



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41798 (13) U
(51) МПК
A01K 67/02 (2009.01)
A61K 31/07 (2009.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВІДБОРУ КОРІВ-ДОНОРІВ І ТЕЛИЦЬ-РЕЦИПІЄНТІВ

1

(21) u200814844

(22) 23.12.2008

(24) 10.06.2009

(46) 10.06.2009, Бюл. № 11, 2009 р.

(72) ШАРАН МИКОЛА МИХАЙЛОВИЧ, UA, ШАЛОВИЛО СТЕПАН ГРИГОРОВИЧ, UA, АНДРУШКО ОЛЕКСАНДР БОРИСОВИЧ, UA

(73) ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН, UA

(57) 1. Спосіб відбору корів-донорів і телиць-реципієнтів, що включає внутрішньошкірне введення окремих стероїдних гормонів, який **відрізняється** тим, що коровам і телицям внутрішньошкірно у верхній третині шиї після відповідної асептичної підготовки (вистригання шерсті, дезінфекційної обробки) одноразово, окремо вводиться

2

1% розчин прогестерону, 0,1% олійний розчин естрадіолу-дипропінату і 0,05% олійний розчин естрону (фолікуліну) у дозі 0,02 мг/мл.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що функціональний стан яєчників визначають шкірною алергічною реакцією через 25 хвилин після введення стероїдних гормонів, який полягає у візуальному і пальпаторному дослідженні місця введення гормонів на наявність або відсутність потовщення складки шкіри, набряку, почервоніння, поверхневого некрозу, що вказує на окремі патології яєчників, які корелюють з гормональним фоном організму, та визначають придатність тварин до трансплантації ембріонів.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини у

галузі скотарства, зокрема до репродуктивної біотехнології великої рогатої худоби для проведення основних етапів підготовки корів-донорів і телиць-реципієнтів у практиці трансплантації ембріонів та може бути застосований у тваринницьких господарствах різних форм власності, селекційно-генетичних центрах, племінних господарствах з відтворення поголів'я ВРХ.

Основною проблемою для успішного впровадження трансплантації ембріонів у практику виробництва є варіабельність реакції яєчників корів-донорів на суперовуляторну обробку. Лише 30 % корів регулярно дають добру реакцію, а решта тварин взагалі не відповідають множинною овуляцією на введення гормонів (Рябых В.П. Супероуляция - фактор, сдерживающий трансплантацию эмбрионов. Теоретические аспекты возможного решения проблемы. / О мерах по повышению эффективности и улучшению организации более широкого использования биотехнологии в племенном животноводстве // Тез. док. II Респ. науч. - производ. конф. - Львов, 1988, - С.73-74).

Причини такої варіабельності в індексі супероуляції навіть при однакових дозах гонадотропіну поки не з'ясовані.

Відомий спосіб прогнозування результатів супероуляції до гонадотропної обробки оцінюючи функціональний стан яєчників за динамікою вмісту естрадіолу 17-р в крові на 6-7 день статевого циклу та відбір корів-донорів з концентрацією естрадіолу у крові на 6 день - 2,3 нг/мл з подальшим його зниженням на 7 день в 1,5-4,5 рази. (Chagas e Silva, J. Lopes da Costa, L. Robalo Silva. Embryo yield and plasma progesterone profiles in superovulated dairy cows and heifers // Anim. Reprod. Sci. - 2002. - 23, 69 (1-2): 1-8; Свитоюс А.Г., Сергеев Н.И. Результаты гормонального вызывания супероуляции у коров-доноров фоллитропином // Применение трансплантации эмбрионов в селекции с.-х. животных. - Дубровицы. - 1988. - С.23-26; Хилькевич С.Н. Приживляемость эмбрионов при нехирургической пересадке // Животноводство. - 1986. №10. - С.46-47).

Недоліком цього способу є те, що він дозволяє прогнозувати результати супероуляції тільки у визначені дні стадії збудження статевого циклу, що в практичних умовах не зручно.

