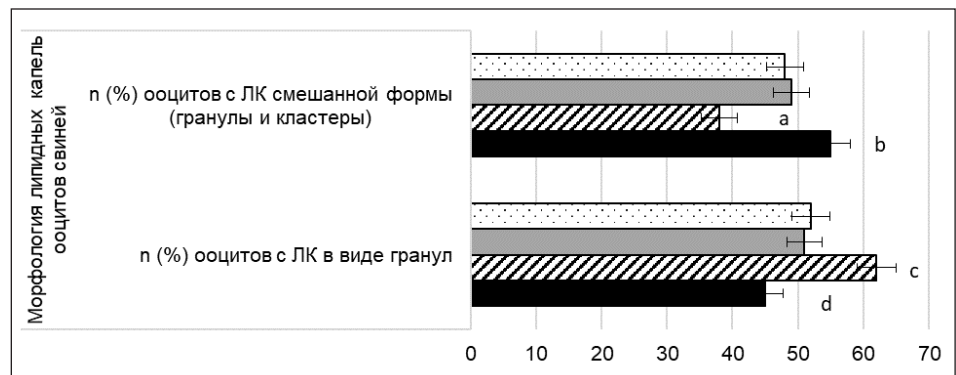


Рис. 7. Анализ морфологии липидома девитрифицированных ооцитов (3 повторности, $N = 278$): контроль – ооциты, витрифицированные в контрольных условиях; опыт 1 – ооциты, витрифицированные с ДМГК 2%; опыт 2 – ооциты, витрифицированные с 2% КГГ; опыт 3 – ооциты, витрифицированные с 2% STP_{EG} (достоверные различия по критерию Фишера: $a, b, c, d p < 0,05$); □ – контроль, ■ – опыт 1, ▨ – опыт 2, ■ – опыт 3.

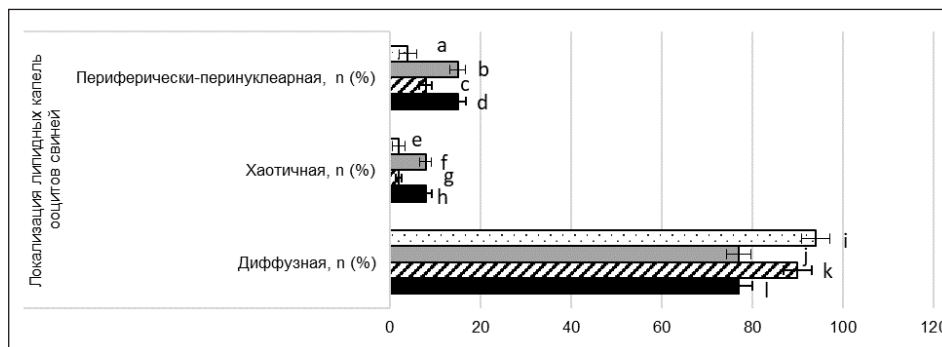


Рис. 8. Оценка локализации липидных капель в ооцитах свиней после интраовариальной витрификации с использованием глицерогелей (3 повторности, N= 273): контроль – ооциты, витрифицированные в контрольных условиях; опыт 1 – ооциты, витрифицированные с ДМГК 2 %; опыт 2 – ооциты, витрифицированные с КГГ 2 %; опыт 3 – ооциты, витрифицированные с STP_{EG} 2 % (достоверные различия по критерию Фишера: ^{ij,kl} p<0,01, ^{a,c,a,d,j,k,kl,e,f,f,g,g,h} p<0,05); □ – контроль, ▨ – опыт 1, ▩ – опыт 2, ■ – опыт 3.

ДМГК и STP_{EG} входят в число глицерогелей, к которым относится и КГГ. Оба вещества имеют сетчатую структуру, текучи и гелеподобны. Прочность гидрогелей увеличивается благодаря объемному распределению частиц кремнезема, тогда как эластичность кремнеземных материалов повышается под влиянием образующих цепи ПЭГ структур [19]. Несмотря на это, они водорастворимы. Последнее предполагает возможность распада веществ в водных растворах с выделением различных молекул, в том числе глицерина и, возможно, оксида кремния, поскольку для его образования необходимо большое количество способных к гидролизу оксидов.

