

Связь уровня антимюллера гормона в сыворотке крови с числом фолликулов и извлеченных ооцитов у лактирующих коров-доноров тагильской породы

Р. Ю. ЧИНАРОВ, В. А. ЛУКАНИНА, О. С. МИТЯШОВА, Г. Н. СИНГИНА, И. Ю. ЛЕБЕДЕВА

Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, п. Дубровицы, 60, г.о. Подольск, Московская обл., 142132, Российская Федерация

Резюме. Использование биомаркеров, ассоциированных с размером популяции фолликулов в яичниках, количеством и качеством ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК), получаемых посредством УЗИ-ассистированной пункции фолликулов (ОПУ) – один из перспективных методов повышения результативности ОПУ у крупного рогатого скота. В качестве одного из потенциальных предикторов размера популяции фолликулов в яичниках коров рассматривают содержание в крови антимюллера гормона (АМГ). Цель исследования – изучение связи содержания АМГ в сыворотке крови с числом фолликулов и полученных ооцитов у лактирующих коров тагильской породы для оценки возможности использования гормона в качестве биомаркера при отборе доноров. В эксперименте участвовали 4 коровы-донора, на каждой из которых было проведено 9 последовательных сеансов ОПУ (всего 36 сеансов). Непосредственно перед каждым сеансом осуществляли отбор крови для исследований. С использованием метода иммуноферментного анализа в сыворотке крови определение концентрации АМГ и половых гормонов: лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), прогестерона (ПГ) и эстрадиола-17β (ЭД). Концентрация АМГ варьировала от 0,539 до 1,637 нг/мл при среднем значении 0,983±0,059 нг/мл. По результатам дисперсионного анализа фактор «животное» обуславливал 74,72 % ($p < 1,12 \cdot 10^{-9}$) изменчивости концентрации АМГ. Значимого влияния сеанса ОПУ на вариабельность содержания АМГ в исследуемой выборке не. Корреляционный анализ выявил достоверные положительные связи содержания АМГ с концентрацией ФСГ ($r_p = 0,480, p < 0,01$; $r_s = 0,569, p < 0,001$) и ЛГ ($r_p = 0,481, p < 0,01$; $r_s = 0,310, p < 0,10$). Отрицательная связь между содержанием АМГ и концентрацией ЭД ($r_p = -0,328, p < 0,10$; $r_s = -0,305, p < 0,10$) носила характер тенденции. Установлена тенденция повышения числа УЗИ-видимых фолликулов по мере увеличения концентрации АМГ в сыворотке крови коров-доноров с $9,20 \pm 1,39$ фолликулов при его низком содержании ($0,562 \pm 0,011$ нг/мл) до $11,67 \pm 1,49$ фолликулов – при высокой концентрации АМГ ($1,509 \pm 0,033$ нг/мл). Ее наблюдали, как на не овуляторном, так и на овуляторном яичниках. Отмечена тенденция к увеличению числа пригодных ОКК при более высоком содержании АМГ, по сравнению с категориями с более низкими концентрациями АМГ. Полученные результаты можно считать перспективными, однако использованию АМГ в качестве потенциального биомаркера для отбора коров тагильской породы для проведения ОПУ должно предшествовать проведение дополнительных исследований на большей выборке.

Ключевые слова: Ovum Pick-Up, тагильская порода коров, ооцит-кумулюсный комплекс (ОКК), биомаркеры, антимюллеров гормон (АМГ).

Сведения об авторах: Р. Ю. Чинаров, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник (e-mail: roman_chinarov@mail.ru); В. А. Луканина, младший научный сотрудник; О. С. Митяшова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; Г. Н. Сингина, кандидат биологических наук, зав. лабораторией; И. Ю. Лебедева, доктор биологических наук, главный научный сотрудник

Для цитирования: Связь уровня антимюллера гормона в сыворотке крови с числом фолликулов и извлеченных ооцитов у лактирующих коров-доноров тагильской породы / Р. Ю. Чинаров, В. А. Луканина, О. С. Митяшова и др. // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 4. С. 51–56. doi: 10.53859/02352451_2024_38_4_51

Association of blood serum content of anti-müllerian hormone with the number of follicles and retrieved oocytes in lactating donor cows of the tagil breed

R. Yu. Chinarov, V. A. Lukanina, O. S. Mityashova, G. N. Singina, I. Yu. Lebedeva

L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, pos. Dubrovitsy, 60, Podol'skii r-n, Moskovskaya obl., 142132, Russian Federation

