

ПОЛИОВУЛЯЦИЯ У КОРОВ-ДОНОРОВ – ПОИСК ПРОДОЛЖАЕТСЯ

I. Разработка индекса полиовуляции яичников

Л.В. Мадисон, В.В. Мадисон

Национальный аграрный университет, г. Киев

*Проведенны исследования эмбриопродуктивности доноров по определению значения индекса **ПО** позволили распределить коров на четыре группы. Полученны значения индекса **ПО** у коров-доноров ($n=239$), обработанных гипофизарными гонадотропинами (ФСГ-п и ФСГ-супер) в дозах 45-50 а.е. в зависимости от результативности и качества эмбриосбора. Значение индекса **ПО** ($i=3,1-6,0$) обеспечивало 100 % полиовуляцию животных и получение свыше 64% качественных эмбрионов у коров-доноров во второй и третьей группах.*

Ключевые слова: **корова-донор, гипофизарный гонадотропин, полиовуляция, эмбриосбор.**

Индукцирование качественной и стабильной полиовуляции (**ПО**) доноров крупного рогатого скота остается одной из самых трудно решаемых проблем современной трансплантации эмбрионов (**ТЭ**). Несмотря на то, что этому технологическому этапу посвящена едва ли не половина научных исследований в практической эмбриологии, штурм гормональных основ **ПО**, отвечающих за повышение количества и качества эмбриосбора, пока оказался не столь успешным. Индуцированная гормонами **ПО** пока не стала надежной, «урожайной» и рутинной процедурой.

Еще со времени открытия в 1930 году Колом и Хартом плацентарных гонадотропинов в крови жеребых кобыл, лимиты ограничивающие продуктивный эмбриосбор у коров мало изменились: средний выход качественных эмбрионов составляет 5-6 зародышей на успешную **ПО**. Цифра в 60 % остается магической для исследователей и практиков **ТЭ**. В среднем 60 % коров-доноров, из числа обработанных гонадотропинами, реагируют **ПО** (3 и более эмбриона). Средний эмбриосбор на 60 % представлен жизнеспособными, качественными зародышами. Лимит в 60 % приживляемости даже свежепересаженными эмбрионами, также, пока непреодолим [1].

В предыдущих публикациях [2-3] авторы изучали: как влияет на состав эмбриосбора интервалы между индуцированной **ПО**; качественную и количественную зависимость выхода эмбрионов от использованного в суперовуляцию гонадотропина, его марки и даже серии препарата.

Для сравнения качества реакции **ПО** в распоряжении исследователя имеются следующие объективные показатели:

- число коров-доноров, обработанных гормонами;
- число и процент среагировавших животных (три и более желтых тел в яичниках);
- положительных по извлечению доноров (число-процент коров от которых получен хотя бы один зародыш или яйцеклетка);
- общий эмбриосбор донора, включая яйцеклетки;
- качественный эмбриосбор (общий и в процентах), исключая неоплодотворенные яйцеклетки и дегенерированные эмбрионы);

- радиоиммунные и биохимические изменения в крови (иногда в молоке) доноров накануне и в период **ПО**.

Эти и другие показатели (количество-процент собранной вымывной жидкости, ее загрязненность включениями и кровью, роль кормления-содержания на эмбриосбор и др.) могут свидетельствовать об успешности проведенной **ПО** и извлечения эмбрионов, но обходят стороной главного «виновника» эмбриологических исследований – состояние яичников донора. Помимо подсчета желтых тел и измерения концентрации гормонов яичника в крови (которые трудоемки и не очень информативны относительно прогноза **ПО**), у исследователя нет других показателей изменения активности яйцееобразующих органов.

Материалы и методы исследований. В конце 70-х годов прошедшего столетия во Всесоюзном институте животноводства Шейкиным В.Н. была предложена методика измерения размеров яичников коров и телок при проведении гинекологической диспансеризации животных. Изменение их размеров в связи с половой цикличностью животного, кистозном перерождении, персистенции желтых тел и фолликулов или отсутствие изменений при гипофункции, служило дополнительным источником информации для специалиста-гинеколога.

