

А. С. Рыхлов¹, В. С. Авдеенко², С. П. Перерядкина²

Применение ультразвунографии для определения структурно-функционального состояния яичников у коров-доноров

Аннотация.

Цель: оценка возможности применения ультразвунографии для раннего прогнозирования ответной реакции функциональной активности яичников на введение некоторых гормональных препаратов при ЕТ.

Материалы и методы. Исследование проводили на 42 коровах различных пород (голландская, черно-пестрая и айрширская) — потенциальных донорах яйцеклеток и эмбрионов в нескольких хозяйствах различных организационно-правовых форм собственности Саратовской и Волгоградской областей РФ. Коровы-доноры отобраны с учетом анамнестических данных. Для оценки полноценной реакции яичников на проведение стимуляции суперовуляции произвели два эксперимента: первый опыт — на 10 сутки полового цикла ввели 9-ти животным фоллитропин по разработанной схеме, а 7-ми животным — «Плюсет», и второй опыт — на 11 сутки полового цикла 8-ми животным инъектировали фоллитропин, а 6-ти коровам — «Плюсет» по 4-х дневной схеме. Синхронизацию эструса проводили по общепринятой схеме. Для морфологического исследования у коров-доноров извлекали яичники и изучали их физические характеристики, такие как объем, масса, толщина, ширина, длину гонад, размеры желтых тел и фолликулов. Для более детального исследования проводили ультразвунографию с помощью переносного сканера Mindray DP 10 vet с прямолинейным ректальным датчиком 7.5 MHz на 10-11 (до введения препарата) и нулевой (после введения фолликулостимулирующего гормонального препарата) дни полового цикла.

Результаты. Средний показатель объема яичников до введения препаратов на 10 день полового цикла составил $11,103 \pm 2,275$ см³, объема желтых тел — $7,122 \pm 3,435$ см³. Средний показатель объема желтого тела к яичнику составил $48,7 \pm 1,3\%$. Уровень реакции суперовуляции зависел от качества желтого тела в середине L-фазы в момент, предшествующий началу гонадотропной стимуляции у коров-доноров.

Заключение. На основании полученных данных можно сделать вывод, что визуальный анализ сонограмм является приемлемым методом прогнозирования пригодности коров-доноров до начала обработки животного гонадотропными препаратами и может использоваться в качестве критерия отбора животных в группу потенциальных доноров. С помощью ультразвуковой эхографии получены актуальные данные, отражающие морфологическое и функциональное состояние яичников коров.

Ключевые слова: ультразвуковое исследование, суперовуляция, прогнозирование активности яичников.

Авторы:

Рыхлов Андрей Сергеевич — доктор ветеринарных наук, профессор;

Авдеенко Владимир Семенович — доктор ветеринарных наук, профессор;

Перерядкина Светлана Петровна — кандидат ветеринарных наук.

¹ ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова»; 410003, Россия, Саратовская обл., г. Саратов, Театральная пл., 1;

² ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный аграрный университет»; 400002, Россия, Волгоградская обл., г. Волгоград, просп. Университетский, 26.

Введение. Обеспечение населения Российской Федерации высококачественными продуктами питания невозможно без создания высокопродуктивных стад, типов, пород животных, устойчивых к различным заболеваниям и стрессам, хорошо приспособленных к местным природно-климатическим условиям [1, 2]. Решение этой проблемы можно ускорить путем широкого использования метода трансплантации эмбрионов [3, 4]. На се-

годняшний день данный метод (Embryo transfer — ЕТ) у сельскохозяйственных животных находит все большее применение [5, 6] в различных животноводческих предприятиях в странах с развитым молочным скотоводством. За более чем 40-летнюю историю применения метода ЕТ у крупного рогатого скота в Российской Федерации собрано довольно большое количество данных по данной технологии ускоренного воспроизводства маточ-

ного стада [7]. Тем не менее, поиск современных способов диагностики состояния репродуктивного здоровья коров-доноров и реципиентов остается актуальным и востребованным. Технологическое развитие позволяет использовать при оценке пригодности к процедуре ЕТ животных такие инструментальные методы, как эндоскопия, ультразвуковая диагностика [8, 9], пункция и биопсия. В настоящее время значительно возрос интерес к исследованию морфологии яичников и эмбрионов крупного рогатого скота посредством малоинвазивных методик [10, 11], таких как ультразвуковое исследование.

