

УДК 636.2.032.082.453:615.256.51

DOI: 0.25687/1996-6733.prodanimbior.2021.1.55-64

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НЕСТЕРОИДНЫХ
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ
ЭМБРИОНАЛЬНОЙ СМЕРТНОСТИ У КОРОВ**

Степашин С.Н.

*Рязанский государственный агротехнологический университет
им. П. А. Костычева, Рязань, Российская Федерация*

Цель работы – выявление динамики содержания в крови прогестерона (P4) и хорионического гонадотропина (HCG) в ранний период гестации и оценка эффективности применения нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) для профилактики эмбриональной смертности у коров. У 180 коров голштинской породы 3-7-летнего возраста на 17-е и 28-е сутки после искусственного осеменения определяли содержание P4 и HCG и методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем ИммуноФа-ПГ и ИммуноФа-β-ХГЧ (Россия) соответственно. Чувствительность анализа P4 – 0,4 нМ и HCG – 0,5 МЕ/л. О наличии или отсутствии эмбриона в матке судили по концентрации P4 и HCG в сыворотке крови на 17-е и 28-е сутки и на основании двукратного ультразвукового исследования (УЗИ) на 30-е и 60-е сутки. В качестве НПВП использовали препараты «Метакам» и «Нековаль», которые отличаются селективностью действия в отношении циклооксигеназ разного типа. Препараты вводили двум группам коров (I и II, n = 60) парентерально однократно на 15-е сутки после осеменения (III группа – контрольная). В период 17-28 суток формирования эмбриона концентрация P4 в сыворотке крови в опытных группах была выше в сравнении с контролем в два раза (на 1,8 нМ, P<0,05), а концентрация и HCG к 28-му дню – на 0,7 МЕ/л (P<0,05). Это даёт основание заключить, что гипопрогестеронемия была одной из причин ранней эмбриональной смертности в контрольной группе коров. Восполнение дефицита прогестерона у высокопродуктивных животных обеспечило повышение у них сохранности беременности в среднем на 6,25% (выявлено по второму тесту, P<0,001). Сделано заключение о патогенетической значимости простагландинов в нарушении эмбрионального развития и целесообразности использования селективных ингибиторов синтеза простагландина на 15-й день после искусственного осеменения.

Ключевые слова: коровы, простагландин F2α, прогестерон, эмбриональная смертность, нестероидные противовоспалительные препараты, эффективность искусственного осеменения

Проблемы биологии продуктивных животных, 2021, 1: 55-64

Введение

Изыскание эффективных способов снижения эмбриональной смертности у коров невозможно без учёта достижений современной науки в области гуморального контроля формирования и развития беременности, заложивших основы фундаментальных принципов мировой репродукции крупного рогатого скота. Однако до сих пор нет единого мнения о факторах, влияющих на раннюю гибель эмбрионов, а полученные данные носят противоречивый характер. С одной стороны, ведущая роль приписывается факторам внешней среды и их влиянию на проявление воспроизводительной функции, и в этой связи ведутся исследования регуляции компенсаторно-приспособительных реакций сельскохозяйственных животных (Коровушкин, 2004; Нефедова и др., 2012). В других исследованиях изыскивают пути повышения репродуктивной деятельности высокопродуктивных коров через гормональный контроль, изучают воспроизводительную функцию при различных нарушениях обмена веществ, описывают способы её коррекции (Нежданов, 2007; Племяшов 2010).

На большом фактическом материале, в том числе с использованием непрямых методов ранней диагностики беременности (пробы на прогестерон), показано, что частота ранней эмбриональной и поздней антенальной смертности у голштинских пород достигает 31,6 и 14,7% соответственно (Янчуков и др., 2011). Снижение эмбриональных потерь отмечено при экзогенном введении прогестерона, при этом в опытах установлено влияние концентрации прогестогенного гормона на формирование оптимальных взаимоотношений матери и плода (Melendez et al., 2006). Прогестерон не только непосредственно связан с развитием эмбриона, но и косвенно модулирует развитие эмбриона через изменение буферной среды яйцевода. Исследователями зафиксирована отрицательная связь между уровнем прогестерона и инсулина в плазме крови, однако у коров с эмбрионом концентрация глюкозы в яйцевом фолликуле ниже, чем у коров без эмбриона. При этом установлено, что эмбрионы коров с повышенной концентрацией прогестерона демонстрируют более активное развитие уже на пятый день после овуляции (Green et al., 2005).

