

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

**БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ВЕРГЕЛЕС ОЛЕКСАНДР ПЕТРОВИЧ

УДК 57.089.3:636.2.082.4:615.3(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

**УДОСКОНАЛЕННЯ СХЕМИ СТИМУЛЯЦІЇ
СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ ЗА ВИКОРИСТАННЯ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН**

03.00.20 – біотехнологія
сільськогосподарські науки

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.П. Вергелес

Науковий керівник:

Шеремета Віктор Іванович,

доктор сільськогосподарських наук, професор

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Вергелес О.П. Удосконалення схеми стимуляції суперовуляції у корів-донорів за використання біологічно активних речовин. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Міністерство освіти і науки України, Київ, 2020; Білоцерківський національний аграрний університет, Міністерство освіти і науки, України Біла Церква, 2020.

Дисертаційна робота присвячена вдосконаленню схем гормональної підготовки корів-донорів ембріонів шляхом пошуку та розробки нового біологічно активного препарату, що дає змогу збільшити вихід придатних ембріонів без додаткового застосування гормональних препаратів у схемах суперовуляції. Теоретично та експериментально обґрунтовано ефективність застосування розробленого препарату метаболічного типу дії на основі солей бурштинової і глютамінової кислот Стимулін-Вет, що підтверджено об'єктивними критеріями біотехнологічних і біохімічних досліджень. Наукова новизна розробки підтверджена патентом на винахід «Препарат для стимулювання овуляції та спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації з його допомогою» (91772 Україна, МПК А61К31/194, 2010).

Дисертаційна робота виконана у лабораторії біотехнології тварин кафедри генетики, розведення та біотехнології Національного університету біоресурсів і природокористування України та на базі ВП НУБіП «Великоснітинське НДГ ім. О.В. Музиченка», ВП НУБіП «Ворзель» та ВАТ «Пуца Водиця» Києво-Святошинського району Київської області.

Відбір корів у групу донорів ембріонів проводили за результатами трансректального пальпаторного дослідження розміру та форми яєчників за методом В.І. Шеремети (Шеремета В.І., 2005) та за експрес-методом Г.Н. Калиновського та Г.І. Підпригори (Калиновський Г.Н., 1983; Підпригора Г.І., 1984).

Суперовуляцію у корів стимулювали введенням препарату гонадотропіну сироватки жеребих кобил (ГСЖК–PMSG) Folligon® («INTEVET», Нідерланди) та простагландину $F_{2\alpha}$ Естрофан®. Вивчено вплив препарату Стимулін-Вет на ефективність суперовуляції. Дози і кратність ін'єкцій екзогенних гормонів та препарату Стимулін-Вет різнилися залежно від серії досліджень.

У першій серії дослідів коровам контрольної і дослідної груп на 10 добу статевого циклу вводили гонадотропін СЖК Folligon® в дозі 2,5 тис. МО, на 12 добу – 2 мл на одну голову простагландину $F_{2\alpha}$ Естрофан® та на 2 добу коровам дослідної групи – біологічно активний препарат Стимулін-Вет в дозі 50 мл на одну голову.

У другій серії дослідів коровам-донорам дослідної і контрольної груп на 10 добу статевого циклу вводили гонадотропін СЖК Folligon® у дозі 3000 МО, через 48 і 72 години – 2 мл на одну голову простагландину $F_{2\alpha}$ Естрофан®. Коровам дослідної групи на 8, 9, 10, 11 добу статевого циклу ін'єктували препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл на голову.

У третій серії дослідів суперовуляцію у корів стимулювали введенням на 10 добу статевого циклу гонадотропіну СЖК Folligon® в дозі 3000 МО і ін'єкціями через 48 і 72 годин простагландину $F_{2\alpha}$ Естрофан. Препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл на голову коровам дослідної групи вводили на 10 і 11 добу статевого циклу.

В усіх серіях дослідів штучне осіменіння корів-донорів проводили цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки, тричі, деконсервованою спермою одного бугая, в кожній дозі якої не менше 30 млн. спермій з прямолінійно-поступальним рухом. Сперму аплікували в тіло матки.

Вимивання ембріонів проводили на 7 добу статевого циклу нехірургічним методом за загальноприйнятою методикою.

Якість ембріонів визначали за морфологічними ознаками за 4-бальною системою оцінок: «відміні», «добрі», «задовільні», «непридатні». За стадією розвитку 7 добові доімплантаційні ембріони розділяли на ранню морулу і морулу, ранню бластоцисту, бластоцисту та пізню бластоцисту. До придатних відносили

ембріони з оцінкою «відміні» та «добрі», у яких стадія розвитку відповідала їх віку.

За результатами першого досліду за одноразового введення препарату Стимулін-Вет у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан встановлено, що показник рівня овуляцій на одного реагуючого донора у дослідних тварин на 24,1% вищий порівняно з контрольними. Ефективність вимивання ембріонів у дослідних тварин менша на 8,7% порівняно з контрольною групою. Порівняльний аналіз вимитих ембріонів за якісною оцінкою свідчить, що у дослідній групі порівняно з контрольною «відмінних» ембріонів менше на 57,4%, однак «добрих» ембріонів більше на 29,6% ($p < 0,05$), а «задовільних» – більше у п'ять разів. У корів дослідної групи порівняно з контрольною отримано майже у чотири рази більше ембріонів на стадії морули, ніж на стадії бластоцисти.

