



## АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 576.08; 636.4

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.3.436

### ВЛИЯНИЕ УНИТИОЛА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ООЦИТОВ *SUS SCROFA DOMESTICUS* В СИСТЕМЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO*

Притужалова А.О.\* – науч. сотр. лаборатории биологии развития (ORCID 0000-0002-2865-9582); Кузьмина Т.И. – д-р биол. наук, проф., глав. науч. сотрудник, зав. лабораторией биологии развития (ORCID 0000-0002-4218-6080).

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»

\* [aklevakina14@mail.ru](mailto:aklevakina14@mail.ru)

**Ключевые слова:** ооцит, активные формы кислорода, оксидативный стресс, *Sus scrofa domesticus*, унитиол.

**Keywords:** oocyte, reactive oxygen species, oxidative stress, *Sus scrofa domesticus*, unithiol.

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения государственного задания НИОКТР 124020200127-7.

Поступила: 30.05.2025

Принята к публикации: 26.08.2025

Опубликована онлайн: 15.09.2025



#### РЕФЕРАТ

Оксидативный стресс при культивировании ооцитов свиней *in vitro* является одним из факторов, снижающих жизнеспособность и выход компетентных к оплодотворению женских гамет. Экзогенные антиоксиданты, к которым относится унитиол, обеспечивают снижение продукции активных форм кислорода в клетках. В настоящем исследовании ооцит-кумулясные комплексы (ОКК) свиней культивировали в течение 44 ч без и с унитиолом в концентрациях 0,42 мг/мл и 0,84 мг/мл. Через 22 ч обнаружен рост (на 21%,  $p < 0,01$ ) доли ОКК, реиницировавших мейоз, в группах ооцитов, прокультивированных с 0,42 или 0,84 мг/мл унитиолом, в сравнении с контролем. Спустя 44 ч все гаметы экспериментальных групп реиницировали мейоз (85, 83 и 90%). Спустя 44 ч, в группе ооцитов культивировавшихся с 0,42 мг/мл унитиола выявили снижение доли (на 28%) созревших клеток ( $p < 0,001$ ), а внесение 0,84 мг/мл унитиола в среду обеспечило снижение уровня клеток, завершивших мейоз, на 31% ( $p < 0,001$ ) в сравнении с контролем. Через 22 ч культивирования доля

дегенерированных клеток в группе, прокультивированной с 0,42 мг/мл унитиола была выше контроля на 14% ( $p < 0,05$ ), а с концентрацией 0,84 мг/мл - на 34% ( $p < 0,001$ ). Спустя 44 ч культивирования унитиол в концентрациях 0,42 и 0,84 мг/мл, по-прежнему, инициировал дегенеративные изменения в ооцитах. Доля клеток с признаками дегенерации была на 25 и 32% выше в сравнении с контролем,  $p < 0,01$ ). Таким образом, введение в состав культуральных сред унитиола в концентрациях 0,84 и 0,42 мг/мл вызывало снижение доли созревших ооцитов и рост уровня женских гамет с дегенерированным хроматином. Выявленные особенности воздействия унитиола в исследованных дозировках на мейотическое созревание донорских ооцитов свиной *in vitro* не позволяют рекомендовать его в качестве экзогенного антиоксиданта для снижения оксидативного стресса в ооцитах свиной при культивировании *in vitro*.

### ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Технология получения эмбрионов сельскохозяйственных животных *in vitro* – эффективный способ тиражирования потомства от особей с превосходящими хозяйственно-полезными признаками. При этом, культивирование ооцитов *in vitro*, как первый этап, является основополагающим для приобретения компетентности ооцита к оплодотворению, и, следовательно, получению эмбрионов высокого качества.

На выход созревших ооцитов оказывает влияние множество факторов, включая качество выделенных ооцитов и условия культивирования женских гамет [1]. Однако, на сегодняшний день имеются сложности в подборе оптимального состава культуральной среды и, одной из проблем при культивировании ооцитов *in vitro*, является окислительный стресс, вызванный повышенной генерацией активных форм кислорода (АФК) ооцитами в среде для культивирования [2]. В условиях *in vivo* антиоксиданты, находящиеся в фолликулярной жидкости овариальных фолликулов самок, способствуют снижению АФК, продуцируемых ооцитами [3], а избыточная генерация АФК может, в конечном итоге, привести к гибели клеток [4]. Однако, условия созревания ооцитов *in vitro* могут провоцировать возникновение стресс-факторов для повышенной генерации АФК, а среда для культивирования в полной мере не обеспечивает антиоксидантную защиту клеток и нередко сама является причиной образования свободных радикалов [5]. В связи с этим, возникает необходимость поиска оптимальных экзогенных антиоксидантов,

способных снизить избыточную генерацию АФК ооцитами в условиях культивирования *in vitro*.

