

*Ключевые слова: искусственное осеменение свиней, нефракционный метод, фракционный метод, внутриматочное осеменение, локально фиксированное внутриматочное осеменение, спермии, спермодоза.*

**S.O.Usenko.** Peculiarities of methodical approaches to the artificial insemination of pigs

*In the article is lit up methodical approaches to the artificial insemination of pigs and it was carried out their comparative estimation. It has been determined the fact that two equivalent methods for results – not fraction and fraction are widely using in the practice. They were elaborated by scientists of All-United Institute of Animal and Poltava scientific research Institute of Pig Breeding. It was found out that the fraction method at using which taking a little number of spermatozoa and it ensures considerably less losses of spermatozoa that at not fraction way of insemination. It is pointed out that the intrauterus (transcervical) method of the insemination uses in a reproductive biotechnology of pig breeding during last time. The difference of this method from the tradition artificial insemination is a peculiarity that through the main catheter it is put the microcatheter directly into horns of the uterus and it gives the possibility to carry out the fertilization of ova by spermatozoa without going the long way from a neck of the uterus.*

*It has been determined that improving the methods of an artificial insemination occur taking into account displaying new morpho-physiological peculiarities of the sow uterus and a rational using sperm of high value boars. The most progressive method of an artificial insemination is intrauterus namely the way of the locally fixed intrauterus insemination of sows which gives the possibility to reduce practically the number of spermatozoa to 0,250 billions, and the volute of sperm dose to 20 cm<sup>3</sup>. Key words: artificial insemination of pigs, not fraction method, fraction method, intrauterus insemination, locally fixed intrauterus insemination, spermatozoa, spermdose.*

УДК 612:636.4:59.082.591.1

**Чирков О.Г.**, кандидат сільськогосподарських наук  
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

## **ОБМЕЖЕННЯ І РИЗИКИ ЗАСТОСУВАННЯ ВНУТРІШНЬОМАТКОВОГО КАТЕТЕРА У ЗВ'ЯЗКУ З ОСОБЛИВОСТЯМИ ПРОСТОРОВОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ МАТКИ СВИНІ**

*Рецензент – кандидат біологічних наук П.В. Денисюк*

*Через нестабільність результатів нехірургічний метод трансплантації (НХТ) ембріонів свині не затребуваний, в той час як хірургічний спосіб знаходить комерційне застосування. Щоб оцінити загрози, джерелом яких є сама процедура НХТ, досліджували просторові характеристики маток (5 ізольованих і 5 нативних) з уведеним у їх порожнину трансцервікальним катетером (К), а також характер і причини ушкоджень матки 3-7-денних за циклом свиноматок, забитих підчас (5 гол.) або по завершенні (11 гол.) процедури, що імітувала глибоку внутрішньоматкову трансплантацію (ГВМТ).*

*У матковому розі реципієнта К зазнавав деформації, набуваючи форми спіралі, витки якої прагнули зайняти взаємно перпендикулярне положення, що закладає фізичні механізми протидії його просуванню та передумови травмування*

матки. Глибина проникнення *K* у матку реципієнтів складала від 9 до 38 см (в сер. 26,5) або від 1/10 до 1/3 довжини рогу, була менше за очікувану і не відповідала розміру введеного у матку відрізка – 103,2 см (від 87 до 129), значна частина якого (від 26,9 до 72,8%) виявилась неефективною. В жодній із спроб не було досягнуто ділянки, що відповідає визначенню *deep intrauterine*. У 75% реципієнтів (12 із 16) виявлено характерні ушкодження матки, що імовірно здатні вплинути на результат реальної процедури: 1) травми (садна) «замків» цервікса; 2) травмівні сліди в ендометрії у вигляді вузької (0,6-1,0 см) і довгої (9-38 см) борозни по великій кривизні рогу, що закінчується характерною заглибиною від голівки *K*; 3) розтягнення та змінання тканин стінки рогу; 4) великі ділянки гіперемованого ендометрію в місцях контакту з *K*. Масштаб ушкоджень зростає із збільшенням глибини проникнення *K* у матковий ріг.

Таким чином, можна говорити про існування своєрідного механізму обмеження проникності *K* та пов'язаного із ним механізму травмування репродуктивних шляхів свиноматки, що нівелює потенційні переваги ГВМТ. Частковим вирішенням проблеми є поміщення ембріонів (бластоцист) в основу маткового рогу, що мінімізує негативні ефекти і ризики процедури. Це не знімає потреби в розробленні ефективної атрауматичної техніки ГВМТ, здатної задовольнити вимоги споживача технології. Однак таке завдання очевидно вимагає застосування інноваційних підходів до вирішення проблеми.

*Ключові слова:* свиноматка, глибока внутрішньоматкова трансплантація, внутрішньоматковий (трансервікальний) катетер, травмування матки.

Репродуктивні технології на сьогодні стали рушієм і необхідною умовою вдосконалення сучасного промислового тваринництва. Серед найважливіших застосувань – збереження і переміщення генетичних ресурсів у вигляді кріоконсервованих ембріонів з їх наступною трансплантацією (ТЕ), як альтернативу утриманню і транспортуванню стада тварин, а також виробництво ембріонів *in vitro* після запліднення яйцеклітин, одержаних із яєчників цінних у селекційному відношенні донорів і їх трансплантація звичайним реципієнтам.

У скотарстві такі технології вже широко застосовуються. Світовий ринок ембріонів ВРХ на сьогодні становить близько 550 тис., з них понад 100 тис. припадає на країни ЄС, у т.ч. продукованих *in vitro* – до 8 тис. Це стало можливим після розроблення нехірургічного способу трансплантації (НХТ), а також кріоконсервації ембріонів у цього виду тварин у 70-80-тих роках минулого століття.

Відсутність надійного нехірургічного способу ТЕ свині стримує комерційне застосування подібних технологій у свинарстві. Проте, їх переваги як засобу глобального оперативного переміщення селекційного матеріалу роблять доцільним використання навіть хірургічного варіанту ТЕ – складного і малосумісного з технологією виробництва. Так, компанія Hermitage Genetics, у 2011 р. повідомила про успішну хірургічну трансплантацію 29 реципієнтам 560 ембріонів, одержаних від високоцінних свиноматок після їх осіменіння спермою термінальних кнурів – також із найвищим індексом племінної цінності. У подальшому ембріопересадки продовжили і, попри високу вартість, компанія планує поставити цю процедуру на серійну основу, що дасть можливість швидко донести генетичний прогрес до покупців у всьому світі. Зокрема, передбачається використання мобільних лабораторій для проведення операцій безпосередньо біля ферми покупця високопродуктивної генетики [1].

