

Если «пробирка» не идет на фермы...

Виктор МАДИСОН

Любовь МАДИСОН, кандидаты биологических наук

Лаборатория репродуктивных технологий ООО «Чебомилк»

Окончание. Начало в №1

Сегодня импорт зарубежного племенного материала остается вынужденной необходимостью (чтобы наши производители мяса и молока не теряли в показателях продуктивности скота). Помимо собственных радостей за прекращение импорта племенных ресурсов, способствовать этому могут и зарубежные страны: например, прекратить пускать к себе импортеров. С другой стороны, потеря зарубежного рынка уже не страшна, если будет наконец закончена реформа организации племенного дела в животноводстве.

Проблемы ЭКО

ЭКО (экстракорпоральное оплодотворение) в разведении животных служит лишь эффективным инструментом совершенствования российского поголовья и без реформирования постсоветской системы ведения племенной работы не сможет решить проблему самообеспечения страны племенными ресурсами. А вот применение ТЭ (трансплантация эмбрионов) в племенной работе в породных ассоциациях скота вполне способно помочь с импортозамещением, как это произошло в развитых и развивающихся странах, например, в Бразилии. Применение техники *in vitro* будет способствовать запуску в ускоренное воспроизводство ранее завезенного зарубежного племенного скота.

Когда-нибудь нашим продвинутым молочным и мясным «королям» придется столкнуться с проблемами, сопровождающими ЭКО на производстве, и научиться их решать или аккуратно обходить. Одна из таких проблем — гигантизм плода, то есть развитие синдрома LOS (large offspring syndrome) после пересадки эмбриона-ЭКО. Еще десять лет назад эмбриологам было ясно: несбалансированные по каким-то ингредиентам среды или неосторожные манипуляции с зародышем (например, инъекция сперматозоида в цитоплазму ооцита — ИКСИ)

могут привести к уродливому гигантизму плода.

«...Природа снова и снова преподносит сюрприз. Синдром большого потомства (LOS), его физиология развития означает, что фенотипические параметры плода часто намного превышают норму веса при рождении для конкретной породы... Но в первые дни мы не знали ни почему, ни как,.. никто еще даже не догадывался, какой разрушительный «айсберг» скрывался за пределами поля зрения... Требуется большая осторожность с учетом последствий при проведении таких процедур, как например интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов, которые могут изменить эпигенетическое регулирование плода» (McEvoy T.G., 2013).

Вот почему пересаженные эмбрионы, выращенные без квалифицированного «ухода», способны преподносить сюрпризы заказчикам эмбриотрансфера. По-видимому, плод «в пробирке», не получая необходимых биологически активных веществ и заложенных природой сигналов, бунтует и в прямом смысле слова идет вразнос. Хотя проблема LOS изрядно помучила зарубежных эмбриологов, число случаев развития этого синдрома в последнее время удалось свести к минимуму (до 5%) за счет корректировки состава эмбриональных сред и режима термостатирования.

И того, и другого, и еще сексированного семени

Сегодня ученые-эмбриологи ведут дискуссии, сравнивая два метода получения эмбрионов: естественного выращивания в матке до недельного возраста после МОТЭ («множественная овуляция» и ТЭ) *in vivo* и вне организма (ЭКО *in vitro*). Анализируют экономическую целесообразность и возможности применения этих технологий в племенном животноводстве, в том числе в России.

Помните, как у Б. Заходера: «Тебе чего намазать — меду или сгущенного молока?.. И того, и другого!.. А хлеба можно совсем не давать!». Вот и при ТЭ будем действовать, как смывленный медвежонок.

Такие споры, на взгляд автора, должны предваряться встречным вопросом: а для чего необходим тот или иной метод? Если для применения в небольших фермерских стадах Европы и России, то размах «пробирочной» техники (включая LOS у телят) их владельцев не привлекает. Лишь 21% (36 091) эмбрионов в Европе были получены после аспирации ооцитов (OPU — Ovum Pick Up) в 2022 г., а вот в Бразилии с огромным (224 млн) поголовьем и неисчислимыми стадами эта техника востребована. В стране производство таких эмбрионов составляет 96,5% (430 тыс.) от всех получаемых зародышей, и высаживают их преимущественно свежими, так как массовая криоконсервация «пробирочных» эмбрионов ведет к гибели большинства (70%) из них после размораживания и пересадки.