При введенні збільшеної до 3000 МО дози ГСЖК Folligon® і після чотирикратного введення препарату Стимулін-Вет у другій серії дослідів встановлено, що у донорів дослідної групи рівень суперовуляції був вищий на 23,9% та кількість неовульованих фолікулів на 63,2% меншою порівняно з контролем ($p < 0,05$), що, очевидно, можна вважати позитивним фактом дії препарату Стимулін-Вет. У корів дослідної групи рівень виходу придатних ембріонів становив 100 %, що у 1,9 разів переважав цей показник у контролі.

У третій серії дослідів у тварин дослідної групи рівень суперовуляції після введення на 10 і 11 добу статевого циклу по 20 мл препарату Стимулін-Вет зріс на 27,9% порівняно з контролем ($p < 0,05$). При цьому неовульованих фолікулів у донорів дослідної групи було достовірно менше на 77,8% ($p < 0,05$), ніж у тварин контрольної, що свідчить про позитивний вплив препарату Стимулін-Вет.

Порівняльний аналіз отриманих результатів досліджень свідчить, що найвищий рівень овуляції і найменше число неовульованих фолікулів зареєстровано у третій серії дослідів, коли суперовуляцію стимулювали введенням ГСЖК Folligon® у дозі 3000 МО на 10 добу статевого циклу і PGF_{2α} Естрофан® у дозі 2 мл на голову на 12 і 13 добу та введенням тваринам дослідної

групи на 10 і 11 добу статевого циклу препарату Стимулін-Вет по 20 мл на голову.

Доведено, що введення біологічно активного препарату Стимулін-Вет коровам-донорам у період морфофункціональної активації статевої системи екзогенним гонадотропіном СЖК Folligon® обумовлює зміни активності трансаміназ АсАТ, АлАТ і ЛФ, що свідчить про інтенсифікацію білкового і енергетичного обмінів. У крові корів обох груп після введення гонадотропіну показники активності трансфераз збільшились порівняно з початком циклу: у контрольних корів показник активності АлАТ і АсАТ зріс на 21,24% і 4,7% ($p < 0,05$) відповідно, тоді як у дослідних корів після чотирикратного введення препарату Стимулін-Вет наряду з гонадотропіном активність АсАТ і АлАТ збільшилась на 12,0 і 11,6% відповідно і знизилась на 7 добу статевого циклу на 10,4% і 3,8% ($p < 0,01$) та виявилась нижчою, ніж у контролі на 3,0% і 6,8% відповідно.

Дворазове ін'єктування препарату Стимулін-Вет на 10 та 11 добу статевого циклу коровам-донорам дослідної групи у третій серії дослідів зумовило на 12 добу зростання активності АсАТ і АлАТ відповідно на 4,7% та 22,6% порівняно з 8 добою циклу і зниження його в кінці дослідів на 1,8 і 1,4 одиниць порівняно з контролем ($p < 0,05$). Активність ЛФ після введення донорам препарату Стимулін-Вет на 12 добу статевого циклу зросла на 10% та 7,5% ($p < 0,05$) порівняно з початком статевого циклу та контрольними тваринами. Отже, у корів-донорів біологічно активний препарат Стимулін-Вет спричиняє збільшення активності трансаміназ та ЛФ, зумовлюючи при цьому пролонгований ефект у зміні їх активності.

Встановлено, що у корів-донорів під час стимуляції росту на яєчниках фолікулів введенням 3000 МО екзогенного гонадотропіну СЖК Folligon® та простагландину F_{2a} Естрофан® спостерігається зменшення концентрації холестеролу, Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ та збільшення вмісту триацилгліцеролу і Х-ЛДНЩ. Нейротропно-метаболічний препарат Стимулін-Вет, введений донорам під час стимуляції суперовуляції, інтенсифікує процеси зменшення вмісту

холестеролу, Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ, не зумовлюючи змін у концентрації Х-ЛДНЩ. У корів-донорів через 48 годин після введення гонадотропіну СЖК між вмістом холестеролу та Х-ЛВЩ спостерігається вірогідний прямий кореляційний зв'язок ($r=0.827$).

Результати експериментальних досліджень використовуються в науковій і навчальній роботі у Національному університеті біоресурсів і природокористування України при вивченні дисциплін «Акушерство, гінекологія та біотехнологія розмноження сільськогосподарських тварин з основами андрології» та «Біотехнологія відтворення сільськогосподарських тварин» студентам за напрямом підготовки «Ветеринарна медицина» і «Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва», а також використані при розробці методичних рекомендацій «Стимуляція суперовуляції у корів-донорів з допомогою ГСЖК спільно з біологічно активним препаратом «Стимулін-Вет»», які затверджені науково-технічною радою Міністерства аграрної політики та продовольства України (протокол № 3 від 03.08.2009 р.).

Ключові слова: корова-донор ембріонів, суперовуляція, нейротропно-метаболічний препарат Стимулін-Вет, гонадотропін СЖК, трансаміази, холестерин.

ANNOTATION

Vergeles O. P. The improvement of scheme of stimulation of donor cow's superovulation by biologically active substances. – The qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation is for a Candidate Degree in Agricultural Sciences, specialty 03.00.02 – biotechnology. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2020; Bila Tserkva National Agrarian University, Ministry of Education and Science of Ukraine Bila Tserkva, 2020.

The dissertation is devoted to improvement of hormone preparation schemes of donor cows' embryos by finding and development of biologically active medication, which gives the opportunity to increase the output of suitable embryos without additional using of hormonal medications in the schemes of polioovulation. The efficiency of using of developed metabolic type of medication based on amber salt and glutamic acid Stimulin -Vet is justified theoretically and experimentally. It's confirmed by objective criteriums of biotechnical and biochemical researches. Scientific novelty of development is confirmed by the patent for the invention «Preparation for induce of ovulation and method of cattle's embryos obtaining for transplantation with the help of it» (91772 Ukraine, MOK A61K31/194, 2010).