Так само при розробленні інноваційних репродуктивних технологій в рамках фундаментальних наукових проектів майже весь приплід одержано з використанням хірургічного або його різновиду мікрохірургічного (лапароскопічного) методів [2-7]). І хоча в останні два десятиліття було запропоновано більш десятка способів НХТ ембріонів свині [8-16], проте і на сьогодні немає підстав вважати проблему вирішеною.

Основною вадою існуючих нехірургічних способів (і причиною їх незатребува-

ності) є нестабільність і непередбачуваність результату ТЕ, а також практична неможливість доставити пул ембріонів безпосередньо у верхів'я маткового рогу.

Рівень опоросів після НХТ сильно варіює – від менше 9% [8] до 70,8% [15]. Так само розмір гнізда може коливатися від критично малого до видової норми. При цьому, майже всі автори підкреслюють відновлення циклів реципієнтами після затримки більшої 22 діб, що очевидно є відображенням загибелі ембріонів в критичні періоди їх розвитку. Так, у досліджах [17] 22% реципієнтів відновили цикли між 19 і 22 днями, у 78% було зареєстровано ультрасонографічно наявність імплантації, але лише 44% з них опоросилося: решта відновила цикли між 22-30 днями і пізніше.

Конкретні причини низького рівня виживання та імплантації пересаджених нехірургічно ембріонів свині ще недостатньо вивчено. Деякі з них можна пов'язати з більшою чутливістю ембріонів свині (порівняно з ембріонами ВРХ та ін. сільськогосподарських тварин) до несприятливих факторів середовища. Але передумовою більшості є, безумовно, анатомічні (а також фізіологічні) особливості репродуктивної системи свиноматки. Звивистий, із хрящуватими «замками» цервікальний канал та довгі, зібрані у петлі маткові роги, створюють не лише перешкоди проникненню знаряддя трансплантації, але й умови для нанесення різного роду ушкоджень матки.

Вже першими групами дослідників було зафіксовано відсутність опоросів у випадках ускладнень з введенням катетера [11,12]; пізніші повідомлення [15,18] підтвердили залежність результатів трансплантації від стану цервікальної проникності (ступеня ригідності цервікса) у реципієнтів. Негативний результат може бути і наслідком травмування ендометрію та витікання у матку крові, ембріотоксичність якої показана [19]. Також відомо, що механічне подразнення рецепторів матки викликає викид простагландину  $F_{2a2}$ , який є специфічним лютеолітичним фактором [20], а отже необережні чи грубі дії або ж деформація матки катетером спроможні привести до відновлення циклу реципієнтом. Про можливість втрат трансплантатів через експульсію з матки внаслідок її подразнення катетером або спонтанної скоротливої активності міометрію, розмір яких, у свою чергу, залежить від фази естрального циклу, свідчать наші попередні дослідження [22,21]. На виживання ембріонів ранніх стадій впливає місце локалізації у матці [23], а отже їх атопічна пересадка або переміщення з однієї ділянки репродуктивного тракту до іншої, зумовлене матковими скороченнями, також матиме наслідком збільшення показників ембріональної смертності.

Однією з важко вирішуваних проблем є доставка об'єкта у верхів'я маткового рогу свині, – а саме цього потребують ембріони найбільш ранніх стадій розвитку і, у першу чергу, одержані *in vitro*. Така ж потреба виникає при осіменінні малими спермодозами, зокрема – сексованої сперми. Розроблення технік глибокої внутрішньоматкової (*deep intrauterine*) трансплантації ембріонів (ГВМТЕ, DIU ET) та глибокого внутрішньо маткового осіменіння (ГВМО, DIU AI) і повідомлення про їх успішне застосування [15,24,25,26], здавалось би відкриває дорогу широкому запровадженню інноваційних репродуктивних технологій у свилярство. Як знаряддя DIU ET [15,24], а також DIU AI [25,26] було запропоновано доволі складні за конструктивним вирішенням катетери, зокрема обладнаний ендоскопом. Однак, спроби іншої групи дослідників застосувати подібну, комерційно доступну техніку в умовах ферми були малоефективними; наводяться докази, що причина перегулів – травмування репродуктивних шляхів свиноматок [27,28,29].

Той факт, що до сьогодні DIU-техніки так і не знайшли свого місця в індустрії свилярства, а натомість провідні компанії галузі зорієнтовані на застосування удосконаленого хірургічного (лапароскопічного) способу, свідчить про невирішеність цієї проблеми та необхідність подальшого пошуку як причин невдач, так і шляхів вирішення проблеми.

Отже, одним із резервів зниження втрат і поліпшення рівня приживлення трансплантованих ембріонів може бути усунення негативних чинників, джерелом яких є сама техніка і процедура НХТ, недостатньо обґрунтовані з позицій анатомії та фізіології свині і розроблення нетравмуючого способу нехірургічної трансплантації. Не-

зважаючи на появу на ринку численних комерційних моделей катетерів, залишається під питанням надійність спроб доставки об'єкта пересадки у верхів'я маткового рогу. Також потребує з'ясування безпечність DIU-процедури та її вплив на зміну (погіршення) умов маткового середовища трансплантованих ембріонів, від чого безпосередньо залежать показники ембріональної смертності, поросності та розміру гнізда у реципієнтів.

Метою даної роботи було оцінити загрози, джерелом яких є власне процедура НХТ у її зв'язку з особливостями анатомії свині, зокрема виявити перешкоди проникненню трансцервікального катетера вглиб маткового рогу, а також ризики ушкодження матки, їх характер і конкретні причини.

**Матеріали і методи.** У статті використано частину даних вже опублікованих [30], та результати і матеріали додатково проведених або раніше неопублікованих досліджень (зокрема фотоматеріали), які було проведено в лабораторії фізіології відтворення і на експериментальній базі Інституту свинарства та Полтавському мясокомбінаті з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

Було досліджено просторові характеристики матки свині та трансцервікального катетера, що його поміщали в її порожнину (5 ізольованих і 5 нативних маток), а також клінічний стан репродуктивного тракту 3-7-денних за статевим циклом свиноматок – умовних реципієнтів, забитих під час (5 гол.) або після (11 гол.) завершення процедури, що імітувала глибоку внутрішньоматкову трансплантацію. У досліджах використовували два типи внутрішньоматкових катетери: стандартний еластичний комерційний катетер довжиною 150 см, та напівжорсткий аналогічного призначення катетер конструкції ІСв УААН.

