DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-3-52-55
УДК 619:[618.11-006.2]:636.2

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГМ-КСФ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ С ФОЛЛИКУЛЯРНЫМИ КИСТАМИ

Михалёв В.И. ORCID 0000-0001-9684-4045, Скориков В.Н. ORCID 0000-0002-3135-5811, Сашнина Л.Ю. ORCID 0000-0001-6477-6156, Моргунова В.И. ORCID ID 0000-0002-7148-7624
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

В статье представлены материалы изучения эффективности применения нового препарата «Проовулин» для лечения коров с фолликулярными кистами. Установлено, что двукратное введение проовулина, содержащего гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (гм-ксф), в дозе 10,0 мл с интервалом 4 суток, сопровождается эффективностью 83,3%, что на 3,3-8,3% выше по сравнению с дозой проовулина 5,0 мл и сурфагоном, при сокращении периода от отла до оплодотворения на 18,9-35,7 дней и коэффициента оплодотворения - на 0,29-0,45. Восстановление функциональной деятельности половых гонад у коров при фолликулярных кистах при применении проовулина происходит на фоне нормализации их гормонально-цитокинового профиля, проявляющееся повышением выработки прогестерона в 10,0 раз, что приводит к снижению уровня ФНО$_{\alpha}$. на 20,1%, а также концентрации ИЛ-1β – на 18,9%. ***Ключевые слова:*** *коровы, фолликулярные кисты, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, лечение.*

EFFICACY OF A NEW DRUG BASED ON GM-CSF FOR THE TREATMENT OF COWS WITH FOLLICULAR CYSTS

Mikhalev V.I., Skorikov V.N., Sashnina L.Yu., Morgunova V.I.
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Voronezh, Russian Federation

The article presents the material on studying the efficacy of the new drug proovulin for the treatment of cows with follicular cysts. It was established that the double administration of proovulin, containing granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), at a dose of 10.0 ml with an interval of 4 days, is accompanied by an efficacy of 83.3% that is by 3.3-8.3% higher, compared to the dose of proovulin of 5.0 ml and surfagon, while reducing the period from calving to fertilization by 18.9-35.7 days and the fertilization rate - by 0.29-0.45. The restoration of the functional activity of the genital gonads in cows with follicular cysts when using proovulin occurs against the background of the normalization of their hormonal-cytokine profile that is manifested by an increase in progesterone production by 10.0 times, which leads to a decrease in the level of TNF$_{\alpha}$ by 20.1%, as well as the concentration of IL-1β - by 18.9%. ***Keywords****: cows, follicular cysts, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, treatment.*

Введение. Одной из разновидностей дисфункциональных расстройств яичников являются фолликулярные кисты, которые диагностируются при проведении трансректальных и ультразвуковых исследований. Фолликулярные кисты имеют одну или несколько сферических полостей, стенки которых в начале их образования и функционирования представлены гиперпластически изменнной гормонально-активной гранулезой, васкуляризированной и гиперпластически измененной наружной соединительно-тканной оболочкой. Степень распространения фолликулярных кист составляет 4,5-7,7% от числа бесплодных животных [1]. После отела до 15,6% доминантных фолликулов первой волны не подвергаются овуляции, продолжают увеличиваться в размере и трансформируются в кисту яичника [2].

В основе методов восстановления репродуктивной функции у коров с фолликулярными кистами является применение гормональных препаратов. Наибольшее распространение получил способ лечения, предусматривающий использование гонадотропин-рилизинг-гормона (сурфагон, фертагил) с последующим введением на 10-11 день после окончания применения гонадолиберинов препаратов простагландина Ф2$_{\alpha}$ [3, 4]. Существует также метод терапии коров при фолликулярных кистах, основанный на внутривенном введении хорионического гонадотропина (ХГ, хорулон), приводящий к выздоровлению 91,7% и оплодотворению 75,0% животных [5, 6].

Одним из перспективных направлений по нормализации репродуктивной функции животных является использование для этих целей препаратов, содержащих гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, являющийся полипептидным цитокином. ГМ-КСФ - стимулирует рост и дифференцировку гематопоэтических клеток, играет в эмбриональном развитии роль эмбриокина - регуляторных молекул, вырабатываемых яйцеводом и эндометрием в репродуктивном тракте, которые модулируют рост и развитие эмбриона [7, 8].

Поэтому, изучение эффективности применения средств, содержащих в своем составе гм-ксф, для нормализации воспроизводительной функции животных является актуальным и требует всестороннего изучения.

