

Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. – Витебск, 2008. – Т. 44, Вып. 2. – Ч. 2. – С. 139-142.

23. Туміловіч, Г. А. Гематологічныя і біяхімічныя паказателі крыві пры парушэнні абмену рэчываў у кароў у транзітны перыяд / Г. А. Туміловіч, Д. Н. Харітонік, Ю. А. Шумілін // Экалагічныя праблемы прадольстваўнай безапаснасці: Матэрыялы Міжнароднага навучна-практ. канф. 21-22 студзеня 2022 г. – Воранеж: ФГБОУ ВО Воранежскі ГАУ, 2022. – С. 129-136.

24. Туміловіч, Г. А. Марфалагічная характарыстыка структурных пераўтварэнняў у печані кароў пры паталогіі абмену рэчываў / Г. А. Туміловіч // Жывотнаводства і ветэрынарная медыцына: ежеквартальны навучна-практычны журнал. – 2022. – № 1 (44). – С. 34-39.

25. Туміловіч, Г. А. Структурна-функцыянальныя змены ў падстраўнікавай залозе кароў пры кетозе / Г. А. Туміловіч // Актуальныя праблемы інтэнсіўнага развіцця жывотнаводства: сб. навуч. тр.: в 2 ч. / УО БГСХА; гл. рэдактар В. В. Веліканав. – Горкі, 2022. – Вып. 25, Ч. 2. – С. 233-243.

26. Хазімухаметава, І. Ф. Дынаміка паказатэляў метаболізму пры лячэнні гепатоза ў кароў / І. Ф. Хазімухаметава, Э. М. Баширова // Аграрны вестнік Урала. – 2010. – № 6. – С. 50-51.

27. Tharwat, M. Ultrasonography as a diagnostic and prognostic approach in cattle and buffaloes with fatty infiltration of the liver / M. Tharwat // Pol. J. veter. Sci., 2016. – Т.15, № 1. – Р. 83-93.

УДК 636.2/02:591.11

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГОНАДОТРОПИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НА ПРИЖИВЛЯЕМОСТЬ ЭМБРИОНОВ У КОРОВ-РЕЦИПИЕНТОВ В ПРОЦЕССЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

Д. Н. Харитоник, А. С. Дешко

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: коровы-реципиенты, кровь, гонадотропины, стельность, приживляемость эмбрионов.

Аннотация. В статье представлена динамика концентрации наиболее значимых гормонов в сыворотке крови, влияющих на сохранение стельности на ранних сроках у коров-реципиентов в процессе трансплантации. Приводятся данные о влиянии биологически активных препаратов на показатели концентрации гонадотропинов в сыворотке крови и приживляемости эмбрионов у коров-реципиентов.

INFLUENCE OF THE CONCENTRATION OF GONADOTROPINS IN THE BLOOD SERUM ON THE ENHABILITY OF EMBRYOS IN RECIPIENT COWS IN THE PROCESS OF TRANSPLANTATION

D. N. Haritonik, A. S. Deshko

EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: recipient cows, blood, gonadotropins, pregnancy, embryo survival rate.

Summary. The article presents the dynamics of the concentration of the most significant hormones in the blood serum that affect the preservation of pregnancy in the early stages in recipient cows during transplantation. Data are given on the effect of biologically active drugs on the concentration of gonadotropins in the blood serum and the engraftment of embryos in recipient cows.

(Поступила в редакцию 02.06.2023 г.)

Введение. В плане повышения эффективности племенной работы и воспроизводства биотехнология открывает широкие возможности в разведении, селекции и воспроизведении крупного рогатого скота. В настоящее время в технологии трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота произошел значительный прогресс, благодаря чему этот метод занял прочные позиции в селекционных программах в странах с развитым молочным скотоводством, где до 65-75 % производителей на станциях искусственного осеменения получены этим методом, который наряду с искусственным осеменением рассматривается в качестве основы современной биотехнологии ускоренного и генетического совершенствования крупного рогатого скота [1, 5].

Однако поиск решения вопросов воспроизводства невозможен без знаний физиологических закономерностей репродуктивной функции коров, в которой ключевое значение имеет гормональный фон организма, отражающий состояние гонадотропинов. Наиболее значимыми гормонами, влияющими на сохранения стельности у коров, являются: прогестерон (ПГ), хорионический гонадотропин (ХГ), эстрадиол, плацентарный лактоген (ПЛ), лютеинизирующий гормон (ЛГ). Роль овариальных и метаболических гормонов в процессах размножения животных общепризнана. Однако на сегодняшний день малоизученными являются вопросы влияния гонадотропинов на физиолого-биохимическое состояние коров-реципиентов перед имплантацией и на ранних сроках стельности, роли метаболического и гормонального фона организма при сохранении стельности [7].