Тиоловые соединения (например, глутатион – GSH) присутствуют в антиоксидантной системе клеток и являются сульфгидрильными компонентами в клетках млекопитающих, регулируя внутриклеточный окислительно-восстановительный баланс [6]. В качестве экзогенного представителя тиоловых групп выступает унитиол. Он также имеет свободные сульфгидрильные группы, способные быстро останавливать реакцию избыточного окисления [7, 8, 9]. Однако, данные, в которых применялся бы унитиол в системе культивирования ооцитов свиной *in vitro*, отсутствуют.

Цель исследования – оценить влияние унитиола в разных концентрациях на показатели ядерного созревания и дегенеративных изменений хроматина в ооцитах *Sus scrofa domestica* при культивировании *in vitro*, с целью потенциального его применения в качестве экзогенного неферментативного антиоксиданта при экстракорпоральном созревании ооцитов свиной.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В экспериментах использовали яичники свиной породы ландрас в возрасте 6 мес., полученных *post mortem* на Тосненском мясокомбинате и доставленных в течение 1 часа. Яичники после овариоэктомии помещались в термосе в теплом ( $38^{\circ}\text{C}$ ) 0,9 % растворе NaCl, содержащем 100 МЕ/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина и доставлялись от места убоя в лабораторию. Для эксперимента

отбирали яичники на стадии фолликулярного роста, без патологических изменений. Ооцит-кумуляные комплексы (ОКК) свиней извлекали путем резекции стенок фолликулов ( $\varnothing$  3-5 мм) с помощью хирургического скальпеля в стерильный фосфатно-солевой буфер (PBS), после чего переносили в культуральную среду для последующего ранжирования. В выборку контрольной и экспериментальных групп включали ооциты, окруженные не менее 5 компактными, однородными слоями кумулюсных клеток, гомогенной ооплазмой и равномерной по ширине зоной пеллюцида.

Культивирование выделенных ОКК ранжировали на 3 группы и культивировали под стерильным минеральным маслом в среде TC-199, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой (ФБС), 10% инактивированной фолликулярной жидкостью свиней (аспирированной из фолликулов  $\varnothing$  3-5 мм), 10 МЕ/мл хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ), антибиотиком-антимикотиком (производитель Gibco) до конечной концентрации 10 мкл/1мл в среде, пируватом натрия (0,11 М), а также клетками гранулезы (КГ) в конечной концентрации  $1 \cdot 10^6$  клеток/мл. 1 группа являлась контрольной, в две другие добавляли 0,42 мг/мл и

0,84 мг/мл унитиола, соответственно. ОКК культивировали в 5%  $\text{CO}_2$  в атмосфере и максимальной влажности. Через 22 ч ОКК с КГ промывали, производили замену среды на вышеобозначенную, но уже без гормональных добавок и культивировали еще 22 ч при тех же условиях.

Оценку статуса хроматина проводили с помощью флуоресцентного красителя Hoechst33342 (Lumiprobe). Ооциты механически денудировали от остатков кумулюса, экспанировали в гипотоническом растворе цитрата натрия в течение 4 минут, после чего фиксировали в метаноле с добавлением ледяной уксусной кислоты (соотношение 3:1). Полученные суховоздушные цитопрепараты окрашивали раствором Hoechst33342 (рабочая концентрация 1.9  $\mu\text{M}$ ), с добавлением раствора Дабко (Рис.1).

Оценку ооцитов контрольной и экспериментальной групп производили спустя 22 и 44 ч культивирования. Проанализированные популяции ооцитов распределяли в следующие группы: ооциты, реинициировавшие мейоз (вышедшие из стадии диплотены (Рис. 1А); ооциты, достигшие стадии созревания (метафаза II, рис. 1Б), ооциты с признаками дегенерации хроматина (Рис.2).

