

А. И. Плахова, К. В. Племяшов

Оценка влияния препаратов, улучшающих воспроизводительную функцию коров доноров ооцитов

Аннотация. В настоящих исследованиях проводили комплексную оценку влияния препаратов «Карофертин» и «Гемобаланс» на воспроизводительную функцию коров доноров ооцитов. При этом оценивали влияние этих препаратов на биохимические показатели сыворотки крови, а также на концентрацию прогестерона, каротина в подопытных группах и активность яичников подопытных животных. Установлено повышение активности щелочной фосфатазы в первой и третьей подопытных группах, которая составила $128,80 \pm 3,11$ и $104,60 \pm 37,33$ МЕ/л. Также отмечено снижение в подопытных группах концентрации холестерина по сравнению с контрольной. Максимальная концентрация каротина была отмечена в подопытной группе №1, которой вводили «Карофертин» подкожно, и в подопытной группе №3, которой вводили «Карофертин» и «Гемобаланс». Максимальная концентрация прогестерона отмечена в группах №3 и №1 и составила $21,98 \pm 3,03$ и $17,01 \pm 9,68$ нмоль/л, соответственно. В ходе ультразвукового исследования яичников у подопытных животных установлена взаимосвязь между концентрацией прогестерона и интенсивностью кровоснабжения желтых тел на яичниках у подопытных животных. В дальнейшем у одного животного из каждой подопытной группы проводили аспирацию ооцитов (OPU) дважды с интервалом в две недели и оценивали их качественные и количественные характеристики. Максимальное количество пригодных для использования ооцитов было отмечено в подопытной группе №3, которой вводили оба исследуемых препарата.

Ключевые слова: ооцит, яичник, прогестерон, каротин.

Авторы:

Плахова А. И. — ассистент кафедры акушерства и оперативной хирургии;

Племяшов К. В. — профессор, доктор ветеринарных наук, член-корр. РАН, зав. каф. акушерства и оперативной хирургии.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Введение. Одним из основных критериев, характеризующих интенсивность ведения племенного животноводства и селекционной работы, является генетический прогресс популяции животных, который зависит от ряда факторов, ключевым из которых является использование современных репродуктивных технологий [1, 2]. В настоящее время среди биотехнологических методов воспроизводства особое внимание отводится трансплантации эмбрионов. По данным «American Embryo Transfer Association» количество произведенных эмбрионов и пересадок с использованием технологии IVP составило 238829/117733 в США, 346817/275918 в Бразилии и 911/128 в России, что свидетельствует о том, что количество производимых IVP эмбрионов в России в 200–300 раз меньше, чем в указанных странах [4, 5], что подчеркивает актуальность совершенствования технологии трансплантации эмбрионов и проведения научных изысканий в этой области.

Цель исследований — оценка и научное обоснование возможности использования препаратов

«Карофертин» и «Гемобаланс» как способа повышения функциональной активности яичников и качества ооцитов у коров.

Материалы и методы. Для проведения эксперимента нами были сформированы подопытные группы животных по принципу условных аналогов. Для исследования отбирали коров через 30 дней после отела, у которых завершилась инволюция половых органов и отсутствовали выделения лохий. Первой подопытной группе ($n=8$) вводили «Карофертин» в дозе 20 мл подкожно трехкратно с интервалом 14 суток. Второй подопытной группе ($n=8$) вводили «Гемобаланс» внутримышечно в дозе 10 мл пятикратно с интервалом 2 дня. Третьей подопытной группе вводили «Карофертин» ($n=8$) в дозе 20 мл внутримышечно трехкратно с интервалом 14 суток и «Гемобаланс» в дозе 10 мл пятикратно с интервалом 2 дня. Через 30–40 дней после начала введения препаратов у коров регистрировали проявление стадии возбуждения полового цикла и через 10–14 суток исследовали биохимические показатели сыворотки крови подо-

пытных коров, проводили ультразвуковое исследование яичников и оценивали концентрацию прогестерона. В последующем от одного животного из каждой подопытной группы отбирали ооциты и оценивали их качественные и количественные признаки.

Результаты исследований. Результаты биохимического исследования сыворотки крови представлены в таблице 1.