Цель работы – изучить влияние концентрации гонадотропинов в сыворотке крови на приживляемость эмбрионов у коров-реципиентов в процессе трансплантации.

Материал и методика исследований. Исследования проводили на базе ОАО «Гостелловское» Минского района Минской области. Было сформировано две группы животных телок-реципиентов в возрасте 12-15 месяцев и коров-реципиентов 2-3 лактации. Предварительно животные были синхронизированы по половому циклу с коровами-донорами. Пересадку эмбрионов осуществляли трансцервикальным методом.

Для изучения влияния биологически активных препаратов было сформировано три группы коров с физиологически низким содержанием гонадотропных гормонов. Животным первой группы после трансплантации вводили хорулон в дозе 1500 Ед/гол. однократно внутримышечно в день пересадки эмбрионов. Коровам-реципиентам второй группы назначали препарат прогестерон 2,5 % в дозе 2 мл/гол. внутримышечно. Коровам-реципиентам третьей группы вводили бусерелин в дозе 5 мл/гол. внутримышечно. Животным контрольной группы препараты не назначали, они служили контролем.

Кровь брали утром до кормления из подхвостовой вены в стерильные пробирки до пересадки и через 21, 45, 75 дней после пересадки эмбрионов. Концентрацию прогестерона, хорионического гонадотропина, пролактина в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на приборе «BioTek» с помощью наборов реактивов «HUMAN GmbH» на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «АгроВет» УО «ГГАУ». Статистическую обработку полученного цифрового материала проводили с использованием программного пакета с уровнем достоверности: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Результаты исследований и их обсуждение. По последним научным данным, процесс оплодотворения и развитие эмбриона определяются физиолого-метаболическим состоянием организма матери, которое поддерживается за счет системы нейрогуморальной регуляции; функциональные изменения начинают проявляться с 14-21-го дня стельности в виде повышения уровня обменных процессов, перестройки иммунитета, сдвига гормонального баланса.

Прогестерон – основной гормон стельности, основная задача которого сохранить стельность и создать необходимые условия для развития плода. Катаболическое действие прогестерона выражается в усилении экскреции общего азота и азота мочевины и метаболического распада белка. Вырабатываемый корой надпочечников кортизол стимулирует

глюконеогенез в печени и запасание в ней гликогена, катаболизм белков в периферических тканях, при этом снижает в них утилизацию глюкозы. Гормон способствует мобилизации жирных кислот и росту содержания липидов в печени, экскреции калия, кальция, креатинина, задержке натрия и хлора. Совместно с эстрогенами гормон способствует образованию эмбриотрофа маточными железами и прикреплению эмбриона к эндометрию. Вызывает пролиферацию секреторных клеток эндометрия и снижает повышенный тонус матки, оказывает сосудорасширяющий эффект на кровеносные сосуды матки и яичников, увеличивая кровоток в репродуктивных органах самки [2].

Уровень прогестерона зависит прежде всего от функциональной активности желтого тела беременности. При низкой функциональной активности желтого тела и недостаточной секреции прогестерона отмечается слабая секреция железистых клеток эндометрия, в результате чего в матке нарушаются условия питания и развития зародыша, что может быть причиной его гибели на ранних стадиях развития или отставания в развитии эмбриона, плода и плаценты [2].

В связи с этим знание закономерностей изменения прогестеронового статуса коров-реципиентов до и после имплантационного периода имеет большое значение для успешной трансплантации.

Уровень прогестерона подвержен сильному колебанию в течение цикла, его минимум в сыворотке крови соответствует наступлению овуляции, при оплодотворении концентрация постепенно возрастает и сохраняется до 45 дней стельности, а желтое тело преобразуется в желтое тело беременности.

По результатам наших исследований было установлено, что концентрация прогестерона у коров-реципиентов до пересадки в среднем по группе составляла $13,5 \pm 0,7$ нмоль/л на 14 день наблюдений, что соответствует 21 дню стельности – $38,1 \pm 2,6$ нмоль/л, на 45 день стельности – $49,4 \pm 3,6$ нмоль/л, на 75 день – $40,0 \pm 2,7$ нмоль/л.