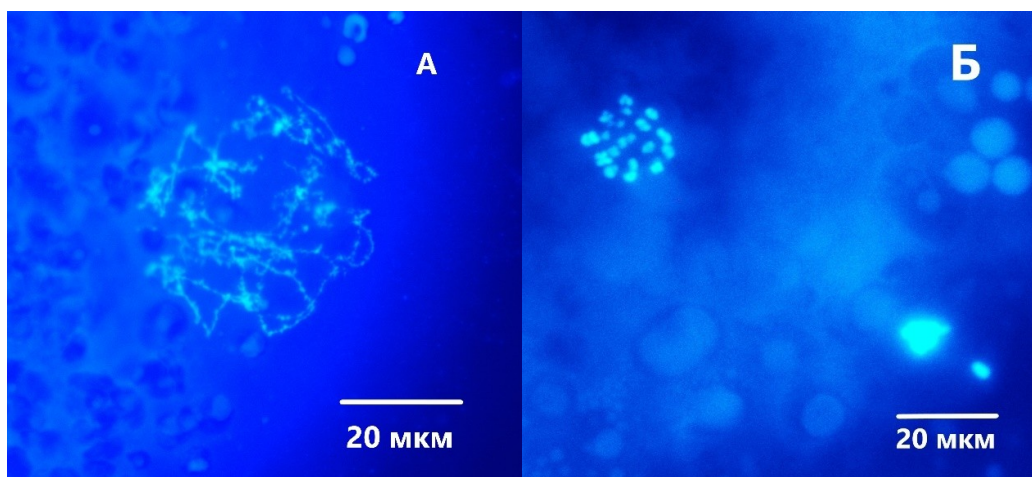


Рисунок 1 – Репрезентативное изображение хроматина ооцитов свиней на стадиях диплотены (А) и метафазы II (Б). Цитологический препарат, окрашивание Hoechst33342; микроскоп ZEISS Axio Lab. A1 (Carl Zeiss), увеличение  $\times 900$ .

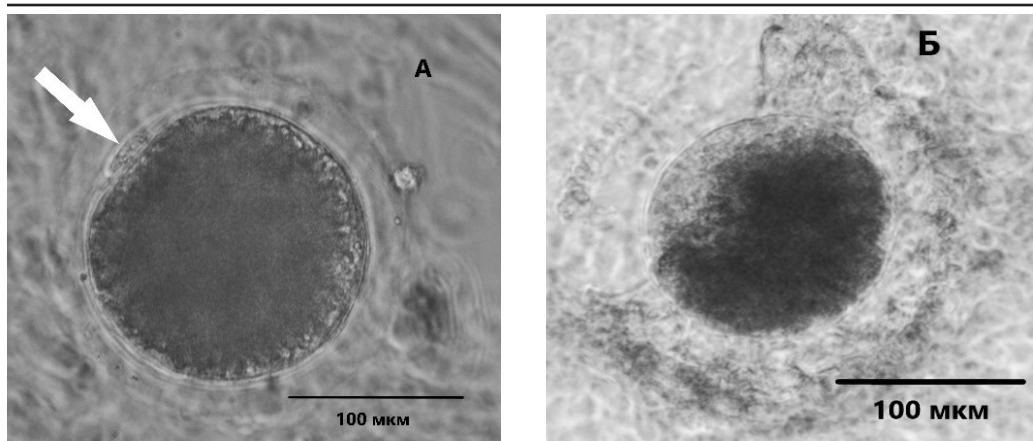


Рисунок 2 – Ооциты свиней спустя 44 часа культивирования *in vitro*. А – ооцит на стадии метафазы II (стрелка указывает на полярное тельце); Б – ооцит с признаками дегенерации. Увеличение  $\times 600$ . Инвертированный микроскоп МИБ2-ФЛ модель ICX41FLLED (Ломо МА).

Визуализацию, оценку и фотофиксацию проводили с помощью микроскопа МИБ2-ФЛ модель ICX41FLLED (Ломо МА) и программного обеспечения MCview. Результаты эксперимента были обработаны с использованием программы Sigma Stat. Все используемые в исследовании реагенты, за исключением указанных, были произведены компанией Sigma-Aldrich. Используемая лабораторная посуда произведена фирмой BD Falcon™.

Для оценки статистической значимости различий между средними значениями применялся критерий  $\chi^2$  при трех уровнях значимости:  $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ ,  $P < 0,001$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Возобновление мейотического созревания ооцитов инициируется сложным взаимодействием гормональных и молекулярных сигналов. Результаты данного показателя отражены на Рис. 3.