Об'ємно-просторову конфігурацію матки при напруженні вивчали при наповненні її водою (ізольовані матки) та з використанням пружної сили уведеного катетера (ізольовані та нативні). Відзначали морфометричні дані, наявність спіралізації, кількість та діаметр витків, їх взаємну орієнтацію.

В ізольовані матки катетер вводили на всю довжину рогу під мануальним контролем, «одягаючи» на нього риг ділянка за ділянкою. Піддослідним тваринам – стандартним способом, з використанням зусилля, прикладеного до вільного кінця катетера. Попередньо вводили зовнішній катетер до упору в замки цервікса, а через нього проводили внутрішньоматковий і, дочекавшись фази розслаблення цервікальних м'язів, обережно просували його вглиб матки до повної зупинки (розпочинав злегка пружинити, «віддавати» назад), після чого фіксували відносно зовнішнього. Умовних реципієнтів забивали відразу по введенні та фіксації положення катетера, робили розтин їх черевної порожнини і проводили зовнішнє обстеження стану репродуктивних органів та уведеного катетера. Після цього матку розтинали і досліджували наслідки механічної дії катетера на ендометрій, визначаючи характер і масштаб заподіяних процедурою ушкоджень.

Про характер і ступінь деформація уведеного у матку катетера робили висновок на підставі одержаних експериментальних даних щодо особливостей просторової конфігурації, якої той набував у репродуктивних шляхах свині – таких як кривизна, наявність спіралізації, кількість та діаметр витків спіралі, їх взаємне розміщення, кут атаки стінки рогу переднім кінцем катетера при його просуванні вглиб рогу. При цьому мали на увазі, що вимушена деформація пружного стержня, яким з фізичної точки зору є катетер, є джерелом виникнення сил, що діють на тканини матки і являють собою потенційну загрозу нанесення ушкоджень під час процедури ТЦТ, а також протидіють просуванню катетера вглиб маткового рогу свині.

Наслідки механічної дії катетера на репродуктивний тракт свиней-реципієнтів і травмівний вплив процедури ТЦТ досліджували як шляхом зовнішнього обстеження, так і за результатами розтину матки. Фіксували її просторове положення, характер і ступінь деформації катетером, стан маткової звязки, присутність зовнішніх ознак травмування (сліди розтягнення тканин, ціаноз, видиме порушення цілісності крово-

носних судин). Після цього матку розтинали і визначали наявність, характер і масштаб заподіяних катетером ушкоджень ендометрію та міометрію – сліди подразнення та запалення, розриви кровеносних судин і крововиливи, здавлення і розриви тканини.

Глибину фактичного проникнення катетера у матковий ріг визначали шляхом безпосереднього вимірювання або опосередковано, – шляхом вимірювання довжини залишеного катетером травматичного сліду і її співставлення із довжиною всього рогу. Визначали абсолютну (у сантиметрах) та відносну (у частинах і відсотках довжини відповідного рогу) глибину проникнення у матку голівки катетера.

Одночасно вимірювали довжину введеної у матку частини трансцервікального катетера починаючи від голівки зовнішнього (вагінального) катетера. Глибину фактичного проникнення порівнювали із довжиною введеної у матку відрізка, визначаючи т.ч. величину неефективної частини катетера – абсолютну (у сантиметрах) і відносну (у відсотках).

На підставі аналізу власних та одержаних іншими дослідниками експериментальних даних, з урахуванням елементарних фізичних законів робили висновок про причини і природу виявлених ефектів, очікувану ефективність подібної техніки як засобу доставки пулу ембріонів (або іншого об'єкта) вглиб маткового рогу свині та ступінь безпечності різних її варіантів для реципієнтів. Ці результати слугували матеріалом для обґрунтування напрямків подальшого удосконалення техніки нехірургічної трансплантації ембріонів свині.

**Результати й обговорення.** Проміри матки показали, що довжина рогу по лінії прикріплення маткової зв'язки істотно (у 2-2,5 рази) менша аніж його довжина по великій кривизні, а тому ріг не можна розправити у лінійну структуру: якщо його розправляли по малій кривизні, тоді по великій він утворював складки (фото 1).



*Фото 1. Ріг матки має різні частини рогу з різною великою і малюю кривизною, а тому не може бути виправленим у лінійну структуру*

Коли ж ізольовану матку, звільнену від зв'язки, напружували зсередини шляхом наповнення рідиною (водою), вона скручувалась у спіраль (фото 2). Такий самий ефект викликало і введення на всю довжину рогу внутрішньоматкового катетера (фото 3), що можна було зробити тільки під мануальним контролем.



*Фото 2. Спіральна форма матки після видалення зв'язки*

Такий ріг, з поміщенням у нього катетером, утворював спіраль, що складається із 4-7 витків діаметром 10-13 см. Однак, при збереженні зв'язки, спіраль напруженого

рогу «стягувалась» і набувала ще більш ускладненої просторової конфігурації, за якої її витки прагнули зайняти взаємно-перпендикулярне положення (фото 4).

З фізичних причин, подібна вимушена деформація уведеного в матку пружного катетера вступає у суперечність (і зрештою стає несумісною) із завданням проникнення вглиб рогу: цей процес супроводять зростаючі сили, спрямовані на опір просуванню та на розтягнення тканин.



Кі  
*матку свині (маткову зв'язку відокремлено)*



*уведенні у матковий ріг свині (маткова зв'язка «стягує» кільця спіралі і сама зазнає деформації)*

У дослідах на ізольованій матці у такий спосіб катетер можна було ввести лише в каудальну ділянку рогу, тоді як для більш глибокого проникнення необхідно вручну «одягати» на нього ріг – ділянка за ділянкою, ніби панчохоу.

Це узгоджується з даними, одержаними на забитих по введенні катетера свиноматках. Зареєстрована безпосереднім вимірюванням глибина проникнення катетера у матковий ріг умовних реципієнтів становила від 9 до 38 см (у середньому 26,5 см), або від 1/10 до 1/3 (у середньому 1/4) довжини відповідного рогу. При цьому, значна частина введеного у матку відрізка виявилась неефективною: для гнучкого стандартного катетера – у середньому 53,4% (від 35,6 до 72,8%), а для напівжорсткого – 37,2% (26,9 і 43,6%) його довжини.