Abstract. The use of biomarkers associated with the size of the ovarian follicle population, the quantity and quality of cumulus-oocyte complexes (COCs) obtained by ultrasound-assisted follicle puncture (OPU) is one of the promising methods for improving the efficiency of OPU in cattle. The blood content of Anti-Müllerian hormone (AMH) is considered as one of the potential predictors of the size of ovarian follicular population in cows. The aim of our work was to assess the association of serum AMH content with the number of follicles and obtained oocytes in lactating cows of the Tagil breed. The experiment carried out on 4 donor cows, each of them was subjected to the nine consecutive OPU sessions (in total, 36 sessions). Blood samples for the studies were collected directly before each OPU session. Serum concentrations of AMH and reproductive hormones including luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), progesterone (P4) and estradiol-17β (E2) were determined using the enzyme immunoassay. The concentration of AMH varied from 0.539 to 1.637 ng/ml with an average value of 0.983 ± 0.059 ng/ml. Analysis of variance showed that 74.72% ($p < 1.12 \cdot 10^{-9}$) variability in the concentration of AMH was caused by individual. There was no significant effect of the OPU session on the variability of AMH content. Correlation analysis revealed significant positive associations of AMH content with FSH concentration ($r_p = 0.480, p < 0.01$; $r_s = 0.569, p < 0.001$) and LH ($r_p = 0.481, p < 0.01$; $r_s = 0.310, p < 0.10$). At the trend level, a negative association of AMH content with E2 concentration was found ($r_p = -0.328, p < 0.10$; $r_s = -0.305, p < 0.10$). The number of ultrasound-visible follicles tended to increase with the increase of AMH concentration in the blood serum of donor cows from 9.20 ± 1.39 follicles in the category with low AMH levels (0.562 ± 0.011 ng/ml) to 11.67 ± 1.49 follicles in the category with high AMH levels (1.509 ± 0.033 ng/ml). Such trend was observed on both non-ovulatory and ovulatory ovaries. At the trend level, a greater number of suitable COCs were found in categories with higher concentrations of AMH compared to categories with lower concentrations of AMH. The obtained data are encouraging, however, the use of AMH as a potential biomarker for the selection of Tagil cows for OPU should be preceded by additional studies on a larger sample.

Keywords: Ovum Pick-Up, Tagil breed of cattle, cumulus-oocyte complexes, COCs, biomarkers, AMH.

Author Details: R. Yu. Chinarov, Cand. Sc. (Vet.), senior research fellow (e-mail: roman_chinarov@mail.ru); V. A. Lukanina, junior research fellow; O. S. Mityashova, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher; G. N. Singina, Cand. Sc. (Biol.), head of laboratory; I. Yu. Lebedeva, D. Sc. (Biol.), chief research fellow.

For citation: Chinarov RYu, Lukanina VA, Mityashova OS, et al. [Association of blood serum content of anti-müllerian hormone with the number of follicles and retrieved oocytes in lactating donor cows of the Tagil breed]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(4):51–6. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_4_51

Продукция эмбрионов коров *in vitro* (IVP) уже в течение двух десятилетий – традиционная практика в разведении крупного рогатого скота [1, 2]. Результативность использования коров-доноров для получения IVP-эмбрионов напрямую зависит от количества и качества ооцит-кумуляусных комплексов (ОКК), извлекаемых из яичников посредством пункции фолликулов (ОПУ) [2]. Число извлекаемых ОКК, в свою очередь, напрямую зависит от числа УЗИ-видимых антральных фолликулов. Известно, что в процессе полового цикла у коров под влиянием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), в большинстве случаев, наблюдают 2...3 волны роста фолликулов с интервалом 7...10 дней [3]. Число антральных фолликулов между отдельными животными сильно варьирует (от 8 до 54), а у одной и той же особи характеризуется высокой повторяемостью между волнами и циклами [4].

Для увеличения числа фолликулов, пригодных для аспирации посредством ОПУ, используют различные подходы, включая оптимизацию технологических параметров проведения ОПУ и применение гормональной стимуляции [2, 5]. Перспективный подход к прогнозированию пула фолликулов в яичниках у коров-доноров – поиск репродуктивных биомаркеров [6]. В качестве одного из потенциальных биомаркеров рассматривают антимюллеров гормон (АМГ) [7]. Он выполняет две критически важные функции: ингибирует рост фолликулов из пула примордиальных фолликулов яичника, предотвращая, тем самым, преждевременное истощение фолликулярного резерва, и снижает чувствительность к ФСГ преантральных и небольших антральных фолликулов путем ингибирования рецепторов ФСГ, модулируя при этом развитие фолликулов [7]. У крупного рогатого скота уровень АМГ в плазме крови варьирует в течение препубертатного периода, полового цикла и при переходе от стельности к послеродовому периоду. При этом такие изменения отражают, наиболее вероятно, количественные изменения в популяции фолликулов, продуцирующих высокий уровень АМГ [8].

Проводят исследования ассоциаций уровня АМГ с результативностью вспомогательных репродуктивных технологий, включая вымывание эмбрионов после полиовуляции, ОПУ и получение эмбрионов *in vitro*. Так, у японского черного скота выявлена положительная корреляция уровня АМГ в плазме крови с реакцией на полиовуляцию, числом вымытых эмбрионов, и числом эмбрионов, пригодных для трансплантации [9, 10]. Концентрации АМГ в крови голштинских телок, превышающие более 130 нг/мл, были ассоциированы с числом доноров, от которых получили более 15 эмбрионов, пригодных для трансплантации [11]. Установлена положительная связь между уровнем АМГ и выходом ооцитов, полученных посредством ОПУ у голштинского скота [12]. Все эти данные подтверждают перспективы использования концентрации АМГ в качестве биомаркера реакции яичников на полиовуляцию [7].