На первом этапе мы использовали эту методику для гинекологической диспансеризации коров-кандидатов в доноры, далее – для оценки реакции полиовуляции на постоянных коровах-донорах (n=239) гоштино-фризской породы, 4-15-летнего возраста, выбракованных из основного производственного стада. Коров обрабатывали гипофизарными гонадотропинами ФСГ-р (США) и ФСГ-супер (СССР) в дозах 45-50 а.е. (арморовского стандарта) + простагландин F-2α (500 мкг клопростенола) по общепринятым схемам.

Расчет метода оценки **ПО** с помощью пальпации основан на том, что в период ее индуцирования у доноров происходит рост железистых тканей яичников и наоборот – отсутствие увеличения размеров яичника с большой вероятностью свидетельствует о неудачной попытке гормонального воздействия. При ректогенитальном обследовании яичников коров специалистом определяется поверхность железистой ткани в поперечном и продольном направлениях. Размеры каждого яичника «в пальцах» записываются относительно матки (**I**) в виде правого и левого сомножителя. Например: 3x2 **I** 2x1; 4x3,5 **I** 4,5x2,5; 1x1 **I** 2x1 (обычно при гипофункциях). Под размерами правого и левого яичников выставляют символы желтого тела (+), фолликула (**o**) или кисты (**O**).

Оценка желтого тела в «крестах» применяется нами также при ТЭ реципиентам, причем количество крестов на правом или левом яичнике соответствует качеству (выраженности) желтого тела.

Удовлетворительное (невыраженное, «разлитое») желтое тело +, хорошее ++, отличное +++. Например, запись: $\longrightarrow$

Т-р №112 I ++

Означает, что у телочки- реципиента № 112 в правом яичнике расположено желтое тело хорошего качества.

После перемножения множителей получили соответственно площади правого и левого яичников до проведения **ПО**, затем их складывали. Аналогичную процедуру выполняли после гормональной обработки донора, перед проведением извлечения эмбрионов.

Для расчета индекса (**i**) роста площади железистой ткани яичников после применения гонадотропинов необходимо поделить сумму площадей

суперовулированных яичников на сумму площадей яичников до начала индуцирования **ПО**, например:

$$i = \frac{4 \times 3 \text{ I } 5 \times 4}{2,5 \times 2 \text{ I } 3 \times 2} = \frac{S_{\text{л}} + S_{\text{п}}}{s_{\text{л}} + s_{\text{п}}} = \frac{12+20}{5+6} = 2,9,$$

где **i** – индекс **ПО** (кратное увеличения площади яичников доноров в результате гормональной обработки);

(**S_л + S_п**) - сумма площади левого + площади правого яичника, после проведения **ПО**;

(**s_л + s_п**) - сумма площади левого + площади правого яичника, до обработки.

Единицы измерения размеров яичников значения не имеют, так как индекс яичника показывает кратное увеличение его площади. Важно, чтобы размеры яичника снимал один и тот же специалист как до, так и после проведения **ПО**. Если требуется отобразить размеры яичников в общепринятых единицах (например, в сантиметрах), «пальцевые» значения перемножаются на ширину пальцев каждого конкретного специалиста.

Значение индекса показывает кратность увеличения тканей яичников при индуцировании **ПО** и могут быть использованы для оценки реагирования яичников доноров на введение различных препаратов гонадотропинов, испытания новых схем **ПО**, средств улучшающих показатели эмбриосбора и в других исследованиях. Результаты некоторых собственных исследований приведены ниже.

Результаты исследований. Проведенные исследования эмбриопродуктивности доноров по определению значения индекса **ПО** позволили распределить коров на четыре группы. Полученны значения индекса **ПО** у коров-доноров (n=239), обработанных гипофизарными гонадотропинами (ФСГ-п и ФСГ-супер) в дозах 45-50 а.е., установлена зависимость результативности и качества эмбриосбора от значения индекса **ПО** (табл. 1).

