



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46282 (13) U  
(51) МПК (2009)  
A01K 15/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ІНДУКЦІЇ ПОЛІОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ

1

2

(21) u200907633

(22) 20.07.2009

(24) 10.12.2009

(46) 10.12.2009, Бюл.№ 23, 2009 р.

(72) ШАРАН МИКОЛА МИХАЙЛОВИЧ, ШАЛОВИ-  
ЛО СТЕПАН ГРИГОРОВИЧ, АНДРУШКО ОЛЕК-  
САНДР БОРИСОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН

(57) Спосіб індукції поліовуляції у корів-донорів,  
що включає використання фолікулостимулюючого  
гормону (ФСГ), тривітаміну, лецитину, твіну, який

відрізняється тим, що додатково використовують  
диметилсульфоксид, а введення здійснюють внут-  
рішньом'язово на 8 і 10 дні синхронізованого ста-  
тевого циклу при наступному співвідношенні ком-  
понентів, на 1 голову:

ФСГ	32-50 мг
тривітамін	3-5 мл
лецитин	0,8-1,2 мл
твін	0,1-0,2 мл
диметилсульфоксид	до 10 % концентрації.

Корисна модель відноситься до тваринництва,  
зокрема до репродуктивної біотехнології великої  
рогатої худоби для проведення основних етапів  
підготовки корів-донорів при трансплантації ембрі-  
онів.

Дослідження способу викликання поліовуляції  
у корів скеровані на максимальне одержання  
морфологічно якісних ембріонів (Бугров А.Д. Зна-  
чение генетических и паратипических факторов  
при получении эмбрионов от коров-доноров  
[Текст]: Сучасні методи репродукції сільськогоспо-  
дарських тварин: стан і перспективи розвитку (Буг-  
ров А.Д., Ткачева І.В., Погорєлов А.С. - Матер,  
міжнар. наук-практ. конф. 29-30.01.08. - Харків,  
2008. - С. 76-80). У практичній ембріології за ре-  
зультатами ембріопродуктивності спостерігається  
висока варіабельність. При цьому лише 60% корів-  
донорів реагують поліовуляцією і 60% ембріонів  
від кількості отриманих є життєздатними (Мадисон  
В.В. Полиовуляция коров-доноров - поиск продол-  
жается. Гонадотропины для индукции полиовуля-  
ции [Текст]: Сучасні методи репродукції сільсько-  
господарських тварин: стан і перспективи розвитку  
/ Мадисон В.В., Мадисон Л.В. - Матер, між нар.  
наук.-практ. конф. 29-30.01.08. - Харків, 2008. -  
С.258-260).

Відомий спосіб гормонального стимулювання  
суперовуляції у корів-донорів, який передбачає  
застосування в основному двох гонадотропних  
препаратів: гонадотропін сироватки жеребих кобил  
(ГСЖК) і фолікулостимулюючий гормон (ФСГ).  
(Сергеев Н.И. Руководство по трансплантации  
эмбрионов крупного рогатого скота [Текст]

/Сергеев Н.И., Решетникова Н.М., Абилов А.И. и  
др.Дубровицы. - 2008. - 115 с).

Використання ФСГ для індукції поліовуляції у  
корів-донорів вважається ефективнішим, ніж за-  
стосування ГСЖК, оскільки дає стабільніші ре-  
зультати ембріопродуктивності, швидше прохо-  
дять інволюційні процеси в яєчниках і матці, що  
дозволяє використовувати корів-донорів 2-4 рази  
на рік. (Сергеев Н.И. Руководство по транспланта-  
ции эмбрионов крупного рогатого скота [Текст]:  
/Сергеев Н.И., Решетникова Н.М., Абилов А.И. -  
Дубровицы. - 2008. - 115 с).

Недоліком даного способу індукції поліовуляції  
є те, що застосування ФСГ передбачає багаторазові  
внутрішньо-м'язові ін'єкції (8-10 разів), які ви-  
кликають при обробці тварин додаткові стреси і  
відповідно трудові затрати.

Відомий також спосіб з використання ліпосо-  
мальної емульсії для стимуляції репродуктивної  
функції корів (Сливчук Ю.І. Вплив фолікотропіну і  
«Поліфолу» на окремі показники енергетичного  
обміну в деяких внутрішніх органах статевозрілих  
телиць [Текст]: Біологічні та сільськогосподарські  
науки /Сливчук Ю.І. Аграрний вісник Причорномор'я.  
- Одеса, 2004. - Вип.23. - С167-173.)

Недоліком цього способу є його трудомісткість  
та одержання не завжди високого рівня життєзда-  
тних ембріонів.

Відомий спосіб викликання поліовуляції у ко-  
рів-донорів при трансплантації ембріонів з викори-  
станням комплексного гормонально-вітамінного  
препарату пролонгованої дії у вигляді масляної  
емульсії (Способ вызывания полиовуляции у ко-

UA (11) 46282 (13) U

ров-доноров при трансплантації ембріонів: А.с. № 1729352 СССР, МКИ А 01К67/02 /И.И. Розгони, Б.В. Смолянинов, Т.Я. Чорненький, А.М. Бучко, Д.Э. Кобулей, Ю.И. Сливчук (СССР). - № 4351449/15; Заявл. 25.11.87; Опубл. 30.04.02, Бюл.№ 16.-8с).