Дополнительным потенциальным преимуществом использования АМГ в качестве репродуктивного биомаркера можно считать его относительно высокий, по сравнению с большинством репродуктивных показателей, уровень наследуемости. Коэффициент наследуемости АМГ, рассчитанный по родословной, был оценен на уровне $0,43 \pm 0,07$ [13]. В масштабном исследовании, проведенном на около 3 тыс. телок

голштинской породы, генотипированных по SNP-маркерам, коэффициент геномной наследуемости АМГ составил $0,36 \pm 0,03$ [13]. У голштинских коров канадской селекции величина этого показателя составила $0,46 \pm 0,31$ [14].

Относительно стабильные концентрации АМГ в течение полового цикла, что дает возможность проводить забор крови для исследований без учета дня полового цикла, высокая повторяемость между циклами, умеренный уровень наследуемости показателя и его связь с числом антральных фолликулов у ряда пород крупного рогатого скота обуславливают актуальность проведения исследований по оценке уровня АМГ в качестве потенциального предиктора результативности ОПУ у коров-доноров отечественных пород.

Цель исследований – изучение связи содержания АМГ в сыворотке крови с числом фолликулов и полученных ооцитов у лактирующих коров тагильской породы для оценки возможности использования гормона в качестве биомаркера при отборе доноров.

Условия, материалы и методы. Работу проводили на лактирующих коровах-донорах тагильской породы в середине лактации ($n=4$). Для синхронизации полового цикла за 9 суток до планируемого прихода животных в охоту (день 0) с целью инициации новой волны роста антральных фолликулов коровам внутримышечно вводили 0,5 мг гонадолирина – аналог гонадотропного рилизинг-гормона, ГнРГ1 (5 мл Фертагил, Intervet, Нидерланды). Через 7 дней после инъекции ГнРГ1 за 2 дня до прихода в охоту с целью лизиса желтого тела животным внутримышечно инъектировали 0,75 мг клопростенола – синтетического аналога простагландина F $_{2\alpha}$ (3 мл Эстрофан, Bioveta, Чехия). В день 0 коровам выполняли вторую инъекцию 0,25 мг гонадолирина, ГнРГ2 (2,5 мл Фертагила, Intervet, Нидерланды). Начиная с 4-го дня синхронизированного полового цикла, проводили девять последовательных сеансов ОПУ (ОПУ1 – ОПУ9) с периодичностью дважды в неделю (всего 36 сеансов). Для аспирации фолликулов использовали систему для ОПУ у крупного рогатого скота (Minitube, Германия) с ультразвуковым секторным зондом Aloka UST-9111-5, 5 МГц/90°/14 мм. Аспирации подвергали все УЗИ-видимые фолликулы диаметром более 2 мм. Качество полученных ооцит-кумуляусных комплексов (ОКК) оценивали согласно ранее использованной методике [15].

Непосредственно перед проведением ОПУ из хвостовой вены в одноразовые вакуумные пробирки Vacuette (GreinerBio-One, Австрия) с активатором свертывания отбирали пробы крови. Для получения сыворотки пробирки центрифугировали при 6000 об/мин в течение 5 мин. Сыворотку аликвотировали по 0,3 мл и хранили при -20°C . Образцы размораживали непосредственно перед проведением исследований.

Концентрацию гормонов в сыворотке крови коров определяли методом иммуноферментного анализа с конкурентным ингибированием с использованием для АМГ, лютеинизирующего гормона (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) наборов компании Cloud-Clone (KHP), для прогестерона (ПГ) и эстрадиола-17 β (ЭД) – наборов ООО «Хема» (Россия). Чувствительность метода для АМГ составляла 0,025 нг/мл, ФСГ – 0,91 нг/мл, ЛГ – 0,13 нг/мл, ПГ – 0,25 нмоль/л, ЭД – 0,025 нмоль/л. Все анализы были

Таблица 1. Концентрации антимюллерова гормона в сыворотке крови лактирующих коров-доноров тагильской породы при проведении сеансов ОРУ

№ сеанса	День ОРУ*	Интервал, дн	М, нг/мл	-95 % CI	+95 % CI	Cv, %
ОРУ1	4		1,052	0,458	1,645	35,5
ОРУ2	8	4	1,154	0,434	1,873	39,2
ОРУ3	11	3	0,899	0,279	1,519	43,4
ОРУ4	15	4	0,985	0,304	1,665	43,4
ОРУ5	18	3	0,950	0,241	1,660	46,9
ОРУ6	21	4	0,902	0,261	1,543	44,7
ОРУ7	24	3	1,004	0,515	1,493	30,6
ОРУ8	28	4	0,983	0,343	1,623	40,9
ОРУ9	31	3	0,920	0,405	1,435	35,2
В среднем			0,983	0,863	1,103	36,1

день – день проведения ОРУ, по отношению ко дню гормонально индуцированного прихода коров в охоту (день 0); интервал – интервал между сеансами ОРУ, дн.; М – среднее значение; CI – доверительный интервал; Cv – коэффициент вариации, %.

выполнены в двух повторностях, при этом коэффициент вариации не превышал 12 %.

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием MS Excel. Значимость влияния факторов «животное» и «сеанс ОРУ» на изменчивость концентрации АМГ определяли методами однофакторного и двухфакторного (анализ главных эффектов; без взаимодействия) дисперсионного анализа с применением программы STATISTICA 10. Для оценки связей между содержанием АМГ в сыворотке крови и половыми гормонами рассчитывали величины корреляции Пирсона (r_p) и ранговой корреляции Спирмена (r_s). Коэффициенты корреляции считали значимыми при $p < 0,05$, имеющими характер тенденции – при $p < 0,10$.