Цель исследований – изучить эффективность применения нового препарата на основе гм-ксф для лечения коров с фолликулярными кистами.

Материалы и методы исследований. Исследования проведены в ООО Агротех-Гарант «Ростошинский» Эртильского района Воронежской области на коровах с фолликулярными кистами. Диагностику фолликулярных кист у коров проводили на основании результатов трансректальных и эхографических исследований. Гинекологические исследования выполнены в соответствии с «Методическим пособием по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота» (Воронеж, 2010), а эхографические – в соответствии с «Методическим пособием по ультразвуковой диагностике беременности и задержки развития эмбриона и плода у коров» (Воронеж, 2013).

Исследования, предусматривающие изучение эффективности овулина при терапии коров с фолликулярными кистами, проведены на 30 животных, разделенных по принципу аналогов на три группы. Коровам первой группы (n=10) с фолликулярными кистами внутримышечно вводили препарат «Проовулин» дважды с интервалом 4 суток в дозе 5 мл, второй (n=10) – проовулин дважды с интервалом 4 суток в дозе 10 мл, третьей (n=10) – сурфагон трехкратно с 24-часовым интервалом в дозе 25 мкг/животное. От 5 коров из каждой группы перед введением препаратов и через 8-9 дней по окончании терапевтического курса отобраны пробы крови для проведения лабораторных исследований. В крови определено содержание: половых стероидов - прогестерона, 17β-эстрадиола, тестостерона, дегидроэпиандростерона-сульфата (ДЭАС), интерлейкинов - ФНО$_{\alpha}$, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, общих иммуноглобулинов, общего белка, общих липидов, глюкозы, малонового диальдегида (МДА), средних молекулярных пептидов (СМП), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), стабильных метаболитов оксида азота (NO_x), фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ), бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК). Содержание половых стероидов в сыворотке крови определено методом ИФА с применением реагентов для иммуноферментного определения (ЗАО «НВО Иммунотех»), уровень интерлейкинов - с использованием видоспецифичных тест-систем ИФА Bovine Elisa Kit Clood-Clone Corp (USA).

Клинический контроль за всеми включенными в опыт животными осуществляли путем учёта проявления стадии возбуждения полового цикла, осеменения, оплодотворения с использованием визуальных, трансректальных пальпаторных и ультразвуковых исследований на выявление функционального состояния яичников, беременности, бесплодия.

Цифровой материал подвергали математической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты исследований. Установлено (таблица 1), что трехкратное введение коровам сурфагона при фолликулярных кистах способствует оплодотворению 80,0% животных в среднем через 148,5±7,5 дней, при коэффициенте оплодотворения, равном 2,34±0,13.

При применении препарата «Проовулин» в дозе 5,0 мл дважды плодотворно осеменили 75,0%, что на 5,0% ниже по сравнению с сурфагоном. Период от отела до оплодотворения у коров этой группы составил 131,7±6,6 дней, что на 16,8 дней короче, чем в группе животных, которым использовали сурфагон, а коэффициент оплодотворения - 2,18±0,11, что меньше соответственно на 0,16.

Таблица 1 - Эффективность применения проовулина для терапии коров с фолликулярными кистами

№ п/п	Группа животных	Кол-во животных	Оплодотворилось, коров/%	Период от отела до оплодотворения, дней	Коэффициент оплодотворения
1	Проовулин, 5 мл дважды	12	9/75,0	131,7±6,6	2,18±0,11
2	Проовулин, 10 мл дважды	12	10/83,3	112,8±7,1**	1,89±0,13*
3	Сурфагон, 25 мкг трижды	10	8/80,0	148,5±7,5	2,34±0,13

*Примечания: *- P<0,05; **- P<0,01 – по сравнению с сурфагоном.*

Наилучший результат получен при терапии коров с фолликулярными кистами путем двукратного введения проовулина в дозе 10,0 мл, сопровождающийся эффективностью 83,3%, что на 3,3-8,3% выше по сравнению с дозой проовулина 5,0 мл и сурфагоном. Период от отела до оплодотворения в этой группе составил 112,8±7,1 дней, что на 18,9-35,7 (P<0,01) дней короче, при сокращении коэффициента оплодотворения на 0,29-0,45 (P<0,05).

Высокая клиническая эффективность двукратного применения проовулина в дозе 10 мл подтверждена результатами лабораторных исследований крови (таблица 2).