Dissertation thesis have been done in the laboratory of animal biotechnology, which belongs to department of animal breeding and genetics in National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine and on the base on separated subdivision of NULES of Ukraine Muzychenko Velykosnitnyzke education and research farm, separated subdivision of NULES of Ukraine Education and Research Farm «Vorzel», open joint-stock company «Puscha Vodytsya» Kyiv-Svyatoshyn district of Kyiv region.

53 cows of Ukrainian Black-and-White dairy breed 4-6 years-old with wet weight 470-560 kg with the highest milk yields 4400-5700kg were selected for the research.

Selections of cows into a group of donor embryos and heifers-recipients were taken after the results of transrectal preparation study of size and form of the ovaries

after the method of V. I. Sheremeta, 2005) and after the express method of N. H. Kalinovskiy and H. I. Pidopryhora (Kalinovskiy H.N., 1983; Pidopryhora H. I., 1984).

The superovulation of cows was stimulated by injection of medication gonadotropin of foal mares PMSG Folligon® («INTERVET», Netherlands) and prostaglandin F_{2a} Oestrophan. It was studied the influence of medication Stimulin-Vet on the efficiency of superovulation.

Doses and frequency of injections of exogenous hormones and the medication Stimulin-Vet were differed depending on the series of studies.

In the first series of studies to the cows of control and experimental groups on the 10th day of the sexual cycle the gonadotropin PMSG Folligon® at a dose of 2500 IU on the 12th day 2 ml per head of prostaglandin F_{2a} Oestrophan and on the 2nd day to the cows of experimental group was injected the biologically active medication Stimulin-Vet at a dose of 50ml per head.

In the second series of studies to donor cows of experimental and control group on the 10th day of sexual cycle was injected the gonadotropin PMSG Folligon® at a dose of 3000 IU, after 48 and 72 hours, 2 ml per head prostaglandin F_{2a} Oestrophan.

The medication Stimulin-Vet was injected at a dose 20 ml per head to the cows of experimental group on the 8th, 9th, 10th, 11th days of sexual cycle.

In the third series of studies the superovulation in the cows was stimulated on the 10th day of sexual cycle by gonadotropin PMSG Folligon® at a dose of 3000 IU, and by injections after 48 and 72 hours of prostaglandin F_{2a} Oestrophan. The medication Stimulin-Vet at a dose of 20 ml per head was injected to the cows of experimental group on the 10th and 11th days of sexual cycle.

In all series of studies, the artificial insemination of donor cows was made three times with an interval of 12 hours by thawed sperm of one bull in the cervical way. The production of embryos was made on the 7th day of sexual cycle by non-surgical method.

The quality of the embryos was determined by morphological features on four points scoring system: «perfectly», «good», «satisfactory», «unsuitable». By the stage of development seven days' the preimplantation embryos were divided into early morula and morula, early blastocyst and blastocyst and late blastocyst.

The fit embryos were the embryos with the «perfectly» point and «good» point in which the stage of development confirm their age. By the results of first experiment by the disposable injection of medication Stimulin-Vet in the scheme of induction of superovulation PMSG Folligon® – PGF_{2a} Oestrophan was installed, that the lever indicator of ovulation per responding donor in the experimental animals is 24% higher compared to control. The efficiency of embryo leaching in the experimental animals was less than 8,7% than in the control group. The comparative analysis of embryo leaching according to the qualitative assessment is that in experimental group compared to control «perfect» embryos less than 57,4%6 however «good» embryos are more than 29,6% ($p < 0,05$), and «satisfactory» – in 5 times. The cows of experimental group compared to control group have more embryos at the stage of murula than at the stage of blastocyst. With the injection of the medication increased to 3000 IU at the dose of PMSG Folligon® and after the four times of injection of medication Stimulin-Vet in the second series of studies was concluded that the donors of experimental group had 23,9% higher level of superovulation and number of non-ovulated follicles was 63,2% less compared to control group ($p < 0,05$) which can obviously be considered as a positive factor of action of the medication Stimulin-Vet. The cows of experimental group had 100% level of the suitable embryos output which is 1,9 times outnumber the index in control group. <

In the third series of studies the level of superovulation in animals of experimental group after the introduction of 20 ml of medication Stimulin-Vet on the 10th and 11th days of sexual cycle was increased to 27,9% compared to control ($p < 0,05$). At the same time the non-ovulated follicles were obviously less than 77,8% in the donors of experimental group than in the animals of control group, which is testifying about the positive influence of medication Stimulin-Vet. The comparative analysis of the obtained research results show that the highest level of ovulation and the least number of non-ovulated follicles are in the third series of studies, when the super ovulation was stimulated by injection of dose of 3000 IU PMSG (Folligon®) on the 10th day of sexual cycle and PGF «Oestrophan» at a dose of 2 ml per head on the 12th and

13th days an introduction of medication Stimulin-Vet 20 ml per head to the animals of experimental group on the 10th and 11th days of sexual cycle.

It's proved, that injection of biologically active medication Stimulin-Vet to the donor cows in the period of morpho functional activation of the genital system by the exogenous gonadotropin PMSG Folligon® causes the changes in activity of transaminase AsAT, AlAT and alkaline phosphatase (AP) which is indicating the intensification of protein and energy metabolism. The indicator of activity of transpheras were increased in the blood of both groups of cows compared to the start of the cycle. The cows of control group had accordingly increased on 21,24% and 4,7% ($p<0,05$) indicator of activity ALAT and ASAT while the cows of experimental group after the four times of injection of gonadotropin Stimulin-Vet had accordingly increased on 12,00% and 11,6% and decreased on 7th day of a sexual cycle on 10,4% and 3,8% ($p<0,01$) the activity AcAT and ALAT. It was lower than in control on 3,0% and 6,8% accordingly. Double-injections of medication Stimulin-Vet on the 10th and 11th days of sexual cycle to the donor cows of experimental group in a third series of studies caused the increasing of ASAt and ALAt on the 12th day accordingly on 17% and 22,6% comparatively to 8th day of cycle and decreasing in the end of study on 1,8 and 1,4 units comparatively to control ($p<0,05$).

