Результативность извлечения эмбрионов у коров-доноров в зависимости от применяемых модификаций трехканальных катетеров

Effectiveness of embryo recovery procedures depending on applied modifications of the three-channel catheters

Бригида А.В.
г. Москва

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-5-6
УДК : 619:618.177-089.888.11

Ключевые слова: крупный рогатый скот, эмбрион; суперовуляция, воспроизводство.

Key words: cattle, embryo, superovulation, reproduction

Резюме. В современной биотехнологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота одним из важных звеньев является процедура извлечения эмбрионов из репродуктивных органов коровы-донора, предназначенных для пересадки корове-реципиенту. Известно, что потери эмбрионов в процессе их элюации достигают 30%, поэтому актуальным является рассмотрение результативности вымывания эмбрионов в зависимости от применяемого инструментария. Проведены исследования по определению результативности вымывания эмбрионов в зависимости от применяемой модификации трехканальных катетеров. В работе использовались трехканальный катетер производства фирмы "Minitube" (группа I, n=53) и трехканальный катетер со спиральным дистальным концом подающего канала, разработанный в ФГБНУ "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (Патент РФ на полезную модель № 160215) и предназначенный для нехирургического извлечения эмбрионов у животных (группа II, n=67). В результате проведенных исследований установлено, что при использовании трехканального катетера со спиралевидным дистальным концом подающего канала (патент РФ на полезную модель №160215), результат извлечения эмбрионов у коров-доноров может достигать 96,2% от общего числа овуляций на одного положительно отреагировавшего донора.

Summary. One of the important stage in the modern technology of bovine embryo transfer is the procedure of recovery from the donor cows the embryos, intended for transfer

to the recipient cows. It is known that losses of embryos in the course of their elution reach 30%, so it is important to consider the effectiveness of embryo recovery depending on the used equipment. Studies were carried out to determine the effectiveness of embryo recovery procedure depending on the modification of the three-channel catheters. In the study the three-channel catheter from "Minitube" (group I, n = 53) and the three-channel catheter with the spiral distal end of the delivery canal, developed in FSBI Center for Experimental Embryology and Reproductive Biotechnologies (Patent No. 160215 for utility model) and intended for non-surgical extraction of embryos from animals (group II (n = 67), were used. It was shown that the level of embryo recovery with using the three-channel catheter with a spiral distal end of the delivery channel (Patent No. 160215 for utility model) can reach 96.2% of the total number of ovulations per positively responded donor cows.

Введение

В животноводстве, важным направлением которого является обеспечение ускоренного воспроизводства крупного рогатого скота, ключевую позицию занимает технология трансплантации эмбрионов (далее – ТТЭ), объединяющая в себе комплекс планомерно выполняемых технологических этапов, включающих отбор коров-доноров, проведение искусственной стимуляции их яичников гонадотропными препаратами для получения полиовуляции с выходом множества яйцеклеток, оплодотворение яйцеклеток путем искусственного осеменения, извлечение эмбрионов с последующим переносом в организм коровы-реципиента.

Практическое применение данной технологии продемонстрировало широкие возможности её использования в сельскохозяйственном производстве многих стран мира, где ежегодно получают методами *in vivo* и *in vitro* более одного миллиона эмбрионов крупного рогатого скота (далее – КРС). В том числе, в Российской Федерации, где в последние годы интенсивно применяются репродуктивные технологии в отрасли скотоводства, в 2016 году методом *in vivo* произведено, по данным АЕТЕ (Association of embryo technology in Europe), более 8 тыс. эмбрионов крупного рогатого скота, пригодных к пересадкам, что ставит Россию по объему производства эмбрионов КРС методом *in vivo* на пятое место среди европейских стран, использующих технологию эмбриотрансфера [1].

Успех применения ТТЭ в практике скотоводства очевиден, однако до сих пор существует ряд факторов, способствующих высокому риску утраты эмбрионов при выполнении технологического этапа по извлечению зародышей из репродуктивных органов животных. На сегодняшний день потери эмбрионов в процессе их элюации достигают 30% [2]. Причинами таких потерь, несмотря на то, что процедура вымывания эмбрионов признана хорошо отработанной, помимо недостаточного уровня профессионализма оператора, проводящего процедуру извлечения зародышей, являются конструктивные особенности применяемого оборудования, предназначенного для вымывания эмбрионов.