Таблица 1 – Динамика концентрации прогестерона в сыворотке крови у коров-реципиентов в зависимости от физиологического течения стельности

Группа коров	Срок стельности, дней			
	до имплантации	21	45	75
Реципиенты с физиологической нормой концентрацией прогестерона, нмоль/л	13,5 ± 0,7	38,1 ± 2,6	49,4 ± 3,6	40,0 ± 2,7
Реципиенты с низкой концентрацией прогестерона, нмоль/л	10,0 ± 0,7	33,2 ± 2,2*	39,2 ± 2,9**	22,2 ± 1,2**

Примечание – * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ по отношению к группе с физиологической концентрацией прогестерона

В группе коров-реципиентов с низкой концентрации прогестерона до имплантации отмечали данный показатель на уровне $10,0 \pm 0,7$ нмоль/л, что на 35 % ($P < 0,05$) ниже нормы по группе.

К концу третьей недели стельности в подопытной группе тенденция динамики снижения прогестерона продолжалась и была ниже на 12,6 % ($P > 0,01$) по сравнению с реципиентами физиологическим течением стельности. К 45 дню стельности эта разница составила 11 % ($P < 0,01$). В последующий период наблюдений в подопытной группе коров-реципиентов не установлено повышение концентрации прогестерона, а даже его снижение в 1,8 раза по отношению к опытной группе с физиологическим течением стельности, что может указывать на синдром задержки развития плода или внутриутробную гибель эмбриона.

Влияние гормонов необходимо на всех этапах пренатального онтогенеза. Вначале эмбрион развивается в основном под влиянием гормонов матери и хорионического гормона (ХГ) плаценты. На этапах фетогенеза начинают преобладать гормоны плаценты и собственные гормоны плода.

Плацента является своеобразным барьером, который оберегает плод от неблагоприятных воздействий. С первых дней развития зародыша образуются два слоя клеток: наружный – трофобласт и внутренний – эмбриобласт. На 2-й неделе трофобласт приобретает двухслойное строение в связи с формированием в нем внутреннего клеточного (цитотрофобласта) и симпластического наружного (синцитиотрофобласта) слоя. Последний является производным клеточного слоя. Появляющаяся в эмбриобласте внезародышевая мезодерма врастает в трофобласт и образует вместе с ним вторичные эпителиомезенхимальные ворсинки. С этого времени трофобласт превращается в хорион, или ворсинчатую оболочку [6].

Хорионический гонадотропин является главным специфическим гормоном беременности, синтезируется клетками трофобласта в базальной пластине плаценты уже с первых дней ее наступления и обнаруживается в крови, моче, а также во всех органах и жидкостях организма. Кроме этого, ХГ поддерживает и развитие желтого тела, стимулирует секрецию прогестерона и эстрадиола и свои иммуномодулирующие эффекты реализует в комплексе с этими гормонами [2].

В то же время физиология жвачных не располагает достаточными сведениями о гормональном фоне стельности и, в частности, уровне хорионического гонадотропина в организме коров в различные стадии стельности.

Результаты изучения динамики хорионического гонадотропина в сыворотке крови коров-реципиентов в первые 2 месяца после имплантации приведены в таблице 2.

Мы установили, что концентрация ХГ в крови коров исследуемых групп в первую неделю после имплантации составила $1,39 \pm 0,06$, $1,46 \pm 0,06$ нмоль/л. В крови стельных коров-реципиентов с физиологическим течением стельности прирост концентрации ХГ был отмечен при наличии 3-недельной стельности. Прирост концентрации через 6 недель стельности составил 9,6 раз ($P < 0,001$), в 9 недель – в 36 раз ($P < 0,001$).

Таблица 2 – Динамика хорионического гормона в крови коров-реципиентов

Группа	Хорионический гонадотропин (ХГ) до имплантации, нмоль/л	Срок исследования после имплантации, нед.			
		1	3	6	9
Коровы-реципиенты с физиологическим течением стельности	$1,39 \pm 0,06$	$1,65 \pm 0,06^{***}$	$2,21 \pm 0,16^{***}$	$14,32 \pm 2,3^{***}$	$50,21 \pm 1,8^{***}$
Коровы-реципиенты с патологическим течением стельности	$1,46 \pm 0,06$	$1,52 \pm 0,04$	$1,39 \pm 0,04$	$1,49 \pm 0,06$	$1,40 \pm 0,04$

Примечание – * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$

В группе коров-реципиентов с патологическим течением стельности уровень гормона практически не изменялся в ходе всего периода исследований и находился на низком уровне. Полученные нами результаты позволяют предположить то, что в организме коров ХГ синтезируется не только при стельности.

Одной из причин выявления хорионического гормона в крови нестельных коров может служить то, что ХГ, как и ЛГ, состоит из двух полипептидных цепей (а и р) и а-полипептидная цепь ХГ идентична

а-полипептидной цепи ЛГ. Этот факт может и определять положительный результат при определении концентрации ХГ в крови нестельных коров.