Увеличить секрецию прогестерона после оплодотворения в эмбриональный период удалось, применяя синтетический релизинг-гормон (GnRH), при этом показатель частоты наступления беременности был выше в опытной группе (Serry et al., 2006). Механизм действия GnRH заключается в стимулировании клеток-гонатропов, на мембранах которых находятся рецепторы, имеющие низкое молекулярное сродство к люлиберину, к секреции двух гормонов — фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ). ФСГ необходим для роста и развития фолликулов; он регулирует синтез овариальных эстрогенов, связываясь со своими рецепторами на поверхности гранулёзных клеток. Это приводит к повышению уровня цАМФ и индукции ароматазы, которая превращает андростендион соседних текальных клеток в эстрон. ФСГ также запускает экспрессию 17-βHSDH 1-го типа, которая конвертирует эстрон в эстрадиол (Patel et al. 2013). Нарастание концентрации эстрадиола по принципу обратной связи улавливается рецепторными клетками гипоталамуса, что провоцирует выброс ЛГ и овуляцию (Sá Filho et al., 2017). В схожем опыте выявлено, что вероятность наступления беременности была в 0,8 раза меньше у коров, не обработанных GnRH (Lopez-Gatius et al., 2006).

Имеются сообщения о получении противоречивых экспериментальных данных (Franco et al., 2006a,b). Так в первой серии опытов коровы, получавшие гонадорелин, имели более высокую оплодотворяемость (20,3 против 12,7%). Обратный результат получен во второй и третьей сериях опытов. На заключительном этапе показатели беременности составили 25,6% (32/125) у коров в контрольной группе, 20,7% (19/92) у коров, получавших гонадорелин на 14-й день, и 20,3% (16/79) у коров, получавших релизинг-гормон на 15-й день. Данный факт говорит о том, что этиология эмбриональной смертности гораздо сложнее и зависит от большого числа причин.

Установлено, что более высоким стероидогенным потенциалом обладают жёлтые тела яичников у высокопродуктивных коров после введения хорионического гормона человека (Chagas et al., 2008). Это объясняется тем, что хорионический гормон значительно превосходит лютеинизирующую активность «обычного» лютеинизирующего гормона аденогипофиза. Механизм его действия сводится к повышению обменных процессов в интерстициальной ткани яичника, потенцирующих действие на большие лютеиновые клетки за счёт интенсивного превращения холестерина в прегненолон — предшественник (промежуточный участник метаболического пути) 17-ОН-прегненолона, 17-ОН-прогестерона и прогестерона (O'Brien et al., 2013).

Выявленная взаимосвязь между уровнем прогестерона и количеством функционально активных жёлтых тел свидетельствует о влиянии уровня прогестерона на вероятность потери беременности. Так у коров с одним жёлтым телом концентрация прогестерона была на уровне 0,51 нМ, а у коров с двумя или тремя жёлтыми телами она была выше в 3 раза (Bech-Sabat et al., 2009).

В зарубежных публикациях сообщается об использовании у молочных коров в период после осеменения нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Метод основывается на способности НПВП ингибировать циклооксигеназы, превращающие арахидоновую кислоту в простагландины, при этом у коров с задержкой развития эмбриона и/или выработкой недостаточного количества интерферона-τ (INFT) может быть запущен каскад реакций по преждевременному синтезу простагландина F_{2α} (PGF_{2α}) (Shabunin et al., 2019). INFT синтезируется

монойдерными трофобластными клетками эмбриона с первых дней nidации, достигая максимального содержания в этот период, что обеспечивает принятие зародыша материнским организмом (Demmers et al., 2001; Forde et al., 2017; Hansen et al., 2017). Механизм антилютеолитического действия INFT заключается в блокировании рецепторов окситоцина и эстрогена в эндометрии и ингибировании продукции $\text{PGF2}\alpha$. Более того, синтез INFT приводит к сайленсингу лютеолитических генов, экспрессирующих $\text{PGF2}\alpha$ в самом жёлтом теле (Zhao et al., 2018).

Показано также (Basavaraja et al., 2017), что INFT стимулирует экспрессию иРНК интерлейкина IL-8 в лютеиновой ткани, запускает миграцию в неё нейтрофилов и повышает тем самым секрецию прогестерона (Shirasuna et al., 2015). Непосредственное влияние INFT оказывает на синтез других цитокинов (INF- γ , IL-2, IL-4) (Tuo et al., 1999; Chon et al., 2010; Kohara et al., 2012), обладает противовирусным действием и служит одним из посредников индукции противовоспалительной реакции в матке коров. Реакция на присутствие эмбриона в материнском организме проявляется уже в первые 4 дня его жизни в матке (Talukder et al., 2018; Rashid et al., 2018).

Есть сведения об улучшении оплодотворяемости у тёлочек после парентерального введения флуниксимеглумина на 16-й день после осеменения (Guzeloglu et al., 2007; Merrill et al., 2007), а при его введении коровам на 11-16-й день после осеменения не выявлено повышения процента оплодотворяемости (Lucasí, 2008).

Поэтому для эффективного применения фармакологических средств гормонального контроля необходимы знания о механизмах физиологических процессов на каждом этапе эстрального цикла.

