



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **95869** (13) **C2**
(51) **МПК (2011.01)**
A61D 19/00
A61K 38/24 (2006.01)
A61K 31/137 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ СТИМУЛЯЦІЇ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У ОВЕЦЬ В АНЕСТРАЛЬНИЙ ПЕРІОД

1

2

(21) a201010316

(22) 25.08.2010

(24) 12.09.2011

(46) 12.09.2011, Бюл.№ 17, 2011 р.

(72) ЛОБАЧОВА ІРИНА ВІКТОРІВНА

(73) ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА СТЕПОВИХ РА-
ЙОНІВ ІМ.М.Ф.ІВАНОВА "АСКАНІЯ-НОВА" НААНУ
- НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ СЕЛЕКЦІЙНО-
ГЕНЕТИЧНИЙ ЦЕНТР З ВІВЧАРСТВА

(56) US 4980166, 25.12.1990.

RU 2071352 C1, 10.01.1997.

RU 2136310 C1, 10.09.1999.

UA 46282 U, 10.12.2009.

UA 73794 C2, 15.09.2005.

UA 22361 A, 30.06.1998.

UA 30621 A, 15.12.2000.

Bondioli K.R. et al.: "Induction of estrus and
superovulation in seasonally anestrous ewes",
Theriogenology, 1982, 18, Issue 2, P. 209-214.

Топурко З.С. "Біотехнологічні методи стимуляції
статевої охоти і багатоплідності овець з викорис-
танням біологічно активних речовин". Авторефе-
рат дисертації на здобуття наукового ступеня кан-
дидата сільськогосподарських наук. Львів-2008.

ФСГ. Состав, форма выпуска, фармакологическое
действие, дозы и способ применения. [Он –лайн].
Знайдено в інтернет [Знайдено 17.06.2011] <URL:
<http://web.archive.org/web/20071117173155/http://www.veterinarka.ru/content/view/1648/61/>>

Lamond D.R. et al.: "The biological assay of follicle-
stimulating hormone in hypophysectomized immature
mice", J. Endocrin. (1966), 34. 365-376.

Gemzell C. A. et al.: "The clinical use of pituitary
gonadotrophins in women", J. Reprod. Fert. (1996)
12. 49-64.

Lunenfeld Bruno "Historical perspectives in
gonadotrophin therapy", J. Human reproduction
update, 2004, Vol. 10, No. 6, pp.453-467.

Rexroad C.E. "FSH injection and intrauterine
insemination in protocols for superovulation of ewes",
Journal of animal science, 1991, 69:246-251. Знай-
дено в інтернет. [Знайдено 17.06.2011]
<URL:<http://jas.fass.org/content/69/1/246>>

(57) Спосіб стимуляції суперовуляції у овець в
анестральний період, що включає в себе обробку
тварин протягом 12 діб речовиною гестагенної дії,
яку вводять у складі вагінальних песаріїв у дієвій
дозі, і фолікулостимулюючим гормоном, який
ін'єктують шестиразово, починаючи з 11-ої доби
після встромлення песаріїв з гестагеном з інтер-
валом 12 годин у загальній дозі 25 Арморовських
Одиниць, який відрізняється тим, що за 5 діб до
введення песаріїв з гестагеном встромляють у
піхву поролонові губки, до яких додана речовина
епінефрин у кількості 30 мг/тварину і які вилучають
при встромленні песаріїв з гестагеном, а також
роблять тваринам пресакаральну новокаїнову бло-
каду 10 мл 1 %-ним розчином новокаїну на нульо-
ву, п'яту і десятю добу дії гестагенної речовини.

Винахід належить до сільського господарства,
зокрема до відтворення певних генотипів овець
методом трансплантації ембріонів. Винахід вико-
ристовується при стимуляції множинної овуляції
(суперовуляції) у овець-донорів ембріонів в анест-
ральний період.

Трансплантація ембріонів є біотехнологічним
методом прискореного розведення бажаних geno-
типів тварин, суть якого полягає у перенесенні
ранніх зародків із статевих шляхів однієї тварини у
статеві шляхи іншої тварини, де вони розвивають-
ся до пологів. Для збільшення кількості ембріонів,
які можна отримати за одну процедуру вилучення,

тварин піддають обробці гормональними препара-
тами, в результаті чого в її яєчниках одночасно
овулюють декілька фолікулів. Таким чином, прово-
кується множинна овуляція (суперовуляція). Вівці
належать до тварин з сезонним типом відтворен-
ня, що проявляється зменшенням чутливості до
гормональної стимуляції в анестральний період.

Відомий спосіб US5162306 "Composition and
method for producing superovulation in mammal", за
яким виділений із гіпофізу ссавців або синтезова-
ний за рекомбінантною технологією ФСГ вводять
восьмиразово з інтервалом між ін'єкціями 12 го-
дин. Недоліком цього способу є те, що при цьому

(13) **C2**

(11) **95869**

(19) **UA**

не враховується репродуктивний статус тварини, в результаті чого від 20 % до 40 % тварин не реагують на гормональну обробку, що збільшує вартість отриманих ембріонів і знижує ефективність методу.