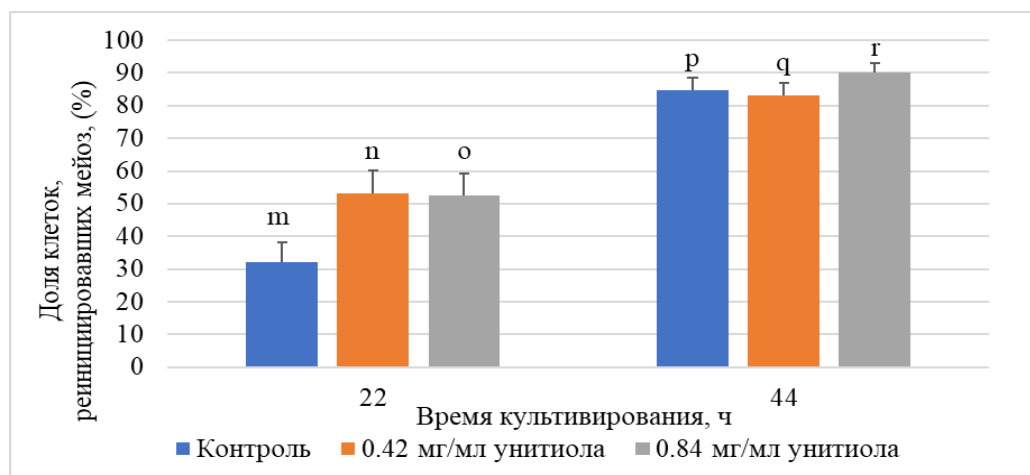


Рисунок 3 – Влияние унитиола (в концентрации 0,42 и 0,84 мг/мл) на реинициацию мейоза в ооцитах свиней при культивировании *in vitro*. <sup>m,n; m,o</sup> -  $p < 0,01$ ; <sup>m,p; n,q; o,r</sup> -  $p < 0,001$ . (n-429).

В наших исследованиях через 22 ч культивирования доля ооцитов, реиницировавших мейоз в группах с 0,42 и 0,84 мг/мл унитиола составила 53% (в обеих группах), что достоверно выше контроля на 21 % ( $p<0,01$ ). Тем не менее, спустя 44 ч все экспериментальные группы клеток имели высокий процент реинициации и достигали 85, 83 и 90% соответственно.

Завершение мейотического созревания ооцита (достижение стадии метафазы II) является критически важным, характеризующим успешное приобретение компетентности ооцита к дальнейшему оплодотворению (Рис.4).

В результате проведенных экспериментов после 44 ч культивирования доля созревших ооцитов в контрольной группе составила 67%, при этом, в экспериментальных группах значение данного показателя оказалось ниже. Так, при культивировании с 0,42 мг/мл унитиола процент клеток, завершивших созревание составил 39%, что оказалось на 28% ниже контроля ( $p<0,001$ ), а добавление в среду 0,84 мг/мл унитиола снизило данный показатель на 31% в сравнении с контролем и составил 36% ( $p<0,001$ ).

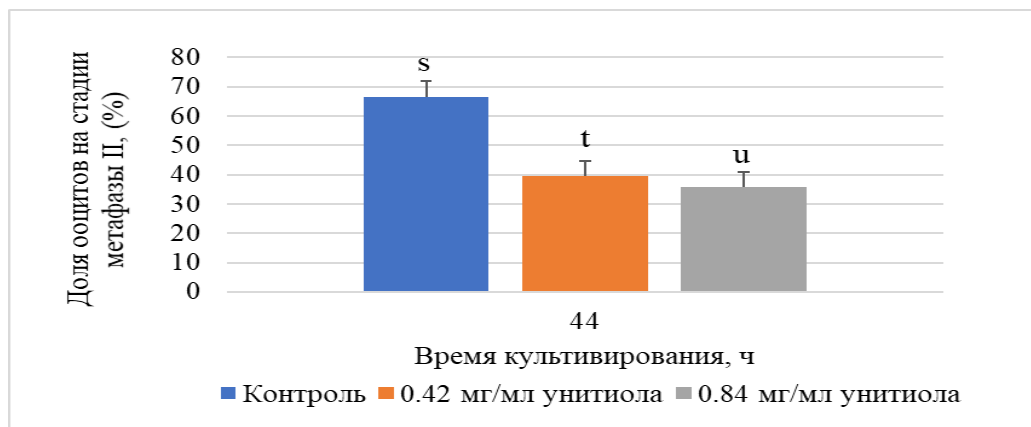


Рисунок 4 – Влияние унитиола (в концентрации 0,42 и 0,84 мг/мл) на ядерное созревание ооцитов свиней *invitros*<sup>t; s; u</sup> -  $p<0,001$  (n-144).