Максимальную концентрацию общего белка отмечали в подопытной группе №2, которой вводили только препарат «Гемобаланс», его концентрация составила 84,4 г/л, что на 3,67 г/л больше, чем в контрольной группе, и на 11,55 и 2,75 больше, чем в первой и третьей подопытных группах, которым вводили «Карофертин» в виде монотерапии и «Карофертин»/«Гемобаланс» в сочетании. Концентрация глобулинов достоверных отличий с подопытной группой не имела и составила 52,77±5,25 г/л в контрольной группе. Максимальная концентрация глобулинов отмечалась в группе №2 и составила 59,93±5,35 г/л, а минимальная — в группе №1 и составила 46,70±3,11 г/л.

Концентрация мочевины во всех подопытных группах не имела достоверных отличий и варьировала от 5,87 до 6,73 ммоль/л. Концентрация билирубина была наименьшей в подопытной группе №3, которой вводили «Карофертин» и «Гемобаланс» в сочетании, и составила 2,1 ммоль/л.

Наибольшая концентрация билирубина была отмечена в подопытной группе №2 и составила 3,17 ммоль/л. Активность АЛТ и АСТ находилась в пределах референтных значений и не имела достоверных различий между подопытными группами и контрольной группой. Активность щелочной фосфатазы была на высоком уровне в первой и третьей подопытных группах и составила 128,80 и 104,6 МЕ/л соответственно, что несколько превышает допустимые уровни для здоровых животных. В контрольной группе и второй подопытной группе активность щелочной фосфатазы была ниже и составила 84,77 и 95,07 МЕ/л соответственно. Активность амилазы не имела достоверных различий среди подопытных и контрольной групп и варьировала от 21,85 до 28,55 МЕ/л. Концентрация глюкозы была максимальной в подопытной группе №1 и составила 3,16 ммоль/л и минимальной — в подопытной группе №3 и составила 1,82 ммоль/л. Количество холестерина было достоверно выше в контрольной группе в сравнении с подопытными группами 1-3 и составило 4,09 ммоль/л, а в подопытных группах его концентрация варьировала от 1,96 до 3,2 ммоль/л. Достоверных различий в кальций/фосфорном отношении установлено не было. Максимальную концентрацию каротина отмечали у животных и в первой подопытной группе, а минимальную — в контрольной группе. Динамика концентрации прогестерона представлена на рисунке 1.

Таблица 1. Основные биохимические показатели сыворотки крови подопытных животных

Показатель, ед. изм	Контроль	Подопытная гр. №1	Подопытная гр. №2	Подопытная гр. №3
Общий белок, г/л	80,73±3,15	72,85±2,62	84,40±1,84	81,65±1,20
Альбумин, г/л	27,97±2,11	26,15±0,49	24,47±3,27	26,15±3,46
Глобулины, г/л	52,77±5,25	46,70±3,11	59,93±5,35	55,50±4,67
Мочевина, ммоль/л	6,70±1,76	6,58±0,22	6,73±0,24	5,87±0,23
Креатинин, мкмоль/л	88,63±3,46	92,35±3,18	91,63±1,33	89,00±4,80
Билирубин, мкмоль/л	2,60±1,40	2,65±0,07	3,17±0,35	2,10±0,01
АЛТ, МЕ/л	35,27±8,76	27,15±7,65	29,53±1,62	45,75±12,09
АСТ, МЕ/л	105,50±6,7	131,65±9,40*	101,10±13,86	122,35±3,74*
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	84,77±36,91	128,80±3,11*	95,07±8,05	104,60±37,33*
Амилаза, МЕ/л	22,47±3,93	21,85±16,76	22,50±7,79	28,55±6,75
Глюкоза, ммоль/л	2,79±0,64	3,16±0,45	2,74±1,32	1,82±0,54
Холестерин, ммоль/л	4,09±2,41	1,96±0,46*	2,88±1,09*	3,20±1,47
Кальций, ммоль/л	2,80±0,18	2,40±0,11	2,40±0,13	2,34±0,02
Фосфор, ммоль/л	2,05±0,20	2,74±0,37	2,27±0,31	2,50±0,03
Каротин, мг%	0,26±0,15	0,42±0,21*	0,32±0,11	0,37±0,12
Прогестерон, нмоль/л	13,37±0,57	17,01±9,68*	13,97±7,5	21,98±3,03*

* P≤0.05

Концентрация прогестерона была достоверно выше в подопытной группе №3, которой вводили «Карофертин» в сочетании с препаратом «Гемобаланс», и в подопытной группе №1, которой вводили только «Карофертин», и составила 21,98 и 17,01 нмоль/л соответственно. Вероятно, концентрация прогестерона была выше в этих подопытных группах именно ввиду использования препарата «Карофертин», который напрямую влияет на концентрацию каротина в крови животных и таким образом способствует функционированию желтого тела.