Установлено, что после трехкратного введения сурфагона в дозе 25 мкг коровам с фолликулярными кистами отмечена тенденция к снижению уровня общего белка на 4,2%, по сравнению с началом лечения, общих иммуноглобулинов – на 3,5%, циркулирующих иммунных комплексов – на 5,1%, бактерицидной активности сыворотки крови – на 3,8%, фагоцитарного индекса – на 8,5%, фагоцитарного числа – на 7,7%, малонового диальдегида – на 8,4%, ИЛ-1β – на 11,7%, и эстрадиола-17β – в 16,8 раз.

Таблица 2 - Иммуно-биохимические показатели крови коров при лечении коров с фолликулярными кистами яичников

Показатели	Фоновые значения	Проовулин 5 мл дважды	Проовулин 10 мл дважды	Сурфагон 25 мкг трижды
Общий белок, г/л	85,7±4,2	82,7±3,9	80,6±5,1	82,1±4,2
Общие липиды, г/л	4,81±0,33	4,82±0,31	4,88±0,33	4,79±0,29
Глюкоза, мМ/л	2,89±0,11	2,82±0,13	2,76±0,15	2,85±0,11
Общие Jg,	28,6±1,2	27,1±1,5	25,2±1,3	27,6±1,2
ЦИК, г/л	0,59±0,03	0,49±0,02	0,37±0,01***	0,56±0,02
БАСК, %	81,2±5,6	81,8±6,1	84,9±5,7	78,1±7,5
ЛАСК, мкг/мл	1,44±0,10	1,47±0,11	1,58±0,10	1,41±0,09
ФАЛ, %	73,8±4,1	73,1±6,1	75,5±3,5	74,6±6,8
ФИ	7,1±0,29	6,9±0,37	7,3±0,31	6,5±0,42
ФЧ	5,2±0,31	5,0±0,27	5,5±0,19*	4,8±0,13
МДА, мкМ/л	1,79±0,12	1,61±0,09	1,51±0,08	1,64±0,11
NO_x, мкМ/л	23,7±1,5	20,1±1,7	17,9±1,3**	22,4±1,1
СМП, у.е.	1,01±0,09	0,94±0,07	0,70±0,05**	0,97±0,06
Прогестерон, нМоль/л	1,08±0,07	7,5±0,62	10,8±0,44**	8,3±0,49
Эстрадиол-17β, нМоль/л	6,89±0,41	0,37±0,02	0,56±0,02***	0,41±0,02
Тестостерон, нМоль/л	1,89±0,11	1,90±0,09	2,19±0,08	1,92±0,11
ДЭАС, нМоль/л	0,38±0,01	0,41±0,02	0,48±0,02*	0,39±0,01
$ФНО_α$, пг/мл	158,5±11,2	151,4±13,9	134,1±9,3*	167,9±10,1
ИЛ-2, пг/мл	80,7±4,9	74,3±5,5	70,1±6,7	82,1±7,3
ИЛ-1β, пг/мл	25,7±1,3	24,1±2,2	18,4±1,1*	22,7±1,3
ИЛ-4, пг/мл	56,3±3,2	60,9±5,2	69,8±3,4*	55,7±3,2
ИЛ-10, пг/мл	69,8±4,4	72,6±6,8	73,9±5,7	70,4±6,9

*Примечания: * - P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001 – по сравнению с сурфагоном.*

При применении коровам с фолликулярными кистами проовулина дважды в дозе 5,0 мл установлено снижение уровня циркулирующих иммунных комплексов на 16,9%, по сравнению с началом терапевтического курса, средних молекулярных пептидов – на 6,9%, малонового диальдегида – на 10,0%, $ФНО_α$ - на 4,5%, ИЛ-1β – на 6,2%, эстрадиола-17β – в 18,6 раза, при повышении концентрации ИЛ-4 – на 8,2%, дегидроэпиандростерона-сульфата - на 7,9%, прогестерона – в 6,9 раза.

Двукратное введение коровам проовулина в дозе 10 мл с интервалом 4 суток при фолликулярных кистах сопровождается снижением уровня общих иммуноглобулинов на 8,7% по сравнению с применением сурфагона, циркулирующих иммунных комплексов – на 33,9% (P<0,001), средних молекулярных пептидов – на 27,8% (P<0,01), $ФНО_α$ – на 20,1% (P<0,05), ИЛ-1β – на 18,9% (P<0,05), ИЛ-2 – на 14,6%, при повышении лизоцимной активности сыворотки крови на 12,0%, фагоцитарного числа – на 14,6% (P<0,05), тестостерона – на 30,1% (P<0,01), дегидроэпиандростерона сульфата – на 23,1%, ИЛ-4 – на 25,3% (P<0,05).