В зависимости от функциональной активности жёлтого тела, половой цикл коров подразделяется на три периода. В норме у крупного рогатого скота общая продолжительность цикла составляет 21 день (варьирует от 18 до 23). Нулевой день характеризуется стадией эструса и овуляцией, в это время на яичниках отсутствует жёлтое тело. С 1-го по 5-й день – это период формирования жёлтого тела. На данном этапе поверхность больших и малых лютеиновых клеток лишена рецепторов, чувствительных к простагландинам. С 6-го по 16-й день – период функционально активного жёлтого тела.

С 17-го по 20-й день – период регрессирующего жёлтого тела. К 17-му дню повышается инкреторная активность эндометрия матки, вырабатывающего простагландин $\text{F2}\alpha$ (Weems et al., 2006). Данное явление всё чаще наблюдается в молочных стадах у высокопродуктивных коров с наступившей беременностью и может достигать 10-15% и более (Чомаев, 2005). Связано это, прежде всего, с недостаточной функциональной активностью жёлтого тела беременности, а также с нарушением механизма обратной связи за счет формирования доминанты лактации.

Схожие результаты получили учёные из Ноттингемского университета (Великобритания), подтвердив, что образование функционирующего жёлтого тела и подъём уровня прогестерона после овуляции имеют критическое значение для развития эмбриона. При этом периферийная концентрация прогестерона начинает увеличиваться на четвёртый день после овуляции и достигает максимального уровня к 8-10-му дню (Robinson et al., 2008). Однако давно установлено, что между оплодотворяемостью и уровнем молочной продуктивности у высокоудойных коров имеется отрицательная взаимосвязь (Lopez et al., 2005); это указывает на то, что у высокоудойных коров снижена концентрация прогестерона по сравнению с низкоудойными. Выдвинуто предположение, согласно которому более высокий уровень метаболизма у высокоудойных особей повышает темп распада прогестерона (Wiltbank et al., 2006), в результате этого происходит отставание эмбриона в развитии, замедление процессов nidации и формирования сосудистой оболочки, прерывается беременность. При этом животное может проявлять ложные признаки охоты.

Целью исследования было изучение динамики содержания в крови у коров Р4 и HCG в ранний период гестации и оценка эффективности применения НПВП в качестве средства профилактики эмбриональных потерь и повышения эффективности осеменения.

Материал и методы

Эксперимент был выполнен в трёхкратной повторности в условиях роботизированного молочного комплекса ООО «Вакинское Агро» Рыбновского района Рязанской области. Были отобраны коровы голштинской породы, второй лактации и старше, живой массой 600-650 кг, со среднегодовой молочной продуктивностью 9,0-9,6 тыс. кг, в период 105-150 дней лактации оставшиеся яловыми. Формирование трёх групп (I, II – опытные и III – контроль, $n = 60$) проводили с использованием метода сбалансированных групп-аналогов. Кормление животных осуществлялось по нормам ВНИИ животноводства (Хохрин, 2006).

Осеменение животных проводили фронтально, в установленное время, за одну охоту однократно, искусственно, замороженно-оттаянной спермой в дозе 0,25 мл, содержащей 15 млн. спермиев с активным поступательным движением, ректо-цервикальным способом с использованием системы фиксации «Head Lock» (Россия).

Содержание P4 и HCG в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы с набором реагентов ИммуноФа-ППГ и ИммуноФА-β-ХГЧ («Иммунотех», Россия) на 17-е и 28-е сутки после искусственного осеменения криоконсервированной спермой. Кровь получали из хвостовой вены. Чувствительность анализа содержания P4 – 0,4 нМ, HCG – 0,5 МЕ/л. О наличии или отсутствии эмбриона в матке судили по концентрации в сыворотке крови P4 и HCG на 17-е и 28-е сутки и на основании двукратного УЗИ на 30-е и 60-е сутки.

Для проведения УЗИ использовали ультразвуковой сканер Easi-Scan-3 («BCF Technology», Великобритания) с линейным зондом 7,5 МГц.

Половой статус коров опытных и контрольной групп был синхронизирован с использованием протокола Ov-Synch (США). В I группе на 15-й день после искусственного осеменения был введен парентерально кетопрофен 10% («Нековаль», Россия), а во II – мелоксикам 2% («Метакам», Германия) в качестве ингибиторов синтеза простагландинов. В III группе (контроль) эти препараты не применялись. Принципиальным отличием данных препаратов является селективность действия по отношению к типу циклооксигеназ. Обработку животных по предложенным схемам проводили в каждой группе однократно.

Результаты и обсуждение

После синхронизации половой охоты и проведения искусственного осеменения стельность в I, II и III (контроль) группах составила 58, 50 и 40% (табл. 1).

С первого раза формирование беременности произошло не у всех животных, подвергнутых обработкам. Во второй группе частота наступления беременности составила 58% (35/60), что на 18% эффективнее, чем в группе контроля, и на 8% – по сравнению с первой группой. В этой группе частота наступления беременности составила 50% (30/60), что на 10% результативнее, чем в группе контроля, но на 8% ниже, чем во второй группе. В третьей группе осеменение проходило без применения НПВП. Результативность метода составила 40% (24/60).