У всех подопытных животных дополнительно проводили ректальное исследование матки и яичников, фиксировали размеры, форму, консистенцию и другие параметры. Также проводили ультразвуковую диагностику матки и яичников и определяли интенсивность кровоснабжения желтого

тела с использованием доплеровского режима. Нами была установлена тенденция зависимости концентрации прогестерона от кровоснабжения желтого тела. Так, при концентрации прогестерона у подопытного животного в 26,24 нмоль/л отмечали, что размер яичника составляет 3,5х2,5 см, в его левой части визуализируются фолликулы небольшого размера. Большую часть яичника занимает желтое тело. Красным цветом отражена васкуляризация желтого тела у данного животного (рис. 2.).

У другого подопытного животного при концентрации прогестерона в 9,25 нмоль/л отмечали яичник размером 4,5х4 см. По контуру яичника визуализируются растущие фолликулы, в центре гипоехогенное желтое тело. В области доплеровского исследования пульсации крови не отмечено (рис. 2.). Аналогичную картину мы наблюдали и у остальных исследуемых животных.

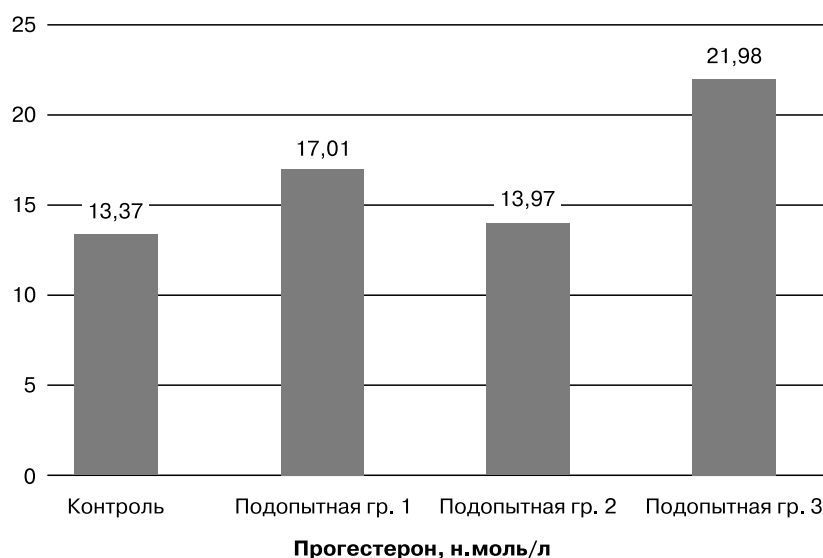


Рис. 1. Диаграмма динамики концентрации прогестерона в подопытных группах

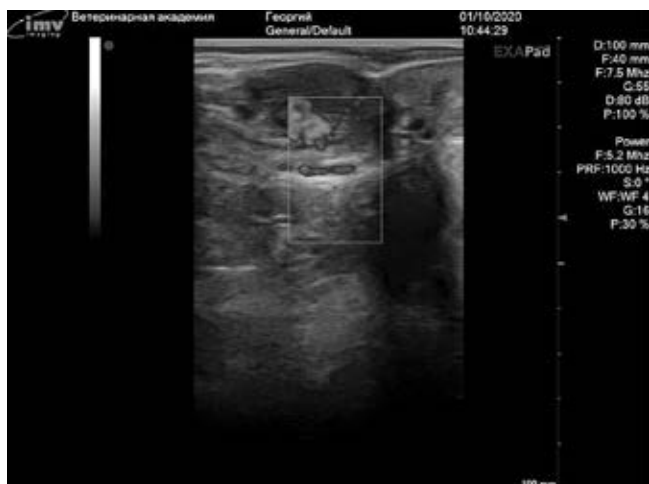


Рис. 2. Яичник подопытного животного с выраженной васкуляризацией желтого тела

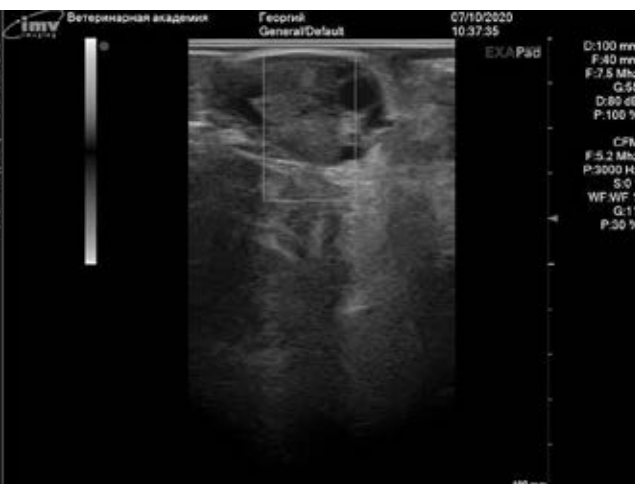


Рис. 3. Яичник подопытного животного с пониженной васкуляризацией желтого тела

Таким образом, проведя анализ строения яичников и активности желтых тел на них с использованием доплерографии, можно отметить взаимосвязь между интенсивностью кровоснабжения и уровнем прогестерона в крови этих животных, что, вероятно, связано с этапами формирования желтого тела, которые включают стадию пролиферации и васкуляризации. Следует отметить, что наибольшее кровоснабжение желтого тела яичников отмечали в первой и третьей подопытных группах, у которых в состав терапии входил препарат «Карофертин».

Через 30–40 дней после начала введения препаратов у коров регистрировали проявление стадии возбуждения полового цикла и через 4 суток после окончания половой охоты у животных подопытных групп проводили аспирации ооцитов через влагалищную стенку с использованием специального микроконвексного УЗ датчика с пункционной иглой. Для аспирации отбирали по одному животному из каждой подопытной группы. Результаты аспирации ооцитов представлены в таблице 2.