Допуская возможность проникновения крупных молекул глицерина, выделенных после гидролиза ДМГК и STP_{EG}, через строму, клетки теки, гранулезы в фолликулярную жидкость, богатую свободными жирными кислотами (ЖК), можно предположить его использование в биохимических процессах клетки вместо жирных кислот, что способствует накоплению ЖК в фолликулярной жидкости. Кумулюсные клетки выступают в роли барьера, обеспечивающего баланс ЖК между фолликулярной жидкостью и ооцитом, поскольку могут инкорпорировать ЖК из окружающей среды. Однако, как известно, избыточное содержание ЖК в фолликулярной жидкости негативно сказывается на качестве ооцитов [20]. Вероятнее всего, повышение ЖК в фолликулярной жидкости сопровождается увеличением содержания ЖК в клетках кумулюса, а молекулы глицерина преобразуются в триглицериды и накапливаются в липидных каплях ооцитов.

В процессе формирования и функционирования липидные капли коммуницируют с другими клеточными компартментами. Известно, что они прикрепляются к та-

ким структурным элементам цитоскелета, как микрофиламенты и микротрубочки, и движутся вдоль них в результате взаимодействия между ЛК и белками цитоскелета [15]. Введение ДМГК и STP_{EG} в криопротекторы вызвало снижение уровня гамет с диффузной локализацией липидных капель, что, вероятно, свидетельствует о нарушении их коммуникации с цитоскелетными белками. На движение липидных капель в цитоплазме ооцитов после оттаивания могут также оказывать влияние контакты и с другими клеточными органеллами. Можно предположить, что высокое содержание молекул триглицеридов в ооците вызывает аномалии в функционировании липидома при интраовариальной витрификации, что следует из анализа результатов наших экспериментов по оценке показателей морфологии и локализации липидных капель.

Выводы. Выявленные эффекты свидетельствуют о положительном влиянии введения кремнийсодержащих гидрогелей в состав криопротекторных сред на показатели качества девитрифицированных гамет (высокие уровни гамет с гранулированными липидными каплями – 62 % и их диффузным распределением – 90 %). Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности модернизации протокола интраовариальной витрификации донорских ооцитов свиней введением в состав криопротекторных сред кремнийсодержащего глицерогидрогеля в концентрации 2 %.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнялась при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (государственное задание № НИОКТР 124020200127-7). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов

Литература.

1. A systematic review of ovarian tissue transplantation outcomes by ovarian tissue processing size for cryopreservation / A. A. Diaz, H. Kubo, N. Handa, et al. // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022. Vol. 13. Article 918899. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2022.918899/full> (дата обращения: 15.05.2024). doi: 10.3389/fendo.2022.918899.
2. Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency / N. Suzuki, N. Yoshioka, S. Takae, et al. // *Hum Reprod*. 2015. Vol. 30. No. 3. P. 608–615. doi: 10.1093/humrep/deu353.
3. Vitrification of collared peccary ovarian tissue using open or closed systems and different intracellular cryoprotectants / L. B. Campos, A. M. da Silva, E. C. G. Praxedes, et al. // *Cryobiology*. 2019. Vol. 91. P. 77–83. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.10.193.
4. Cryopreservation: An overview of principles and cell-specific considerations / D. Whaley, K. Danyar, R. P. Witek, et al. // *Cell Transplant*. 2021. Vol. 30. P. 1–12. URL: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0963689721999617> (дата обращения: 12.05.2024). doi: 10.1177/0963689721999617.
5. Hosgood S. A., Nicholson M. L. Vitrification and nanowarming. Is this the future of kidney transplantation // *Transpl Int*. 2023. Vol. 8. No. 36. Article 11948. URL: <https://www.frontierspartnerships.org/journals/transplant-international/articles/10.3389/ti.2023.11948/full> (дата обращения: 21.04.2024). doi: 10.3389/ti.2023.11948.
6. Воронков М. Г., Кузнецов И. Г. Удивительный элемент жизни. Иркутск: Восточно-сибирское книжное издательство, 1983. 105 с.
7. Peluso M. R., Schneeman B. O. A food-grade silicon dioxide is hypocholesterolemic in the diet of cholesterol-fed rats // *J Nutr*. 1994. Vol. 124. No. 6. P. 853–860. doi: 10.1093/jn/124.6.853.
8. Самсонова Н. Е. Кремний в растительных и животных организмах // *Агрохимия*. 2019. № 1. С. 86–96. doi: 10.1134/S0002188119010071.