Кроме того, применение проовулина сопровождается снижением уровня эстрадиола в крови коров в 12,3 раза при одновременном повышении концентрации прогестерона в 10,0 раз, свидетельствующее о нормализации функциональной деятельности яичников.

Высокую терапевтическую эффективность проовулина можно объяснить входящими в его состав действующими веществами: бычий рекомбинантный цитокин 2 из группы колониестимулирующие факторы, витамины А, Д, Е. Бычий рекомбинантный регуляторный многофункциональный цитокин (фармакологическая группа цитокины и иммуномодуляторы, колоние-стимулирующие факторы (КСФ)) в норме продуцируется клетками гранулезы зрелых и овулирующих фолликулов в процессе полового цикла коров. У животных при развитии фолликулярных кист эти процессы тормозятся, в связи с нарушением половой цикличности и процесса овуляции [9]. Кроме того, входящие в проовулин жирорастворимые витамины А, Д и Е стимулируют процессы фолликулогенеза и овуляции.

Гормоны и цитокины очень сильно взаимосвязаны между собой. При введении препарата «Проовулин», содержащего гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, коро-

вам при фолликулярных кистах происходит восстановление функциональной деятельности яичников, проявляющееся повышением выработки прогестерона в 10,0 раз, что приводит к снижению уровня $ФНО_{\alpha}$. на 20,1%;, а также концентрации ИЛ-1β – на 18,9%. Известно, что концентрация ИЛ-1β в крови коров находится в тесной взаимосвязи с содержанием $ФНО_{\alpha}$, который стимулирует его продукцию [10].

Таким образом, наиболее эффективной схемой применения проовулина коровам при фолликулярных кистах яичников является двукратное его введение в дозе 10,0 мл с интервалом 4 дня, сопровождающееся повышением эффективности на 3,3-8,3%, сокращением продолжительности бесплодия на 18,9-35,7 дней, коэффициента оплодотворения - на 0,29-0,45. Восстановление функциональной деятельности половых гонад у коров при фолликулярных кистах происходит на фоне нормализации их гормонально-цитокинового профиля.

Заключение. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что двукратное введение коровам проовулина в дозе 10 мл с интервалом 4 суток при фолликулярных кистах сопровождается оплодотворением 83,3% животных, при сокращении периода от отела до оплодотворения на 18,9-35,7 дней короче и коэффициента оплодотворения - на 0,29-0,45. Клиническое выздоровление коров на фоне применения препарата, содержащего гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, сопровождается восстановлением функциональной деятельности яичников, проявляющееся нормализацией гормонально-цитокинового профиля.

Conclusion. The results of the conducted studies indicate that a twofold administration of proovulin to cows with follicular cysts at a dose of 10 ml with an interval of 4 days is accompanied by the fertilization of 83.3% of animals, with a reduction of the period from calving to fertilization by 18.9-35.7 days and the fertilization rate - by 0.29-0.45. Clinical recovery of cows against the background of the use of the drug containing granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is accompanied by the restoration of the functional activity of the ovaries that is manifested by the normalization of the hormonal-cytokine profile.