С одной стороны, техника OPU и ЭКО-выращивание зародышей дают много красивых бластоцист недельного возраста (рис. 1), годных для свежих ТЭ, но имеющих ограничения по воз-

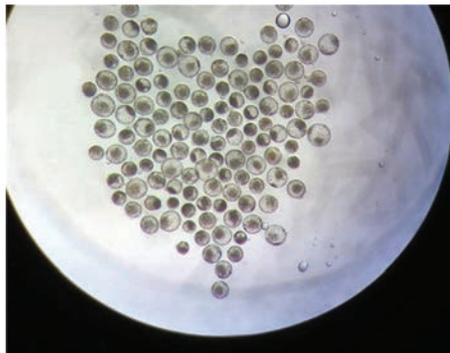


Рис. 1. Сотня эмбрионов *in vitro* под микроскопом (×50) — это 40–50 потенциальных телят

возможности криоконсервации. С другой стороны, производство «традиционных» эмбрионов (МОТЭ) ограничено по числу зародышей, но приживляемость этих «крепких» после оттаивания и трансплантации может достигать 45–50%. Как использовать такое противоречие на практике?

Проще простого: за счет одновременного использования преимуществ обоих методов. Пересаживать реципиентам максимальное количество свежеполученных эмбрионов методом ЭКО и высаживать замороженные и оттаявшие эмбрионы происхождения *in vivo* в отсутствие свежеполученных ЭКО-эмбрионов. То есть эмбриолог с утра (а лучше с вечера) задается вопросом: есть ли в наличии сегодня blastocysts-ЭКО в термостате, готовые для ТЭ? Пересаживаем. Если нет, готовим для пересадки эмбрионы традиционного происхождения из эмбриобанка после оттаивания.

В странах Северной и Южной Америки гигантские по размеру стада обеспечивают обилие низкопродуктивных реципиентов, приводимых в охоту синхронно с аспирацией ооцитов у доноров и массовой закладкой оплодотворенных методом ЭКО яйцеклеток (зигот) на культивирование. Масштабная синхронизация реципиентов в охоте и пересадка им свежеполученных зародышей в день созревания blastocysts (метод ТЕТ — Time ET) напоминает большой отлаженный конвейер по штамповке высокопродуктивного поголовья. А в отсутствие свежеполученных «пробирочных» эмбрионов (когда конвейер встал) проводят «аварийные» пересадки оттаявших эмбрионов производства *in vivo*, которые имеют отличный уровень приживляемости. Пе-

ресадка и тех, и других эмбрионов сопровождает использование сортированной по полу спермы.

Об этом же свидетельствует статистика. В мировом эмбриотрансфере ЭКО в 2021 г. сохранялась тенденция преимущественной высадки свежеполученных эмбрионов (58,5%) и наоборот, эмбрионы, полученные *in vivo*, после извлечения большей частью подвергались замораживанию и пересаживались оттаянными (60,5%).

«Бразильский Твикс»: два в одном

Впервые в России конвейерную схему работы (ТЕТ) двух лабораторий *in vitro* и *in vivo* в одной программе ТЭ применили бразильские специалисты в стадах компании «Мираторг» в 2015–2019 гг., и автор об этом уникальном опыте производства и пересадки 133,7 тыс. эмбрионов (!) сообщил («ЖР», 2018, № 11).

Только в одном 2017 г. телкам-реципиентам «Мираторга» было пересажено почти 28 тыс. эмбрионов, полученных с помощью ЭКО, которые обеспечили рекордный годовой показатель ТЭ не только для РФ, но и для Европы — 50 тыс. пересадок. Получилось, что российско-бразильские эмбриологи вставили старушке Европе биотехнологическую шпильку, от которой ее результаты в ТЭ *in vitro* достигли рекордного показателя впервые за многолетнюю практику учета (рис. 2).