Таблица 1. *Итоги применения ингибиторов синтеза простагландинов у подопытных коров*

Количество коров	Группы		
	I	II	III (контроль)
Обработано и осеменено	60	60	60
Оплодотворилось (1-й тест, 30-й день)	30(0,50)***	35(0,58)***	24(0,40)
Осталось стельными (2-й тест, 60-й день)	28(0,47)***	34(0,57)***	21(0,35)
Осеменено повторно	30	25	36

Примечание: * $P < 0.001$ по t -критерию (оценка достоверности разности долей) при сравнении с контролем.

При этом в исследуемых группах концентрация прогестерона на 17-е и 28-е сутки после осеменения была выше у коров, ставших стельными, обработанных селективным ингибитором синтеза простагландинов (табл. 2). При сравнении среднегрупповых значений по t - критерию различия статистически не значимы, т.е. исследуемый показатель варьирует в пределах физиологической нормы.

Таблица 2. Концентрация прогестерона в сыворотке крови у коров в разные сроки после осеменения (нМ, $M \pm m$)

Группы	Срок после осеменения, сутки	
	17	28
I	15,9 $\pm$ 0,5	32,3 $\pm$ 0,2*
II	16,1 $\pm$ 0,1	33,1 $\pm$ 0,3*
III (контроль)	15,6 $\pm$ 0,08	30,9 $\pm$ 0,3*

Примечание: * $P < 0.05$ по t -критерию при сравнении с 17 сут.

В исследованиях (Von Krueger et al., 2010) был получен отрицательный эффект при применении неселективных ингибиторов синтеза простагландинов на молочных тёлках и коровах, однако уровень прогестерона и метрические данные функциональных жёлтых тел были выше в обработанных группах. В работе (Odensvik et al., 1998) при пероральном четырёхкратном применении флуниксимеглумина на молочных тёлках произошло удлинение лютеиновой фазы полового цикла на 7 дней с уменьшением количества простагландиновых импульсов с 6-12 до 0-3 ($P < 0.01$). При этом существенного повышения уровня прогестерона не наблюдалось. Кетопрофен, используемый в другом эксперименте (Guzeloglu et al. 2008), не привёл к улучшению показателей стельности по сравнению с контрольной группой животных.

В наших исследованиях в крови стельных коров был обнаружен HCG, а концентрация его была выше у животных, подвергнутых обработке по схеме № 2. Прямое ингибирование синтеза простагландинов посредством дополнительного введения блокатора циклооксигеназ обеспечило повышение уровня хорионического гормона по принципу механизма обратной отрицательной связи за счёт усиления секреции прогестерона большими лютеиновыми клетками. При этом увеличение концентрации хорионического гормона сопровождается увеличением концентрации прогестерона, что способствует повышению сохранности беременности у обработанных животных по сравнению с интактными на 9,5% (табл. 1), хотя статистический анализ содержания хорионического гормона в сыворотке крови исследуемых групп коров в сравнительном аспекте не выявил существенной разницы (табл. 3).

Таблица 3. Концентрация хорионического гормона в сыворотке крови в разные сроки после осеменения (МЕ/л, $M \pm m$)

Группы	Срок после осеменения, сутки	
	17	28
I	4,6 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,2
II	4,9 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,2
III (контроль)	4,1 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,1

В опытных группах на 28-е сутки после осеменения выявлено повышение P4 и HCG, в контрольной группе не произошло увеличения концентрации HCG, а отмечено незначительное снижение (на 0,1 МЕ/л), однако концентрация P4 увеличилась в 2 раза (с 15,6 до 30,9 нМ, $P < 0.05$)

Это указывает на то, что взаимосвязь концентраций HCG и P4 гораздо сложнее, вероятно, в связи с наличием компенсаторных механизмов, определяющих увеличение P4 с 17-го по 28-й день беременности в 2 раза. При этом абсолютным протектором, определяющим функциональное развитие жёлтого тела в первый триместр беременности остаётся HCG, обладающий колоссальным лютеинизирующим потенциалом (Stevenson et al., 2008).

Положительное влияние мелоксикама на морфофункциональное состояние жёлтого тела, формирующийся эмбрион и плод подтвердили их метрические показатели при ультразвуковом сканировании (табл. 4).