Ранняя гибель эмбрионов, являющаяся одной из причин низких показателей успешной пересадки эмбрионов, находится в центре внимания ученых и исследователей на протяжении последних десятилетий. В качестве факторов, оказывающих влияние на раннюю гибель эмбрионов после пересадки, рассматриваются следующие причины: пересадка эмбриона морфологически низкого качества; неправильная синхронизация эструса у донора и реципиента; тепловой стресс; субклинические эндометриты у коров 2-й и последующих лактаций; недостаточность функции желтого тела у реципиента [5, 8].

Для предотвращения ранней гибели эмбрионов у коров-реципиентов применяются методы повышения концентрации прогестерона в плазме крови во время лютеиновой фазы, путем введения эндогенных гонадотропинов, что достигается иницированием образования дополнительного желтого тела, которое происходит в среднем на 4-6-й день после синхронизации охоты. Считается, что, помимо индукции образования желтого тела, такой метод обеспечивает дополнительное выделение лютеинизирующего гормона (ЛГ), поддерживающего жизнеспособность желтого тела, появившегося при овуляции доминантного фолликула [4].

В наших исследованиях с целью повышения приживляемости эмбрионов проводился опыт сравнительной оценки эффективности применения препаратов, содержащих эндогенные гормоны, для оптимизации эндокринного статуса, повышения функции желтого тела, а также для улучшения показателей стельности и повышения приживляемости эмбрионов у коров-реципиентов.

Реакция организма коров-реципиентов опытных групп на введение препаратов проявлялась индукцией и лютеинизацией восприимчивых фолликулов первой волны последующего фолликулярного развития, поддерживает развитие и функционирование желтого тела, образовавшегося в результате овуляции, а также индуцирует овуляцию. Это приводит к образованию индуцированного желтого тела, повышению концентрации прогестерона и снижению концентрации эстрадиола.

Установлено, что коррекция эндогенных гормонов в момент пересадки эмбрионов улучшает показатели стельности у коров с многоплодной стельностью и первотелок, имеющих проблемы с метаболизмом.

Целью применения бусерелина, синтезированный аналог гипофизарных гормонов ЛГ и ФСГ (ГнРГ), является повышение приживляемости и развития пересаженных эмбрионов коровам-реципиентам путем

подавления механизма лютеолиза, который запускается в случае отсутствия положительного сигнала о стельности. В зависимости от стадии развития фолликула коррекция аналогами ГнРГ во время лютеиновой фазы вызывает лютеинизацию или овуляцию существующих и восприимчивых фолликулов лютеиновой фазы, которые продолжают рост после овуляции доминантного фолликула предыдущего цикла. Таким образом, повышается концентрация прогестерона и снижается концентрация эстрадиола, поскольку фолликулярный цикл уменьшает выработку эстрадиола. Это приводит к невозможности регулировать рецепторы к окситоцину и, тем самым, блокирует выделение $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Среднее значение концентрации лютеинизирующего гормона (ЛГ) в группах, где применяли хорулон и бусерелин, в сравнении с контрольной группой, достоверно возросло в среднем на 21,0 % ($P < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют об активизации функции надпочечниковых желез и повышении уровня адаптационных механизмов и резистентности организма животных при введении препаратов (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние препаратов хорулон, прогестерон 2,5 % и бусерелин на концентрацию гонадотропинов у коров-реципиентов в процессе трансплантации

Группа	Препарат	Гормон, нмоль/л			
		ЛГ	Прогестерон	Пролактин	Эстрадиол
Опытная 1	Хорулон	6,40 ± 0,28*	21,7 ± 5,9*	12,49 ± 0,13	0,32 ± 0,08
Опытная 2	Прогестерон 2,5 %	5,64 ± 0,15	11,4 ± 1,8	12,30 ± 0,08	0,52 ± 0,14
Опытная 3	Бусерелин	8,00 ± 0,30*	15,1 ± 0,6**	12,44 ± 0,10*	0,45 ± 0,15
Контрольная	-	5,95 ± 0,25	10,5 ± 1,5	11,41 ± 0,22	0,66 ± 0,29

Примечание – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Таким образом, индуктором формирования желтых тел является ЛГ, стимулирующий дифференцировку лютеиновых клеток и биосинтез прогестерона. Желтое тело беременности, по сравнению с желтым телом полового цикла, характеризуется большей метаболической активностью, т. к. в нем концентрация / активность гормонов и ферментов выше, что является следствием увеличения при беременности размера гипофиза и появления в нем специализированных клеток, обеспечивающих синтез соответствующих гормонов.