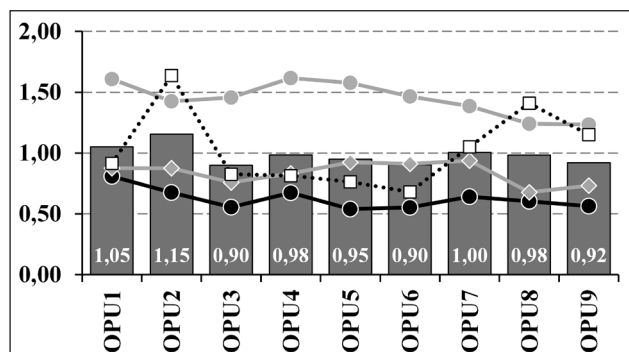


Рис. 1. Динамика содержания АМГ в сыворотке крови лактирующих коров-доноров тагильской породы при проведении девяти последовательных сеансов ОРУ (ось X – номер сеанса ОРУ (ОРУ1 – ОРУ9); ось Y – концентрация АМГ в сыворотке крови коров, нг/мл): ■ – в среднем, —●— Т1, —◆— Т6, —●— 478, —□— 699 (Т1, Т6, 478 и 699 – идентификационные номера животных).

Для определения влияния уровня АМГ на число фолликулов и выход ооцитов все сеансы ОРУ были разделены на 4 категории в зависимости от уровня АМГ в день проведения сеанса ОРУ: I – меньше среднего значения в исследуемой выборке (М) на одно и более стандартное отклонение (σ), или $<(M-\sigma)$, II – от $(M-\sigma)$ до М; III – от М до $(M+\sigma)$; IV – $>(M+\sigma)$. Для каждой категории определяли среднее содержание половых гормонов, число УЗИ-видимых фолликулов на каждом из яичников и общее число фолликулов, число полученных ОКК, степень извлечения ОКК, число и долю пригодных ОКК. Вследствие малого размера выборок для оценки степени достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни (U-критерий) для двух независимых выборок. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для лучшего понимания полученных результатов, наряду

со средними величинами, рассчитывали стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение. Концентрация АМГ в сыворотке крови в исследуемой выборке варьировала от 0,539 до 1,637 нг/мл при средней величине $0,983 \pm 0,059$ нг/мл. У индивидуальных доноров при средней концентрации АМГ, равной 0,623, 0,836, 1,027 и 1,445 нг/мл, отмечали относительно низкий или умеренный уровень изменчивости показателя, рассчитанный для девяти сеансов ОРУ: коэффициенты вариации составляли соответственно 14,0, 11,1, 31,2 и 9,9 %. Вариабельность величины этого показателя в отдельных сеансах ОРУ для выборки составляла 30,6...46,9 % (табл. 1, рис. 1).

Средний уровень АМГ в крови лактирующих коров тагильской породы превышал величину этого показателя у животных других пород скота, при этом лимиты концентрации были сопоставимы с результатами других авторов. Например, содержание АМГ в крови 11...15-месячных голштинских телок, измеренное с интервалом 12 дней, достигало 0,367 и 0,381 нг/мл с вариациями от 0,227 до 0,677 и от 0,234 до 0,645 нг/мл [16]. Уровень АМГ в крови лактирующих кроссбредных голштинских коров, находящихся на 3-м месяце лактации, в условиях содержания на высокогорных пастбищах (более 2500 м.н.у.м.) составлял 0,06 нг/мл [17]. У 12...15-месячных голштинских телок концентрация АМГ варьировала от 0,332 до 0,839 нг/мл при средней величине 0,563 нг/мл [18]. Установленные в нашем исследовании концентрации АМГ у лактирующих коров тагильской породы могут быть обусловлены породными особенностями, физиологическим статусом и технологическими параметрами проведения сеансов ОРУ.

Результаты дисперсионного анализа показали достоверное влияние фактора «животное» на изменчивость концентрации АМГ в крови коров-доноров, он обуславливал 74,72 % ($p < 1,12 \cdot 10^{-9}$) вариабельности величины этого признака. Используемая модель не выявила значимого влияния сеанса ОРУ на изменчивость содержания АМГ в исследуемой выборке (табл. 2). Результаты нашего исследования согласуются с

Таблица 2. Результаты однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа в отношении концентрации АМГ в крови лактирующих коров-доноров тагильской породы

Фактор	R^2 , %*	p
Животное	74,72	$1,12 \cdot 10^{-9}$
Сеанс ОРУ	4,80	n.s.
Животное + сеанс ОРУ	79,52	$7,25 \cdot 10^{-6}$

R^2 – коэффициент детерминации модели, p – уровень значимости; n.s. – не достоверно.

Таблица 3. Связь концентрации АМГ с уровнем половых гормонов в крови коров-доноров тагильской породы при проведении ОРУ

Показатель	Коэффициент корреляции	
	Пирсона (r_p)	Спирмена (r_s)
Прогестерон, нмол/л	-0,009	-0,081
Эстрадиол, нмол/л	-0,328 ¹	-0,305 ¹
ФСГ, нг/мл	0,480**	0,569***
ЛГ, нг/мл	0,481**	0,310 ¹

*** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, ¹ $p < 0,10$, n.s. – не достоверно.

данными других авторов, указывающими на высокие различия между особями и относительную стабильность концентрации АМГ у одного и того же животного в течение полового цикла [7, 19].