Таблица 4. Диаметр жёлтого тела яичников коров в разные сроки после осеменения (мм, $M \pm m$)

Группы	Срок после осеменения, сутки	
	30-е	60-е
I	$17 \pm 0,2$	$23 \pm 0,3$
II	$18 \pm 0,2$	$25 \pm 0,3$
III (контроль)	$15 \pm 0,2$	$20 \pm 0,2$

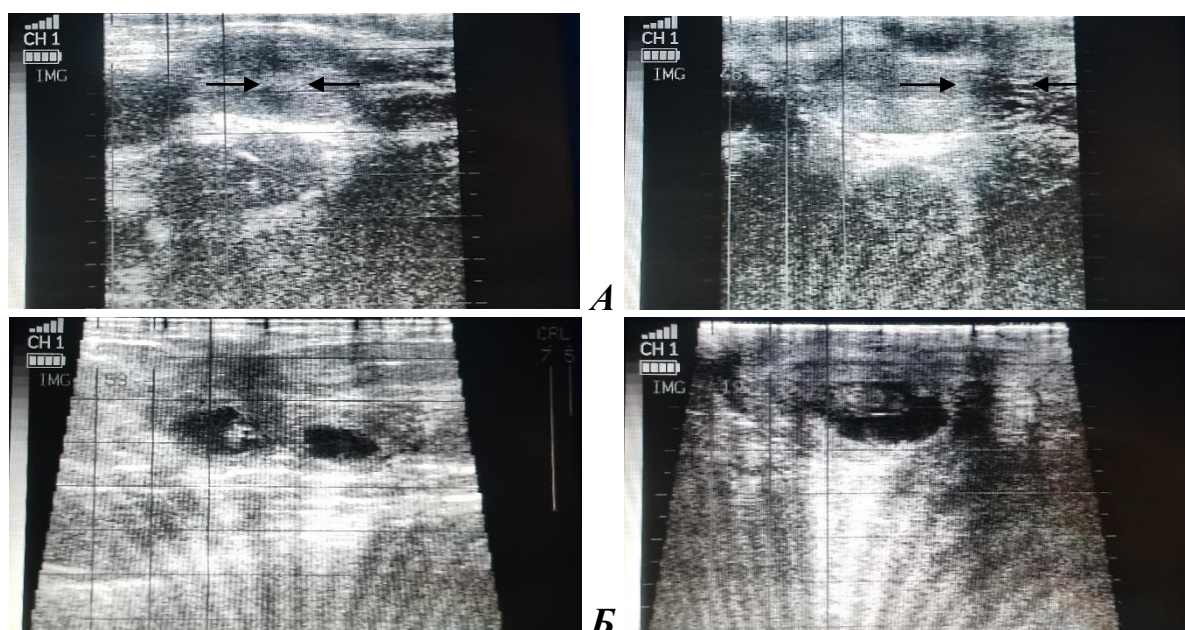


Рис. 1. Жёлтое тело яичника (А) и эмбрион (Б) у intactных (слева) и обработанных мелоксикамом (справа) коров на 30-е сутки после осеменения.

Размеры жёлтого тела в яичниках у коров во II группе превышали показатели у intactных животных на 30-е сутки после осеменения на 16,6% ($P < 0,05$), на 60-е сутки – на 20,0% ($P < 0,05$), а в первой группе соответственно на 11,7 и 13,0% ($P < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о потенцирующем действии HCG в развитии интерстициальной ткани жёлтого тела.

Заключение

Таким образом, НПВП, имеющий в своем составе селективный ингибитор синтеза простагландинов, способствует снижению показателя ранней гибели эмбрионов на 18%. Нормальное формирование эмбриона и сохранение беременности у коров на ранних этапах эмбриогенеза в большей степени зависит от уровня прогестерона, определяемого стероидогенной функцией желтого тела. Применённый препарат «Метакам» гарантированно блокирует циклооксигеназу второго типа, нарушая простагландиновый синтез. Парентеральные инъекции препарата животным в период nidации зародыша на 15-й день после искусственного осеменения позволяют повысить прогестерон-синтезирующую функцию жёлтого тела яичника в среднем на 1,8 нМ. Частота наступления беременности с применением препарата «Нековаль» была выше на 10%

($P < 0,05$) по сравнению с контролем, но на 8% ($P < 0,05$) ниже, чем после применения препарата «Метакам». Поэтому медикаментозный контроль над прогестерон-простагландинным статусом осеменяемых животных в период интенсивного бластогенеза и имплантации может составлять основу профилактики эмбриональных потерь и повышения фертильности коров в высокопродуктивных молочных стадах.