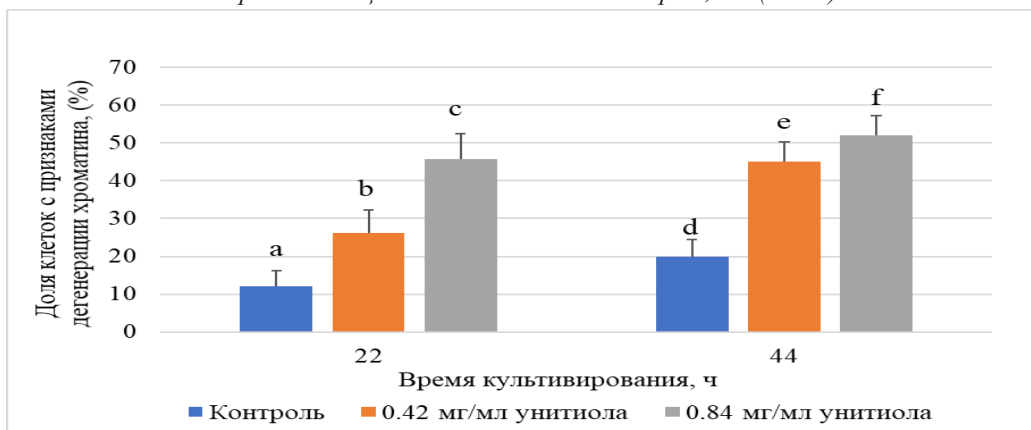


Рисунок 5 – Влияние унитиола (в концентрации 0,42 и 0,84 мг/мл) на статус хроматина в динамике культивирования (22 и 44 часа) <sup>a; b; a; e; a; f</sup>  $p<0,05$ ; <sup>b; c; b; d; c; e; c; f; d; e; d; f</sup>  $p<0,01$ ; <sup>a; c; c; d</sup> -  $p<0,001$ . (n-112).



Дегенерация хроматина женских гамет в динамике культивирования *in vitro* является важным критерием при тестировании цитотоксичных эффектов различных веществ. На Рис. 5 показаны данные, характеризующие деструкцию хроматина в ооцитах свиней (спустя 22 и 44 часа культивирования).

В нашем исследовании показано, что через 22 ч культивирования уровень клеток с дегенерированным хроматином в группе с добавлением в среду 0,42 мг/мл унитиола был значительно выше контрольной группы на 14% ( $p < 0,05$ ), а внесение в среду унитиола в концентрации 0,84 мг/мл увеличило этот показатель на 34% ( $p < 0,001$ ). Спустя 44 ч культивирования данная тенденция сохранялась: введение в культуральную среду 0,42 и 0,84 мг/мл унитиола увеличило долю клеток с признаками дегенерации хроматина в экспериментальных группах на 25 и 32% в сравнении с контролем ( $p < 0,01$ ).

Тиоловые соединения, помимо антиоксидантных свойств, способны выступать субстратом для глутатионпероксидазы [10], а также могут являться источником окислительно-восстановительных буферов, регулирующих состав тиола/дисульфида белка [6]. Дисульфидные связи поддерживают структуру растворимых белков, участвуют в ферментативных и транспортных процессах. Возможно, что добавление тиоловых соединений активирует внутриклеточные процессы, и, в нашем случае, способствует более высокой доле ооцитов, реинициировавших мейоз через 22 часа культивирования, в сравнении с контролем.