Результаты корреляционного анализа выявили достоверные положительные связи уровня АМГ в крови коров-доноров с уровнем ФСГ ($r_p = 0,480$, $p < 0,01$; $r_s = 0,569$, $p < 0,001$) и ЛГ ($r_p = 0,481$, $p < 0,01$; $r_s = 0,310$, $p < 0,10$). В категории IV с наиболее высоким уровнем АМГ в крови был отмечен достоверно ($p < 0,01$) более высокий уровень ФСГ и ЛГ, по сравнению с категорией I (табл. 3, 4). На уровне тенденции обнаружена отрицательная связь концентрации АМГ с уровнем эстрадиола ($r_p = -0,328$, $p < 0,10$; $r_s = -0,305$, $p < 0,10$), при этом различия между категориями I и IV по содержанию эстрадиола были достоверны ($p < 0,01$).

Многие авторы в своих работах отмечают различный характер связи уровней ФСГ и АМГ, включая отсутствие эффекта, ингибирующее или стимули-

Таблица 4. Содержание половых гормонов в группах с различным уровнем АМГ в крови у лактирующих коров-доноров тагильской породы

Показатель	Категория ($M \pm m$)			
	I (n=5)	II (n=18)	III (n=4)	IV (n=9)
Лимиты АМГ, нг/мл	0,539...0,603	0,641...0,938	1,052...1,241	1,385...1,637
АМГ, нг/мл	0,562 $\pm$ 0,011	0,796 $\pm$ 0,023	1,170 $\pm$ 0,044	1,509 $\pm$ 0,033
ПГ, нмол/л	2,524 $\pm$ 1,179	6,118 $\pm$ 1,099 ^a	1,121 $\pm$ 0,050 ^{a,b}	4,076 $\pm$ 1,156 ^b
ЭД, нмол/л	0,282 $\pm$ 0,017 ^a	0,259 $\pm$ 0,018	0,217 $\pm$ 0,026	0,233 $\pm$ 0,010 ^a
ФСГ, нг/мл	23,538 $\pm$ 1,067 ^a	21,867 $\pm$ 0,435 ^{b,c}	25,098 $\pm$ 0,254 ^b	26,117 $\pm$ 0,788 ^{a,c}
ЛГ, нг/мл	2,220 $\pm$ 0,190 ^{a,b,d}	3,862 $\pm$ 0,456 ^{a,e}	5,160 $\pm$ 1,467 ^d	4,624 $\pm$ 0,453 ^{b,e}

p – достоверность разницы между группами по результатам расчета непараметрического критерия Манна-Уитни (между группами, маркированными одинаковыми надстрочными буквами): ^{a,b,c} $p < 0,01$, ^{d,e} $p < 0,05$.

рующее действие [8, 19, 20]. В нашем исследовании повышенному уровню АМГ у лактирующих коров-доноров тагильской породы сопутствовал повышенный уровень ФСГ и пониженный уровень эстрадиола-17 β . Как известно, максимальный вклад в содержание АМГ в крови вносят малые антральные фолликулы [8], которые продуцируют меньше эстрадиола, чем средние или большие. Если более высокая концентрация АМГ в крови коров достигнута благодаря малым антральным фолликулам, то это может привести к более низкой концентрации эстрадиола, ингибирующего продукцию ФСГ гипофизом и, следовательно, к более высокой концентрации последнего в кровеносной системе.

В результате исследований была выявлена тенденция повышения числа УЗИ-видимых фолликулов с увеличением концентрации АМГ в крови коров-до-

Таблица 5. Результативность ОРУ в зависимости от уровня АМГ в сыворотке крови лактирующих коров тагильской породы*

Показатель	Категория ($M \pm m$)			
	I (n=5)	II (n=18)	III (n=4)	IV (n=9)
АМГ, нг/мл	0,562 $\pm$ 0,011	0,796 $\pm$ 0,023	1,170 $\pm$ 0,044	1,509 $\pm$ 0,033
Общее число ОКК, п	5,80 $\pm$ 0,86	4,17 $\pm$ 0,58	4,75 $\pm$ 1,32	5,44 $\pm$ 0,90
Степень извлечения ОКК, %	65,91 $\pm$ 21,59	46,88 $\pm$ 9,43	44,19 $\pm$ 24,83	46,67 $\pm$ 16,63
Число пригодных ОКК, п	3,20 $\pm$ 0,92	3,28 $\pm$ 0,50	4,25 $\pm$ 1,18	3,67 $\pm$ 0,62
Доля пригодных ОКК, %	55,17 $\pm$ 22,24	78,67 $\pm$ 7,74	89,47 $\pm$ 15,34	67,35 $\pm$ 15,63

*различия между группами не достоверны (по результатам расчета непараметрического критерия Манна-Уитни).

