

- Chen, X., Chen, Y., Zhang, W., Chen, S., Wen, X., Ran, X., Wang, H., Zhao, J., Qi, Y., & Xue, N. (2022). Prevalence of subclinical mastitis among dairy cattle and associated risks factors in China during 2012-2021: A systematic review and meta-analysis. *Research in veterinary science*, 148, 65-73. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.04.007>
- Dahl, M. O., De Vries, A., Galvão, K. N., Maunsell, F. P., Risco, C. A., & Hernandez, J. A. (2020). Combined effect of mastitis and parity on pregnancy loss in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 143, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.12.002>
- Girma, A., & Tamir, D. (2022). Prevalence of Bovine Mastitis and Its Associated Risk Factors among Dairy Cows in Ethiopia during 2005-2022: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Veterinary medicine international*, 2022, article number 7775197. <https://doi.org/10.1155/2022/7775197>
- McDougall, S., Williamson, J., Gohary, K., & Lacy-Hulbert, J. (2022). Risk factors for clinical or subclinical mastitis following infusion of internal teat sealant alone at the end of lactation in cows with low somatic cell counts. *New Zealand veterinary journal*, 70(2), 79–87. <https://doi.org/10.1080/00480169.2021.1977200>
- Pasternak, A., Koshevoy, V., Naumenko, S., Radzykhovskiy, M., & Skliarov, P. (2023). Characteristics of bacterial contamination of the mammary gland secretion of lactating cows with subclinical mastitis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 113-117. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11218>
- Radzykhovskiy, N., Dyshkant, O., Vygovska, L., Kulishenko, O., & Davydenko, P. (2023). Traditional methods of diagnosing infectious mastitis in cattle. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 24(1), 157-162. <https://doi.org/10.36359/scivp.2023-24-1.21>
- Ranasinghe, R. M. S. B. K., Deshapriya, R. M. C., Abeygunawardana, D. I., Rahularaj, R., & Dematawewa, C. M. B. (2021). Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction. *Journal of dairy science*, 104(12), 12900–12911. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20223>
- Sharma, D., Kaniamuthan, S., Manimaran, A., Kumaresan, A., Sivaram, M., Rajendran, D., Wankhade, P. R., Sejian, V., & Banu, S. (2023). Seasonal, physiological and bacteriological risk factors for subclinical mastitis in dairy cows maintained under different farming conditions. *The Journal of dairy research*, 90(2), 164–172. <https://doi.org/10.1017/S0022029923000389>
- Skliarov, P. M., Fedorenko, S. Y., Naumenko, S. V., Onyshchenko, O. V., Pasternak, A. M., Koshevoy, V. I., & Koshevoy, V. P. (2022). Development of protocols and efficiency of ozone-containing drugs for the treatment of livestock with reproductive pathologies. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 10(1), 11–18. <https://doi.org/10.32819/2022.10002>

ЕФЕКТИВНІСТЬ КОНТРАЦЕПЦІЇ У КІШОК З ВИКОРИСТАННЯМ КОТЯЧОГО АНТИМІОЛЕРОВОГО ГОРМОНУ

Рокочий А.В., аспірант

Чекан О.М., д. вет. н., доцент

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

Вступ. Для контролю популяції кішок існує кілька стратегій контрацепції, включаючи вакцини та інші нехірургічні методи такі як аналоги статевих стероїдів, агоністи та антагоністи гонадотропін-рилізінг-гормону (GnRH), а також фізичні бар'єрні пристрої [1]. На сьогоднішній день не доведено, що ці підходи представляють ефективну довгострокову контрацепцію, здатну замінити хірургічні методи стерилізації [2]. Проте прогрес у розробці та вдосконаленні генної терапії розширив можливості застосування цієї технології для контрацепції тварин [3].

Механізм контрацепції відрізняється від інших гормональних контрацептивів, діючи головним чином на ранні гонадотропін-незалежні етапи розвитку фолікула, пригнічуючи як первинну активацію фолікула, так і дозрівання преантральних фолікулів.