У жодній із спроб катетер не досягав ділянки, що відповідала б визначенню *deeper intrauterine*, під яким зазвичай розуміють передню третину рогу. Місцем фактичної локалізації голівки катетера у всіх випадках була каудальна його ділянка неподалік тіла матки (4-а, як виняток 3-тя чверть) що істотно менше очікуваної глибини проникності, яка при середній довжині введеного у матку відрізка 103,2 см (від 87 до 129) теоретично мала б сягати краніальної третини або верхів'я рогу.

Таким чином, існування своєрідного механізму гальмування істотно обмежує глибину проникнення еластично-пружного катетера, просування якого вздовж репродуктивного тракту відбувається за рахунок передачі зусилля прикладеного до його вільного кінця. А отже, ставиться під сумнів і ефективність його застосування як знаряддя доставки ембріонів або малої спермодози глибоко в матку. Натомість, спроби проштовхнути катетер глибше у матковий ріг призводять до збільшення неефективної частини катетера – тобто до збільшення ризиків травмування репродуктивних шляхів.

Дослідження маток, вилучених у забитих реципієнтів виявило характерні, що повторюються від досліду до досліду, ушкодження, а саме:

1. Травми (садна) слизової цервікального каналу, насамперед цервікальних «замків» із крововиливами в слизову, а у частина тварин також у просвіт цервікального каналу (фото 5 і 6). Такі ушкодження виявлено у 87,5% (14 із 16) випадків і, скоріш за все, вони майже неминучі, особливо у молодих тварин, через складний профіль цервікального каналу свині, а також швидко зміну фаз розслаблення і скорочення мус-

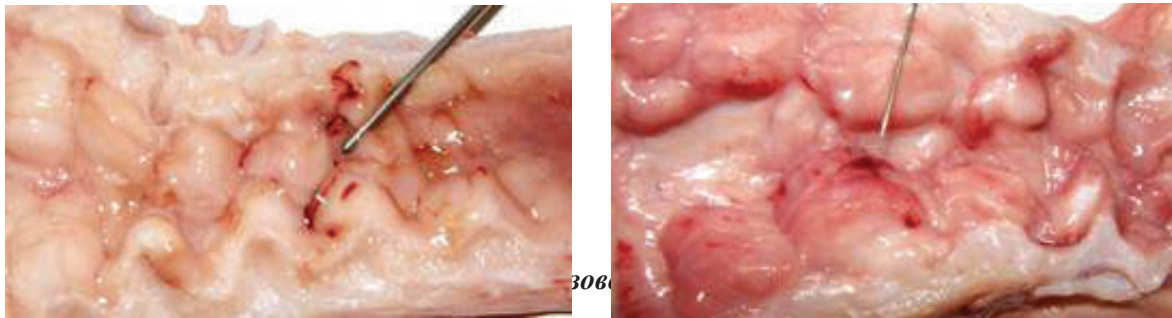
кулатури цервікса.

2. Травматичний слід в ендометрії у вигляді вузької (зазвичай 0,6-1,0 см, у деяких місцях ширшої) і довгої (9-38 см) борозни з розривами слизової або видавленої, із поперечними складками смуги, яка бере початок в області біфуркації і тягнеться вглиб рогу по його великій кривизні, закінчуючись характерною заглибиною – вдавленням від голівки катетера (фото 7-14); Такого роду ушкодження різного ступеня вираженості мали місце у 87,5% (14 із 16) випадків і, очевидно, є звичайним наслідком просування катетера вглиб маткового рогу.

3. Розтягнення та змінання тканин стінки маткового рогу із порушенням цілісності дрібних кровоносних судин (фото 15-16). Виражені сліди таких ушкоджень і ціаноз відповідної ділянки рогу спостерігали у половині дослідів.

4. Великі ділянки гіперемованого ендометрію без чітких меж в області тіла і прилеглої до нього ділянки рогу – місцях їх контакту з катетером (Фото 18). Виявлені у 87,5% (14 із 16) реципієнтів.

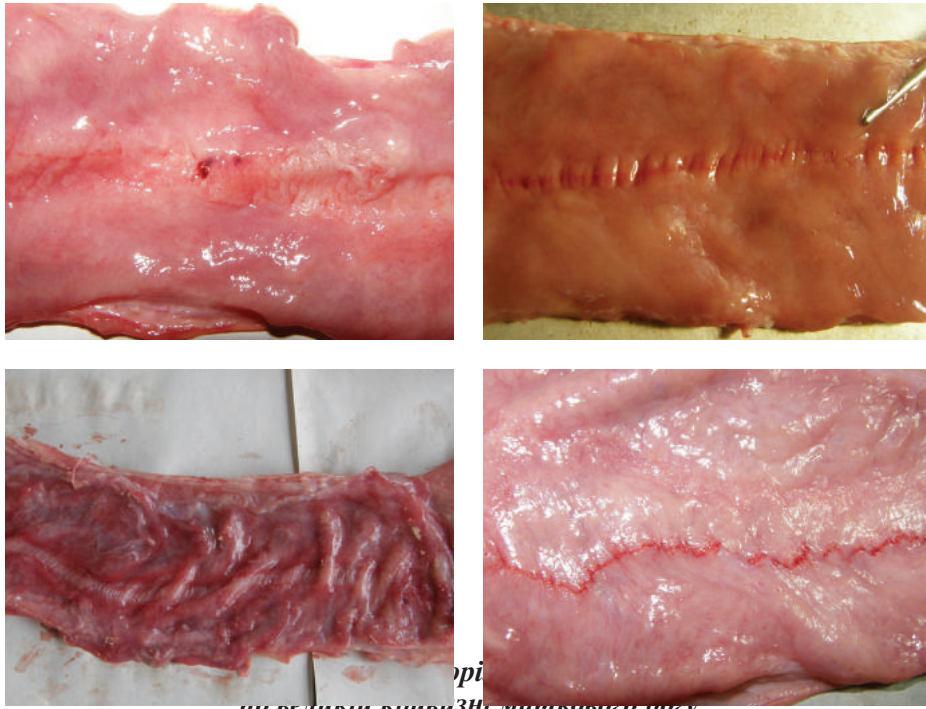
Щоб з'ясувати походження і безпосередні причини виявлених різновидів ушкоджень, слід взяти до уваги анатомічний фактор, а у ряді випадків ще й особливості фізіології свині, а також врахувати картину розподілу фізичних сил, що виникають і діють на її репродуктивний тракт при введенні і виведенні катетера.