Система пересадки эмбрионов в «Мираторге» предполагала использование обоих методов трансплантации для достижения оптимальной приживляемости зародышей: в 75–80% случаев высаживали свежеполученные с помощью ЭКО эмбрионы, а в 20–25% — оттаявшие эмбрионы МОТЭ (*in vivo*). Такая спаренная техника применения эмбрионов двух видов производства и их трансплантация позволили избежать низких результатов стельности при пересадке оттаянных эмбрионов-ЭКО. Когда свежеполученные эмбрионы ЭКО ко дню трансплантации не успевали «дозреть», а реципиенты в наличии были — в дело шли ранее замороженные эмбрионы-МОТЭ из банка-хранилища.

Успехи Бразилии как лидера мировой биотехнологии размножения и дружелюбно настроенной по отношению к России страны дают повод сравнить: Бразилия при равных с Россией тратах на научные исследования (1,1% от ВВП) уже более 20 лет остается лидером в мире по производству эмбрионов-ЭКО, причем эти достижения увязаны с программой борьбы против бедности крестьян (!), для которых и выращивают «в пробирке» их будущих коров-кормилиц голштинской породы, а реципиентами служат доморощенные животные породы нелор (рис. 3) — такие родные, но малопродуктивные аборигенки.

Бразильский феномен показателен еще и тем, что из элитарной ЭКО-тех-

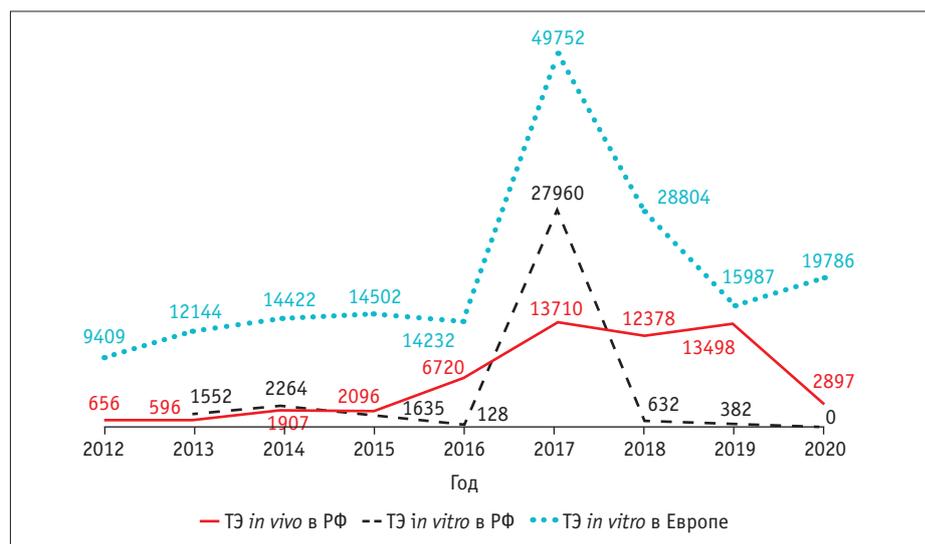


Рис. 2. Шпилька для ЕС: российско-бразильский показатель эмбриотрансфера позволил РФ занять второе место в Европе по ТЭ *in vitro* и поднять ее общие показатели в 2017 г. до рекордных. Динамика ТЭ в РФ и странах Европы, количество пересадок эмбрионов

нология получения приплода полтора десятка лет назад стала доступной для обычных скотовладельцев, в том числе и за счет дешевой цены «пробирочного» эмбриона. Элитарным способом получения высокопродуктивных животных в Бразилии теперь считают закупку живого скота, которую могут себе позволить лишь богатые латифундисты.

Идея: «пробирку» — в массы

Но не все так просто, как кажется. Автор активно участвовал в агитпроме на тему «пробирку» — в массы!» Как мог призывать шире использовать новую красивую технологию, ратовал за рог избытка дешевых эмбрионов и телят, за новую идею в биотехнологии воспроизводства. И для этого были основания: пример результатов лихих бразильских «пробирочников», растущая статистика использования ЭКО в странах Северной и Южной Америки и, в конце концов, опыт успешных пересадок американских эмбрионов-ЭКО в ООО «Чебомилк» («Агроинновации», 2022, № 1).