1. Зависимость эмбриопродуктивности доноров (n=239) от значения индекса **ПО**

Значение индекса ПО (i)	Проведено ПО	Среагировало Доноров (%)	Эмбриосбор в среднем на 1 донора:		
			желтых тел	эмбрионов всего	качественных (в %)
< 1,5	61	52,5	4,2 ± 0,3 (n=32)	3,4 ± 0,5 (n=31)	1,8 ± 0,4 (52,7%)
1,5-3,0	94	94,7	6,4 ± 0,3 (n=89)	7,1 ± 0,6 (n=85)	4,2 ± 0,5 (59,9%)
3,1-6,0	64	100,0	9,0 ± 0,5 (n=64)	10,6 ± 1,0 (n=62)	6,8 ± 0,9 (64,2%)
> 6,0	20	100,0	9,7 ± 1,0 (n=20)	12,7 ± 1,6 (n=20)	6,1 ± 1,2 (48,0%)

Анализ данных показал следующее:

1. Яичники доноров (n=61) слабо или совсем не реагировали на введение гонадотропинов – индекс **ПО** составил **i**<1,5. При этом у 21 животного наблюдали парадоксальный эффект- уменьшение размеров яичников после обработки гормонами (**i** =0,4-0,9). Эти животные вошли в число 29 доноров (47,5 %), у которых отсутствовали показания к извлечению эмбрионов (менее 3 желтых тел).

2. Умеренную и значительную реакцию яичников ($i = 1,5-3$ и $3-6$ соответственно) сопровождал высокий процент (95-100 %) среагировавших **ПО** доноров во второй и третьей группе. Эти животные дали 2/3 качественного эмбриосбора, который в среднем состоял из 7-11 эмбрионов и яйцеклеток, в том числе 4-7 жизнеспособных.

3.20 доноров (8,4 %) с индексом увеличения тканей яичника в 6-10 раз показали наивысшую реакцию, которую можно назвать эффективной **ПО** по общему выходу эмбрионов (более 12 на 1 донора), при одновременном снижении качественного эмбриосбора до 48 %.

4. Предварительная оценка реакции **ПО** ректогенитальным определением числа желтых тел в яичниках относительно точно (75-85 %) прогнозирует предстоящий эмбриосбор. Прогноз может завышать или занижать фактический эмбриосбор (в среднем на 1,1 или 3 эмбриона) соответственно при малом или большом значении индекса **ПО** ($i < 1,5$ или $i > 6$).

На втором этапе проанализировали влияние возраста коровы-донора на количество и качество эмбриосбора в процессе проведения **ПО** у ($n=473$) животных. Приведенные в табл. 2 данные свидетельствуют, что доноры любого возраста одинаково «дружно» реагируют на введение фолликулостимулирующих гонадотропинов (83-84 %).

2. Влияние возраста донора на значение индекса **ПО** и эмбриопродуктивность

Возраст доноров в годах	Проведено ПО	Среагировало доноров (%)	Индекс ПО (i)	Эмбриосбор в среднем на 1 донора:	
				эмбрионов всего	качественных (%)
< 6	118	83,1	$3,0 \pm 0,2$ ($n=93$)	$7,2 \pm 0,6$ ($n=98$)	$4,2 \pm 0,5$ (58,3)
6-12	232	84,1	$2,6 \pm 0,2$ ($n=178$)	$7,1 \pm 0,4$ ($n=195$)	$3,7 \pm 0,2$ (52,1)
> 12	112	83,0	$2,6 \pm 0,2$ ($n=78$)	$6,1 \pm 0,5$ ($n=93$)	$2,9 \pm 0,3$ (47,5)

«Старение» доноров, в сравнении с более молодыми животными, по крайней мере в пределах 15-летнего возраста, незначительно снижает долю качественных зародышей в эмбриосборе. У коров среднего (6-12 лет) и старшего (> 12 лет) возраста на 0,5 и 1,3 эмбриона соответственно.

Других отклонений в производстве эмбрионов у доноров разного возраста не отмечено.

Известно, что за рубежом в качестве доноров коров используют до 20 лет.

В наших опытах корова № 569 голштинской породы (9,5 тыс. кг молока по наивысшей 305-дневной лактации) была переведена в стадо лаборатории трансплантации в 9-летнем возрасте, когда уже привела 7 собственных телят. За 4 года в качестве донора была подвергнута **ПО** ($n=21$) раз (см. график 2), от нее методом трансплантации извлечено 106 качественных эмбрионов, в короткий срок получено еще 5 телочек и 10 бычков (фото коровы-донора №569).

Два быка от этого донора впоследствии ушли с аукциона по 3 и 9 тысяч рублей. Цена реализации первой партии из 23 быков-трансплантатов, составила от 2,5 до 13,5 тысяч рублей за 1 голову [3-4].