The activity of alkaline phosphatase (AP) after the using of medication Stimulin-Vet on the 12th of sexual cycle increased on 10% and 7,5% ($p<0,05$) comparatively with the start of sexual cycle and control animals. So, in donor cows biologically active medication Stimulin-Vet causes increased activity of transaminases and alkaline phosphatase (AP), causes them by prolonged effect in the changing of their activity.

It is defined that during the stimulation of the growth of ovarians of follicles by the extracting of 3000 IU of exogenous gonadotropin PMSG Folligon® and prostaglandin Oestrophan to donor cows, there is a decrease in the concentration of cholesterol, HDL, LDL and the increasing in the content of triacylglycerol and VLDL. Neutropenic metabolic medication Stimulin-Vet which was injected to donor cows during the stimulation of superovulation intensifies the process of reduction of cholesterol HDL, LDL not causing the changing VLDL concentration.

It is observed a probable direct correlative connection ($r=0,827$) in donor cows in 48 hours after using of gonadotropin PMSG between the content of cholesterol and HDL. The result of experimental research are being used in scientific and educational work at National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine during the study of discipline «Obstetrics, Gynecology and Biotechnology for Breeding Farm Animals with the basics of Andrology» and «Biotechnology of Reproduction of Farm Animals», «Veterinary Medicine» and «Technology of Production and Processing of Livestock Products» and also were used the methodological recommendations «Stimulation of Superovulation in donor cows together with a biologically active medication «Stimulin-Vet», which are approved by the Scientific and Technical Council of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine (protocol №3 from 03.08.2009).

Key words: cow donor of embryos, superovulation, Neutropenic metabolic medication Stimulin-Vet, gonadotropin PMSG, transaminases, cholesterol.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях

1. **Вергелес ОП, Шеремета ВІ.** Гормональна індукція суперовуляції у корів-донорів української чорно-рябої молочної породи з використанням біологічно активного препарату. Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва УААН. 2008; 97:96-102. *(Здобувач брав участь у проведенні дослідів та інтерпретації отриманих результатів дослідження).*
2. **Вергелес ОП, Шеремета ВІ.** Фізіологічна роль бурштинової та глутамінової кислоти в організмі тварин і створення на їх основі біологічно активних препаратів. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2009. 138: 399-409. *(Здобувач брав участь у обробці та інтерпретації матеріалів до статті).*
3. **Вергелес ОП, Шеремета ВІ.** Використання біологічно активного препарату в схемі стимуляції поліовуляції у корів-донорів. Ветеринарна медицина України. 2009. 3: 22-3. *(Здобувач брав участь у проведенні дослідів, обробці експериментальних даних та описі результатів дослідження).*
4. Шеремета ВІ, **Вергелес ОП.** Використання препарату "Стимулін" у трансплантації ембріонів. Вісник аграрної науки. 2009. 10: 35-7. *(Здобувач брав участь у проведенні дослідів, обробці експериментальних даних та описі результатів дослідження).*
5. **Вергелес ОП.** Активність ферментів у крові корів-донорів за використання біологічно-активних речовин. Тваринництво України. 2009. 9: 28-31. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*
6. **Вергелес ОП, Шеремета ВІ.** Активність ферментів у крові корів-донорів під час стимуляції ГСЖК суперовуляції. Науковий вісник НУБіП України. 2009. 132: 33-8. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*
7. Шеремета ВІ, **Вергелес ОП, Себа МВ.** Новий спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. Вісник аграрної науки. 2010. 12: 34-5.

(Здобувач виконав експериментальні дослідження, опрацював отримані дані і підготував статтю до друку).

8. Шеремета ВИ, **Вергелес АП**, Биланюк ЛМ. Активность трансаминаз в крови коров-доноров. Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. 2012. 10(2): 319-23. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*

9. Шеремета ВІ, **Вергелес ОП**. Ліпідний профіль у крові корів-донорів за стимуляції суперовуляції гонадотропіном СЖК спільно з нейротропно-метаболічним препаратом. Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Розведення і генетика тварин». 2013. 47: 110-8. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*

10. **Вергелес ОП**, Шеремета ВІ, Джус ПП. Динаміка обміну ліпідів у крові корів-донорів за використання біологічно активного препарату. Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Розведення і генетика тварин». 2019; 58:80-5. *(Здобувач брав участь у проведенні експерименту, обробці отриманих результатів дослідження та підготовці матеріалів до друку).*

Наукові праці апробаційного характеру

11. **Вергелес ОП**. Індукція поліовуляції у корів-донорів з використанням гонадотропіну СЖК «Folligon» та біологічно-активного препарату «Стимулін». Матеріали VII Міжнар. конф. молодих вчених та аспірантів; Чубинське, 2009.

12. Шеремета ВИ, **Вергелес АП**. Трансплантація ембріонів в селекції крупного рогатого скота. Матеріали науч.-метод. конф., посвященної 200-летию со дня рождения Ч. Дарвина. Брянск, 2009. С.271-7. *(Здобувачем отримано експериментальні дані та підготовлено матеріали до друку).*

13. Шеремета ВИ, **Вергелес АП**. Активность трансаминаз в крови на фоне применения нейрометаболического стимулятора при индукции суперовуляции у коров-доноров. Проблемы биологии продуктивных животных. ВНИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. ж-х. Боровск. 2011. 4: 162-3.