Вымывание эмбрионов из рогов матки полиовулировавших доноров, как правило, осуществляют нехирургическим методом на 7-ой день после искусственного осеменения с использованием двух- или трехканальных катетеров, через которые в полость матки подают промывочную жидкость с последующим её удалением совместно с зародышами. При этом, в такой жидкости, помимо зародышей, имеющих размер от 160 до 180 мкм, содержится и иной биологический материал (элементы внутриматочной сли-

Авторы / Authors

Бригида А.В. / Brigida A.V., заведующий отделом экспериментальной трансплантологии ФГБНУ "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий", Москва, Россия, brigida_86@mail.ru
ФГБНУ "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий"

с 6–10, с 11–20, и с более 20 желтыми телами на яичниках.

В каждой экспериментальной группе проводили нехирургическое извлечение эмбрионов с использованием одного и того же метода вымывания эмбрионов – метода замкнутого контура, обеспечивающего непрерывную циркуляцию промывочной жидкости через применяемый трехканальный катетер и изолированную часть рога матки животного. Для этого к трехканальному катетеру, введенному в репродуктивные органы коровы-донора и зафиксированному по месту необходимой локализации, подключали установку для нехирургического извлечения эмбрионов (патент РФ на полезную модель №156767) [4]. Выбор метода замкнутого контура, обеспечивающего непрерывную циркуляцию промывочной жидкости обоснован тем, что эффективность извлечения зародышей при использовании данного метода превосходит такие методы, как гравитационный (с системой самотека) и шприцевания на 19,1% и 14,1%, соответственно [2].

Для фильтрации эмбрионов из промывочной жидкости, полученной в результате её оттока из репродуктивных органов донора, использовали устройство для сбора эмбрионов (производство Франция). Поиск и оценку эмбрионов определяли под микроскопом с увеличением 60 – 100 раз и более.

Результаты исследований

В соответствии с данными таблицы, в обеих группах количество коров-доноров по лимитам числа овуляций распределились следующим образом: в группе I – 11, 21, 17 и 4 и в группе II – 14, 31, 15 и 7 голов, что в процентном выражении составило в первой группе 20,8%; 39,6%; 32,1% и 7,5%, и во второй группе 20,9%; 46,3%; 22,4%; 10,5%, соответственно. Количество желтых тел в расчете на одного донора в соответствии с лимитами числа овуляций в группе I составило 4,3; 7,8; 15,7; 23,5, а в группе II – 4,2; 7,6; 16,0; 23,9. Таким образом, показатели количества коров-доноров (в процентном выражении), распределенных по лимитам числа овуляций, а также показатели количества желтых тел на одного донора в группах I и II были схожими, что демонстрирует аналогичность исходных условий начала опыта в экспериментальных группах.

Анализ данных, полученных в результате эксперимента по исследованию результативности извлечения зародышей у коров-доноров, показал, что в обеих группах наблюдается общая тенденция увеличения количества неизвлеченных зародышей (потери) в расчете на одного донора по возрастанию лимитов числа овуляций: в группе I – 0,4; 0,5; 2,1; 3,3 и в группе II – 0,1; 0,4; 0,5; 1,3 (таблица 1). Из этого следует, что чем выше полученный реакционный ответ яичников коров-доноров на стимуляцию гонадотропинами, и, соответственно, образовано большее количество желтых тел на поверхности яичников (число овуляций), тем больше потерь зародышей происходит в результате вымывания. Наиболее значительные потери зародышей в обеих группах отмечались в лимите 11–20 и в лимите более 20 желтых тел на яичниках.