Антимюлеровий гормон має вирішальне значення для визначення статі у внутрішньоутробному розвитку. У самок як АМГ, так і його рецептор типу II (AMHR2) сильно експресуються в гранульозних клітинах фолікулів яєчників, включаючи котячі яєчники. Відомо, що фізіологічні рівні АМГ, отримані в результаті генної терапії вірусом, можуть пригнічувати фолікулогенез і індукувати постійну контрацепцію у дорослих мишей [4].

Метою дослідження було дослідити, вплив контрацептивів на овуляцію, відтворювальну здатність кішок та розробити безпечну схему контрацепції кішок нехірургічним шляхом.

Матеріали і методи. Усі кішки поділені на дослідну ($n=9$) і контрольну ($n=5$) були нестерилізованими, не народжували. На початку дослідження вони були віком від 6 до 12 місяців (дослідна група) та від 6 до 7 років (контрольна). Кішок утримували в групі, годували сухим кормом для котів Purina Pro Plan Adult Complete Essentials (Nestle Purina Petcare) і їм надавали доступ до свіжої води. Двох перевірених кішок (2 та 13 років), які використовували під час досліджень, помістили окремо в окрему кімнату, але в інших умовах утримували в тих самих умовах. Обстеження та дослідження крові (біохімічні дослідження сироватки) були проведені до введення вірусу та після.

Рівень АМГ встановлювали за допомогою ELISA-методом (виявляючи як ендогенні, так і рекомбінантні форми) і ELISA-методом з прямим захопленням антиген-антитіло для вимірювання антитіл проти fcMISv1 у сироватці крові протягом тривалого періоду в 4 роки.

Результати та їх інтерпретація. Враховуючи сприятливий тропізм серотипу AAV9 до м'язових тканин і відносно низьку кількість уже існуючих анти антитіл у кішок, цей вектор було обрано для доставки fcMISv1, а пізніше fcMISv2. Введення разової дози вектора AAV9-fcMISv1 першого покоління кішкам призводить до тривалої експресії АМГ у м'язах, змінної відповіді антитіл проти трансгену та гістологічних змін у репродуктивному тракті.

Встановлено безпеку та ефективність АМГ у кішок, які отримували внутрішньом'язову ін'єкцію в дозі 12 мкг/кг. Жодних ознак болю, жару, почервоніння або набряку в місцях ін'єкцій не спостерігалось. Під час оглядів і аналізів крові не було виявлено побічних ефектів. Рівні С-реактивного білка (СРБ, маркер запалення) дещо підвищилися через 7 днів після ін'єкції, але після цього швидко повернулися до початкових рівнів. Крім того, щоб розглянути вплив рівнів АМГ на репродуктивний тракт, ми стерилізували трьох самок через 42 місяці після лікування (у віці 9–10 років) і дослідили їхні яєчники та матку гістологічно.

На відміну від цього, експресія трансгену fcAMHv1 у гепатоцитах була мінімальною. Взяті разом, ці результати свідчать про те, що AAV9-fcMISv1 ефективно трансдукував клітини скелетних м'язів.

Введення однієї дози AAV9-fcMISv2 призводить до безперервної секреції фізіологічного АМГ без побічних ефектів або імунної відповіді.

Далі ми оцінили гормони антрального фолікула. Спочатку ми вимірювали метаболіти естрадіолу у зразках фекалій, які збирали тричі на тиждень протягом усього дослідження. Ми порівняли середній рівень естрадіолу кожної групи котів між періодами до лікування. Рівні АМГ не призвели до зниження екскреції естрадіолу у самок, яким вводили AAV9-fcMISv2. Через регулярні безперервні цикли еструсу і інтересу, як у контрольній групі, так і в групі з високою дозою AAV9-fcMISv2 спостерігалось значно підвищене виділення естрадіолу з калом після лікування ($p < 0,0001$). У групі другій групі підвищення естрадіолу не спостерігалось.

Рівні інгібіну А та фолістатину, які виробляються гранульозними клітинами вторинних фолікулів після 3 років, були подібними в групі високих доз котів між перехідним періодом і періодом після лікування. Рівні фолістатину були значно нижчими в контрольній групі під час після лікування порівняно з перехідним періодом ($p < 0,0001$).