(Здобувачем отримано експериментальні дані та підготовлено матеріали до друку).

14. Шеремета ВІ, **Вергелес АП.** Коррекция суперовуляции у коров-доноров препаратом метаболического нейротропного действия. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Беларусь, Горки. 2013. 16 (2):41-8. *(Здобувачем отримано експериментальні дані та підготовлено матеріали до друку).*

15. **Вергелес ОП.** Гормональна індукція множинної овуляції у корів-донорів. «Наукові дослідження – теорія та експеримент-2009» Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції. Полтава. 2009. 25-8.

16. **Вергелес ОП.** Удосконалення схеми стимуляції супервуляції у корів-донорів за використання біологічно активних речовин. Матеріали Міжнар. конф. присвяченої вшануванню 95-ї річниці від дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора В. Ю. Недави. Чубинське, 2020.

Рекомендації виробництву

17. **Вергелес ОП.** Стимуляція суперовуляції у корів-донорів за допомогою ГСЖК спільно з біологічно активним препаратом «Стимулін-Вет». Методичні рекомендації. К.: АВІАЗ. 2013: 32.

Патенти і технічні умови

18. Шеремета ВІ, **Вергелес ОП.** винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб відбору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент України №86165. 2009 берез. 25. *(Здобувач був співавтором ідеї винаходу і виконав експериментальні дослідження).*

19. Шеремета ВІ, **Вергелес ОП.** винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації. Патент на корисну модель № 42098 2009 черв 25. *(Здобувач був співавтором ідеї корисної моделі і виконав експериментальні дослідження).*

20. Шеремета ВІ, Мельничук СД, **Вергелес ОП.** Винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент на корисну модель №57835. 2011 берез 10. *(Здобувач був співавтором ідеї корисної моделі і виконав експериментальні дослідження).*

21. Шеремета ВІ, **Вергелес ОП.** винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Препарат для стимулювання овуляції та спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації з його допомогою. Патент України №91772. 2010 серп. 25. *(Здобувач був співавтором ідеї корисної моделі і виконав експериментальні дослідження).*

22. **Вергелес ОП,** Шеремета ВІ, Опанасенко ОС. Біологічно активний препарат «Стимулін-Вет». Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010. *(Здобувач був співавтором ідеї препарату Стимулін-Вет і виконав експериментальні дослідження з визначення його окремих фармако-токсикологічних властивостей).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....		20
ВСТУП.....		21
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.		27
1.	Використання біологічно активних речовин за індукції суперовуляції в корів-донорів.....	27
1.1.	Ефективність методу трансплантації ембріонів.....	27
1.2.	Чинники, що впливають на ефективність методу трансплантації	28
1.3.	Методи гормонального стимулювання суперовуляції в корів-донорів.....	31
1.4.	Вдосконалення схем стимуляції ГСЖК суперовуляції у корів-донорів ембріонів.....	35
1.5.	Фізіологічна роль бурштинової та глутамінової кислоти в організмі тварин та створення на їх основі біологічно активних речовин.....	38
1.6.	Висновки щодо огляду літератури та обґрунтування напрямів досліджень.....	
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....		48
2.1	Відбір тварин та формування груп для досліджень.....	48
2.2.	Гормональна індукція суперовуляції у корів-донорів та схеми використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет..	50
2.3.	Нехірургічне вимивання ембріонів у корів-донорів.....	54
2.3.1.	Приготування вимивного середовища.....	55
2.3.2.	Техніка виконання комбінованого методу вимивання ембріонів.....	56
2.4.	Біохімічні дослідження крові корів-донорів.....	57
2.5.	Статистична обробка отриманих результатів досліджень.....	58
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....		60

3.1.	Біотехнологія розроблення біологічно активного препарату Стимулін-Вет.....	60
3.1.1.	Обґрунтування складу і способу одержання біологічно активного препарату Стимулін-Вет.....	60
3.1.2.	Фармако-токсикологічні властивості біологічно активного препарату Стимулін-Вет.....	68
3.1.3.	Визначення стерильності біологічно активного препарату Стимулін- Вет.....	70
3.1.4.	Вивчення токсичної дії біологічно активного препарату Стимулін- Вет.....	71
3.1.5.	Встановлення оптимальної дози біологічно активного препарату Стимулін-Вет для використання в схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF _{2α}	
3.2.	Застосування препарату Стимулін-Вет для стимуляції суперовуляції у корів-донорів.....	74
3.2.1.	Способи добору корів у донори ембріонів для трансплантації.	74
3.2.1.1.	Розроблення нового способу добору корів у донори на основі оцінки функціонування жовтого тіла яєчників.....	74
3.2.1.2.	Розроблення нового способу добору корів у донори ембріонів на основі біохімічних досліджень обміну Фосфору	78
3.3.	Вплив біологічно активного препарату Стимулін-Вет на індукування суперовуляції корів-донорів.....	81
3.3.1.	Ефективність використання препарату Стимулін-Вет під час стимуляції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon® - PGF _{2α} Естрофан (дослід 1).....	81
3.3.2.	Ефективність використання препарату Стимулін-Вет на 8-11 добу статевого циклу у корів-донорів за схемою стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF _{2α} Естрофан (дослід 2).....	86