«Ах какая техника, какая техника! Мне б такую», — думают директора племпредприятий под впечатлением от возможностей метода ТЭ *in vitro*. Затем следуют большие вложения в оснащение лабораторий ЭКО и разочарование. И виновата не «пробирка», а наше во многом поверхностное отношение к тонкой биотехнологии зарождения жизни, ожидание чудес от ее применения.

Мало потратиться на оборудование, главное — обучить эмбриологов высокого полета. Для ускорения процесса можно пригласить зарубежных специалистов (как поступили в «Мираторге»), но с условием передачи опыта, навыков и секретов работы с недельными зародышами. Сделать наработку биотехнологии размножения субсидируемой и привлекательной для руководителей предприятий и фермеров: в конце концов, «племенное золото» и то, как оно блестит, — это вклад в престиж государства.

Если суммировать, для того, чтобы обзавестись «пробирочными» методами на ферме, должны быть выполнены пять условий:

- найден источник генетически ценных эмбрионов — доноры с высокими племенными качествами;



Рис. 3. Теленок голштинской породы, полученный в результате ТЭ, рожден от реципиента породы нелор, штат Алагоас, Бразилия (фото «IVB»)

- привлечены или обучены эмбриологи-биотехнологи, тоже «голубых» кровей, прошедшие стажировку в аналогичных центрах репродукции;
- создано большое постоянно пополняемое стадо реципиентов под свежие пересадки эмбрионов-ЭКО;
- вложены средства в запуск лаборатории — конвейера производства и ТЭ;
- проведена соответствующая государственная политика, как, например, в Бразилии в виде создания научно-производственных объединений (НПО), стимулирующих внедрение новых технологий и погашающих часть рисков от их применения.

В период освоения будет полезно начать с традиционной техники МОТЭ, не такой капризной, как ЭКО. Еще год-два уйдет на погружение коллектива «в тему», а уж потом стоит ждать приемлемых результатов от применения ЭКО.

С отъездом из России бразильцев ТЭ методом ЭКО в последние несколько лет приносит неудачи, которые, на взгляд автора, происходят не оттого, что идея ЭКО-ТЭ дурна, а оттого, что ее заказчики к «пробирочной фифе» не считают нужным отнестись по-королевски (для этого прежде самому необходимо стать «королем»). Не готовы объективно оценить возможности и сложности производства эмбрио-

нов-ЭКО и, если решение принято, — потрясти мощной. А эмбриологам-«ухажерам» надо дорасти до уровня молекулярной эмбриологии в искусственном плодоемкости, понять ее состав и подобрать наиболее оптимальные высокомолекулярные соединения, питающие ранний эмбрион. Не кое-как и подешевле, а основательно и в полном объеме следовать требованиям современных разработок техники ЭКО.

А пока те немногие предприятия России, которые пытались заниматься «пробиркой» в животноводстве (иногда довольно успешно), не найдя поддержки государства и рынка заказчиков, перестали вкладывать в нее средства. Вспомним добрым словом первопроходцев российской «пробирки»: ООО «Бетагран-Липецк» (2016–2019), «Ион-Сервис» (Москва, 2017–2018), «Мираторг» (Брянск, 2015–2019). О некоторых из них уже писали («ЖР», 2018, №5, №11). Вот **таблица**, опубликованная в одном из номеров, с нашими «пробирочными» героями.

Они честно и самоотверженно пытались поставить на поток биотехнологию *in vitro*, сделать ее доступной для российских животноводов. Их бы энтузиазм в то время подкрепить подключением к системе финансирования, подобной бразильским НПО, где каждый участ-

Российский феномен эмбриологии *in vitro* в 2017 г.