Не спостерігалось відмінностей у частоті естральної фази між періодами до та після лікування, що свідчить про те, що на циклічну секрецію естрадіолу антрального фолікула не впливає рівень АМГ.

Ці дані вказують на більшу кількість великих преовуляторних фолікулів протягом періоду після лікування у контрольних самок, що не спостерігається у кішок, які отримували AAV9-fcMISv2. Популяції антральних фолікулів, присутні в яєчниках кішок, яких лікували AAV9-fcMISv2, можуть підтримувати вироблення гормонів і естральний цикл.

Рівні ЛГ були підвищені в період після лікування порівняно з перехідним періодом у кішок, які отримували низьку та високу дози AAV9-fcMISv2. Після овуляції гранульозні та тека-клітини з овулюючого фолікула диференціюються в лютеїнові клітини, що продукують прогестерон. Середня концентрація прогестерону була значно знижена як у групах із низькими, так і з високими дозами після лікування ($p < 0,0001$), тоді як контрольна група не відрізнялася до та після лікування.

Лікування AAV9-fcMISv2 призводить до контрацепції у кішки. У кішок контрольної групи народила 2–4 здорових кошенят у кожному посліді. Навпаки, жодна кішка, яка отримувала лікування AAV9-fcMISv2, не завітніла.

Однак, незважаючи на передбачувану роль АМГ у пригніченні вироблення естрадіолу і безпосередньому модулюванні гіпофізарних гонадотропінів [5], наші результати свідчать про те, що фізіологічний АМГ не пригнічує рівні естрадіолу у кішок, можливо тому, що зворотний зв'язок гіпофіза може відновити свій гомеостаз навіть за умов ненормального розвитку фолікула. Дійсно, у мишей фізіологічний АМГ індукує контрацепцію [6], пригнічуючи як активацію примордіальних фолікулів, так і дозрівання преантральних фолікулів шляхом інгібування диференціювання та проліферації гранульозних клітин, викликаючи зупинку первинного та раннього вторинного розвитку фолікулів і призводячи до майже повної відсутності антральних фолікулів [7], але рівні естрадіолу знижені лише приблизно наполовину.

Незважаючи на те, що ми схилиємося, контрацепція спричинена прямим впливом АМГ на яєчник, шляхом пригнічення повного дозрівання та овуляції фолікулів яєчників у відповідь на сплеск ЛГ, може бути порушення самого сплеску ЛГ, що збігається з даними інших авторів [8]. Крім того, підвищений рівень ЛГ, який спостерігався у кішок дослідної групи міг бути наслідком зниженої секреції прогестерону [9].

Висновки. Генна терапія з використанням AAV9-fcMISv2 може призвести до багаторічного пригнічення овуляції та запобігання вагітності без видимих негативних наслідків для здоров'я кішок. Антимюлеровий гормон може пригнічувати лютеїнову фазу та овуляцію без впливу на рівень прогестерону.

Застосування антимюлерового гормону може стати життєздатною альтернативою хірургічній стерилізації та надати ветеринарним практикам можливість швидкого та легкого застосування для контрацепції у домашніх і вільно бродячих самок.

Бібліографічний список

1. Vansandt, L. M., Meinsohn, M. C., Godin, P., Nagykerly, N., Sicher, N., Kano, M., Kashiwagi, A., Chauvin, M., Saatcioglu, H. D., Barnes, J. L., Miller, A. G., Thompson, A. K., Bateman, H. L., Donelan, E. M., González, R., Newsom, J., Gao, G., Donahoe, P. K., Wang, D., Swanson, W. F., ... Pépin, D. (2023). Durable contraception in the female domestic cat using viral-vectored delivery of a feline anti-Müllerian hormone transgene. *Nature communications*, 14(1), 3140. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38721-0>
2. Kutzler, M., & Wood, A. (2006). Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*, 66(3), 514–525. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.014>
3. Hay, B. A., Li, J., & Guo, M. (2018). Vectored gene delivery for lifetime animal contraception: Overview and hurdles to implementation. *Theriogenology*, 112, 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.11.003>
4. Li, J., Olvera, A. I., Akbari, O. S., Moradian, A., Sweredoski, M. J., Hess, S., & Hay, B. A. (2015). Vectored antibody gene delivery mediates long-term contraception. *Current biology : CB*, 25(19), R820–R822. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.08.002>