3.3.3.	Ефективність використання препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу у корів-донорів за схемою стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF _{2α} Естрофан.....	91
3.4.	Реакція ферментативної системи корів-донорів на введення препарату Стимулін-Вет.....	102
3.4.1.	Динаміка активності ферментів крові корів-донорів за введення препарату Стимулін-Вет на 8 – 11 добу статевого циклу у схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon®- PGF _{2α} Естрофан.....	102
3.4.2.	Динаміка активності ферментів крові корів-донорів за введення препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу у схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon®- PGF _{2α} Естрофан.....	106
3.4.3.	Динаміка обміну загального холестерину та його ліпопротеїдних фракцій у крові корів-донорів під час стимуляції у них суперовуляції ГСЖК Folligon®.....	109
3.4.4.	Економічна ефективність використання препарату Стимулін-Вет при стимуляції суперовуляції та одержанні ембріонів у корів-донорів української чорно-рябої молочної породи.....	117
РОЗДІЛ 4	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	120
	ВИСНОВКИ.....	131
	РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	133
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	134
	ДОДАТКИ.....	160

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

АсАТ – аспартатамінотрансфераза;

ГГТ – гаммаглутамілтрансфераза;

ГК – глютамінова кислота;

$C_4H_4Na_2O_4$ – сукцинат натрію (натрієва сіль бурштинової кислоти);

$C_5H_8NO_4Na$ – глютамінат натрію (мононатрієва сіль глютамінової кислоти);

ГН-РГ – гонадотропін -ризлінг-гормон;

ГСЖК (PMSG) – гонадотропін сироватки жеребних кобил;

ІВДТР – коефіцієнт ефективності використання амінокислот тканинного пулу за співвідношенням АсАТ+АлАТ/ГГТ;

ЛГ – лютеїнізуючий гормон;

ЛФ – лужна фосфатаза;

МО – міжнародна одиниця;

ВП НУБіП України – відокремлений підрозділ Національного університету біоресурсів і природокористування України;

НДГ – навчально-дослідне господарство;

ПГ (PG) – простагландин;

РІА – радіоімунологічний аналіз;

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон;

Х-ЛВЩ – холестерин ліпопротеїдів високої щільності;

Х-ЛДНЩ – холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності;

Х-ЛНЩ – холестерин ліпопротеїдів низької щільності;

* – різниця з контролем вірогідна ($p < 0,05$);

** – різниця з контролем вірогідна ($p < 0,01$).

ВСТУП

Актуальність теми. Відтворна здатність корів визначає економічну ефективність розведення молочної худоби. Низька природна плодючість великої рогатої худоби, мала кількість потомків обмежують можливості створення нових порід та стад високопродуктивних корів. Проте нова система селекційно-племінної роботи, що ґрунтується на біотехнологічних методах розмноження тварин, дає змогу максимально використовувати потенційні резерви репродуктивної функції, що не реалізуються за природного розмноження [1].

На основі досягнень репродуктивної фізіології, клітинної біології і ембріології розроблена технологія трансплантації ембріонів—ефективний метод біотехнологічного керування відтворенням стада та прискорення генетичного прогресу у скотарстві [2-4].

Ефективність практичного використання трансплантації ембріонів як селекційного методу залежить від низки послідовних біотехнологічних операцій. Однією з найважливіших ланок в сучасній методиці проведення ембріотрансплантації є гормональна індукція суперовуляції. Для її стимуляції використовують гонадотропні препарати (FSH, PMSG), аналоги простагландину $F_{2\alpha}$ та інші гормональні індуктори. Однак результати дії екзогенних стимуляторів у схемах суперовуляції у корів-донорів є непередбачуваними і часто спричиняють певні деструктивні зміни в ендокринному і метаболічному статусі корів-донорів, обумовлюють неадекватну, варіабельну суперовуляцію, що знижує рівень виходу кількості придатних до пересаджування ембріонів [5, 6]. Встановлено, що стимуляція суперовуляції у корів-донорів з використанням ГСЖК також обумовлює значну кількість неовульованих фолікулів, що негативно впливає на вихід придатних ембріонів [7]. Тому важливим і актуальним аспектом сучасної біотехнології є розроблення препаратів метаболічного типу дії, які здатні регулювати енергетичний і пластичний обміни в активно функціонуючих системах організму та створити передумови високої ефективності методу трансплантації ембріонів.

Невивченим є питання ефективності застосування у біотехнології стимуляції суперовуляції у корів-донорів препаратами метаболічного типу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконувалась як складова науково-дослідних робіт Національного університету біоресурсів і природокористування України за державною програмою 110/171 пр. «Оптимізація умов культивування та розробки нових способів стимуляції приживлення ембріонів у самиць великої рогатої худоби та свиней», яка виконувались продовж (номер державної реєстрації 0106U004252).

Мета та завдання досліджень. Мета дисертаційної роботи полягала у підвищенні ефективності біотехнологічної схеми індукції суперовуляції у самиць великої рогатої худоби шляхом розроблення біологічно активного препарату і способу його застосування для збільшення кількості овульованих фолікулів та придатних до трансплантації ембріонів.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- розробити біологічно активний препарат метаболічного типу дії на основі фізіологічно активних речовин для стимуляції суперовуляції у корів;
- дослідити вплив застосування розробленого біологічно активного препарату на рівень суперовуляції та вихід придатних ембріонів у корів-донорів;
- апробувати і визначити ефективні варіанти застосовування розробленого біологічно активного препарату за схемою індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан;
- встановити вплив біологічно активного препарату за різних схем його використання на гормонально-метаболічний статус корів-донорів;
- розробити та запропонувати виробництву раціональну систему відбору корів у донори ембріонів.

Об'єкт дослідження – розроблення та встановлення ефективності використання біологічно активного препарату за стимуляції суперовуляції у самиць великої рогатої худоби.

Предмет досліджень – особливості дії розробленого біологічно активного препарату Стимулін-Вет на ефективність індукції суперовуляції у корів-донорів ембріонів; препарат Стимулін-Вет, овуляція; ембріони; метаболічний статус корів-донорів ембріонів.