9. Helical and coil conformations of poly(ethylene glycol) in isobutyric acid and water / M. L. Alessi, A. I. Norman, S. E. Knowlton, et al. // *Macromolecules*. 2005. No. 38. P. 9333–9340. doi: 10.1021/ma051339e.
10. Oesterhelt F., Rief M., Gaub H. E. Single molecule force spectroscopy by AFM indicates helical structure of poly(ethyleneglycol) in water // *New J. Phys.* 1999. No. 1. P. 6.1–6.11. doi: 10.1088/1367-2630/1/1/006.
11. Livage J., Henry M., Sanchez C. Sol-gel chemistry of transition metal oxides // *Progress in Solid State Chemistry*. 1988. Vol. 18. No. 4. P. 259–341. doi: 10.1016/0079-6786(88)90005-2.
12. Features of silicon – and titanium–polyethylene glycol precursors in sol–gel synthesis of new hydrogels / T. G. Khonina, A. P. Safronov, M. V. Ivanenko, et al. // *J. Mater. Chem. B*. 2015. No. 3. Article 5490. URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/tb/c5tb00480b> (дата обращения: 03.05.2024). doi: 10.1039/c5tb00480b.
13. Effect of superstimulation protocols on nuclear maturation and distribution of lipid droplets in bovine oocytes / D. Dadarwal, M. Honparkhe, F. C. Dias, et al. // *Reproduction, Fertility and Development*. 2015. Vol. 27. No. 8. P. 1137–1146. doi: 10.1071/RD13265.
14. Motility plays an important role in the lifetime of mammalian lipid droplets / Y. Jin, Z. Ren, Y. Tan, et al. // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22. No. 8. Article 3802. URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/8/3802> (дата обращения: 17.04.2024). doi: 10.3390/ijms22083802.
15. Lipid droplets: Formation, degradation, and their role in cellular responses to flavivirus infections / J. Z. Hsia, D. Liu, L. Haynes, et al. // *Microorganisms*. 2024. Vol. 12. No. 4. Article 647. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/4/647> (дата обращения: 30.04.2024). doi: 10.3390/microorganisms12040647.
16. Старикова Д. А., Кузьмина Т. И. Липидом растущих и завершивших фазу роста ооцитов свиней // *Свиноводство*. 2023. № 2. С. 27–31. doi: 10.37925/0039-713X-2023-2-27-31.
17. Кузьмина Т. И., Чистякова И. В. Оценка компетентности к развитию ооцит-кумулясных комплексов *Sus scrofa domestica* (L.) после интра- и экстраовариальной витрификации // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021. Т. 25. № 6. С. 613–619. doi: 10.18699/VJ21.069.
18. Шабанова Н. А. Золь-гель технологии. Нанодисперсный кремнезем. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. 328 с.
19. Biocompatible silica-polyethylene glycol-based composites for immobilization of microbial cells by sol-gel synthesis / D. G. Lavrova, A. N. Zvonarev, V. A. Alferov, et al. // *Polymers*. 2023. Vol. 15. Article 458. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/2/458> (дата обращения: 28.04.2024). doi: 10.3390/polym15020458.
20. Сметанина И. Г. Роль жирных кислот в созревании ооцитов у млекопитающих // *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2021. № 2. С. 5–21. doi: 10.25687/1996-6733.