Фото. Корова-донор 569 голштинской породы

(9-лет; 9,5 тыс кг молока по наивысшей 305-дневной лактации; 7 отелов. донор n=21 раз; 106 качественных эмбрионов).

Динамика изменения индекса (i) вместе с результатами извлечения эмбрионов (рис. 1 - 2) должна была засвидетельствовать «усталость» яичников на протяжении многократного использования коров-доноров № 569 и № 5853 (n=21, n=22) соответственно.

Однако показатели индекса (кратности увеличения площади яичников) у «истинных» доноров многократного использования оставались стабильными на протяжении 3.5-4 лет. Значения величины и качества эмбриосбора колебались параллельно с величиной индекса **ПО**. Не было отмечено заметных периодов спада в реагировании яичников на гонадотропины и после продуктивных **ПО**.

Вероятно, периода «отдыха» между очередными **ПО** в 60-90 дней достаточно для тканей яичников, чтобы быть готовыми к индуцированию очередного фолликулогенеза.

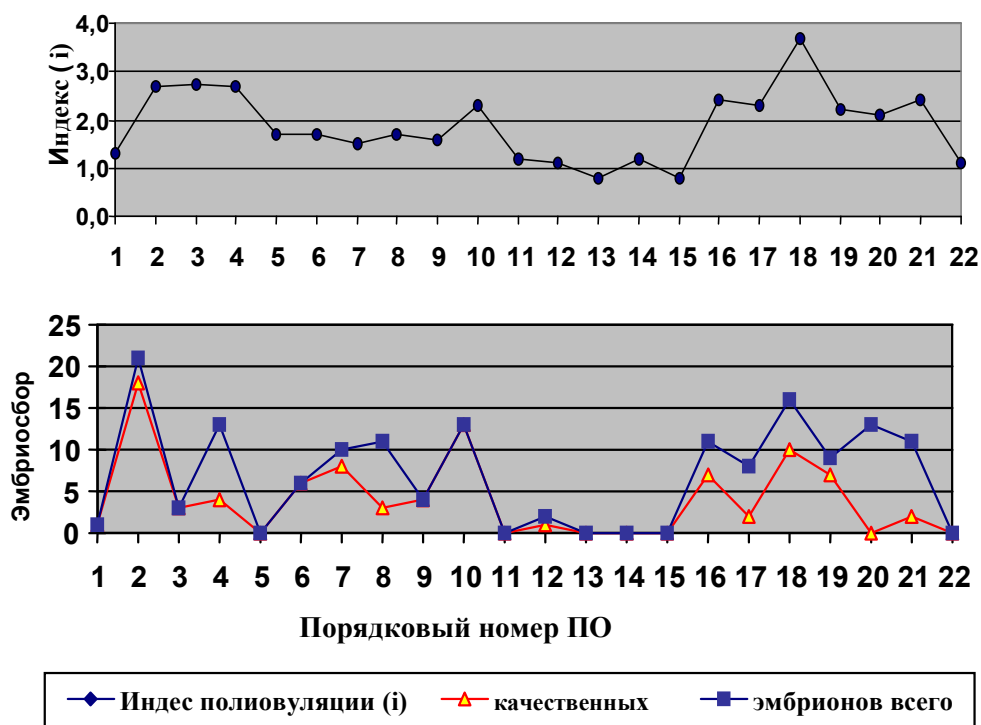


Рис.1. Значение индекса п/о (i) и качество эмбриосбора донора №5853.