Методи дослідження: біотехнологічні, ветеринарні, зоотехнічні, біохімічні, статистичні, аналітичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше теоретично обґрунтовано, розроблено та експериментально доведено ефективність застосування препарату метаболічного типу дії на основі солей бурштинової і глутамінової кислот Стимулін-Вет у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан, що підтверджено об'єктивними критеріями біотехнологічних і біохімічних досліджень. Наукова новизна розробки підтверджена патентом на винахід (*Шеремета ВІ, Вергелес ОІ. Препарат для стимулювання овуляції та спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації з його допомогою. Патент України №91772. 2010 серп. 25*).

Вперше вивчено вплив препарату Стимулін-Вет за різних варіантів схеми індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан на вихід придатних ембріонів і на гормонально-метаболічний статус у корів-донорів української чорно-рябої молочної породи.

Досліджено ефективність відбору корів у донори ембріонів за результатами трансректального пальпаторного дослідження розміру та форми яєчників, а також наявності та стану активного жовтого тіла яєчника. На основі даних результатів дослідження отримано патент на корисну модель (*Шеремета ВІ, Мельничук СД, Вергелес ОП. Спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент на корисну модель №57835. 2011 берез 10*).

Розроблено об'єктивний спосіб оцінки придатності самиць великої рогатої худоби до трансплантації на основі специфічного показника відношення концентрації фосфору неорганічного до активності лужної фосфатази, захищений патентом на винахід (*Шеремета ВІ, Вергелес ОІ. Спосіб відбору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент України №86165. 2009 берез. 25*).

Розширено наукові дані щодо впливу індукторів суперовуляції та біологічно активних препаратів на стан фізіологічного гомеостазу корів-донорів, фізіологічну координованість трансаміназ, лужної фосфатази та процеси обміну холестерину і розподілу фракцій ліпопротеїдів під час поліфолікулогенезу.

Експериментально доведено, що сполуки метаболічної нейротропної дії, які поєднані в препараті Стимулін-Вет, регулюють енергетичний та пластичний обмін в системі гіпоталамус-гіпофіз, корегуючи співвідношення між ФСГ і ЛГ, сприяють збільшенню рівня овуляцій та інтенсифікації білкового і енергетичного обмінів.

Практичне значення одержаних результатів. Створено біологічно активний препарат Стимулін-Вет (ТУ У 24.4-33295412-001:2010) і запропоновано для використання в схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан у корів-донорів з метою зменшення кількості неовульованих фолікулів та збільшення придатних до трансплантації ембріонів.

Вперше розроблено та запропоновано виробництву раціональні критерії відбору потенційних корів-донорів за морфологічною оцінкою жовтих тіл яєчників та показниками гормонально-метаболічного статусу.

Практичні рекомендації висвітлені в методичних рекомендаціях «Стимуляція суперовуляції у корів-донорів за допомогою ГСЖК спільно з біологічно активним препаратом Стимулін-Вет», що схвалені та затверджені Науково-технічною радою Міністерства аграрної політики та продовольства України (протокол № 3 від 2009 р.).

Основні наукові положення дисертаційної роботи можуть бути використані в курсах лекцій і за проведення лабораторно-практичних занять з дисциплін «Біотехнологія у тваринництві», «Біотехнологія відтворення тварин», «Сучасні методи регулювання відтворної здатності» для підготовки фахівців зі спеціальностей «Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва» та «Ветеринарна медицина».

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто проведено пошук, опрацювання та аналіз наукової літератури за темою дисертації, виконано

експериментальні дослідження, статистичний аналіз та обґрунтування отриманих результатів, підготовлено наукові праці до публікації.

Спільно з науковим керівником визначено напрям, мету і завдання дисертаційних досліджень, сформовано висновки та практичні рекомендації.

Експериментальну частину дисертаційної роботи виконано у лабораторії біотехнології тварин кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України та на базі ВП НУБіП «Великоснітинське НДГ ім. О.В. Музиченка», ВП НУБіП «Ворзель» і ВАТ «Пуца Водиця» Києво-Святошинського району Київської області, лабораторії центру сучасної ветеринарної медицини «Алден-вет», Херсонського державного підприємства – Біологічна фабрика відповідно до загальної схеми досліджень

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи доповідались автором та були обговорені на: VI Державній науково-практичній конференції «Аграрна наука – виробництву» (м. Біла Церква, 2007); Міжнародній практичній конференції «Сучасні методи репродукції сільськогосподарських тварин: стан і перспективи розвитку» (Інститут тваринництва УААН, п/в Кулиничі, Харків, 2008); конференції науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів (НУБіП України, 2008, 2009); Міжнародному науково-практичному семінарі «Трансплантація ембріонів, як альтернатива імпорту племінної худоби» (Київ, 2009); Міжнародній науково-методичній конференції, присвяченій 200-річчю з дня народження Ч. Дарвіна і 150-річчя виходу в світ «Походження видів...» (Брянськ, 2009); VII конференції молодих вчених та аспірантів Інституту розведення і генетики тварин УААН (Чубинське, 2009); V Міжнародній науково-практичній конференції «Наукові-дослідження – теорія та експеримент-2009» (Полтава, 2009); Міжнародній науково-практичній конференції «Селекція тварин на сучасному етапі розвитку біологічної науки», присвяченій 100-річчю від дня народження професора М. А. Кравченка (Київ, 2009), XVIII Всеукраїнської наук. конф. молодих вчених, присвяченій 95-й річниці від дня народження професора В.