При сравнении результатов извлечения зародышей между группами I и II отмечено (таблица 1), что показатели количества неизвлеченных зародышей (потери) в группах разнятся. В группе I при применении трехканального катетера Фолея потери зародышей у коров-доноров во всех лимитах числа овуляций значительно превышают аналогичные показатели в группе II, где применялся трехканальный катетер со спиральным дистальным концом подающего канала. Так, если в лимитах 3–5 и 6–10 разница числа потерянных зародышей между группой II и группой I варьирует в расчете на одного донора от 0,1 до 0,3, то в лимитах 11–20 и более 20 желтых тел на яичниках разница числа потерянных зародышей между группой II и группой I увеличивается до 1,6 – 2,0. Наглядным примером значительной

разницы потерь зародышей между группами I и II могут служить показатели потерь общего количества зародышей у доноров с лимитом числа овуляций 11–20 желтых тел на яичниках. Так, в группе I в отношении семнадцати доноров при извлечении зародышей с помощью трехканального катетера Фолея потери составили 35 зародышей, в то время как в группе II у доноров в количестве пятнадцати голов в том же лимите числа овуляций потери составили всего 8 зародышей при извлечении трехканальным катетером со спиральным дистальным концом подающего канала, учитывая, что данное сравнение проведено при примерно одинаковом количестве коров (с лимитом числа овуляций 11–20 желтых тел на яичниках) в обеих группах. Эти результаты показывают, что при достижении повышенного реакционного ответа доноров на стимуляцию гонадотропинами (11–20 и более желтых тел на яичниках), возрастает актуальность выбора такого трехканального катетера, который способен за счет своих конструктивных особенностей максимально минимизировать потери зародышей в процессе их извлечения. В данном случае, когда в настоящих исследованиях сравнивались две модификации трехканальных катетеров, катетер со спиральным дистальным концом подающего канала (патент РФ на полезную модель №160215) показал наибольшую эффективность извлечения эмбрионов по сравнению с катетером Фолея.

Кроме того, по результатам исследования также был проведен подсчет средних показателей, отраженных в сводной таблице 2.

Из таблицы 2 видно, что в группе I в расчете на одного донора среднее число желтых тел составило 10,8, среднее число извлеченных зародышей – 9,6, среднее число неизвлеченных зародышей (потери) – 1,2. В группе II на одного донора среднее число желтых тел составило 10,5, среднее число извлеченных зародышей – 10,1, среднее число неизвлеченных зародышей (потери) – 0,4. Данные результаты показывают, что при схожем среднем числе желтых тел в обеих группах (в расчете на одного донора), в группе II, где был применен трехканальный катетер со спиральным дистальным концом подающего канала (патент РФ на полезную модель №160215), потери зародышей были в три раза меньше, чем в группе I.

Опираясь на результаты представленного научного исследования, можно отметить, что работа имеет большое практическое значение, так как показано, что результативность извлечения зародышей напрямую зависит от выбора той или иной применяемой модификации трехканального катетера. Полученные экспериментальные данные принципиально важны для практики применения технологии эмбриотрансфера и могут быть включены в инструменты оценки риска потерь зародышей в хозяйствующих субъектах, занимающихся получением эмбрионов крупного рогатого скота.

Литература

1. Statistics of European Embryo Transfer Activity in 2016. С.- 2. Association of Embryo Technology in Europe (AETE), 2017. <http://www.aete.eu/index.php/statistics/year-2016/file>.
2. Сорокин, В.И. Результативность вымывания эмбрионов при индукции суперовуляции у коров-доноров. // В.И. Сорокин, А.В. Бригида. // Ветеринария и кормление, 2018. - №4. - С. - 30-32.
3. Трехканальный катетер, предназначенный для нехирургического извлечения эмбрионов у животных, со спиральным дистальным концом подающего канала [Текст]: пат. 160215 Рос. Федерация, МПК А61D19/00 / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ).-№2015138769/13; заявл. 11.09.15; опубл. 10.03.16, Бюл. №7. - 2 с.: ил.
4. Установка для нехирургического извлечения эмбрионов у животных [Текст]: пат. 156767 Рос. Федерация: МПК А61D9/00 / Косовский Г. Ю., Попов Д.В., Бригида А.В.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). - № 2015131973/13; заявл. 31.07.15; опубл. 20.11.15, Бюл. № 32. - 2 с.: ил.