

# **Untersuchung zur Verteilung und Aktivität von Mitochondrien im Ooplasma von Cumulus-Oozyten-Komplexen des Rindes während der In-vitro-Reifung**

C.Otzdorff<sup>1</sup>, M.Friedrich<sup>2</sup>, H.Alm<sup>2</sup>, H.-P. Nohner<sup>1</sup>, C.Leiding<sup>1</sup>, W.Kanitz<sup>2</sup>, H. Torner<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch e.V., 91413 Neustadt a.d. Aisch

<sup>2</sup> Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, 18196 Dummerstorf

Mitochondrien spielen eine wichtige Rolle im Stoffwechsel der Oozyte durch die Bereitstellung von ATP für Maturation und Fertilisation und als  $\text{Ca}^{2+}$ -Speicher. Während der Maturation stellen die Mitochondrien die stärkste Organellenfraktion dar. Die Verteilung der Mitochondrien unterliegt dynamischen Veränderungen bei den verschiedenen Spezies. Es liegen Hinweise vor, dass die respiratorische Aktivität der Mitochondrien mit der Entwicklungskompetenz von Oozyten korreliert. Dies lässt den Schluss zu, dass die Verteilung und die respiratorische Aktivität von Mitochondrien ein Beurteilungskriterium für die Eizellqualität darstellen könnte.

Ziel dieser Arbeit war es, die Aktivität und Verteilung der Mitochondrien zu verschiedenen Zeiten (0, 4, 8, 12, 16, 20 und 24 h) der In-vitro-Reifung in verschiedenen Klassen von Cumulus-Oozyten-Komplexen (COK) zu analysieren und gleichzeitig den Kernzustand der einzelnen Oozyten durch die Beurteilung der Chromatinkonfiguration darzustellen. Für die Darstellung der aktiven Mitochondrien wurde der Fluoreszenzfarbstoff MitoTracker Orange CMTMRos (Fa. Molecular Probes) verwendet. Die Untersuchungen wurden an insgesamt 1473 bovinen Cumulus-Oozyten-Komplexen durchgeführt.

Die gewonnenen COK wurden aufgrund ihrer Cumulummorphologie in vier praxisrelevante Klassen unterteilt (kompakt, aufgelockert, expandiert, denudiert).

Im Verlauf der Oozytenreifung vollzog sich ein Wechsel von einer heterogen-feinkörnigen zu einer homogen-kristallinen Verteilung der Mitochondrien ( $P < 0,1$ ). Dieser Wechsel zeigte eine Assoziation zur Cumulummorphologie.

Die oxidative Aktivität der Mitochondrien, gemessen als Fluoreszenzintensität (Em: 570 nm) pro Oozyte, wies in der ersten Phase der In-vitro-Maturation (0-12 h) einen Anstieg auf und fiel gegen Ende der Maturation ab ( $P < 0,01$ ). Die mitochondriale Aktivität in den Oozyten zeigte ebenfalls eine Abhängigkeit zur Morphologie des Cumulus oophorus zu Beginn der Reifung.

Diese Ergebnisse weisen auf eine enge Wechselwirkung zwischen der mitochondrialen Verteilung und Aktivität, dem Meiosestadium der Oozyte und der Cumulusqualität hin.