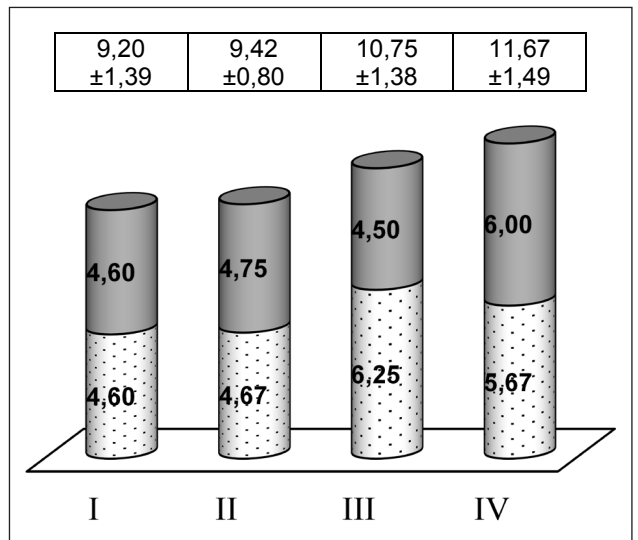


Рис. 2. Число УЗИ-видимых фолликулов у лактирующих коров тагильской породы с различным уровнем АМГ в крови (Н.Я. – неовуляторный яичник, О.Я. – овуляторный яичник; общее число фолликулов ($M \pm m$) в исследуемых категориях показано над соответствующими столбиками диаграммы): ■ – число фолликулов (О.Я.), □ – число фолликулов (Н.Я.).

норов тагильской породы с 9,20 $\pm$ 1,39 шт. в категории I до 11,67 $\pm$ 1,49 шт. – в категории IV. Такую картину наблюдали, как на неовуляторном, так и на овуляторном яичниках.

животных с низким содержанием АМГ ($14,08 \pm 2,68$, $p < 0,001$). Причем между величинами этих двух показателей была выявлена сильная положительная линейная корреляция ($r = 0,783$, $r = 0,613$, $p < 0,0001$) [17]. Тенденцию к наличию большего числа фолликулов в яичниках при повышенном уровне АМГ отмечали у телок голштинской породы [18].

Наибольшее число ОКК отмечали в категории I (табл. 5), однако такое превосходство было обусловлено более высокой степенью извлечения ооцитов (65,91 %), по сравнению с другими категориями (44,19...46,88 %). Однако наименьшая доля пригодных ОКК, выявленная в категории I, приводила к наименьшему числу пригодных ОКК в этой категории. Хотя достоверных различий между числом пригодных ОКК не наблюдали, на уровне тенденции можно отметить большее число пригодных ОКК в категориях с более высокими концентрациями АМГ (категории III и IV), по сравнению с категориями с более низкими концентрациями АМГ (категории I и II). Такие данные согласуются с результатами исследований, проведенных на голштинском скоте, в которых была установлена положительная связь между концентрацией АМГ и выходом ооцитов [12].

Выводы. Определена высокая изменчивость содержания антимюллерова гормона между отдельными лактирующими коровами-донорами тагильской породы (30,6...46,9 %) при меньшей вариабельности величины этого показателя у одних и тех же доноров при проведении последовательных сеансов ОРУ (9,9...31,2 %). Корреляционный анализ выявил достоверные положительные связи уровня АМГ в крови коров-доноров с уровнем ФСГ и ЛГ. На уровне тенден-

ции обнаружена отрицательная связь концентрации АМГ с уровнем эстрадиола. Установлена тенденция повышения числа УЗИ-видимых фолликулов с увеличением концентрации АМГ в крови коров-доноров с 9,20...9,42 фолликулов в категориях I и II с низкой концентрацией АМГ до 10,75...11,67 фолликулов – в категориях III и IV с высокой концентрацией АМГ. В категориях III и IV отмечена тенденция к получению большего числа пригодных ОКК (4,25 и 3,67 ОКК), по сравнению с I и II (3,20 и 3,28 ОКК). Результаты исследования можно считать перспективными, однако для использования АМГ в качестве потенциального биомаркера для отбора коров тагильской породы для прижизненного получения ооцитов необходимо подтверждение выявленных различий на большей выборке.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования выполнены при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема FGGN-2024-0014, № госрегистрации 124020200127-7).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других целях (ETS №123, 1986). Протоколы с использованием животных были одобрены Комиссией ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста по биоэтике, протокол № 1 от «15» января 2024 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Литература.