Недоліком даного способу є те, що він потребує використання дорогих препаратів імпортного виробництва.

Найбільш близьким аналогом є спосіб викликання поліовуляції у корів-донорів при трансплантації ембріонів (Ковалів Л.М., Розгони 1.1. Спосіб викликання полі овуляції у корів-донорів при трансплантації ембріонів. Патент на винахід №52613. Опублікований 15.01.2003. - Бюл. № 1.

Недоліком його є те, що він передбачає застосування у складі препарату цілого комплексу дорогих біологічно активних компонентів, які вводяться з ФСГ. Крім того, при позитивному поєднанні вітамінів з ФСГ недоцільно застосовувати екзогенний естрадіол дипропіонат, оскільки ФСГ стимулює виділення ендogenous естрадіолу.

Заявлений нами спосіб індукції поліовуляції у корів-донорів застосуванням комплексу ліпосома - ФСГ є простим, ефективним та доступним для виконання у виробничих умовах, що усуває недоліки перелічених способів.

В основу корисної моделі було поставлено завдання розробити спосіб викликання множинної овуляції у корів-донорів при багаторазовому їх використанні для одержання позитивних і стабільних результатів ембріопродукції тварин-донорів.

Поставлене завдання вирішується шляхом використання ФСГ, тривітаміну, лецитину, твіну, до якого додатково вводять диметилсульфоксид при наступних співвідношеннях компонентів на 1 голову: ФСГ - 32-50мг, тривітамін - 3-5мл, лецитин - 0,8-1,2мл, твін - 0,1-0,2мл, диметилсульфоксид - до 10% концентрації.

Ефективність запропонованого способу індукції поліовуляції у корів-донорів полягає у наступ-

ному: проводиться дворазова ін'єкція препарату ФСГ у складі ліпосомальної емульсії, яка включає тривітамін, лецитин, твін, диметилсульфоксид. Застосування комплексу ліпосома-ФСГ для індукції множинної овуляції у корів забезпечує одержання стабільніших результатів ембріопродукції (4 доброякісні ембріони) протягом усього періоду використання постійних донорів.

Технічних рішень, які б за сукупністю ознак повністю співпадали з ознаками заявленого способу індукції поліовуляції у корів-донорів шляхом застосування фолікотропіну у складі ліпосомальної емульсії для забезпечення одержання максимальної кількості морфологічно якісних ембріонів протягом усього періоду використання постійних донорів не знайдено. Це дозволяє зробити висновок про відповідність заявленого технічного рішення критерію винаходу (корисної моделі) «новизна».

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.

Ефективність заявленого способу індукції поліовуляції у корів-донорів наведена в прикладах конкретного виконання корисної моделі в дослідях з вивчення впливу фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) з ліпосомальною емульсією на рівень множинної овуляції та якості ембріопродукції у корів-донорів.

Для дослідження в СП «Україна-Лайвсток» було відібрано 63 корови чорно-рябої голштинізованої худоби віком 4-7 років і сформовано 4 групи: дві контрольні і дві дослідні. Гормональну індукцію множинної овуляції проводили, використовуючи препарат «ФСГ-п» (США) за традиційною 4-денною схемою, яка передбачає дворазові щоденні ін'єкції. Коровам-донорам дослідних груп індукцію суперовуляції проводили дворазовим введенням препарату «ФСГ-п» з використанням ліпосомальної емульсії, (табл. 1).

Таблиця 1

Схема проведення досліджень

Дні циклу	Дози ФСГ та групи тварин			
	50мг		32мг	
	контрольна	дослідна	контрольна	дослідна
	Дворазове введення естрофану в сумарній дозі 1000мкг клопростенолу з інтервалом 11 днів.			
0-й	статева охота (спостереження за проявами)			
8-й	«ФСГ-п» 8мг і 8мг	«ФСГ-п» 25мг	«ФСГ-п» 5мг і 5мг	«ФСГ-п» 16мг
9-й	«ФСГ-п» 7мг і 7мг	-	«ФСГ-п» 4мг і 4мг	-
10-й	«ФСГ-п» 6мг і 6мг+2мл естрофану	«ФСГ-п» 25мг + 2мл естрофану	«ФСГ-п» 4мг і 4мг+2мл естрофану	«ФСГ-п» 16мг+2мл естрофану
11-й	«ФСГ-п» 4мг і 4мг	-	«ФСГ-п» 3мг і 3мг	-
12-й	Штучне осіменіння			
13-й	Штучне осіменіння			
19-й	Вимивання ембріонів і їх морфологічна оцінка			

Спосіб виготовлення препарату.