Цель исследований — оценка возможности применения ультрасонографии для раннего прогнозирования ответной реакции функциональной активности яичников на введение некоторых гормональных препаратов при ЕТ.

Материалы и методы. Исследование проводили на 42 коровах различных пород (голландская, черно-пестрая и айрширская) — потенциальных донорах яйцеклеток и эмбрионов в нескольких хозяйствах различных организационно-правовых форм собственности Саратовской и Волгоградской областей РФ. Всех животных подвергали клиническому исследованию по общепринятым методам, а также проводили ректальную пальпацию с определением состояния яичников и матки.

В качестве доноров в ЗАО ПЗ «Трудовое» Марковского района Саратовской области использовали 15 коров с продуктивностью 6,5–10,5 тыс. кг молока класса элита-рекорд черно-пестрой породы с кровностью 1/2 и 3/4 по голштино-фризской породе линии Уэс Идеал и 1/2 линии по Рефлекшин Соверинг.

В ПЗ СП «Донское» Волгоградской области в качестве доноров использовали 27 коров голштинской породы с продуктивностью 8,0–12,0 тыс. кг молока, возраста 4–8 лет.

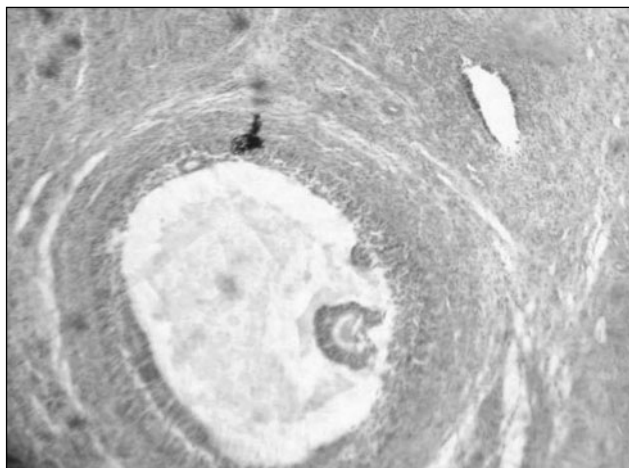


Рис. 1. Яичник. Третичный фолликул с яйцеклеткой.
Гем. — Эоз. 120

Коровы-доноры отобраны с учетом анамнестических данных (продолжительность и регулярность половых циклов, отсутствие акушерских и гинекологических заболеваний). Оценку состояния яичников и матки проводили с помощью ректального исследования по общепринятой методике в ветеринарном акушерстве.

Для оценки полноценной реакции яичников на проведение стимуляции суперовуляции произвели два эксперимента: первый опыт — на 10 сутки полового цикла ввели 9-ти животным фоллитропин по разработанной схеме, а 7-ми животным — «Плюсет», и второй опыт — на 11 сутки полового цикла 8-ми животным инъектировали фоллитропин, а 6-ти коровам — «Плюсет» по 4-х дневной схеме.

Синхронизацию эструса проводили по общепринятой схеме путем введения препарата на основе простагландина F_{2α} однократно (в случае применения фоллитропина в опыте участвовали 9 коров, «Плюсет» — 7 животных) и двукратно (при использовании фоллитропина у 8-ми коров и «Плюсет» у 6-ти животных). Для морфологического исследования у коров-доноров извлекали яичники и изучали их физические характеристики, такие как объем, масса, толщина, ширина, длина гонад, размеры желтых тел и фолликулов. Для более детального исследования проводили ультрасонографию с помощью переносного сканера Mindray DP 10 vet с прямолинейным ректальным датчиком 7.5 MHz на 10–11 (до введения препарата) и нулевой (после введения фолликулостимулирующего гормонального препарата) дни полового цикла.

Обработку полученных данных проводили с помощью ПК IBM «Pentium IV» в ОП «Windows XP Professional» с использованием «Microsoft Office 2010».

Результаты и обсуждение. В результате гистологического исследования образцов тканей яичников после введения гонадотропных препаратов (ввели 9 животным — фоллитропин, а 7 коровам — «Плюсет») на 10 и 11 сутки расчетного полового цикла отмечено, что полноценность реакции яичников следующая: поверхностный слой яичников представлен преимущественно однослойным плоским эпителием (рис. 1).