1. Зиновьева Н. А., Позябин С. В., Чинаров Р. Ю. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве (обзор) // *Сельскохозяйственная биология*. 2020. Т. 55. № 2. С. 225–242. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225rus.
2. Чинаров Р. Ю., Луканина В. А. Производство эмбрионов крупного рогатого скота с использованием прижизненно получаемых ооцитов: мировые тренды и перспективы (обзор) // *Достижения науки и техники АПК*. 2023. Т. 37. № 9. С. 31–38. doi: 10.53859/02352451_2023_37_9_31.
3. Гавриченко Н. И., Левченко А. А. Особенности фолликулярного роста в течение полового цикла у коров с синдромом повторения половой охоты // *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2021. Т. 57. № 1. С. 13–16. doi: 10.52368/2078-0109-57-1-13-16.
4. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations / D. S. Burns, F. Jimenez-Krassel, J. L. H. Ireland, et al. // *Biol. Reprod.* 2005. Vol. 73. P. 54–62.
5. Чинаров Р. Ю., Луканина В. А., Сингина Г. Н. Результативность прижизненного получения ооцитов у коров тагильской породы // *Ветеринария и кормление*. 2024. № 1. С. 89–94. doi: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-1-19.
6. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval in cattle: State-of-the-art and its impact on the in vitro fertilization embryo production outcome / L. B. Ferre, H. Alvarez-Gallardo, S. Romo, et al. // *Reproduction in Domestic Animals*. 2023. Vol. 58. No. 3. P. 363–378.
7. AMH: Could it be used as a biomarker for fertility and superovulation in domestic animals? / S. Umer, S. J. Zhao, A. Sammad, et al. // *Genes*. 2019. Vol. 1. Article 1009. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4425/10/12/1009> (дата обращения: 05.02.2024). doi: 10.3390/genes10121009.
8. Regulation of anti-Mullerian hormone production in domestic animals / D. Monniaux, L. Drouilhet, C. Rico, et al. // *Reprod. Fertil. Dev.* 2012. Vol. 25. P. 1–16. URL: <https://www.publish.csiro.au/RD/RD12270> (дата обращения: 12.02.2024).
9. Relationship between plasma anti-Mullerian hormone concentrations during the rearing period and subsequent embryo productivity in Japanese black cattle / H. Nabenishi, G. Kitahara, S. Takagi, et al. // *Domest. Anim. Endocrinol.* 2017. Vol. 60. P. 19–24.
10. Effects of genetic background on responses to superovulation in Japanese Black cattle / H. Hirayama, A. Naito, T. Fujii, et al. // *J. Vet. Med. Sci.* 2019. Vol. 81. P. 373–378.
11. Anti-Mullerian hormone and its utility in cattle reproduction / G. Jazmin, M. Gustavo, A. Dominguez, et al. // *Open Journal of Veterinary Medicine*. 2023. Vol. 13. P. 1–11. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.14222> (дата обращения: 12.02.2024). doi: 10.4236/ojvm.2023.131001.
12. Anti-Muellerian hormone levels in plasma of Holstein-Friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes / A. Vernunft, M. Schwerhoff, T. Viergutz, et al. // *Reprod. Dev.* 2015. Vol. 61. P. 74–79.
13. Genomic heritability and genome-wide association analysis of anti-Mullerian hormone in Holstein dairy heifers / M. Y. Nawaz, F. Jimenez-Krassel, J. P. Steibel, et al. // *J. Dairy Sci.* 2018. Vol. 101. P. 8063–8075.
14. The relationship between serum anti-Mullerian hormone concentrations and fertility, and genome-wide associations for anti-Mullerian hormone in Holstein cows / M. Gobikrushanth, D. C. Purfield, M. G. Colazo, et al. // *J. Dairy Sci.* 2018. Vol. 101. P. 7563–7574.

15. Сингина Г. Н., Чинаров Р. Ю., Луканина В. А. Влияние количества повторяющихся процедур ОПУ на эффективность получения *in vitro* эмбрионов ярославской породы крупного рогатого скота // Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. № 11. С. 59–64. doi: 10.53859/02352451_2023_37_11_59.
16. Anti-Mullerian hormone: A novel biomarker for detecting bovine freemartinism / D. Koca, Y. Nak, S. Sendag, et al. // *Reprod. Domest. Anim.* 2024. Vol. 59. No. 2. Article e14542. URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/58/1/58_11-101T/article (дата обращения: 09.02.2024). doi: 10.1111/rda.14542.
17. Relationship between the concentration of anti-Mullerian hormone and antral follicle count in pasture-managed Holstein cows in the high tropics / L. Ayala Guanga, S. Astiz, J. Dutan Sanango, et al. // *J Dairy Res.* 2022. Vol. 22. P. 1–5. URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-dairy-research/article/relationship-between-the-concentration-of-antimullerian-hormone-and-antral-follicle-count-in-pasturemanaged-holstein-cows-in-the-high-tropics/6A0D9DEBA9CCDE927E7AAF52CB681E0E> (дата обращения: 11.02.2024). doi: 10.1017/S0022029922000140.
18. The effect of Anti-Mullerian hormone on yield of oocytes recovered by ovum pick-up (OPU) in heifers. *Journal of Advances in VetBio* / S. A. Cizmeci, D. A. Dinc, M. N. Bucak, et al. // *Science and Techniques.* 2022. Vol. 7. No. 2. P. 161–168. doi: 10.31797/vetbio.1106019.
19. Mossa F., Ireland J. J. Physiology and endocrinology symposium: Anti-Mullerian hormone: A biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows // *J. Anim. Sci.* 2019. Vol. 97. P. 1446–1455.
20. Relationships between the antral follicle count, steroidogenesis, and secretion of follicle-stimulating hormone and anti-Mullerian hormone during follicular growth in cattle / K. Sakaguchi, Y. Yanagawa, K. Yoshioka, et al. // *Reprod Biol Endocrinol.* 2019. Vol. 17. No. 1. Article 88. URL: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-019-0534-3> (дата обращения: 11.02.2024). doi: 10.1186/s12958-019-0534-3.

References.