Список литературы

1. Коровушкин А.А. Совершенствование скота чёрно-пестрой породы по генетической устойчивости к различным заболеваниям. Рязань: Узорочье, 2004. 191 с.
2. Нефедова С.А., Коровушкин А.А., Шашурина Е.А., Иванов Е.С. Воспроизводительные функции и фенотипические маркеры устойчивости животных к заболеваниям в аспекте адаптивности к экологическим условиям. Формирование иммуногенетических маркеров устойчивости животных к различным заболеваниям // В сб.: Экологическая адаптивность, стрессоустойчивость и резистентность животных. Рязань: Рязанский ГАТУ, 2012. С. 91-101.
3. Нежданов А.Г. Пути повышения эффективности гормональной коррекции репродуктивных функций молочных коров. // Сб. матер. конф. ВИЖ. М., 2007. С. 241-246.
4. Племяшов К.В. Воспроизводительная функция у высокопродуктивных коров при нарушении обмена веществ и её коррекция: автореф. дисс... д.вет.н. СПб, 2010. 39 с.
5. Хохрин С.Н. Кормление сельскохозяйственных животных. М.: КолосС, 2006. 688 с.
6. Чомаев А.М., Хмылов А.Г. Методы нормализации воспроизводительной функции у коров. М.: Мосагроген, 2005. 67 с.
7. Янчуков И.Н., Мороз Т.А., Панфёров В.В. Пренатальные потери у высокопродуктивных коров. // Молочное и мясное скотоводство. 2011. Т. 8. С. 2-4.
8. Melendez P., Gonzalez G., Aguilar E., Laura O., Risco C., Archibald L.F. Comparison of two estrus-synchronization protocols and timed artificial insemination in dairy cattle. // J. Dairy Sci. 2006. Vol. 89. P. 4567-4572. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72506-1
9. Green M.P., Hunter M.G., Mann G.E. Relationship between maternal progesterone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. // Anim. Reprod. Sci. 2005. Vol. 88. P. 179-189. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2004.12.007
10. Sterry R.A., Welle M.L., Fricke P.M. Treatment with Gonadotropin-Releasing Hormone after first timed artificial insemination improves fertility in noncycling lactating dairy cows. // J. Dairy Sci. 2006. Vol. 89. P. 4237-4245. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72469-9
11. Patel H., Bhartiya D., Parte S. et al. Follicle stimulating hormone modulates ovarian stem cells through alternately spliced receptor variant FSH-R3. // J. Ovar. Res. 2013. Vol. 6. nr 52. DOI: org/10.1186/1757-2215-6-52
12. Sá Filho M.F., Gonella-Díaz A.M., Sponchiado M. et al. Impact of hormonal modulation at proestrus on ovarian responses and uterine gene expression of suckled anestrous beef cows. // J. Anim. Sci. Biotechnol. 2017. Vol. 8. nr 79. DOI: org/10.1186/s40104-017-0211-3
13. Lopez-Gatius F., Santolaria P., Martino A., Delatang F., De Rensis P. The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in north-eastern Spain. // Theriogenology. 2006. Vol. 65. P. 820-830. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.07.002
14. Franco M., Block J., Jousan F.D., de Castro P.L.A., Brad A. M., Franco J.M., Grisel F., Monson R.L., Rutledge J.J., Hansen P.J. Effect of transfer of one or two in vitro-produced embryos and post-transfer administration of gonadotropin releasing hormone on pregnancy rates of heat-stressed dairy cattle. // Theriogenology. 2006a. Vol. 66. P. 224-233. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.11.005
15. Franco M., Thompson P.M., Brad A.M., Hansen P.J. Effectiveness of administration of gonadotropin-releasing hormone at days 11, 14 or 15 after anticipated ovulation for increasing fertility of lactating dairy cows and non-lactating heifers. // Theriogenology. 2006b, Vol. 66. P. 945-954 DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.12.014
16. Chagase S.J., Diniz P., Lopes da Costa L. Accessory corpora lutea induced by HCG treatment enhanced survival of half embryos in high yielding lactating dairy cows. // In: Proc. of 16th ICAR. Budapest, 2008. P. 54-56.
17. O'Brien T.J., Kalmin M.M., Harralson A.F. et al. Association between the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor (LHCGR) rs4073366 polymorphism and ovarian hyperstimulation syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. // Reprod. Biol. Endocrinol. 2013. Vol. 11. nr 71. DOI: org/10.1186/1477-7827-11-71
18. Bech-Sabat G., Lopez-Gatius F., Garcia-Ispuerto I., Santolaria J.P., Serrano B., Nogareda C., de Sousa N.M., Beckers J.F., Yaniz J. Pregnancy patterns during the early fetal period in high producing dairy cows treated with GnRH or progesterone. // Theriogenology. 2009. Vol. 71. P. 920-929. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2008.10.013