Так, травмування цервікса має передумовою складний профіль його каналу, що закривається «замками» – хрящуватими виростами, яким відповідають заглибини на протилежній стороні. Але до цього, безумовно, причетні фізіологічні фактори, які визначають стан цервікальної проникності у свині – регулярна, впродовж статевого циклу, зміна стану ригідності цервікса [31,32], моторики матки – чергування хвиль скорочення і розслаблення цервікальних м'язів [33,34], динаміка якої знову ж таки визначається перебігом циклу [18,32,35,36,37,38], а також наявність і кратність попередніх опоросів [18,39] у реципієнта.

Одержані експериментальні дані свідчать про безпосередній зв'язок просторової конфігурації катетера, якої він вимушено набував у матці свині, з її травмуванням, а їх аналіз може вказати на конкретні причини того чи іншого типу ушкоджень репродуктивних шляхів.

Зокрема – дає можливість зрозуміти природу та відтворити механізм виникнення травм що мають вигляд чітко окресленої смуги – видавленої «доріжки» або «борозни» в ендометрії (фото 7-10). Пружна сила прагне розправити спіралізований катетер, притискаючи його до стінки матки по лінії що пролягає по великій кривизні рогу. Саме на цю вузьку полосу ендометрію і спрямовується травмівна дія цієї сили та сили тертя, що виникає під час просування катетера. Отже, травми цього типу є закономірним результатом дії фізичних сил, поява яких (при застосуванні даної техніки ТЕ) «запрограмована» специфічною анатомією репродуктивного тракту свині.



Одним із чинників травмування є передній кінець (голівка) катетера, що атакує стінку рогу під певним кутом, видавлюючи в еластичній стінці заглибину у вигляді «кишені»; його величина залежить від характеристик спіралізації рогу та жорсткості самого катетера. Цей чинник, безумовно, також має відношення до появи травмівних слідів типу «доріжка» або «борозна». Практично кожна «борозна» закінчувалась такою заглибиною – вдавненням залишеним голівкою катетера, де, крім травмування ендометрію, спостерігали навіть розриви шару міометрію (фото 11-14).

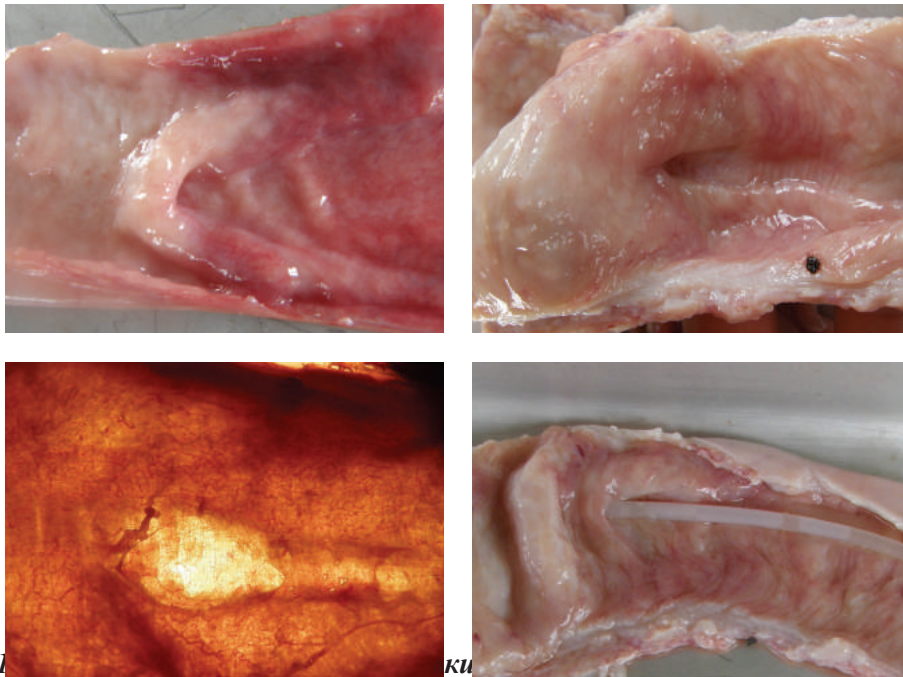


Фото 11-14. Травми стінки рогу, спричинені катетером. Крім ушкоджень ендометрію, видно також розриви шару міометрію

Ще одним закономірним результатом дії зазначених фізичних сил та наслідком розкладання вектору сили, прикладеної до вільного кінця деформованого катетера, є



спостережуване у дослідях розтягнення тканин стінки рогу з порушенням цілісності кровоносних судин (фото 15).

Також під дією сил, що виникають через вимушену деформацію і спіралізацію катетера, зазнавала розтягнення і скручення маткова зв'язка (фото 16).



ін мат  
енні к

Як свідчать результати дослідів, труднощі з уведенням катетера, а також масштаб ушкоджень репродуктивних шляхів спричинених процедурою, наростають зі збільшенням глибини проникнення катетера у матковий ріг. Такий результат є прогнозованим, адже при цьому збільшуються як ступінь деформації катетера, так і розміри ділянки репродуктивного тракту, що з ним контактує та взаємодіє і на яку спрямована зростаюча дія травматичних чинників.

Зокрема, довжина травматичної «борозни» в ендометрії, а також розміри зони розтягнення тканин прямо пов'язані з глибиною проникнення в ріг переднього кінця катетера. Це ж саме стосується ступеня деформації маткової зв'язки, а також, значною мірою, – розміру зони подразнення ендометрію. Одночасно, в міру спіралізації катетера, зростає опір просуванню і все більша частка зусилля, прикладеного до його вільного кінця, має бути затраченою на подолання опору. Зрештою настає момент, коли подальше просування переднього кінця катетера вглиб рогу взагалі стає неможливим, а прикладена сила буде витрачена виключно на деформацію та травмування репродуктивного тракту.