Некоторые представители тиоловых соединений, при добавлении в среду для культивирования ооцитов, способствуют их созреванию, развитию и способны улучшать качество эмбрионов. Так, показано, что один из представителей тиоловых соединений Р-меркаптоэтанол способен восстанавливать цистин до цистеина, усиливая синтез глутатиона в ооците во время их культивирования *in vitro* [11]. Применение унитиола при витрификации ооцитов крупного рогатого скота также

показало положительное влияние на их жизнеспособность и дальнейшее приобретение компетенции к оплодотворению и развитию эмбрионов *in vitro* [12]. Однако, в нашем эксперименте при добавлении унитиола в концентрациях 0,84 и 0,42 мг/мл в среду для культивирования ооцитов свиней как через 22, так и 44 ч наблюдалось увеличение доли клеток с признаками дегенерации хроматина. Эти результаты согласуются с данными Aldhaferi, S. R. et al., которые показали, что добавление унитиола к ооцитам мышей в разных концентрациях вызывало нарушение образования веретена деления на стадии метафазы II и нарушения структурирования хромосом, которые ведут к необратимым дегенеративным изменениям [13]. Mohammadi Roushandeh et al. показали, что добавление цистеина (представителя тиоловой группы) ускоряет созревание ооцитов мышей, однако, в повышенных концентрациях (свыше 500  $\mu$ M) оказывает цитотоксический эффект [14], что также подтверждает полученные нами результаты.

#### ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате исследования выявлен негативный эффект воздействия унитиола в концентрациях 0,84 и 0,42 мг/мл на ооциты свиней в системе культивирования *in vitro*. Полученные данные не позволяют рекомендовать данное соединение в качестве экзогенного антиоксиданта (в вышеобозначенных дозировках) для снижения оксидативного стресса в ооцитах *Sus scrofa domestica* при культивировании *in vitro*. Вышесказанное не исключает вероятности выявления позитивных эффектов унитиола на жизнеспособность ооцитов в культуре при использовании других диапазонов концентраций.

#### EFFECT OF UNITHIOL ON THE VIABILITY OF *SUS SCROFA DOMESTICA* OOCYTES IN AN *IN VITRO* CULTURE SYSTEM

Prituzhalova A.O.\* – Researcher, Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-2865-9582); Kuzmina T.I. – Doctor of Biological Sciences, Professor,

Chief Researcher, Head of the Laboratory of Developmental Biology (ORCID 0000-0002-4218-6080)

The All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals is a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center of Animal Husbandry named after Academician L. K. Ernst

**Financing:** the work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the state assignment R&D 124020200127-7.

\*aklevakina14@mail.ru

## ABSTRACT

Oxidative stress during *in vitro* maturation of porcine oocytes is one of the factors that reduce viability and exit of competent to insemination female gametes. Exogenous antioxidants, which includes unithiol, reduce production of active oxygen forms in cells. In the present study, pig's cumulus-oocyte complexes (COC) were cultivated for 44h with and without single-agent at concentrations of 0,42 mg/ml and 0,84 mg/ml. After 22 h was found an increasing (by 21%,  $p<0,01$ ) of the proportion of COC reinitiated meiosis in oocyte groups cultivated with 0,42 or 0,84 mg/ml of unithiol in comparison with control. After 44h all gametes in experimental groups reinitiated meiosis (85, 83 and 90%). After 44 h, in oocyte group cultivated with 0,42 mg/ml of unithiol there was a decreasing (by 28%) in proportion of mature cells ( $p<0,001$ ), and introduction of 0,84 mg/ml of unithiol into environment resulted in a decrease of 31% ( $p 0,001$ ) in level of cells having completed meiosis compared to control. After 22 h of cultivation, proportion of degenerated cells in a group cultivated with 0,42 mg/ml of unithiol was above control by 14% ( $p<0,05$ ), and with a concentration of 0,84 mg/ml - by 34% ( $p<0,001$ ). After 44 h of cultivation, unithiol in concentrations of 0,42 and 0,84 mg/ml continued to initiate degenerative changes in oocytes. Proportion