Производитель	Количество	
	качественных эмбрионов	пересадок
ООО «Бетагран-Липецк»	3344	1562
ООО «Ион Сервис»	3452	3398
ООО «Мираторг»	23000	23000*
Всего в России	29796	27960

* С участием «*in vitro* Brasil»



Рис. 4. Профессор А.В. Квасницкий (второй справа в нижнем ряду) у входа в НИИ свиноводства (фото предоставлено его женой — Н.А. Мартыненко)

ник (включая государство) вкладывает в идею ТЭ свои 33%. Но не случилось. Если бы пять лет назад Министерству сельского хозяйства РФ, структурам ВИЖ или «Сколково» удалось подхватить эту народную инициативу, мог бы состояться российский феномен *in vitro*.

Возможности ТЭ *in vitro*: будь готов!

В отличие от техники производства семидневных эмбрионов *in vivo*, когда организм матери сам заботится о будущем зародыше и часть процедур по его извлечению и оценке может быть выполнена «на коленках» и в приспособленных условиях фермы, техника ЭКО и выращивания эмбрионов *in vitro* на порядок сложнее. Рекомендаций много, рецептура разнообразная, одним эмбриологам помогает один прием, другим — другой, но все обычно недоговаривают о составе сред. Иногда в освоении ЭКО выручает интуиция и опытные наставники, иногда — стажировка за рубежом.

Каждый «гуру» в эмбриологии становится успешным по-своему и, конечно, должен следить за успехами мировой ЭКО-индустрии.

Кстати, бразильцы в «Мираторге» тоже не стали делиться своими секретами выращивания ЭКО-эмбрионов и имели на это право. Собственные разработки и выбор приоритетов в средах — это ноу-хау каждого предприятия. Даже рядовой техник искусственного осеменения выполняет свои небольшие ритуальные действия (не прописанные в руководствах), которые дают приличный результат. Вот и биотехнологам в животноводстве (и, вероятно, в медицине) нужна своя российская технология ЭКО, выращивания и криоконсервации эмбрионов, подкрепленная отечественным производством сред и инструментов для эмбриологических работ в ветеринарии и медицине, которые во многом схожи.

На первой неделе жизни эмбрионы крупного рогатого скота и человека развиваются в однотипных средах,

только человеческие на двое-трое суток раньше достигают возраста дифференцировки тканей. На этом сходство не заканчивается: взять для примера ксенотрансплантацию в свиноводстве, которая позволяет поставлять медицинским учреждениям органы свиней, и уже есть опыт по трансплантации больным людям почек, печени и даже сердца! Органы этого животного как нельзя лучше подходят человеку («Наука и жизнь», 2023, № 9).

В листы ожидания донорского сердца, почек, легких или печени сегодня включены тысячи больных, но лишь у 10% из них есть шанс дожидаться трансплантации из-за нехватки донорских органов. К примеру: новые почки в РФ ждут, 6,5 тыс. человек, кроме этого, на диализе находится более 60 тыс. граждан России («Известия», 25.11.2022). С помощью ксенотрансплантации эту проблему можно будет быстро решить. По-видимому, на биотехнологов-репродуктологов свиней в ближайшее время появится повышенный спрос, а при лечебных центрах трансплантологии возникнут свинофермы по выращиванию генномодифицированных свиней.

Нелишним будет вспомнить, что отправной точкой для развития эмбриологии и ксенотрансплантации в свиноводстве стала первая в мире пересадка эмбрионов свиньи, выполненная в 1950 г. советским профессором А.В. Квасницким из Полтавы (рис. 4), которого можно назвать пионером отечественной ТЭ. Наш исторический приоритет плюс генетические модификации эмбрионов свиньи — и генномодифицированные поросята будут к услугам спасительной медицинской трансплантологии.

Российским эмбриологам-биотехнологам, чтобы не выпасть из тренда мировой ТЭ, следует сообща прилагать и создать отечественную технологию ЭКО *in vitro*, включая методы криоконсервации. Выбрать из имеющегося арсенала самую передовую технологию и инструменты, опробовать и запатентовать свои среды и приемы, не надеясь на импортные культуральные среды, которые завтра могут оказаться под запретом. Тогда и идея применения ЭКО-ТЭ на фермах не покажется такой трудноосуществимой.

ЖР

Чувашская Республика

Фото предоставлены авторами