5. Gültiken, N., Yarim, M., Aslan, S., Gürler, H., Yarim, G. F., Tuncay, M., İnal, S., & Schäfer-Somi, S. (2022). Expression of Anti-Müllerian Hormone and Its Type 2 Receptor in the Ovary of Pregnant and Cyclic Domestic Cats. *Animals : an open access journal from MDPI*, 12(7), 877. <https://doi.org/10.3390/ani12070877>
6. Meinsohn, M. C., Saatcioglu, H. D., Wei, L., Li, Y., Horn, H., Chauvin, M., Kano, M., Nguyen, N. M. P., Nagykerly, N., Kashiwagi, A., Samore, W. R., Wang, D., Oliva, E., Gao, G., Morris, M. E., Donahoe, P. K., & Pépin, D. (2021). Single-cell sequencing reveals suppressive transcriptional programs regulated by MIS/AMH in neonatal ovaries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(20), e2100920118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2100920118>
7. Johnson, A. K., Jones, R. L., Kraneburg, C. J., Cochran, A. M., Samoylov, A. M., Wright, J. C., Hutchinson, C., Picut, C., Cattley, R. C., Martin, D. R., & Samoylova, T. I. (2020). Phage constructs targeting gonadotropin-releasing hormone for fertility control: evaluation in cats. *Journal of feline medicine and surgery*, 22(8), 685–695. <https://doi.org/10.1177/1098612X19875831>
8. Adachi, K., Dissen, G. A., Lomniczi, A., Xie, Q., Ojeda, S. R., & Nakai, H. (2020). Adeno-associated virus-binding antibodies detected in cats living in the Northeastern United States lack neutralizing activity. *Scientific reports*, 10(1), 10073. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66596-4>
9. Chen, M., Guo, X., Zhong, Y., Liu, Y., Cai, B., Wu, R., Huang, C., & Zhou, C. (2023). AMH inhibits androgen production in human theca cells. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 226, 106216. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2022.106216>

ЗВ'ЯЗОК ВМІСТУ ПРОГЕСТЕРОНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ НА ПРОЯВ ФЕНОМЕНІВ ОХОТИ

Севастьянов В.В., аспірант

Чекан О.М., д. вет. н., доцент

Сумський національний аграрний університет, м. Суми

Вступ. Візуальне виявлення тічки є складним через малу тривалість і меншу інтенсивність клінічних естральних ознак, що спостерігається у молочних корів. Однак автоматизовані монітори активності є ефективною та надійною технологією як альтернативна стратегія виявлення тічки замість візуального виявлення [1].

У серії досліджень з використанням різних систем, повідомляється, що вагітність після штучного осіменіння була більшою у корів з більш інтенсивною тічкою. Корови, у яких проявлялася тічка наприкінці протоколу синхронізації заснованого на естрадіолі і прогестероні, мали кращу фертильність (38,9% проти 25,5%) і виживання ембріона (46,7% проти 32,7). %) порівняно з тими, у яких не було тічки. Крім того, втрата тільності була нижчою для корів, у яких була тічка під час штучного осіменіння (14,4% проти 20,1%) [2].

Корови, у яких тічка виражена погано наприкінці протоколу штучного осіменіння, з більшою ймовірністю, мали вищі концентрації прогестерону порівняно з коровами, у яких була тічка. Це пов'язано з неповною регресією лютеїну під час періоду проєструсу. У цих корів із дещо вищими концентраціями прогестерону у плазмі при штучному осіменінні, що, було спричинено відсутністю повної регресії жовтого тіла, знижувалася фертильність. Тому можливо, що підвищена концентрація прогестерону безпосередньо під час осіменіння є шкідливою, тоді як підвищені рівні прогестерону в інші моменти циклу до та після штучного осіменіння є позитивними.

Дослідження деяких авторів вказують на вплив прогестерону на фертильність під час і відразу після штучного осіменіння [3,4].