Ядра клеток округлые, компактные. Цитоплазма без особенностей, гомогенная и прозрачная. Отмечается разрыхление связующего компонента между клетками покровного эпителия, в случае отдельных клеток — десквамация. У части клеток обнаружены признаки вакуольной и зернистой дистрофии, с образованием участков мелких и средних капель. Белочная оболочка яичников

представлена волокнами коллагена и клетками соединительной ткани, в которых видны кровеносные и лимфатические сосуды, данные структуры имели узкие просветы. В яичниках отмечены фолликулы разных стадий развития — примордиальные, растущие и третичные.

Далее было проведено морфологическое исследование половых органов 3 коров. Определено, что общее количество фолликулов в срезе составило $79,15 \pm 2,9$, из которых 69,59% составляли первичные, 18,78% — вторичные и на долю третичных приходилось 10,51% (рис. 2). Регистрировалось неравномерное расположение примордиальных фолликулов в толще коркового слоя яичников. Отмечены дистрофические изменения в них, скопление зернистой массы в центральной их части, почти не содержащей клеточных структур. Третичных фолликулов в микропрепарате было $8,99 \pm 0,5$, диаметр — $1401,5 \pm 162,09$ мкм. Подавляющая часть третичных фолликулов была атрезирована по облитерационному типу (66,23%). При применении гонадотропных препаратов на 11 сутки полового цикла гистологическим исследованием установлено наличие большого количества фолликулов на различных стадиях развития. В микропрепаратах насчитывали $105,23 \pm 2,75$ фолликулов, 80,31% из которых составляли первичные, 9,1% — вторичные и на долю третичных приходилось 10,25%. Стенки третичных фолликулов были представлены фолликулярными клетками, они располагались от 8 до 12 слоев. При детальном исследовании микропрепаратов иногда регистрировали Граафовы пузырьки с двумя яйцеклетками. В таких случаях обычно одна из них превосходила в размере вторую. В третичных фолликулах атрезия происходит в основном по облитерационному типу, реже — по кистозному.



Рис. 2. Яичник. Стенка примордиального фолликула.
Гем. — Эоз. Ув.120

Данные УЗИ, полученные при исследовании яичников (рис. 3 и 4) после стимуляции и синхронизации половой функции применением инъекции простогландина $F_{2\alpha}$ однократно и двукратно.

В ходе проведения ультразвукового исследования получены следующие результаты. Измерение показателей длины, ширины яичников и желтых тел позволили определить их площадь, соотношение размера желтого тела к размеру яичника. Средние показатели объема яичника с желтым телом показали следующие величины — $11,103 \pm 2,575$ см³, наибольший объем составил 12,99 см³, а наименьший — 8,35 см³. Также были установлены средние показатели объема желтых тел, значение которых также варьировали у разных животных. Среднее значение объема желтых тел было $7,122 \pm 3,435$ см³, минимальное — 4,99 см³, а максимальное — 10,63 см³.

Проведена сравнительная оценка соотношения размеров объема желтых тел к размерам объема