Отже, після зупинки просування вглиб рогу голівки (цей момент було легко пропустити, особливо при застосуванні стандартного еластичного катетера), продовження маніпуляцій приводило лише до посилення травматичного впливу процедури. Як свідчать результати експериментів, подальше введення збільшувало лише неефективну частину катетера, яка додатково деформувала матку, розпираючи ріг зсередини, а у випадку його еластичного варіанта, це також приводило до утворення петель у її порожнині. У частини умовних реципієнтів такі петлі проникали у протилежний ріг, викликаючи подразнення і гіперемію ендометрію (фото 17 і 18).



Ф  
но  
катетера утворила петлі в її порожнині

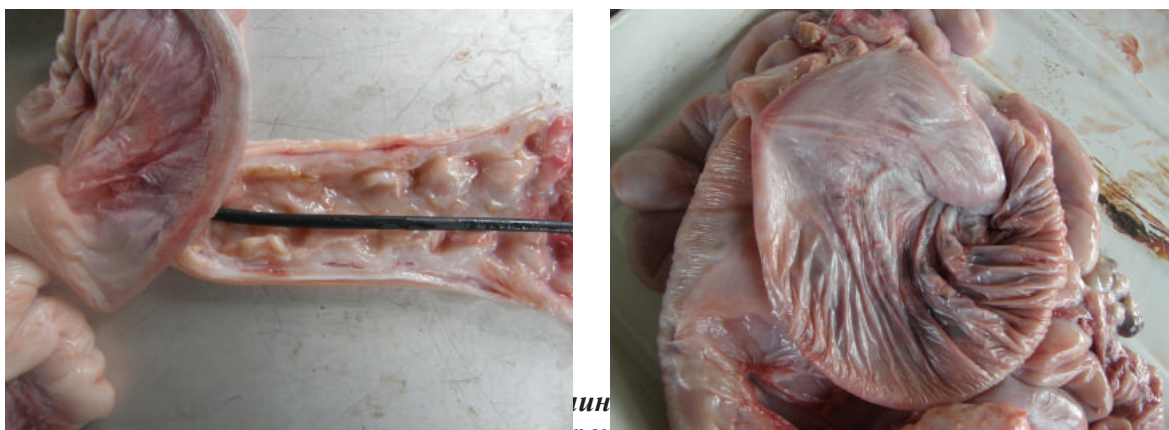
С  
К  
Г-  
М

Травматична дія процедури зберігалась і посилювалась при зворотній операції – виведенні катетера із маткового рогу, у якому він тим міцніше утримувався, чим глибше

був уведений. При цьому включався додатковий механізм ушкодження тканин. Процес виведення розпочинався із основи рогу, в той час як передня частина катетера залишалась закріпленою, розпираючи ріг зсередини. Внаслідок цього стінка рогу, починаючи з прилеглої до тіла матки його частини, ділянка за ділянкою зминалась у складки («гармошку») і здавлювалась. Наочною ілюстрацією даного механізму травмування служать матеріали дослідів на ізольованих матках (фото 19-21). Сліди почергового розтягнення і зминання тканин також добре помітні на матках умовних реципієнтів, забитих відразу по завершенні процедури (фото 22 і 23).



*виведенні катетера із маткового рогу*



*матки умовних реципієнтів*

Виявлені травми здатні істотно вплинути на результат ембріотрансплантації або осіменіння, що узгоджується з повідомленнями про високий рівень відновлення циклів свиноматками після DIU ET [29], а також DIU AI заморожено-відталого [28] та сексованою [27] спермою через травмування репродуктивних шляхів еластичним катетером. Можна припустити, що деякі ушкодження можуть мати наслідком довготривале порушення репродуктивної функції свиноматки, скоротивши період її використання.

**Висновки.** Особливості анатомії свині істотно обмежують можливості застосування еластично-пружного катетера, просування якого по репродуктивному тракту відбувається за рахунок зусилля прикладеного до його вільного кінця.

В міру збільшення глибини введення зростає ступінь деформації (ускладненої спіралізації) катетера, що приводить до швидкого наростання фізичної протидії подальшому просуванню і, зрештою, його зупиняє по проходженні 1/4-1/3 довжини маткового рогу. Це робить катетер неефективним як знаряддя доставки ембріонів чи порції сперми глибоко в ріг матки свині. Одночасно зростає травматичний ефект процедури, а отже й очікуваний негативний вплив процедурних чинників на її результат, а також на репродуктивне здоров'я свиноматки, що нівелює потенційні переваги глибокої внутрішньоматкової трансплантації.

Частковим вирішенням проблеми є поміщення ембріонів (бластоцист) в основу маткового рогу, що мінімізує негативні ефекти і ризики процедури – такий підхід було втілено в розробках Інституту свинарства [13, 40] та японської групи дослідників [41]. В той же час, це не знімає потреби в розробленні ефективної атравматичної техніки ГВМТ, здатної задовольнити вимоги потенційного споживача технології. Однак таке завдання очевидно вимагає інноваційних підходів до вирішення проблеми.