Доведено, що рівень суперовуляторної відповіді позитивно корелює з кількістю дрібних антральних фолікулів на яєчниках на початку обробки фолікулостимулюючими агентами [Brebion P., Congnie C., Proc. 5th Mtg. Ass. Eur. Trans. Emb. (AETE), 1989, 106 (abst); Veiga-Lopez A. et al., Theriogenology, 2005, 63, 1973-1983]. Способи збільшення кількості дрібних фолікулів на початку застосування ФСГ є шляхом збільшення ефективності гормональної стимуляції суперовуляції.

Відомий спосіб збільшення рівня реагування на гормональну стимуляцію суперовуляції, за яким тварин під час обробки фолікулостимулюючими препаратами піддають додатковій обробці сумішшю вітамінів [Шеремета В.І., автореф. дис. д-ра с-г. наук, Біла Церква, 1999]. Недоліком цього способу є недостатня ефективність і відсутність стабільності дії.

Відомий спосіб збільшення ефективності стимуляції суперовуляції у овець, за яким тваринам щоденно протягом 10 діб перед застосуванням ФСГ ін'єктують антагоніста гонадотропін-релізінг-гормону (Гн-РГ, 0,5 мг/добу, "Antralix-Europeptides"), що сприяє зниженню рівня "базального" ЛГ в організмі і попереджає атрезію дрібних фолікулів [Brebion P. et al., Ana Zoot, 1992, 41, 333-337].

Відомий спосіб збільшення ефективності стимуляції суперовуляції у тварин WO1995/016459 "Controlled superovulation method for female cattle undergoing prolonged anoestrus, anoestruation method and superovulation kit", за яким тварин піддають пролонгованій обробці агоністами Гн-РГ (Buserelin, Hoechst), що обумовлює десенсибілізацію гіпофізу до ендогенного Гн-РГ і індукування таким чином глибокого анеструсу, внаслідок чого на момент наступного застосування ФСГ дрібні фолікули є неатрезованими. Недоліком двох означених способу є необхідність тривалих (від 10 до 14 діб) щоденних ін'єкцій препаратів, що збільшує застосування ручної праці і стресове навантаження на тварин.

Відомий спосіб збільшення ефективності стимуляції суперовуляції у ссавців WO1991/010449 "Drug for improving the reactions of the ovary and the production of ova and embryos in domestic mammals in connection with biotechnological embryo transfer", за яким передбачено введення препарату з антиінгібіном під час обробки ФСГ для усунення негативної дії домінантного фолікула на дрібні фолікули. Недоліком цього способу є труднощі отримання і завищена вартість чистого інгібіну та антитіл до нього.

Відомий спосіб збільшення проліферативної активності яєчників US2005/0143788 "Treatment of female fertility conditions through modulation of the autonomic nervous system", за яким за рахунок зміни співвідношення активності ланцюгів вегетативної нервової системи (ВНС) досягається стимуляція формування додаткових фолікулів, і за яким

корекцію статевої активності і запліднювальності здатності самиць ссавців проводять ініціюванням зміни співвідношення загальної або місцевої активності симпатикотропного або ваготропного ланцюгів ВНС шляхом електричної стимуляції нервових центрів ВНС або множинної ін'єкцій фармакологічних препаратів, які включають епінефрин, норепінефрин, опіоїди, альфа і бетаагоністи, преднізолон, ангіотензини, блокатори натрієвих та магнієвих каналів, кокаїн, амфітамін, ефедрин, допамін, допутамін та інші. Недоліком способу є орієнтованість його застосування на псових, а також відсутність реакції суперовуляції у тварин.

Вагінальні песарії, які вводять у піхву для створення підвищеної концентрації гестагенів в організмі, можуть подразнювати стінки піхви і викликати таким чином перезбудження її механорецепторів. Відомий спосіб зменшення збудження еферентних та аферентних нервових волокон шляхом застосування пресакральної новокаїнової блокади за Ісаєвим С.Т. [Плахотин М. В., Спр. по вет. хирург., М.: Колос, 1977].

Відомий спосіб ініціювання статевої активності у овець шляхом витримки їх у умовах скороченого світлового дня [Yeates N.T.M., Nature, 1947, 160, 4065]. Необхідною умовою такого способу є створення 5-годинного перепаду між початковою і кінцевою тривалістю освітлення. Недоліками такого способу є його тривалість, необхідність залучення великих приміщень, сезонна обмеженість застосування, а також є відсутність реакції суперовуляції у тварин.