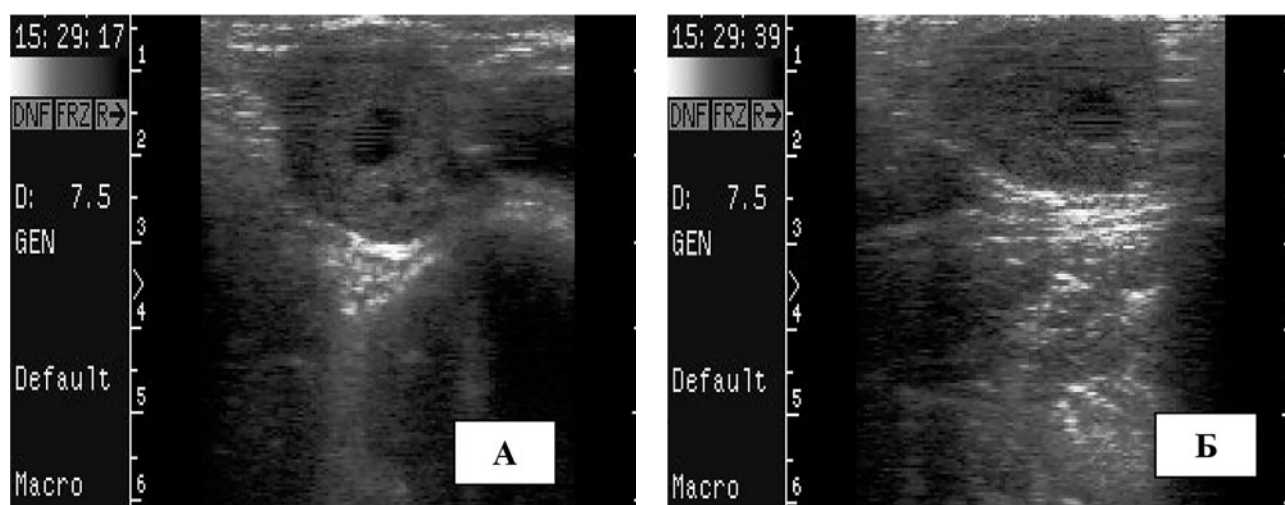


Рис. 3. Сонограммы яичника коровы на десятый день полового цикла. Желтое тело.
А — поперечное сканирование; Б — продольное сканирование

яичников у каждого животного и в среднем по группам. Именно размер лютеальной ткани формирует величину яичников, что было определено при анализе данных, характеризующих размер функционально активного желтого тела перед индукцией полиовуляции. У животных с наименьшим размером желтого тела его лютеиновые структуры составили всего 34,0% от размера яичников, а с наибольшим размером — 50,7%. Средний показатель объема желтого тела к яичнику составил $48,7 \pm 1,3\%$. Затем ультразвукография яичников проводилась в период эструса (нулевой день полового цикла) после курса ФСТ. Учитывалась морфометрия яичников и количественно-качественный состав фолликулов и желтых тел, отражающих реакцию на суперовуляцию.

Анализ данных по эндоректальной пальпации яичников с последующей ультразвуковой визуализацией и обработкой сонограмм установил, что уровень реакции суперовуляции зависит от качества желтого тела в середине L-фазы в момент, предшествующий началу гонадотропной стимуляции у коров-доноров.

В результате гистологического исследования яичников некоторых коров определено, что желтое тело предыдущего полового цикла четко отграничивалось от окружающей ткани гиалинизированной, фиброзной соединительнотканной капсулой, содержащей значительное количество коллагеновых волокон, от которой к центральной части железы отходят тонкие тяжи соединительной тка-

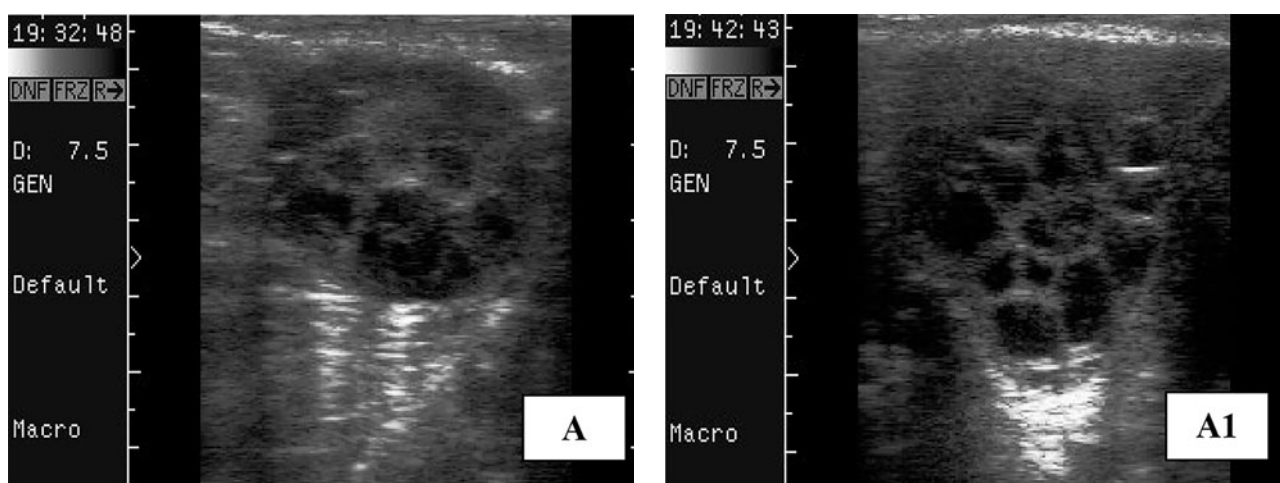


Рис. 4. Сонограммы яичников коров-доноров эмбрионов при гормональной стимуляции суперовуляции.
А — средняя реакция яичника; А1 — отличная реакция яичника