### БІБЛІОГРАФІЯ

1. Чернецкий Г. Племенные свиньи от Hermitage – высокопродуктивная генетика с высоким статусом здоровья!// Тваринництво сьогодні.-2011.-№5.-С.38-43.
2. Berthelot F., Martinat-Botte, Locatelli A., Perreau Ch., Terqui M. Piglets born after vitrification of embryos using the open pulled straw method// Cryobiology.-2000.- 41.-2.-pp. 116-124.
3. Beeb LF, Cameron RD, Blackshaw AW, Higgins A, Nottle MB. Piglets born from centrifuged and vitrified early and peri-hatching blastocysts. Theriogenology.- 2002.- 57.-9.- pp.2155-2165.
4. Misumi K., Suzuki M., Sato S., Saito N. Successful production of piglets derived from vitrified morula and early blastocysts using a microdroplet method// Theriogenology.-2003.-60.-2.-pp.253-260.
5. Cameron R.D. Farrowing rates and litter size following transfer of vitrified porcine embryos into a commercial swine herd// Theriogenology.-2004.-61,-(7-8).-pp.1533-1543.
6. Kurome M., Ishikawa T., Tomii R. et al. Production of transgenic and non-transgenic clones in Miniature pigs by somatic cell nuclear transfer// J.Reprod.Dev.-2008.-54.- 3.-P.156-163
7. Wakai T., Sugimura S., Yamanaka K. et al. Production of viable cloned miniature pig embryos using oocytes derived from domestic pig ovaries// Cloning Stem Cells.- 2008.-10.-2.-3.:249-262
8. Reichenbach H.D., Modl J., Brem G. 1993. Piglets born after transcervical transfer of embryos into recipient gilts // Vet.Rec.- -133.-pp. 36-39
9. Galvin J.M., Killian D.B., Stevart A.N. A procedure for successful nonsurgical embryo transfer in swine// Theriogenology.-1994.-41.-pp.1279-1289.
10. Hazeleger W., Kemp B. Farrowing rate and litter size after transcervical embryo transfer// Reprod.Dom.Anim.-1994-29.-P.481-487
11. Li J., Rieke A., Day B.N., Prather R.S. Technical note: porcine non-surgical embryo transfer// J.Anim.Sci.-1996.-74.-pp. 2263-2268
12. Yonemura I., Fudjino Y., Irie S., Miura Y. Transcervical transfer of porcine embryos under practical conditions// J.Reprod.Dev.-1996.-42,-2,-pp.89-94.
13. Мартиненко Н.А., Коваленко В.Ф., Чирков О.Г., Почерняев К.Ф., Денисюк П.В. Одержано перше порося методом безкровної трансплантації //Тварин.України.-1998.-№7.-с.12
14. Kano M., Ichikawa A., Masuda T., Kobayashi S. Non-surgical porcine embryo transfer by a balloon catheter producing subsequent high farrowing rate// Anim.Sci.Journal.-2000.-71.-6.-pp.579-585.
15. Martinez E.A., Caamano J.N., Gil M.A., Rieke A., McCauley T.C., Cantley T.C., Vazquez J.M., Roca J., Vazquez J.L., Didion B.A., Marphy C.N., Prather R. S., Day B.N. Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs//Theriogenology.-2004.-61.-1.-pp. 137-146
16. Мартиненко Н.А., Коваленко В.Ф., Чирков О.Г., Денисюк П.В., Лобченко В.О., Почерняев К.Ф., Корінний С.М., Вагідова О.О. Нове вітчизняне досягнення у галузі репродуктивної біотехнології// Вісник аграрної науки.-2007.- №9.-С.37-40.
17. Durco-Steverink D.V.B., Smits J.M., Hazeleger W., Merks J.W. Non-surgical embryo transfer in pigs// 5<sup>th</sup> Annual ESDAR Conference, 23-25 November 2000.-p. 35.
18. Чирков О.Г. Фактор цервікальної проникності при трансплантації ембріонів у свиней // Свинарство. – 2012. -№60. –С.90-96

19. Alvero R., Hearn-Stokes R.M., Catherino W.H. et al. The presence of blood in the transfer catheter negatively influences outcome at embryo transfer// *Human Reprod.* 2003.-18.-9.-P.1848-1852
20. Schrick F.N., et al. Prostaglandin F<sub>2α</sub> appears to directly influence early embryonic survival in cattle: would administration of Flunixin meglumine be beneficial during embryo transfer// *Proc. American Embryo Transfer Assoc.*-2000.-P.9-16, Sacramento CA.
21. Мартиненко Н.А., Коваленко В.Ф., Денисюк П.В., Чирков О.Г., Лобченко В.О., Підтереба О.І. Нехірургічна трансплантація в свинарстві: аналіз причин ембріональної смертності, можливість її попередження// *Вісник аграрної науки.-К.*-1995.-11.-с.82-85.
22. Чирков О.Г. Ефективність доставки і втрати сурогатних ембріонів у спробах їх глибокої внутрішньоматкової трансплантації свиноматкам// *Таврійський науковий вісник.-Херсон*, 2011. -Випуск 76 ч.2.-С.354-359
23. Wallenhorst S., Holtz W. Transfer of pig embryos in different uterine sites// *J.Anim. sci.*,-1999.-77.-pp.2327- 2329
24. Cuello C, Berthelot F, Martinat-Botte F, et al. Piglets born after non-surgical deep intrauterine transfer of vitrified blastocysts in gilts// *Anim. Reprod. Sci.*, -2005.-85.-(3-4).-P.275-286
25. Vazquez J.M., Roca J., Gil M.A. et al. 2008. Low-Dose Insemination in Pigs: Problems and Possibilities// *Reprod. Dom. Anim.*- -43 (Suppl. 2).-P.347-354
26. Martinez E.A., Vazquez J.M. Roca J at al. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. *Reproduction*-2002.-23:-P.163-170
27. Bathgate R., Grossfeld D., Susetio M. et al. Early pregnancy loss in sows after low dose, deep uterine artificial insemination with sex-sorted, frozen-thawed sperm// *J.Anm. Sci.*-2008.-104.- (2-4)- P.440-444.
28. Bathgate R, Eriksson BM, Thomson PC, et al. Field fertility of frozen-thawed boar sperm at low doses using non-surgical, deep uterine insemination// *Anim. Reprod Sci.* -2007.- 103.- (3-4).- P.323-35.
29. Bathgate R., Morton K.M., Eriksson B.M., et al. Non-surgical deep intra-uterine transfer of in vitro produced porcine embryos derived from sex-sorted frozen-thawed boar sperm// *Anim. Reprod. Sci.*.-2007.- 99.- P. 82-92
30. Чирков А.Г., Мартыненко Н.А., Денисюк П.В., Лобченко В.А., Вагидова О.О. Травмирование матки катетером при имитации процедуры глубокой внутриматочной трансплантации эмбрионов свиньи // *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Сб. науч. трудов. Горки, БГСХА.* -2012, Вып.15. часть 2.-с.371-376
31. Kunavongkrit A., Karlberg K., Einarsson S. The relationship between plasma levels of estradiol-17β, progesterone and consistency of the cervix in the sow// *Theriogenology.*-1983.-20.-pp.61-67.
32. Scheerboom J.E., Van Adrichem p.W., Taverne M.A. Uterine motility of the sow during the oestrous cycle and early pregnancy// *Vet.Res.Comm.*-1987.-11.-3.-pp.253-269.
33. Квасницкий А.В., Конюхова В.А., Конюхова Л.А. Искусственное осеменение свиней (фракционный метод). -К.: Издат. УАСХН. -1961. -225 с.
34. Квасницкий А.В. Искусственное осеменение свиней.- К.: Урожай, 1983.- 186 с.
35. Мартиненко Н.А. Моторна функція матки свиней та її зв'язок з плодючістю// *Фізіол. журнал АН УРСР.* -1957.-3.-С.53-61.
36. Мартыненко Н.А. Функциональная асимметрия и моторная функция матки свиньи вне периода беременности// *Автореф. дис. канд. биол. наук.* – Киев, 1960. -11с.
37. Langendijk P., Bouwmen E.G., Soede N.M., Taverne M.A. Myometrial activity around estrus in sows: spontaneous activity and effects of estrogens, cloprostenol, seminal plasma and clenbuterol// *Theriogenology.*-2002.-57.-5.-pp. 1563-1577.
38. Чирков О.Г., Денисюк П.В., Мартиненко Н.А. Нехірургічна трансплантація ембріонів свині: динаміка цервікальної проникності // *Вісник Полтавської державної аграрної академії.* – 2003.№ 3-4.-С.33-38.