Анализ показателей концентрации прогестерона показал, что введение препаратов хорулон в день трансплантации эмбрионов сопровождалось достоверным подъемом концентрации стероида в 2,0 раза ($P < 0,05$), прогестерона 2,5 % в 1,09 раза ($P < \text{н/д}$), бусерелина в 1,44 раза по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, введение всех назначенных препаратов способствовало активизации функции желтого тела и, вероятно, прогестероно-синтезирующих элементов надпочечников.

При изучении показателей концентрации пролактина выявили, что в группе, где применялся хорулон, она возросла на 9,4 %, прогестерона 2,5 % на 7,8 %, бусерелина на 9,0 %. Введение препаратов способствовало синтезу пролактина в гипофизе и повышало биологическую активность прогестерона надпочечников и частично желтого тела.

Анализ содержания эстрадиола показал, что у животных групп, в которых применяли хорулон понизилась, по сравнению с контрольной группой, в 2,06 раза, на 20,9 %, 46,6 % соответственно.

Предположительно низкий эндокринный фон (гиполютеинемия и гипопрогестеронемия) у коров контрольной группы не обеспечил сохранение стельности и оказался причиной не приживляемости эмбрионов.

Наиболее эффективной оказалась пересадка эмбрионов коровам-реципиентам третьей и первой опытных групп (50,0-58,3 %), самой низкой – в контрольной группе (33,3 %), превышающая уровень приживляемости у контрольной группы на 16,7-25 п. п.

Заключение. Таким образом, было установлено, что главными специфическими гормонами, указывающими на наличие стельности у реципиентов, являются прогестерон и хорионический гонадотропин, которые синтезируются клетками трофобласта в базальной пластине плаценты уже с первых дней ее наступления и обнаруживается в крови биохимическим методом исследования. Это позволяет объективно оценить стельность и развитие плода на ранних сроках у реципиентов в процессе трансплантации.

Парентеральное введение коровам-реципиентам в период трансплантации эмбрионов препаратов гонадотропного действия (хорулон, прогестерон 2,5 %, бусерелина) активизирует функциональную активность половых и надпочечниковых желез, что приводит к повышению концентрации в крови ЛГ на 21,0 %, пролактина на 8,7 %, прогестерона в 1,51 раза, увеличению уровня приживляемости эмбрионов на 16,7-25 п. п. Наиболее выраженная реакция со стороны яичников и всей воспроизводительной системы коров зарегистрирована на воздействие препарата хорулон.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ грант №Б22-082

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева, А. И. Гормональный статус и морфологические показатели крови скота герефордской породы канадской селекции в процессе адаптации к условиям алтайского края / А. И. Афанасьева, В. А. Сарычев // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2016. – № 3. – С. 135-140.

2. Газиева, И. А. Иммунопатогенетические механизмы формирования плацентарной недостаточности и ранних репродуктивных потерь: автореф. дис. ... д-рабиол. наук: 14.13.09 / И. А. Газиева. – Челябинск, 2014. – 36 с.
3. Плахова, А. И. Повышение функциональной активности яичников и качества ооцитов у высокопродуктивных коров с использованием синтетических каротиноидов: авторефер. дис. ... к-та вет. наук: 06.02.06 / А. И. Плахова. – Санкт-Петербург, 2020. – 22 с.
4. Совершенствование биологических методов повышения результативности осеменения коров и профилактики внутриутробной задержки развития эмбриона и плода / А. Г. Нежданов [и др.] // Ученые записки УЩ ВГАВМ, т. 54 вып. 4, – 2018. С. 93-96.
5. Скачкова, О. А. Факторы, влияющие на приживляемость эмбрионов у коров-реципиентов / О. А. Скачкова // Ветеринария и кормление. – 2019. – № 6 – С. 25-28.
6. Функциональная биохимия системы мать–плацента–плод: метод. указ. для студентов II курса мед. факультета / Сост. Т. В. Горбач [и др.]. – Харьков: ХНМУ, 2013. – 64 с.
7. Харитоник, Д. Н. Влияние концентрации гонадотропинов, регулирующих развитие плода и протекание стельности у коров-реципиентов / Д. Н. Харитоник, А. С. Дешко, О. И. Чернов // Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XXVI Междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 20 апреля 2023 г. / УО «ГТАУ». – Гродно, 2023. – С. 93-96.
8. Haughian, J. M. Gonadotropin-Releasing Hormone, Estradiol, and Inhibin Regulation of Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Surges: Implications for Follicle Emergence and Selection in Heifers / J. M. Haughian, O. J. Ginther, J. Francisco // Biology of reproduction. – 2013. – Vol. 88, № 6. – P. 32.