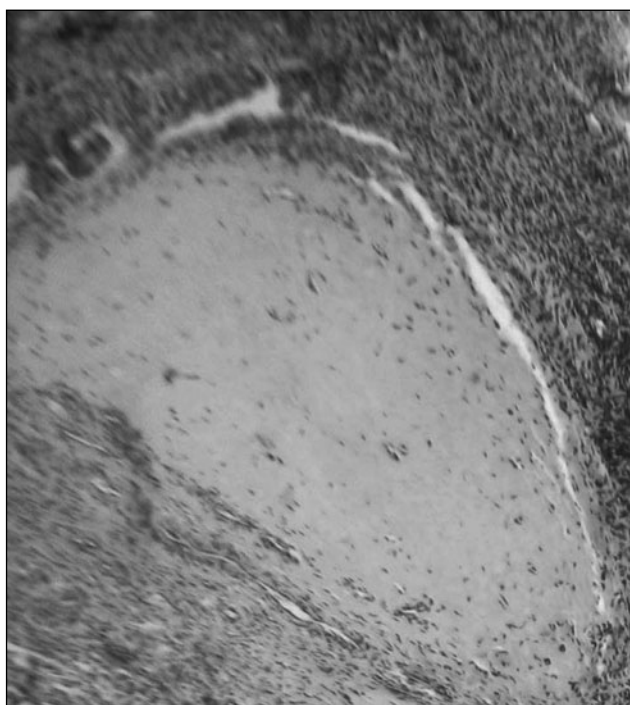


Рис. 5. Яичник. Желтое тело предыдущего полового цикла, отграниченное от окружающей ткани. Гем. — Эоз. Ув.120



Рис. 6. Желтое тело в процессе атрезии. Гем. — Эоз. Ув. 120

ни (рис. 5). Лютеиновые клетки желтого тела с рыхлой, светлой цитоплазмой, округлыми, светло окрашенными ядрами. В центральной части желтого тела отмечали скопление инфильтрата, в составе которого были различные лейкоциты — эозинофилы, моноциты, лимфоциты. Соединительная ткань, в основном состоящая из веретенообразных клеток, обильно васкуляризована. В зоне коркового вещества над фиброзной капсулой желтого тела растущие и третичные фолликулы с сильно выраженной дистрофией и десквамацией фолликулярных клеток (рис. 6).

Следует отметить, что в исследованных препаратах яичников с желтыми телами предыдущего полового цикла насчитывалось около 30–35 примордиальных фолликулов, 4–5 растущих и 1–5 пущатых.

При наличии четко выраженных желтых тел и фолликулов в яичниках наблюдается атрезия по облитерационному типу, тогда как при отсутствии ясно выраженных желтых тел облитерация фолликулов проходила преимущественно по кистозному типу.

Заключение. Определено, что средний показатель объема яичников составил $11,103 \pm 2,275 \text{ см}^3$, а объема желтых тел — $7,122 \pm 3,435 \text{ см}^3$. Проведена сравнительная оценка соотношения размеров площадей желтых тел к размерам площади яичников у каждого животного и в среднем по группам. Средний показатель объема желтого тела к яичнику составил $48,7 \pm 1,3\%$. Анализ данных по ректальной пальпации яичников с проведением УЗИ установил, что уровень реакции супероуляции зависит от качества желтого тела в середине L-фазы в момент, предшествующий началу гонадотропной стимуляции у коров-доноров. На основании полученных данных можно сделать вывод, что визуальный анализ сонограмм является приемлемым методом прогнозирования пригодности коров-доноров до начала обработки животного гонадотропными препаратами и может использоваться в качестве критерия отбора животных в группу потенциальных доноров. С помощью ультразвуковой эхографии получены актуальные данные, отражающие морфологическое и функциональное состояние яичников коров.