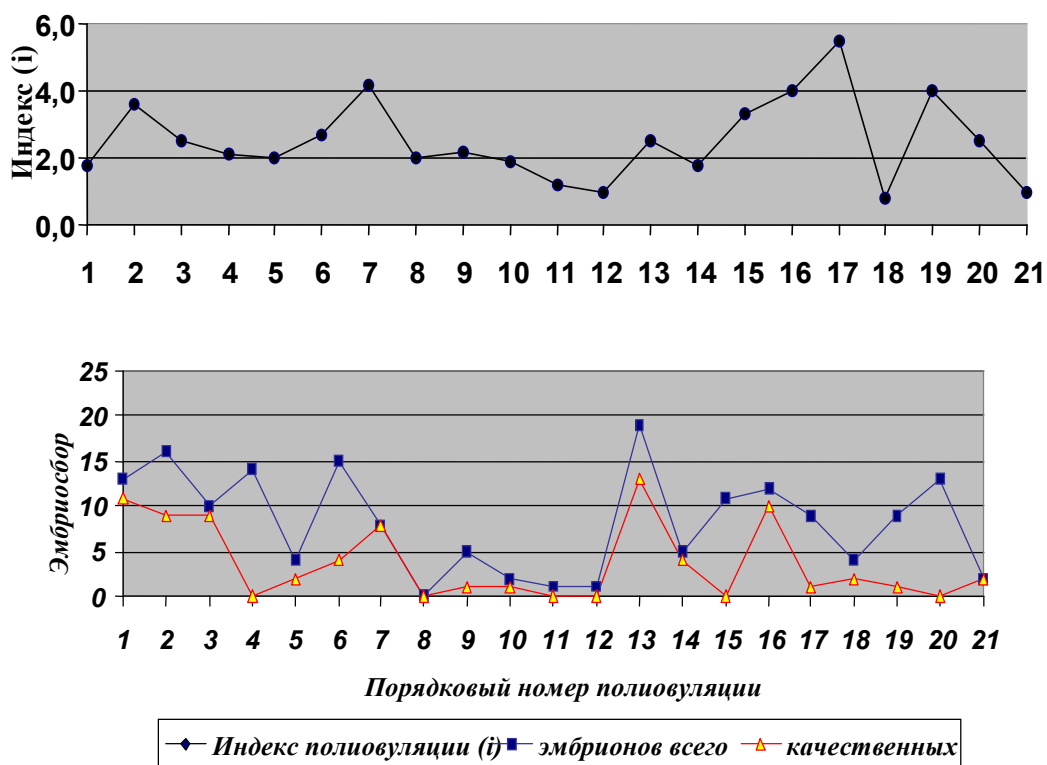


Рис.2. Значение индекса п/о (i) и качество эмбриосбора у донора №569.

Выводы:

1. В практику критерия оценки коров-доноров на введение гонадотропинов предложен к использованию индекс увеличения яичниковой ткани, который рассчитывается делением суммы площадей железистой ткани яичников после проведения **ПО**, на сумму площадей яичников того же животного до гормональной обработки.

3. Значение индекса ПО ($i=3,1-6,0$) обеспечивало 100 % полиовуляцию животных и получение свыше 64 % качественных эмбрионов у коров-доноров во второй и третьей группах.

ПОЛІОВУЛЯЦІЯ КОРІВ-ДОНОРІВ – ПОШУК ТРИВАЄ

I. Розробка індексу поліовуляції яєчників

Л.В.Мадисон, В.В. Мадисон, Національний аграрний університет, Київ

*Проведені дослідження ембріопродуктивності донорів зі визначенні значення індексу **ПО** дозволили розподілити корів на чотири групи. Отримані значення індексу **ПО** і корів-донорів ($n=239$), оброблених гіпофізарними гонадотропінами (Фсг-п і ФСГ-супер) у дозах 45-50 а.е. у залежності від результативності і якості ембріозбору.*

Значення індексу ПО ($i=3,1-6,0$) забезпечувало 100 % поліовуляцію тварин і одержання понад 64 % якісних ембріонів у корів-донорів у другій і третій групах

Ключові слова: корова-донор, гіпофізарний гонадотропін, поліовуляція, ембріозбір.

THE EXPERIMENTAL RESEARCH ON MULTIPLE OVULATION OF THE COWS-DONORS & MULTIPLE OVARY OVULATION INDEX ELABORATION

L. Madison , V. Madison , Kyiv national agrarian university

This article highlights the experimental research results on multiple ovulation of the cows-donors & multiple ovary ovulation index elaboration. The ovary tissue proliferation index is proposed for implementation. The above-mentioned index is applied by the cows-donors evaluation after gonadotropin administration. The index calculation procedure implies the glandular ovary tissue square sum division by the ovary square sum. The glandular ovary tissue sum is calculated after stable multiple ovulation. The ovary square sum is computed before hormonal treatment. The stable multiple ovulation index mean amounts $I=3,1-6,0$ & it procures 100% multiple ovulation of the animals. The 64% prime quality embryos were obtained from the cows-donors in the second & third groups.

Key words: cow-donor, ovary, multiple ovulation, gonadotropin, embryo