Проанализировав полученные данные, отмечена тенденция, что в подопытной группе №3 количество пригодных ооцитов было несколько выше, чем в других подопытных группах. У этих ооцитов отмечали развитую оболочку лучистого венца (кумюлюса), которая составляла более 5-ти рядов гранулёзных клеток, а также отсутствовали дефекты яйцеклетки в виде повреждения прозрачной оболочки, наличия повреждения ядра или резких изменений цвета в цитоплазме ооцитов. Также следует отметить, что в подопытных группах количество ооцитов плохого качества было ниже, чем в контроле.

Обсуждение полученных результатов. Проанализировав полученные цифровые материалы, можно отметить, что концентрация каротина в опытных

группах была выше, чем в контроле, что, вероятно, связано дефицитом каротина, поступающего с кормами, и введением синтетического каротина подопытным животным. Концентрация прогестерона также была выше в подопытных группах, но максимальное его значение было отмечено в подопытной группе №3, в то время как максимальная концентрация каротина была зафиксирована в подопытной группе №1. Несмотря на то, что многие авторы выделяют высокое значение каротина в функционировании яичников и желтого тела, определение его концентрации в сыворотке крови не всегда говорит о его резком дефиците в виду нестабильности этого показателя. В ходе исследования была установлена взаимосвязь между концентрацией прогестерона и интенсивностью кровоснабжения желтого тела, что, вероятно, напрямую связано с этапами формирования желтого тела яичника, которые включают стадию пролиферации, васкуляризации и расцвета.

Заключение. Установлено положительное влияние препаратов «Карофертин» и «Гемобаланс» в различных схемах использования на воспроизводительную функцию животных и на качество получаемых от них ооцитов. При этом отмечали повышение концентрации каротина и прогестерона в подопытных группах и усиление васкуляризации желтых тел яичников. Максимальное количество пригодных для использования ооцитов было отмечено в подопытной группе, которой вводили оба препарата одновременно. Следует отметить, что использование доплерографического метода исследования яичников и желтых тел может быть использовано в качестве критерия оценки воспроизводительной способности животных при подготовке их к трансплантации эмбрионов или в рамках акушерско-гинекологической диспансеризации.