1. Zinov'eva NA, Pozyabin SV, Chinarov RYu. [Assisted reproductive technologies: History of formation and the role in the development of genetic technologies in cattle breeding (review)]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya.* 2020;55(2):225-42. Russian. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225rus.
2. Chinarov RYu, Lukanina VA. [Production of cattle embryos using intravital oocytes: Global trends and prospects (review)]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2023;37(9):31-8. Russian. doi: 10.53859/02352451_2023_37_9_31.
3. Gavrichenko NI, Levchenko AA. [Features of follicular growth during the sexual cycle in cows with recurrent oestrus syndrome]. *Uchenye zapiski UO VGAVM.* 2021;57(1):13-6. Russian. doi: 10.52368/2078-0109-57-1-13-16.
4. Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, et al. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: Evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol. Reprod.* 2005;73:54-62.
5. Chinarov RYu, Lukanina VA, Singina GN. [Efficiency of intravital oocyte retrieval from Tagil breed cows]. *Veterinariya i kormlenie.* 2024;(1):89-94. Russian. doi: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-1-19.
6. Ferre L B, Alvarez-Gallardo H, Romo S, et al. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval in cattle: State-of-the-art and its impact on the *in vitro* fertilization embryo production outcome. *Reproduction in Domestic Animals.* 2023;58(3):363-78.
7. Umer S, Zhao SJ, Sammad A, et al. AMH: Could it be used as a biomarker for fertility and superovulation in domestic animals? *Genes [Internet].* 2019 [cited 2024 Feb 5];1: Article 1009. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/10/12/1009>. doi: 10.3390/genes10121009.
8. Monniaux D, Drouilhet L, Rico C, et al. Regulation of anti-Mullerian hormone production in domestic animals. *Reprod. Fertil. Dev [Internet].* 2012 [cited 2024 Feb 12];25:1-16. Available from: <https://www.publish.csiro.au/RD/RD12270>.
9. Nabenishi H, Kitahara G, Takagi S, et al. Relationship between plasma anti-Mullerian hormone concentrations during the rearing period and subsequent embryo productivity in Japanese black cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2017;60:19-24.
10. Hirayama H, Naito A, Fujii T, et al. Effects of genetic background on responses to superovulation in Japanese Black cattle. *J. Vet. Med. Sci.* 2019;81:373-8.
11. Jazmin G, Gustavo M, Dominguez A, et al. Anti-Mullerian hormone and its utility in cattle reproduction. *Open Journal of Veterinary Medicine [Internet].* 2023 [cited 2024 Feb 12];13:1-11. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.14222>. doi: 10.4236/ojvm.2023.131001.
12. Vernunft A, Schwerhoff M, Viergutz T, et al. Anti-Muellerian hormone levels in plasma of Holstein-Friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes. *Reprod. Dev.* 2015;61:74-9.
13. Nawaz MY, Jimenez-Krassel F, Steibel JP, et al. Genomic heritability and genome-wide association analysis of anti-Mullerian hormone in Holstein dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 2018;101:8063-75.
14. Gobikrushanth M, Purfield DC, Colazo MG, et al. The relationship between serum anti-Mullerian hormone concentrations and fertility, and genome-wide associations for anti-Mullerian hormone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2018;101:7563-74.
15. Singina GN, Chinarov RYu, Lukanina VA. [Influence of the number of repeated OPU procedures on the efficiency of *in vitro* production of embryos of the Yaroslavl breed of cattle]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK.* 2023;37(11):59-64. Russian. doi: 10.53859/02352451_2023_37_11_59.
16. Koca D, Nak Y, Sendag S, et al. Anti-Mullerian hormone: A novel biomarker for detecting bovine freemartinism. *Reprod. Domest. Anim [Internet].* 2024 [cited 2024 Feb 9];59(2): Article e14542. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/58/1/58_11-101T/article. doi: 10.1111/rda.14542.
17. Ayala Guanga L, Astiz S, Dutan Sanango J, et al. Relationship between the concentration of anti-Mullerian hormone and antral follicle count in pasture-managed Holstein cows in the high tropics. *J Dairy Res [Internet].* 2022 [cited 2024 Feb 11];22:1-5. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-dairy-research/article/relationship-between-the-concentration-of-antimullerian-hormone-and-antral-follicle-count-in-pasturemanaged-holstein-cows-in-the-high-tropics/6A0D9DEBA9CCDE927E7AAF52CB681E0E>. doi: 10.1017/S0022029922000140.
18. Cizmeci SA, Dinc DA, Bucak MN, et al. The effect of Anti-Mullerian hormone on yield of oocytes recovered by ovum pick-up (OPU) in heifers. *Journal of Advances in VetBio. Science and Techniques.* 2022;7(2):161-8. doi: 10.31797/vetbio.1106019.
19. Mossa F, Ireland JJ. Physiology and endocrinology symposium: Anti-Mullerian hormone: A biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 2019;97:1446-55.
20. Sakaguchi K, Yanagawa Y, Yoshioka K, et al. Relationships between the antral follicle count, steroidogenesis, and secretion of follicle-stimulating hormone and anti-Mullerian hormone during follicular growth in cattle. *Reprod Biol Endocrinol [Internet].* 2019 [cited 2024 Feb 11];17(1): Article 88. Available from: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-019-0534-3>. doi: 10.1186/s12958-019-0534-3.

Поступила в редакцию 05.03.2024; После доработки 21.03.2024; Принята к публикации 09.04.2024