19. Shabunin S.V., Nezhdanov A.G., Mikhalev V.I., Pasko N.V., Prokulevich V.A., Potapovich M.I., Gricuk V.A., Volkova I.V. Interferon-tau and formation of pregnancy in cows. // *Agricultural Biology*. 2019. Vol. 54. nr 2. P. 259-268. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.259rus
20. Demmers R.J., Derecka K., Flint A. Trophoblast interferon and pregnancy. // *Reproduction*. 2001. Vol. 121. P. 41-49.
21. Forde N., Lonergan P. Interferon-tau and fertility in ruminants. // *Reproduction*. 2017. Vol. 154. nr 5. P. F33-F43. DOI: 10.1530/REP-17-0432
22. Hansen T.R., Sinedino L.D.P., Spencer T.E. Paracrine and endocrine actions of interferon tau (INFT). // *Reproduction*. 2017. Vol. 154. nr 5. P. F45-F59. DOI: 10.1530/REP-17-0315
23. Zhao G., Jiang K., Zhang T., Wu H., Qiu C., Deng G. Specific interferon tau gene-regulation networks in bovine endometrial luminal epithelial cells. // *Theriogenology*. 2018. Vol. 105. nr 1. P. 51-60. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.09.004
24. Basavaraja R., Przygodzka E., Pawlinski B., Gajewski Z., Kaczmarek M.M., Meidan R. Interferon-tau promotes luteol endothelial cell survival and inhibits specific luteolytic genes in bovine corpus luteum. // *Reproduction*. 2017. Vol. 154. nr 5. P. 559-568. DOI: 10.1530/REP-17-0290
25. Shirasuna K., Matsumoto H., Matsuyama S., Kimura K., Boliwein H., Miyamoto A. Possible role of interferon tau on the bovine corpus luteum and neutrophils during the early pregnancy. // *Reproduction*. 2015. Vol. 150. nr 3. P. 217-225. DOI: 10.1530/REP-15-0085
26. Tuo W.B., Macmillan H., Gunter N., Bazer F.M., Brown W.C. Upregulation of interleukin-4 and IFN-gamma expression by IFN-tau, a member of the type I IFN family. // *J. Interfer. Cytok. Res.* 1999. Vol. 19. nr 2. P. 179-187. DOI: 10.1089/107999099314324
27. Chon T.W., Bixler S. Interferon-tau: current applications and potential in antiviral therapy. // *J. Interfer. Cytok. Res.* 2010. Vol. 30. nr 7. P. 477-485. DOI: 10.1089/jiz.2009.0089
28. Kohara J., Nishikura Y., Konnai S., Tajima M., Onuma M. Effects of interferon-tau on cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. // *Japan. J. Veter. Res.* 2012. Vol. 60. nr 2-3. P. 63-70.
29. Talukder A.K., Rashid M.B., Yousef M.S., Kusama K., Shimizu T., Shimada M., Suarez S.S., Imakawa K., Miyamoto A. Oviduct epithelium induces interferon-tau in bovine Day-4 embryos, which generates an anti-inflammatory response in immune cells. // *Scient. Rep.* 2018. Vol. 8. nr 1. P. 7850. DOI: 10.1038/s41598-018-26224-8
30. Rashid M.B., Talukder A.K., Kusama K., Haneda S., Takedomi T., Yoshino H., Moriyasu S., Matsui M., Shimada M., Imakawa K., Miyamoto A. Evidence that interferon-tau secreted from Day-7 embryo in vivo generates anti-inflammatory immune response in the bovine uterus. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018. Vol. 500. nr 4. P. 879-884. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.178
31. Guzeloglu A., Erdem H., Saribay M.K., Thatcher W.W., Tekeli T. Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. // *Veter. Rec.* 2007. Vol. 160. P. 404-406. DOI: 10.1136/vr.160.12.404
32. Merrill M.L., Ansotegui R.P., Burns P.D., MacNeil M.D., Geary T.W. Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. // *J. Anim. Sci.* 2007. Vol. 85. P. 1547-1554. DOI: 10.2527/jas.2006-587
33. Lucaci E. Effects of flunixin meglumine (FM) on reproductive events in fixed timed artificial inseminated cows. // *Proc.16th ICAR. Budapest, 2008. Abstr.* P. 50.
34. Weems C.W., Weems Y.S., Randel R.D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. // *Veter. J.* 2006. Vol. 171. P. 206-228. DOI: 10.1016/j.tvjl.2004.11.014
35. Robinson R.S., Hammond A.J., Wathes D.C., Hunter M.G., Mann G.E. Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. // *Reprod. Domest. Anim.* 2008. Vol. 42. Suppl. 2. P. 104-112. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01149.x
36. Lopez H., Caraviello D.Z., Satter L.D., Fricke P.M., Wiltbank M.C. Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. // *J Dairy Sci.* 2005. Vol. 88. P. 2783-2793. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72958-1
37. Wiltbank M., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S., Gumen A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. // *Theriogenology*. 2006. Vol. 65. P. 17-29. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.10.003
38. Von Krueger X., Heuwieser W. Effect of flunixin meglumine and carprofen on pregnancy rates in dairy cattle. // *J. Dairy Sci.* 2010. Vol. 93. nr 11. P. 5140-5146. DOI: 10.3168/jds.2010-3072
39. Odensvik K., Gustafsson H., Kindahl H., The effect on luteolysis by intensive oral administration of flunixin granules in heifers. // *Anim. Reprod. Sci.* 1998. Vol. 27. nr 1-2. P. 35-44. DOI: 10.1016/s0378-4320(97)00090-0
40. Guzeloglu A., Erdem H., Cinar M., Kilic K., Talmac M., Gorgundur A., Gumen A. Effect of ketoprofen administration 15 and 16 days after AI on conception rates in lactating dairy cows. // *Proc. 16th ICAR. Budapest, 2008. P. 43.*