Таблица 2. Результаты аспирации фолликулов у подопытных животных

	Кол-во асп. фолликулов	Кол-во ооцитов отличного кач.	Кол-во ооцитов хорошего и условного годного кач.	Кол-во ооцитов плохого кач.
<i>Аспирация №1</i>				
Контрольная группа	9	2 (28,57%)	3 (42,86%)	2 (28,57%)
Опыт. №1	7	3 (50%)	2 (33,3%)	1 (16,66%)
Опыт. №2	10	1 (16,66%)	4 (66,6%)	1 (16,66%)
Опыт. №3	10	3 (33,33%)	4 (44,44%)	2 (22,22%)
<i>Аспирация №2</i>				
Контрольная группа	9	2 (28,57%)	3 (42,86%)	2 (28,57%)
Опыт. №1	11	2 (66,66%)	0	1 (33,33%)
Опыт. №2	7	1 (25%)	1 (25%)	2 (50%)
Опыт. №3	9	3 (50%)	2 (33,33%)	1 (16,66%)

Литература

1. McDaniel B. T. Effects of Embryo Transfer on Genetic Change in Dairy Cattle / B. T. McDaniel, B. G. Cassell // J. Dairy Sci. — 1981. — Vol. 64. — № 12. — P. 2484–2492.
2. Kudinov A. A. Genetic progress is the key aspect of the improvement of dairy animal breeding in developed countries / A. A. Kudinov, E. S. Maslenikova K. V. Plemashov // Livestock. — 2019. — Vol. 1. — P. 2–6.
3. Seidel G. E., Seidel S. Training manual for embryo transfer in cattle. FAO. 2004.
4. Nicholas F. W. Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting / F. W. Nicholas, C. Smith // Anim. Prod. Cambridge University Press. — 1983. — Vol. 36. — № 3. — P. 341–353.

Plakhova A., Plemashov K.

Assessment of drugs increasing the reproductive function of cows of oocyte donors

Abstract. *In these studies, a comprehensive assessment of the effect of the drugs «Carofertin» and «Hemobalance» on the reproductive function of oocyte donor cows was carried out. At the same time, the effect of these drugs on the biochemical parameters of blood serum, as well as on the concentration of progesterone, carotene in the experimental groups and the activity of the ovaries in the experimental animals was assessed. An increase in the activity of alkaline phosphatase in the first and third experimental groups was found, which amounted to 128.80 and 104.6 IU / L. There was also a decrease in the concentration of cholesterol in the experimental groups compared with the control. The maximum concentration of carotene was noted in the experimental group No. 1, which were injected with «Carofertin» subcutaneously, and in the experimental group No. 3, which were injected with «Carofertin» and «Hemobalance». The maximum concentration of progesterone was also noted in groups No. 3 and No. 1 and amounted to 21.98±3.03 and 17.01±9.68 nmol / l, respectively. In the course of ultrasound examination of the ovaries in experimental animals, a relationship was noted between the concentration of progesterone and the intensity of the blood supply of the corpus luteum on the ovaries in experimental animals. Subsequently, in one animal from each experimental group, oocytes were aspirated (OPU) twice with an interval of two weeks and their qualitative and quantitative characteristics were assessed. The maximum number of oocytes suitable for use was noted in the experimental group No. 3, which was injected with both study drugs.*

Key words: oocyte, ovary, progesterone, carotene.

Authors:

Plakhova A. — assistant at the Department of Obstetrics and Operative Surgery;

Plemashov K. — Professor, Doctor of Veterinary Sciences, Corr. RAS, head. department obstetrics and operative surgery.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «St. Petersburg State University of Veterinary Medicine».

References

1. McDaniel B. T. Effects of Embryo Transfer on Genetic Change in Dairy Cattle / B. T. McDaniel, B. G. Cassell // J. Dairy Sci. — 1981. — Vol. 64. — № 12. — P. 2484–2492.
2. Kudinov A. A. Genetic progress is the key aspect of the improvement of dairy animal breeding in developed countries / A. A. Kudinov, E. S. Maslenikova K. V. Plemyashov // Livestock. — 2019. — Vol. 1. — P. 2–6.
3. Seidel G. E., Seidel S. Training manual for embryo transfer in cattle. FAO. 2004.
4. Nicholas F. W. Increased rates of genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting / F. W. Nicholas, C. Smith // Anim. Prod. Cambridge University Press. — 1983. — Vol. 36. — № 3. — P. 341–353.