of cells with degeneration was 25 and 32% higher compared to control,  $p<0,01$ ). Introduction of unithiol in concentrations of 0,84 and 0,42 mg/ml into cultural media caused a decreasing percentage of mature oocytes and increasing level of female gametes with degenerated chromatin. Observed effects of unithiol in studied dosages on meiotic maturation of pig's *in vitro* donor oocytes do not allow to recommend it as an exogenous antioxidant for reducing oxidative stress in pig oocytes under *in vitro* maturation.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- 1.Jiang, H. Laminarin improves developmental competence of porcine early-stage embryos by inhibiting oxidative stress / Jiang H., Liang S., Yao X.R. [et al.] // Theriogenology. – 2018. – Vol. 115. – P. 38 – 44. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.04.019.
- 2.Ye R. Protective Effect of Icaritin on the Development of Preimplantation Mouse Embryos against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Injury / Ye R., Xu S., Liu Y. [et al.] //Oxidative medicine and cellular longevity. - Vol. 2017. – Iss. 2704532. doi: 10.1155/2017/2704532 Режим доступа: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5478867>.
- 3.Khazaei M. Reactive oxygen species generation and use of antioxidants during *in vitro* maturation of oocytes / M. Khazaei, F. Aghaz // International journal of fertility & sterility. - 2017. – Vol. 11. – P. 63–70. doi: 10.22074/ijfs.2017.4995.
- 4.Artini P. G. Oxidative Stress-Related Signaling Pathways Predict Oocytes' Fertilization In Vitro and Embryo Quality / P. G. Artini, G. Scarfò, I. Marzi, [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. - Vol. 23. - № (21). – Iss. 13442. doi: 10.3390/ijms232113442. Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/21/13442>.
- 5.Torres-Osorio V. Oxidative stress and antioxidant use during *in vitro* mammal embryo production. Review / V. Torres-Osorio, R. Urrego, J. J. Echeverri-Zuluaga [et al.] // Revista mexicana de ciencias pecuarias. – 2019. - Vol.10 - №2. - P. 433-459 <https://doi.org/10.22319/rmcsp.v10i2.4652>. Режим

- доступа: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4652>.
6. Flohe L. Free Radicals in Biology. New York, 1982, 305 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-566505-6.X5001-7>.
  7. Яблоков В. Е. Сорбционное концентрирование ионов кадмия и свинца в виде комплексов с унитиолом на поверхности силикагеля, модифицированного группами четвертичной аммониевой соли / Яблоков В. Е., Ищенко Н. В., Алексеев С. А. // Журнал аналитической химии. – 2013. – Т. 68. – №3. – с. 224 – 229. DOI: 10.7868/S0044450213030146.
  8. Жоров Г. А. Применение антиоксидантных серосодержащих соединений в качестве биопротекторных средств при свободнорадикальных процессах и интоксикациях тяжелыми металлами / Жоров Г. А., Рубченков П. Н., Захарова Л. Л. [и др.] // Российский журнал проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2016. – №40(20). – с. 113-121.
  9. Гребенюк, А. Н. Токсикология и медицинская защита: учебник / А. Н. Гребенюк, Н. В. Аксенова, А. Е. Антушевич ; под редакцией А. Н. Гребенюка. — Санкт-Петербург: ФОЛИАНТ, 2016. — 672 с.
  10. Gilbert H. F. Thiol/disulfide exchange equilibria and disulfide bond stability / H. F. Gilbert // Methods in enzymology. – 1995. – Vol. 251. – P. 8-28. doi:10.1016/0076-6879(95)51107-5.
  11. De Matos D. G., Furnus C. C. The importance of having high glutathione (GSH) level after bovine in vitro maturation on embryo development: Effect of  $\beta$ -mercaptoethanol, cysteine and cystine / D. G. De Matos, C. C. Furnus // Theriogenology. – 2000. – Vol. 53. – Iss. 3. – P. 761– 771. doi:10.1016/s0093 691x(99)00278 2. Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X99002782?via%3Dihub>.
  12. Trotskiy P. A. Cryopreservation of oocyte-cumulus complexes of cows with different bioactive substances / P. A. Trotskiy // Animal Breeding and Genetics. – 2018. – Vol. – 51. P. 255-260. DOI: 10.31073/abg.51.34.
  13. Aldhaferi S. R. Dimercapto-1-propanesulfonic acid (DMPS) induces metaphase II mouse oocyte deterioration / S. R. Aldhaferi, R. Jeelani, H.-R. Kohan-Ghadr, S. N. Khan, S. Mikhael, C. Washington, H. M. Abu-Soud // Free Radical Biology and Medicine. – 2017 – Vol. 112. – P. 445–451. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.015.
  14. Mohammadi Roushandeh A. The influence of meiotic spindle configuration by cysteamine during in vitro maturation of mouse oocytes / A. Mohammadi Roushandeh, M. Habibi Roudkenar // Iranian biomedical journal. – 2009. – Vol. 13(2). – P. 73-78.