Відомий також спосіб відбору телиць-реципієнтів за визначенням функції яєчників, який відіграє вирішальну роль у трансплантації ембріонів, оскільки недостатня ретельність такого добору може бути однією з головних причин низької при-

U
(13)
41798
(11)
UA
(19)

живлюваності. Біля 50% реципієнтів не використовують у процесі підготовки телиць до трансплантації через відсутність в яєчниках жовтого тіла, а приживлення ембріонів залежить від якості жовтого тіла реципієнта у день пересадки (Spell A.R., Beal W.E., Corach L.R., Lamb G., Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle // Theriogenology. - 2001. - 15:56(2). - P.287-297.

Недоліком даного способу є те, що між наявністю і ростом жовтого тіла та рівнем прогестерону в крові тварин існує кореляція, тому якість приживлення ембріонів залежить від концентрації цього гормону у крові реципієнта перед трансплантацією.

Найбільш близьким по суті до способу, що заявляється є спосіб прогнозування результатів суперовуляції у корів за рівнем естрадіолу і прогестерону у крові (Смыслова Н.И. Результаты суперовуляции коров-доноров в зависимости от исходного гормонального фона // Трансплантация эмбрионов у крупного рогатого скота. Таллин. - 1986. - С.13-15; Royagi J., Swacuti J., Wachi H. Studies levels of plasma steroid and results of embryo recovery // Japan J. anim. reprod. - 1987. - v. 33. - №4. - P.167-172)

Недоліком вищеописаного способу є те, що він потребує використання лабораторних методів визначення концентрації гормонів в біологічних рідинах, які вимагають значних витрат часу і досить складні для виконання в умовах виробництва.

Заявлений нами спосіб відбору корів-донорів і телиць-реципієнтів шляхом визначення функції яєчників шкірною алергічною реакцією простий, ефективний та доступний для виконання у виробничих умовах, що усуває недоліки перелічених способів.

В основі корисної моделі поставлено завдання створити ефективний спосіб відбору корів-донорів і телиць-реципієнтів, який базується на шкірній реакції тварини при введенні стероїдних гормонів, що є важливим додатковим діагностичним тестом для виявлення патології яєчників у корів і телиць з метою відбору потенційних корів-донорів та телиць-реципієнтів.

Ефективність запропонованого способу відбору корів-донорів і телиць-реципієнтів шляхом визначення функції яєчників шкірною алергічною реакцією полягає у наступному: коровам і телицям внутрішньошкірно у верхній третині шиї після відповідної асептичної підготовки (вистригання шерсті, дезінфекційна обробка) одноразово, окремо вводиться 1% розчин прогестерону, 0,1% олійний розчин естрадіолу-дипропіонату і 0,05% олійний розчин естроу (фолікуліну) у дозі 0,02пг/мл. Через 25хв проводиться клінічне обстеження, що полягає у візуальному та пальпаторному дослідженні місця введення гормонів. При цьому відмічається наявність або відсутність потовщення

складки шкіри, набряк або почервоніння. Поряд з цим проводиться клініко-гінекологічне дослідження визначення функціонального стану яєчників з діагностикою жовтого тіла, фолікулів, а також найбільш поширених патологій таких як фолікулярна та лютеїнова кіста, персистентне жовте тіло і гіпофункція яєчників.

Технічних рішень, які б за сукупністю ознак повністю співпадали з ознаками заявленого способу відбору корів-донорів і телиць-реципієнтів шляхом визначення функції яєчників шкірною алергічною реакцією не знайдено. Це дозволяє зробити висновки про відповідність заявленого технічного рішення критерію корисної моделі "новизна".

У джерелах патентної і науково-технічної інформації не має відомостей про адекватні способи діагностики відбору тварин, для проведення трансплантації ембріонів, алергічним методом визначення функції яєчників. Таким чином заявлене технічне рішення відповідає критерію корисної моделі "винахідницький рівень" та відповідає всім умовам патентної спроможності корисної моделі відповідно статті 7 розділу II Закону України «Про охорону прав на винаходи і корисні моделі» (№1771 - III, 2000р.)