Прототипом винаходу є спосіб стимуляції суперовуляції у овець в анестральний сезон за Bondioli K.R. et al: "Induction of estrus and superovulation in seasonally anestrus ewes" (Theriogenology, 1982, 18, Issue 2, P. 209-214), за яким тварин піддають 12-денній дії внутрішньовагінальних песаріїв, які містять речовину гестагенної дії медроксипрогестерон, і наступній обробці фолікулостимулюючим гормоном, який ін'єктують шестиразово, починаючи з 11 доби від початку встромлення песаріїв з гестагеном з 12-годинним інтервалом у загальній дозі 24 мг в еквівалентах Арморовського стандарту. Використання цієї схеми дозволяє отримувати реакцію суперовуляції у овець у анестральний період. Недоліком цього способу є значний відсоток тварин, які не реагують на гормональну обробку в анестральний сезон, висока варіабельність реакції, низька якість отриманих ембріонів у частини вівцематок, що знижує ефективність і практичність методу трансплантації. Додаткові ін'єкції лютеїнізуючого гормону на початку індукованої статевої охоти не покращували статево результати застосування схеми-прототипу.

В основу винаходу поставлено задачу збільшити ефективність гормональної стимуляції суперовуляції у овець в анестральний період, що позначається збільшенням кількості позитивно реагуючих тварин, рівня суперовуляторної реакції і кількості вилучених ембріонів.

Поставлена задача вирішується тим, що перед застосуванням гестагенних і гонадотропних гор-

монів тварин піддають 5-денній дії епінефрину, який вводять у складі вагінальних поролонових губок, для імітації природного зростання статевої активності, яке має місце у овець напередодні настання естрального сезону, а також проведення триразової пресакральної новокаїнової блокади під час дії вагінальних песаріїв з гестагеном для зменшення негативної дії останніх на механорецептори піхви.

Для вирішення задачі були проведені відповідні дослідження. У ході цих досліджень встановлено, що обробка вівцематок у анестрального період препаратом епінефрин, який вводили у піхву у складі поролонових губок (5-30 мг/тварину), обумовлює посилення інтенсивності фолікулогенезу в яєчниках, що позначається збільшенням кількості наявних антральних фолікулів на 10-30 % на 10 добу після вилучення губок. Стимулюючий ефект епінефрину був більшим при дозі останнього 20-30 мг і проявлявся лише в анестральний сезон, тоді як в естральний період його дія була різноякісною. Підвищення дози епінефрину вважали недоцільним з можливості місцевого некрозу тканин піхви високими дозами катехоламінів. Крім того, було встановлено, що проведення триразової пресакральної блокади 0,5-1 %-ним розчином новокаїну під час дії вагінальних песаріїв з гестагеном в анестральний і естральний сезони обумовлює збільшення на 31-54 % кількості овуляцій у тварин, які позитивно реагують на гормональну стимуляцію

суперовуляції, проти показників схеми-прототипу, але зменшує частку позитивно реагуючих тварин.

На основі результатів досліджень була розроблена схема гормональної стимуляції суперовуляції у овець в анестральний період, яка полягає у застосуванні препарату нейротропної дії епінефрину (30 мг/тварину) перед застосуванням вагінальних песаріїв з гестагеном, і триразової пресакральної блокади 1 %-ним розчином новокаїну під час дії вагінальних песаріїв з гестагеном. При визначенні ефективності пропонованої у весняні місяці вівцематок двох груп - дослідної (схема обробки за розробленою схемою) і контрольної (схема обробки за прототипом) - піддавали 12-ти денній дії піхвових песаріїв, які містили речовину гестагенної дії моноацетат мепрегенолу (30 мг/тварину). Ін'єкції ФСГ починали за добу і закінчували через 36 годин після вилучення песаріїв з гестагеном і здійснювали з 12-годинним інтервалом протягом трьох діб у загальній дозі 25 Арморовських Одиниць. У тварин дослідної групи обробці гестагеном передувала 5-денна дія вагінальних поролонових губок (1,5 × 1,5 × 2,5 см), всередину яких додавали по 30 мг епінефрину ("Sigma", E1635), а на 0-у, 5-у і 10-у добу від дня встромлення песаріїв з гестагеном тваринам проводили пресакральну блокаду 1 %-ним розчином новокаїну по обидва боки від анусу у загальній кількості 10 мл. Узагальнені результати досліджень наведені у таблиці.

Група тварин	n	Реагували суперовуляцією, %	Кількість жовтих тіл на одну оброблену тварину, шт./гол.	Кількість вилучених зародкових клітин на одну оброблену тварину, шт./гол.	
				всього	якісних
дослідна	4	100	11,0±2,05	5,5±1,45	1,25±1,09
контрольна	5	40	3,6±0,97	1,2±0,65	0,2±0,22

Таким чином, обробка тварин в анестральний сезон за пропонованим способом сприяє зростанню кількості позитивно реагуючих на гормональну стимуляцію суперовуляції тварин на 150 %, кілько-

сті сформованих жовтих тіл у 3,05, кількості вилучених ембріонів у 4,58 разів і покращенню їх якості.