Список литературы. *1. Седлецкая, Е. С. Частота распространения и клинико-эхографическая диагностика гипофункции и киста яичников у высокопродуктивных коров / Е. С. Седлецкая, Г. П. Дюльгер // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2012. - № 3. – С. 8-10. 2. Crowe, M. A. Resumption ovarian cyclity in postpartum dairy cows / M. A. Crowe // Reprod. Dom. Anim. – 2008. – Vol. 43 (Suppl. 5). – P. 20-28. 3. Землянкин, В. В. Сравнительная оценка эффективности методов лечения коров с фолликулярными кистами яичников / В. В. Землянкин // Вавиловские чтения 2003: матер. межрегион. науч. конф. молодых учёных и специалистов АПК Приволжского федерального округа. – Саратов, 2003. – С. 9-10. 4. Грига, Э. Н. Лечение коров с кистами яичников / Э.Н. Грига // Вестник ветеринарии. – 1999. – Т. 1. – С. 90-92. 5. Дюльгер, Г. П. Вариабельность овариальных структур и концентрации прогестерона в плазме периферической крови коров при рецидивирующей кистозной болезни яичников / Г. П. Дюльгер, А. Г. Неждянов // Сельскохозяйственная биология. – 2006. – № 6. – С. 62-67. 6. Седлецкая, Е. С. Лечение коров с фолликулярными кистами яичников овулином / Е. С. Седлецкая, Г. П. Дюльгер // Ветеринария. – 2011. - № 5. – С. 40-45. 7. Improving post-transfer survival of bovine embryos produced in vitro: actions of insulin-like growth factor-1, colony stimulating factor-2 and hyaluronan / J. Block [et al] // Theriogenology. – 2011. – Vol. 76 (9). – P. 1602–1609. – doi:10.1016/j.theriogenology.2011.07.025. PMID21890189. 8. Hansen, P. J. Programming of the preimplantation embryo by the embryokine colony stimulating factor 2 / P. J.Hansen, K. D. Dobbs, A. C. Denicol // Animal Reproduction Science. – 2014. – Vol. 149 (1–2). – P. 59–66. – doi:10.1016/j.anireprosci.2014.05.017. PMID24954585. 9. Steroidogenic, metabolic, and immunological markers in dairy cows diagnosed with cystic ovarian follicles at the beginning and middle of late lactation / F.S. Lima [et al.] // Vet Sci. – 2019. – Vol. 26. (6). – P. 324. 10. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle / C.R. Burke [et al] // J. Anim. Sci. – 2000. – Vol. 78. – № 1. – P. 145-151.*

References. *1. Sedleckaya, E. S. CHastota rasprostraneniya i kliniko-ekhograficheskaya diagnostika gipofunkcii i kist yaichnikov u vysokoproduktivnyh korov / E. S. Sedleckaya, G. P. Dyul'ger // Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Sel'skohozyajstvennye zhivotnye. – 2012. - № 3. – S. 8-10. 2. Crowe, M. A. Resumption ovarian cyclity in postpartum dairy cows / M. A. Crowe // Reprod. Dom. Anim. – 2008. – Vol. 43 (Suppl. 5). – P. 20-28. 3. Zemlyankin, V. V. Sravnitel'naya ocenka effektivnosti metodov lecheniya korov s follikulyarnymi kistami yaichnikov / V. V. Zemlyankin // Vavilovskie chteniya 2003: mater. mezhregion. nauch. konf. molodyh uchyonyh i specialistov APK Privolzhskogo federal'nogo okruga. – Saratov, 2003. – S. 9-10. 4. Griga, E. N. Lechenie korov s kistami yaichnikov / E.N. Griga // Vestnik veterinarii. – 1999. – T. 1. – S. 90-92. 5. Dyul'ger, G. P. Variabel'nost' ovarial'nyh struktur i koncentracii progesterona v plazme perifericheskoj krovi korov pri recidiviruyushchej kistoznoj bolezni yaichnikov / G. P. Dyul'ger, A. G. Nezhdyanov // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2006. – № 6. – S. 62-67. 6. Sedleckaya, E. S. Lechenie korov s follikulyarnymi kistami yaichnikov ovulinom / E. S. Sedleckaya, G. P. Dyul'ger // Veterinariya. – 2011. - № 5. – S. 40-45. 7. Improving post-transfer survival of bovine embryos produced in vitro: actions of insulin-like growth factor-1, colony stimulating factor-2 and hyaluronan / J. Block [et al] // Theriogenology. – 2011. – Vol. 76 (9). – R. 1602–1609. – doi:10.1016/j.theriogenology.2011.07.025. PMID21890189. 8. Hansen, P. J. Programming of the preimplantation embryo by the embryokine colony stimulating factor 2 / P. J.Hansen, K. D. Dobbs, A. C. Denicol // Animal Reproduction Science. – 2014. – Vol. 149 (1–2). – R. 59–66. – doi:10.1016/j.anireprosci.2014.05.017. PMID24954585. 9. Steroidogenic, metabolic, and immunological markers in dairy cows diagnosed with cystic ovarian follicles at the beginning and middle of late lactation / F.S. Lima [et al.] // Vet Sci. – 2019. – Vol. 26. (6). – R. 324. 10. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle / C.R. Burke [et al] // J. Anim. Sci. – 2000. – Vol. 78. – № 1. – P. 145-151.*

Поступила в редакцию 01.08.2022.