Корисна модель може бути застосований у тваринницьких господарствах різної форми власності, генетико-селекційних центрах, плеєнних господарствах, пов'язаних з відтворенням поголів'я великої рогатої худоби, а тому відповідає критерію корисної моделі «промислово придатність».

Ефективність заявленого способу відбору тварин для проведення трансплантації ембріонів наведена в прикладах конкретного виконання корисної моделі в досліді з вивчення алергічної реакції на введення статевих гормонів коровам і телицям.

Дослідження проведені на коровах української чорно-рябої молочної породи віком 4-7 років, живою масою 450-500кг і на телицях цієї ж породи віком 15-18 місяців, живою масою 350-380кг. Після внутрішньошкірного введення гормонів, клінічного обстеження місця ін'єкції та клініко-гінекологічного дослідження функціонального стану яєчників паралельно проводили визначення концентрації прогестерону, естрадіолу - 17β та естроу в плазмі крові піддослідних тварин імунологічним методом (Резников А.Г. Методы определения гормонов. - К: Наук. Думка. - 1980. - 400с.).

Приклад 1

Аналізуючи результати шкірних реакцій на введення окремих гормонів, слід відзначити, що при персистентному жовтому тілі позитивну реакцію (виражений набряк, потовщення складки шкіри, гіперемія, свербіння, в окремих випадках поверхневі некрози) спостерігали при введенні прогестерону у 80,0% корів та 83,3% телиць, при від'ємній реакції на ін'єкції естрадіолу 88,0 % корів і 91,7 % телиць та фолікуліну відповідно 48,0% та 58,3% тварин, (табл.1; 2).

Таблиця 1

Функціональний стан яєчників і шкірна реакція у корів

Функціональний стан яєчників	Кількість корів	Шкірна реакція на гормони		
		Прогестерон нг/мл	Ест радіол пг/мл	Естрон (фоліку- лін) нг/мл
Персистентне жовте тіло	25	+(20)	-(22)	-(12)
Лютеїнова кіста	15	+(12)	-(11)	+(9)
Фолікулярна кіста	30	-(21)	+(29)	+(20)
Гіпофункція яєчників	30	-(26)	-(22)	-(21)
Жовте тіло	12	+(8)	-(7)	-(5)
Фолікул	10	-(6)	+(6)	+(5)

Таблиця 2

Функціональний стан яєчників і шкірна реакція у телиць

Функціональний стан яєчників	Кількість телиць	Шкірна реакція на гормони		
		Прогестерон нг/мл	Ест радіол пг/мл	Естрон нг/мл
Персистентне жовте тіло	12	+(10)	-(11)	-(7)
Лютеїнова кіста	10	+(8)	-(8)	+(4)
Фолікулярна кіста	25	-(18)	+(23)	+(16)
Гіпофункція яєчників	24	-(20)	-(19)	-(17)
Жовте тіло	18	+(13)	-(12)	-(9)
Фолікул	12	-(7)	+(8)	+(6)

Наявність такої гінекологічної патології як лютеїнова кіста супроводжувалась позитивною реакцією на введення прогестерону в 80,0% корів і 80,0% телиць, фолікуліну в 60,0% корів і 40,0% телиць. Відсутність реакції на естрадіол проявили 73,3% корів та 80,0% телиць. При фолікулярних кістах відмічали позитивні шкірні реакції на ін'єкції естрогенів - естрадіолу 73,3% корів, 92,0% телиць, фолікуліну – 66,7% корів, 64,0% телиць, в той час як вираженої чутливості шкіри на прогестерон не встановлено у відповідно 86,7% корів та 72% телиць.