39. Durco-Severink D.V., Smits J.M., Hazeleger W., Merks J.W. Reproduction results after non-surgical embryo transfer in sows// Theriogenology.-2001.-53.-p.361.
40. Мартиненко Н.А., Чирков О.Г., Денисюк П.В., Лобченко В.О. Спосіб локально фіксованої внутрішньоматкової трансплантації ембріонів свиней Патент UA № 28378 U, Кл. А 61 D 19/04. – пріор. Від 02.07.2007.-опубл. 10.12.2007, Бюл. №20.
41. Nakazawa Y., Misawa H., Fujino Y. et al. Effect of volume of non-surgical embryo transfer medium on ability of porcine embryos to survive to term/ *J.Repr.Dev.*-2008.-54/-1.-P.30-34.

**Чирков А.Г.** Ограничения и риски применения внутриматочного катетера в связи с особенностями пространственной организации матки свиньи

*Из-за нестабильности результатов нехирургический метод трансплантации (НХТ) эмбрионов свиньи не востребован, в то же время хирургический способ находит коммерческое применение. С целью оценки угроз, источником которых является собственно процедура НХТ, исследовали пространственные характеристики маток (5 изолированных и 5 нативных) с введенным в их полость трансцервикальным катетером (К), а также характер и причину поврежденной матки 3-7-дневных по циклу свиноматок, убитых во время (5 гол.) или после завершения (11 гол.) процедуры, имитирующей глубокую внутриматочную трансплантацию (ГВМТ).*

*В матковом роге реципиента К подвергался деформации, приобретая форму спирали, витки которой стремились занять взаимно перпендикулярное положение, чем закладывается физический механизм противодействия его продвижению и предпосылки травмирования матки. Глубина проникновения К в матку реципиентов составляла от 9 до 38 (в ср. 26,5) см или от 1/10 до 1/3 длины рога, была меньше ожидаемой и не соответствовала размерам введенного в матку отрезка – 103,2 см (от 87 до 129), значительная часть которого (от 26,9 до 72,8%) оказалась неэффективной. Ни в одной из попыток не было достигнуто участка, соответствующего определению *deep intrauterine*. У 75% реципиентов (12 из 16) обнаружены характерные повреждения матки, предположительно способные оказать влияние на результат реальной процедуры: 1) травмы (ссадины) «замков» цервикса; 2) травматический след в эндометрии в виде узкой (0,6-1,0 см), и длинной (9-38 см) борозды по большой кривизне рога, заканчивающийся характерным углублением от головки катетера; 3) растяжение и измятость стенки рога; 4) обширные участки гиперемированного эндометрия в местах контакта с К. Масштаб повреждений возрастал с увеличением глубины проникновения К в матковый рог.*

*Т.о. речь идет о существовании своеобразного механизма ограничения глубины проникновения К и связанного с ним механизма травмирования репродуктивного тракта свиноматки, нивелирующих потенциальные преимущества ГВМТ. Частичным решением проблемы является помещение эмбрионов (бластоцист) в основание маточного рога, что сводит к минимуму негативные эффекты и риски, процедуры. Это не снимает потребности в разработке эффективной нетравмирующей техники ГВМТ, способной удовлетворять требованиям потребителей технологии. Но решение этой задачи видимо требует инновационных подходов.*

*Ключевые слова: свиноматка, глубокая внутриматочная трансплантация, внутриматочный (трансцервикальный) катетер, травмирование матки.*

**O. H. Chyrkov.** Limitations and risks of applying intrauterine catheter in connection with peculiarities in space organization of pig uterus

*Because of instability of results, nonsurgical method of pig embryo transfer (NST) (HXT) is not inquired, at that time when surgical mean finds commercial application. In order to estimate threats, the source of which is the NST procedure, it was studied space characteristics of the uterus (5 isolated and 5 native) with introduced transcervical catheter (K), and also the characters and causes of uterine injuries day 3 to 7 by cycle sows, slaughtered during (5 heads) or at the end (11 heads) of procedure, that imitated deep intrauterine transfer (DIUT).*

*In uterine horn of the recipient, the catheter get deformed, formed in spiral, convolutions of which moved into mutual perpendicular position what create physical mechanisms for counteraction its advancement and the preconditions for uterine injuries.*

*The depth of catheter penetration into uterine horn of recipients was from 9 to 38 cm (26.5 cm on the average) or from 1/10 to 1/3 of the horn length. It was lesser than expected and did not correspond to the size of length introduced in the horn – 103.2 cm (from 87 to 129), significant part of which (from 26.9 to 72.8 %) occurred ineffective. In any of the attempts, it was not reached the site which corresponds the definition of deep intrauterine. In 75% recipients (12 of 16), it was found character injuries of uterine, which have ability to impact on the results of really procedure: 1) traumas of cervix locks; 2) trauma tracks in endometrium in the form of narrow (0.6–1.0 cm) and long (9–38 cm) furrow on big curvature of the horn, which ends by character hollow made by catheter head; 3) distension and local deformation of the tissues of uterine horn walls; 4) big segments of endometrium filled with blood in the places of a contact with a catheter. A scale of the injuries increased with an increase of a depth of catheter penetration into uterine horn.*

*Whether we can say about existence of original mechanism for restriction of catheter penetration and bounded with it mechanism of making traumas for reproductive tract of sow what levels potential advantages of DIUT. A part of the problem decision is placing of embryos (blastocysts) into the base of uterine horn what minimize negative effects and risks of the procedure. It does not abolish the need of working out effective not trauma technique of DIUT which is able to meet requirements of technology consumer. However, such task obviously require to apply innovation approaches to resolve the problem.*

*Key words: sow, deep intrauterine transfer, intrauterine transcervical catheter, injuring of uterus.*