Литература

1. Авдеенко В. С. Апробация гормональных препаратов для синхронизации полового цикла и индукции овуляции у мясного скота / Авдеенко В. С., Молчанов А. В., Жажгалиева А. Т., Перерядкина С. П., Кемешев Ж. О. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2018. — № 3(71). — С. 190–193.
2. Никитин Г. С. Оценка измерения концентрации прогестерона для диагностики стельности и эмбриональной смертности у молочных коров / Г. С. Никитин, К. В. Племяшов, А. А. Никитина, П. С. Анипченко, Н. Б. Баженова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019. — № 1(6). — С. 122–128.
3. Усенбеков Е. С. Использование метода УЗИ сканирования яичников для оценки результатов супероуляции у коров доноров / Е. С. Усенбеков, А. К. Имангалиев, Р. М. Жумаханова, Г. А. Хасанова, Б. К. Баймырзаев // В сборнике: Проблемы взаимодействия науки и общества. Сборник статей Международной научно-практической конференции. — 2019. — С. 105–108.
4. Anipchenko P. The effect of the organic acid on the bulls' sperm quality / P. Anipchenko, K. Plemyashov, G. Nikitin, A. Nikitina, S. Shabunin // Journal of Animal Science. — 2019. — V. 97. — № S3. — P. 243.
5. Vanholder T. Et al. Cystic ovarian disease in dairy cattle: aetiology, pathogenesis, and risk factors / T. Vanholder [et al] // TijdschrDiergeneeskd. — 2014. — № 127(5). — P. 146–155.
6. Townson D. H. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows / D. H. Townson, C. W. Tsang, W. R. Butler et al. // J. Anim. Sci. — 2012. — № 80. — P. 1053–1058.
7. Taylor C. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle / C. Taylor, R. Rajamahendran // Can. J. Anim. Sci. — 2011. — № 71. — P. 61–68.
8. Бритвина И. В. Сравнительный анализ методов диагностики состояния половых органов коров / И. В. Бритвина, А. А. Морозова // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. — 2016. — № 2(49). — С. 108–112.
9. Перерядкина С. П. Особенности фолликулогенеза у коров мясных пород (казахская белоголовая, шевроле и герефорд) в контексте восстановления плодовитости / С. П. Перерядкина, В. С. Авдеенко, В. Д. Кочарян, Ж. О. Кемешев // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. — 2018. — № 2(50). — С. 227–235.
10. Землянкин В. УЗИ в диагностике заболеваний яичников у коров / В. Землянкин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. — 2020. — № 8. — С. 45–48.

11. Кулешов У. К. Оценка результатов суперовуляции у коров — доноров методом УЗИ сканирования яичников / У. К. Кулешов, Е. С. Усенбеков, Т. И. Кузьмина // В сборнике: Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны. Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. — 2015. — С. 126–128.

Rykhlov A.¹, Avdeenko V.², Pererydkina S.²

Use of ultrasonography to determine the structural and functional state of ovaries of donor embryo cows

Abstract.

Purpose: Assessment of the possibility of using ultrasonography for early prediction of the response of the functional activity of the ovaries to the introduction of some hormonal drugs at ET.

Materials and methods. The study was conducted on 42 cows of various breeds (Holstein, Ayrshire, Black-and-white breed of cows) — potential donors of egg and embryos in several farms of various organizational and legal forms of ownership of the Saratov and Volgograd regions of the Russian Federation. Cow donors are selected taking into account anamnestic data. To assess the full response of the ovaries, two experiments were produced to carry out the stimulation of supersuvulation: the first study was introduced on the 10th day of the estrous cycle, 9 animals of follitropine on the developed protocol, and 7-animals — «plus» and the second study — for 11 days of the estrous cycle 8 — animals injected follitropine, and 6 cows — «plus» in the 4-day protocol. The synchronization of the estrus was carried out according to the generally accepted protocol. For morphological studies, the donor cows were extracted by ovaries and studied their physical characteristics, such as volume, weight, thickness, width, gonad length, the size of yellow bodies and follicles. For a more detailed study, ultrasonography was carried out using a Mindray DP 10 VET portable scanner with a rectilinear rectal sensor 7.5 MHz by 10-11 (before the administration of the drug) and zero (after the introduction of the follicularity of the hormonal preparation) of the estrous cycle days.

Results. The average rate of ovaries before the introduction of drugs, on the 10th day of the estrous cycle, was 11.103 ± 2.275 cm³, the volume of yellow bodies — 7.122 ± 3.435 cm³. The average volume of yellow bodies to the ovary was $48.7 \pm 1.3\%$. The level of supervision reaction depends on the quality of the yellow body in the middle of the L-phase, at the time preceding the beginning of the gonadotropic stimulation from donor cows.