При жовтому тілі у більшості випадків спостерігали позитивну реакцію на прогестерон 66,7% і 72,2% та негативну реакцію на естрадіол 58,3% і 66,7% і фолікулін 41,7% корів та 50,0% телиць. Однак залежність шкірної реакції від функціональ-

ного стану виражена слабше, ніж при персистентному жовтому тілі і не є закономірною. Аналогічну картину спостерігали при наявності фолікула в яєчнику. У цьому випадку спостерігали позитивну реакцію шкіри на естрадіол 60,0% корів і 58,3% телиць, естрон (50,0%) і (50,0%) та від'ємну реакцію на прогестерон (60,0%) і (66,7%). Найменш інтенсивну шкірну реакцію спостерігали при гіпофункції яєчників. У цьому випадку реакції на введення прогестерону, естрадіолу та фолікуліну були негативними.

Приклад 2

Результати внутрішньошкірних проб значною мірою підтверджено проведеними дослідженнями концентрації стероїдних гормонів у крові піддослідних корів і телиць (табл.3; 4).

Таблиця 3

Вміст статевих гормонів у крові корів

Функціональний стан яєчників	Досліджувані гормони в крові		
	Прогестерон, нг/мл	Естрадіол, пг/мл	Естрон (фолікулін), нг/мл
Персистентне жовте тіло	7,6±1,2	2,3±0,5	0,7±0,03
Лютеїнові кіста	12,2±5,5	3,4±1,5	1,5±0,5
Фолікулярна кіста	1,5±0,5	26,3±4,0	5,6±0,5
Гіпофункція яєчників	1,2±0,05	2,2±0,05	0,4±0,01
Жовте тіло	2,6±0,14	0,9±0,12	0,5±0,08
Фолікул	1,2±0,22	8,6±0,95	3,2±0,26

Таблиця 4

Вміст статевих гормонів у крові телиць

Функціональний стан яєчників	Досліджувані гормони в крові		
	Прогестерон, нг/мл	Естрадіол, пг/мл	Естрон, (фолікулін) нг/мл
Персистентне жовте тіло	5,7±0,92	2,1±0,40	0,6±0,03
Лютеїнові кіста	10,4±4,5	3,2±1,05	1,3±0,60
Фолікулярна кіста	1,6±0,33	17,2±3,35	5,2±0,63
Гіпофункція яєчників	1,2±0,05	2,2±0,05	0,4±0,01
Жовте тіло	2,1±0,12	0,7±0,10	0,5±0,08
Фолікул	1,0±0,22	7,6±0,98	3,4±0,32

При персистентному жовтому тілі спостерігається високий рівень прогестерону ($7,6 \pm 1,2$ нг/мл) у корів та ($5,7 \pm 0,92$ нг/мл) у телиць на фоні низького рівня естрогенів. Лютеїнові кісти супроводжуються аналогічними співвідношеннями досліджуваних гормонів, однак концентрація прогестерону у крові корів була вищою на 60,5%, естрадіолу - на 47,8% та естрону в 2 рази. У крові телиць відповідно 82,4%, естрадіолу на 52,4% та естрону - в 2,2 рази.

Зовсім протилежну картину спостерігали при фолікулярних кістах. Тут концентрація прогестерону у крові корів становила $1,5 \pm 0,5$ нг/мл, що у 5-8 разів менше у порівнянні з кістами лютеїнового походження. У крові телиць відповідно - $1,6 \pm 0,3$ нг/мл, що у 3,5-6,5 разів менше до досліджених показників лютеїнових кіст. Найнижчі кон-

центрації стероїдних гормонів виявлені при гіпофункції яєчників, що підтвердилося відсутністю алергічних реакцій на введення цих гормонів. Слід відмітити, що при інтенсивнішій шкірній реакції співвідношення між естрогенами і прогестероном більш виражене.

Таким чином, порушення продукції статевих гормонів і підвищена чутливість до них відіграють важливу роль в патогенезі функціональних порушень яєчників. В той же час внутрішньошкірне введення стероїдних гормонів може бути важливим додатковим діагностичним тестом для виявлення патологій яєчників у корів і реципієнтів з метою раціоналізації відбору потенційних тварин-донорів та реципієнтів у практиці трансплантації ембріонів.