41. Stevenson J.S., Tiffany S.M., Inskeep E.K., Maintenance of pregnancy in dairy cattle after treatment with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone. // J. Dairy Sci. 2008. Vol. 91. nr 8. P. 3092-3101. DOI: 10.3168/jds.2008-1027

References (for publication in Russian)

1. Chomaev A.M., Khmylov A.G. *Metody normalizatsii vosproizvoditel'noi funktsii u korov* (Methods for normalizing reproductive function in cows). Moscow: Mosagrogen Publ., 2005. 67 p.
2. Khokhrin S.N. *Kormlenie sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh* (Feeding farm animals). Moscow: KolosC Publ., 2006. 599 p.
3. Korovushkin A.A. *Sovershenstvovanie skota cherno-pestroi porody po geneticheskoi ustoichivosti k razlichnym zabolevaniyam* (Improving Black-and-White cattle for genetic resistance to various diseases). Ryazan': Uzoroch'e Publ., 2004, 191 p.
4. Nefedova S.A., Korovushkin A.A., Shashurina E.A., Ivanov E.S. [Reproductive functions and phenotypic markers of animal resistance to diseases in the aspect of adaptability to environmental conditions. Formation of immunogenetic markers of animal resistance to various diseases]. In: *Ekologicheskaya adaptivnost', stressoustoichivost' i rezistentnost' zhivotnykh* (Environmental adaptability, stress tolerance and resistance of animals). Ryazan: State Agrotechnical University, 2012, P. 91-101.
5. Nezhdanov A.G. [Ways to improve the effectiveness of hormonal correction of reproductive functions of dairy cows]. In: *Mat. konf. VIZH* (Proc. Conf. VIZH): Moscow: VIZh, 2007. P. 241-246.
6. Plemyashov K.V. *Vosproizvoditel'naya funktsiya u vysokoproduktivnykh korov pri narushenii obmena veshchestv i ee korrektsiya* (Reproductive function in highly productive cows with metabolic disorders and its correction). Extended Abstract of Diss. Dr. Sci. Vet. St. Petersburg, 2010. 29 p.
7. Yanchukov I.N., Moroz T.A., Panferov V.V. [Prenatal losses in high producing cows]. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo - Dairy and Meat Cattle Husbandry*. 2011. 8: 2-4.

DOI: 0.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.1.55-64

Efficiency estimates of non-steroid anti-inflammatory drugs to reduce embryonic mortality in cows

Stepashin S.N.

*Ryazan Kostychev State Agrotechnological University,
Ryazan, Russian Federation*

ABSTRACT. The aim was to identify the dynamics of the blood levels of progesterone (P4) and chorionic gonadotropin (HCG) in the early period of gestation and to assess the effectiveness of the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for the prevention of embryonic mortality in cows. In 180 Holstein cows of 3-7 years of age, on the 17th and 28th days after artificial insemination, the content of P4 and HCG was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method using the test systems ImmunoPha-PG and ImmunoPa- β -hCG (Russia) respectively. The sensitivity of the P4 assay is 0.4 nM and HCG is 0.5 IU/l. The presence or absence of an embryo in the uterus was judged by the concentration of P4 and HCG in the blood serum on the 17th and 28th days and on the basis of a double ultrasound examination (US) on the 30th and 60th days. As NSAIDs, drugs "Metakam" and "Nekoval", were used which are distinguished by the selectivity of action against different types of cyclooxygenases. The preparations were administered to two groups of cows (I and II, n = 60) parenterally once on the 15th day after insemination (III group – control). In the period of 17-28 days of embryo formation, the concentration of P4 in the blood serum in the experimental groups was twice as high as in the control (by 1.8 nM, $P < 0.05$), and the concentration of HCG on 28th day – by 0.7 IU/l ($P < 0.05$). This suggests that hypoprogesteronemia was one of the causes of early embryonic mortality in the control group of cows. Replenishment of the progesterone deficiency in highly productive animals by NSAIDs provided an increase in the preservation of pregnancy in them by an average of 6.25% (revealed by the first, $P < 0.001$ and second test, $P < 0.001$). Concluded about pathogenetic significance of prostaglandins in impaired embryonic development and the advisability of using selective inhibitors of prostaglandin synthesis on 15th day after artificial insemination.

Key words: cows, prostaglandin F2 α , progesterone, embryonic mortality, non-steroid anti-inflammatory drugs, artificial insemination efficiency

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2021, 1: 55-64

Поступило в редакцию: 17.02.2021

Получено после доработки: 01.03.2021

Степашин Сергей Николаевич, асп., тел. 8(900)-969-60-04, stepaschin93sn@ya.ru