## REFERENCES

1. Jiang, H. Laminarin improves developmental competence of porcine early-stage embryos by inhibiting oxidative stress / Jiang H., Liang S., Yao X.R. [et al.] // Theriogenology. – 2018. – Vol. 115. – P. 38 – 44. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.04.019.
2. Ye R. Protective Effect of Icarin on the Development of Preimplantation Mouse Embryos against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Injury / Ye R., Xu S., Liu Y. [et al.] // Oxidative medicine and cellular longevity. – Vol. 2017. – Iss. 2704532. doi: 10.1155/2017/2704532 Режим доступа: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5478867>.
3. Khazaei M. Reactive oxygen species generation and use of antioxidants during in vitro maturation of oocytes / M. Khazaei, F. Aghaz // International journal of fertility & sterility. – 2017. – Vol. 11. – P. 63–70. doi: 10.22074/ijfs.2017.4995.
4. Artini P. G. Oxidative Stress-Related Signaling Pathways Predict Oocytes' Fertilization In Vitro and Embryo Quality / P. G. Artini, G. Scarfò, I. Marzi, [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. – Vol. 23. – № (21). – Iss. 13442. doi: 10.3390/ijms232113442. Режим доступа: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/21/13442>.
5. Torres-Osorio V. Oxidative stress and antioxidant use during in vitro mammal embryo production. Review / V. Torres-Osorio, R. Urrego, J. J. Echeverri-Zuluaga [et al.] //



- Revista mexicana de ciencias pecuarias. – 2019. – Vol.10 – №2. – P. 433-459 <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4652>. Режим доступа: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4652>.
6. Flohe L. Free Radicals in Biology. New York, 1982, 305 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-566505-6.X5001-7>.
7. Yablokov V. E. Sorption preconcentration of cadmium and lead ions as complexes with unithiol on a silica surface modified by quaternary ammonium salt groups / V. E. Yablokov, N. V. Ishchenko, S. A. Alekseev // Journal of analytical chemistry. – 2013. – Vol. 68. – № 3. – P. 206-211. DOI: 10.7868/S0044450213030146 (In Russ.).
8. Zhorov G. A. The use of antioxidant sulfur-containing compounds as bioprotectors in free-radical processes and intoxications by heavy metals / G. A. Zhorov, P. N. Rubchenkov, L. L. Zakharova [et al.] // Russian journal problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology. – 2016. – Vol. (20). – P. 113-121 (In Russ.).
9. Grebenyuk, A. N. Toxicology and medical protection: textbook / A. N. Grebenyuk, N. V. Aksenova, A. E. Antushevich; edited by A. N. Grebenyuk. – St. Petersburg: FOLIANT, 2016. – 672 p (In Russ.).
10. Gilbert H. F. Thiol/disulfide exchange equilibria and disulfide bond stability / H. F. Gilbert // Methods in enzymology. – 1995. – Vol. 251. – P. 8-28. doi:10.1016/0076-6879(95)51107-5.
11. De Matos D. G., Furnus C. C. The importance of having high glutathione (GSH) level after bovine in vitro maturation on embryo development: Effect of  $\beta$ -mercaptoethanol, cysteine and cystine / D. G. De Matos, C. C. Furnus // Theriogenology. – 2000. – Vol. 53. – Iss. 3. – P. 761– 771. doi:10.1016/S0093-691X(99)00278-2. Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X99002782?via%3Dihub>.
12. Trotskiy P. A. Cryopreservation of oocyte-cumulus complexes of cows with different bioactive substances / P. A. Trotskiy // Animal Breeding and Genetics. – 2018. – Vol. – 51. P. 255-260. DOI: 10.31073/abg.51.34.
13. Aldhaheri S. R. Dimercapto-1-propanesulfonic acid (DMPS) induces metaphase II mouse oocyte deterioration / S. R. Aldhaheri, R. Jeelani, H.-R. Kohan-Ghadr, S. N. Khan, S. Mikhael, C. Washington, H. M. Abu-Soud // Free Radical Biology and Medicine. – 2017 – Vol. 112. – P. 445–451. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.015.
14. Mohammadi Roushandeh A. The influence of meiotic spindle configuration by cysteamine during in vitro maturation of mouse oocytes / A. Mohammadi Roushandeh, M. Habibi Roudkenar // Iranian biomedical journal. – 2009. – Vol. 13(2). – P. 73-78.