Для виготовлення ліпосомальної емульсії у хімічну склянку з поділками вносять 3-5мл тривітаміну, 0,8-1,2мл 10% ефірного розчину лецитину, 0,1-0,2мл твіну 80. Дистильованою водою об'єм доводять до 10 мл і додають диметилсульфоксид до 10% концентрації. Вмістиме хімічної склянки перемішують скляною паличкою і диспергують на ультразвуковому диспергаторі за частоти 35кГц впродовж 3хв. до утворення тонкої ліпосомальної емульсії білого кольору. В іншій хімічній склянці 32-50мг ФСГ розчиняють у 5мл фізіологічного розчину.

Введення в препарат диметилсульфоксиду забезпечує кращу проникливість складових компонентів препарату та проявляє антибактеріальні властивості.

Комплексний гормонально-вітамінний препарат готують розчиненням ФСГ готовою емульсією гормонально-вітамінного препарату перед введенням або при диспергуванні на диспергаторі УЗДН-1 при частоті 35кГц впродовж 5с

Штучне осіменіння корів-донорів проводили триразово, цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки, використовуючи подвійну дозу сперми бугаїв голштинської породи згідно із закріпленням.

Нехірургічне вимивання ембріонів проводили, згідно методики (Буркат В.П. Довідник з репродуктивної біотехнології великої рогатої худоби [Текст] /Буркат В.П., Кравців Р.И., Влізло В.В. і співав. За редакцією Шаловила С.Г. - Львів.-2004.-150 с).

Дворазова ін'єкція препарату «ФСГ-п» в обох досліджуваних дозах у складі ліпосомальної емульсії викликає множинну овуляцію у корів-донорів

на рівні стандартної схеми введення (табл. 2). Рівень поліовуляції у корів усіх піддослідних груп був приблизно однаковий, за винятком дослідної групи з дозою ФСГ 50мг, де кількість жовтих тіл на 12,4% менша, ніж у контрольних тварин.

За кількістю одержаних ембріонів на донора суттєвих розбіжностей між групами тварин, аналогічно як і за відсотком позитивних донорів не спостерігалось. Якісна характеристика ембріонів значно відрізнялася у різних групах тварин при вивченні високих доз ФСГ. Кількість морфологічно якісних ембріонів у корів дослідної групи була на 11,7% меншою, ніж у контрольних тварин.

Кількість дегенерованих ембріонів і незапліднених яйцеклітин у донорів дослідної групи відповідно на 21,8% та 22,6% була меншою порівняно з контрольними коровами.

При застосуванні низьких доз препарату «ФСГ-п» у складі ліпосомальної емульсії суттєвих відмінностей між групами корів-донорів за кількістю морфологічно якісних, дегенерованих ембріонів та яйцеклітин не встановлено, що вказує на можливість використання комплексу ліпосома-ФСГ для індукції поліовуляції.

Кількість доброякісних ембріонів при дозі «ФСГ-п» 32мг була меншою на 16,3% - 21,2%, ніж при високих дозах ФСГ на фоні збільшення кількості дегенерованих ембріонів на 45,7% - 72,2% та яйцеклітин на 18,5% - 52,0%.

Отже, використання комплексу ліпосома - ФСГ забезпечує дозовану дію гормону на функцію яєчників, що проявляється одержанням достатньої кількості морфологічно повноцінних ембріонів і проявляє поліовулюючу дію, як при максимальній (50мг), так і мінімальній (32мг) дозах ФСГ.

Таблиця 2

Рівень множинної овуляції та якість ембріопродукції корів-донорів

Показники	Дози ФСГ та групи тварин			
	50мг		32мг	
	контрольна	дослідна	контрольна	дослідна
Кількість корів-донорів, n	14	16	18	15
Прореагувало суперовуляцією, n-%	12-85,7	13-81,2	14-77,8	11-73,3
Рівень суперовуляції	10,58±1,32	9,38±0,92	8,07±0,73	8,36±0,95
Одержано ембріонів, всього	88	94	106	81
в т.ч. доброякісних, n-%	63-71,6	61-64,9	58-54,7	43-53,1
дегенерованих, n-%	16-18,2	21-22,3	32-30,2	26-32,1
яйцеклітин, n-%	9-10,2	12-12,8	16-15,1	12-14,8
Розподіл ВІДМІННИХ ембріонів, %	48,9	40,4	34,9	37,0
Одержано ембріонів на донора, всього M±m	7,33±0,62	7,23±0,86	7,57±0,78	7,36±0,67
доброякісних, M±m	5,25±0,43	4,69±0,38	4,14±0,35	3,91±0,33
дегенерованих, M±m	1,33±0,12	1,62±0,14	2,29±0,19**	2,36±0,21*
яйцеклітин, M±m	0,75±0,09	0,92±0,08	1,14±0,10*	1,09±0,09

Примітка: статистична вірогідність контрольних і дослідних груп залежно від дози ФСГ \*-p<0,05, \*\*-p<0,01.

Індукція поліовуляції у корів-донорів за допомогою ФСГ у складі ліпосомальної емульсії дозволяє при менших стресових навантаженнях та трудових затратах забезпечити задовільні результати ембріопродукції.

Введення препарату ФСГ у складі ліпосомальної емульсії забезпечує точнішу синхронність овуляції за рахунок продовження тривалості дії гонадотропіну.