Conclusion. Based on the data obtained, it can be concluded that the visual analysis of sleepograms is an acceptable method for predicting the suitability of donor cows prior to the beginning of animal treatment with gonadotropic drugs and can be used as the animal selection criterion into a group of potential donors. Using ultrasound echography, relevant data reflecting the morphological and functional state of cows ovaries were obtained.

Key words: ultrasound examination, ovaries, superovulation, prediction

Authors:

Rykhlov A. — Dr. Habil. (Vet. Sci), Professor;

Semenovich A. — Doctor of Veterinary Sciences, Professor;

Pererydkina S. — PhD (Vet. Sci.), Associate Professor;

¹ FGBOU VO «Saratov State Agrarian University. N. I. Vavilova»; 410003, Russia, Saratov region, Saratov, Theater pl., 1.

² FGBOU to Volgograd State Agrarian University; 400002, Russia, Volgograd region, Volgograd, d, Prosp. University, 26.

References

1. Avdeenko V. S. Approbation of hormonal drugs for synchronizing the sexual cycle and induction of ovulation at meat cattle / Avdeenko V. S., Molchanov A. V., Zhazhgualieva A. T., Pereyadkin S. P., Kemeshev J. O. // *News of the Orenburg State Agrarian University*. — 2018. — № 3(71). — P. 190–193.
2. Nikitin G. S. Estimation of measuring progesterone concentration for diagnosing pregnancy and embryonic mortality in dairy cows / G. S. Nikitin, K. V. Plebiashov, A. A. Nikitina, P. S. Anipchenko, N. B. Bazhenova // *Veterinary Pharmacological Bulletin*. — 2019. — № 1(6). — P. 122–128.
3. Usnbekov E. S. Using the ovarian scanning method for evaluating the results of supervision in donor cows / E. S. Usnbekov, A. K. Imangaliev, R. M. Zhumachanova, G. A. Khasanova, B. K. Baimirzaev // In the collection: problems of interaction of science and society. Collection of articles of the International Scientific and Practical Conference. — 2019. — P. 105–108.
4. Anipchenko P. The effect of the organic acid on the bulls' sperm quality / P. Anipchenko, K. Plemyashov, G. Nikitin, A. Nikitina, S. Shabunin // *Journal of Animal Science*. — 2019. — Vol. 97. — HYPERLINK <https://elibrary.ru/contents.asp?id=41538895&selid=41663803> № S3. — P. 243.
5. Vanholder T. Et al. Cystic ovarian disease in dairy cattle: aetiology, pathogenesis, and risk factors / T. Vanholder [et al] // *TijdschrDiergeneeskd*. — 2014. — № 127(5). — P. 146–155.
6. Townson D. H. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows / D. H. Townson, C. W. Tsang, W. R. Butler et al. // *J. Anim. Sci*. — 2012. — № 80. — P. 1053–1058.
7. Taylor C. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle / C. Taylor, R. Rajamahendran // *Can. J. Anim. Sci*. — 2011. — № 71. — P. 61–68.
8. Britvina I. V. Comparative analysis of methods for diagnosing the state of the genital organs of cows / I. V. Brown, A. A. Morozova // *Bulletin of the Voronezh State Agrarian University*. — 2016. — № 2(49). — P. 108–112.
9. Pereyadkina S. P. Features of follicularogenesis in cows of meat breeds (Kazakh Begolane, Chevrolet and Herreford) in the context of the restoration of fertility / S. P. Pereyadkin, V. S. Avdeenko, V. D. Kocharyan, J. O. Kemeshev // *News of the Nizhnevolzhsky Agriculture Complex: Science and Higher Professional Education*. — 2018. — № 2(50). — P. 227–235.
10. Zemkankin V. Uzi in the diagnosis of ovarian diseases in cows / V. Zembankin // *Veterinary medicine of farm animals*. — 2020. — № 8. — P. 45–48.
11. Kuleshov W. K. Assessment of the results of supervision among cows — donors by the ultrasound scanning of the ovarian / U. K. Kuleshov, E. S. Usnbekov, T. I. Kuzmina // In the collection: Knowledge of young for the development of veterinary medicine and apk country. Materials of the International Scientific Conference of Students, graduate students and young scientists. — 2015. — P. 126–128.