References

1. Diaz AA, Kubo H, Handa N, et al. A systematic review of ovarian tissue transplantation outcomes by ovarian tissue processing size for cryopreservation. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2022 [cited 2024 May 15];13: Article 918899. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2022.918899/full>. doi: 10.3389/fendo.2022.918899.
2. Suzuki N, Yoshioka N, Takae S, et al. Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. *Hum Reprod*. 2015;30(3):608-15. doi: 10.1093/humrep/deu353.
3. Campos LB, da Silva AM, Praxedes ECG, et al. Vitrification of collared peccary ovarian tissue using open or closed systems and different intracellular cryoprotectants. *Cryobiology*. 2019;91:77-83. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.10.193.
4. Whaley D, Damyar K, Witek RP, et al. Cryopreservation: An overview of principles and cell-specific considerations. *Cell Transplant* [Internet]. 2021 [cited 2024 May 12];30:1-12. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0963689721999617>. doi: 10.1177/0963689721999617.
5. Hosgood SA, Nicholson ML. Vitrification and nanowarming. Is this the future of kidney transplantation. *Transpl Int* [Internet]. 2023 [cited 2024 Apr 21];8(36): Article 11948. Available from: <https://www.frontierspartnerships.org/journals/transplant-international/articles/10.3389/ti.2023.11948/full>. doi: 10.3389/ti.2023.11948.
6. Voronkov MG, Kuznetsov IG. Udivitel'nyi element zhizni [The amazing element of life]. Irkutsk (Russia): Vostochno-sibirskoe knizhnoe izdatel'stvo; 1983. 105 p. Russian.
7. Peluso MR, Schneeman BO. A food-grade silicon dioxide is hypocholesterolemic in the diet of cholesterol-fed rats. *J Nutr*. 1994;124(6):853-860. doi: 10.1093/jn/124.6.853.
8. Samsonova NE. [Silicon in plants and animals]. *Agrokimiya*. 2019;(1):86-96. Russian. doi: 10.1134/S0002188119010071.
9. Alessi ML, Norman AI, Knowlton SE, et al. Helical and coil conformations of poly(ethylene glycol) in isobutyric acid and water. *Macromolecules*. 2005;(38):9333-40. doi: 10.1021/ma051339e.
10. Oesterhelt F, Rief M, Gaub HE. Single molecule force spectroscopy by AFM indicates helical structure of poly(ethyleneglycol) in water. *New J. Phys.* 1999;(1):6.1-6.11. doi: 10.1088/1367-2630/1/1/006.
11. Livage J, Henry M, Sanchez C. Sol-gel chemistry of transition metal oxides. *Progress in Solid State Chemistry*. 1988;18(4):259-341. doi: 10.1016/0079-6786(88)90005-2.
12. Khonina TG, Safronov AP, Ivanenko MV, et al. Features of silicon – and titanium–polyethylene glycol precursors in sol–gel synthesis of new hydrogels. *J. Mater. Chem. B*. [Internet]. 2015 [cited 2024 May 3];(3): Article 5490. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/tb/c5tb00480b>. doi: 10.1039/c5tb00480b.
13. Dadarwal D, Honparkhe M, Dias FC, et al. Effect of superstimulation protocols on nuclear maturation and distribution of lipid droplets in bovine oocytes. *Reproduction, Fertility and Development*. 2015;27(8):1137-46. doi: 10.1071/RD13265.
14. Jin Y, Ren Z, Tan Y, et al. Motility plays an important role in the lifetime of mammalian lipid droplets. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 [cited 2024 Apr 17];22(8): Article 3802. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/8/3802>. doi: 10.3390/ijms22083802.
15. Hsia JZ, Liu D, Haynes L, et al. Lipid droplets: Formation, degradation, and their role in cellular responses to flavivirus infections. *Microorganisms* [Internet]. 2024 [cited 2024 Apr 30];12(4): Article 647. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/4/647>. doi: 10.3390/microorganisms12040647.
16. Starikova DA, Kuz'mina TI. [Lipidome of growing and post-growing pig oocytes]. *Svinovodstvo*. 2023;(2):27-31. Russian. doi: 10.37925/0039-713X-2023-2-27-31.
17. Kuz'mina TI, Chistyakova IV. [Evaluation of competence for development of oocyte-cumulus complexes of *Sus scrofa domestica* (L.) after intra- and extraovarian vitrification]. *Vavilovskii zhurnal genetiki i seleksii*. 2021;25(6):613-9. Russian. doi: 10.18699/VJ21.069.
18. Shabanova NA. Zol'-gel' tekhnologii. Nanodispersnyi kremnezem [Sol-gel technologies. Nanodispersed silica]. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy; 2014. 328 p. Russian.
19. Lavrova DG, Zvonarev AN, Alferov VA, et al. Biocompatible silica-polyethylene glycol-based composites for immobilization of microbial cells by sol-gel synthesis. *Polymers* [Internet]. 2023 [cited 2024 Apr 28];15: Article 458. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/2/458>. doi: 10.3390/polym15020458.
20. Smetanina IG. [Role of fatty acids in oocyte maturation in mammals]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh*. 2021;(2):5-21. Russian. doi: 10.25687/1996-6733.

Поступила в редакцию 26.06.2024 После доработки 18.07.2024 Принята к публикации 07.08.2024