Ю. Недави (Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН, Чубинське, 2020).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 22 наукові праці, в тому числі: 10 статей у наукових фахових виданнях; методичні рекомендації, 6 статей у матеріалах вітчизняних і міжнародних конференцій, два патенти України на винахід, два патенти України на корисну модель, Технічні умови.

Структура та обсяг дисертаційної роботи. Текст дисертаційної роботи викладений на 180 сторінках комп'ютерного тексту і сформований з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу і узагальнення одержаних результатів, висновків, списку використаних джерел. Робота містить 38 таблиць, 16 рисунків. Бібліографічний список налічує 255 джерело, з них 100 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1. Використання біологічно активних речовин за індукції суперовуляції в корів-донорів

1.1. Ефективність методу трансплантації ембріонів

Біотехнологія у селекції великої рогатої худоби має особливе значення, оскільки за традиційних способів відтворення із генетичного фонду у сотні тисяч ооцитів, що знаходяться в яєчнику телиць або корів, використовується лише 0,1%. Таким чином, величезний генетичний потенціал статевих клітин самиць не реалізується, адже він переважає індивідуальну позитивну плодючість, яка виражена у відтворенні 3-5 телят [7, 8, 9].

Досягнення біологічної та сільськогосподарської науки у вивченні відтворної функції, ендокринології гонад, механізмів гіпоталамо-гіпофізарної регуляції статевої функції, фізіології оогенезу та раннього ембріогенезу великої рогатої худоби стало фундаментом створення сучасних біотехнологій з використання статевих клітин самиць та ембріонів з метою вирішення проблем масового тиражування тварин бажаного типу та скорочення генераційного інтервалу[10, 11, 12].

Одним з таких біотехнологічних методів інтенсивного використання репродуктивного та генетичного потенціалу тварин є трансплантація ембріонів, яка ґрунтується на гормональній індукції поліфолікулогенезу з наступною суперовулятивною реакцією і вимиванням доїмплантаційних зародків у самиць-донорів та пересадження ембріонів реципієнтам.

Трансплантація ембріонів сприяє підвищенню ефективності системи племінної роботи (великомасштабної селекції) у молочному скотарстві за рахунок скорочення генераційного інтервалу та збільшення числа потомків від найцінніших жіночих особин. При цьому термін оцінки бугаїв і генераційний інтервал для батьків корів скорочуються з семи до чотирьох років [1, 13, 14].

Біологічною основою суперовуляції є стимуляція екзогенними та ендогенними гонадотропними гормонами дозрівання більшої кількості фолікулів, що ростуть до граафових та їх овуляція.

Викликання поліовулятивної реакції (суперовуляції, множинної овуляції, мультиовуляції) забезпечує отримання достатньої кількості ембріонів, придатних для трансплантації, що визначає економічну та селекційну доцільність даного біотехнологічного методу.

Але результати стимуляції суперовуляції досить часто бувають непередбачувані через варіабельність реакції яєчників на введення екзогенних гормонів, а також через значну якісну гетерогенність гамет. Так, відомі методи гормональної індукції забезпечують реакцію суперовуляції у 40-90% корів, а вихід придатних ембріонів в межах 65-70% [15, 16, 17, 18].

1.2. Чинники, що впливають на ефективність методу трансплантації

Ключовими чинниками, що впливають на ефективність трансплантації ембріонів великої рогатої худоби і від яких залежить економічна доцільність даного біотехнологічного методу є відбір корів-донорів і індукція суперовуляції [19].

Реакція суперовуляції у корів-донорів в значній зумовлена наявністю на яєчнику необхідної кількості малих антральних фолікулів, що чутливі до гонадотропної стимуляції і формують гормональний фон, який впливає на оогенез, розвиток фолікулів та їх овуляцію [20], але велике різноманіття популяції фолікулів під час гормональної стимуляції їх росту, зумовлює значну варіабельність суперовуляторної реакції яєчників самиць (від 0 до 50 овуляцій на донора) [21, 22, 23.].

Крім того, спостерігається висока мінливість числа та якості отриманих ембріонів від донорів, адже за середнього виходу 5 придатних ембріонів, варіабельність даного показника коливається в межах від 0 до 29 доімплантаційних зародків [24].

Ефективність індукованої суперовуляції, на думку багатьох авторів, пов'язана з віком [25, 26, 27] та індивідуальними можливостями тварин, умовами годівлі [28, 29, 30, 31.] та утримання, інтенсивністю обмінних процесів у їх організмі, лактаційним та гормональним статусом, періодом року [32, 33, 34], наявністю стресів, характером перебігу родів і післяродового періоду, з типом гонадотропного гормону, його активністю, дозою та якістю [35, 36, 37], а також від дня статевого циклу початку гонадотропної обробки самиць [38, 39, 40, 41, 42].

Доречно відмітити, що біологічна активність гонадотропнів може диференціюватися в залежності від номеру партії та серії гормонального препарату в межах однієї фармацевтичної марки препарату [43, 44, 45, 46].

Встановлено, що використання високих доз гормональних препаратів у схемах суперовуляції, порушує стероїдогенез, що призводить до передчасного дозрівання яйцеклітин і овуляції, збільшуючи кількість видобутих непридатних ембріонів [47, 48].

Значний вплив на результативність стимульованої поліовулятивної реакції та кількість і якість отриманих ембріонів має стан статевої і ендокринної системи корів-донорів [49, 50, 51].

Досліджено також вплив фізіологічного стану донорів ембріонів на показники ембріопродуктивності. Відмічено, що від клінічно здорових корів із середньою молочною продуктивністю отримують більше ембріонів з високою оцінкою життєздатності, ніж від високопродуктивних та проблемних тварин [52]. Однак окремі автори у власних дослідженнях не спостерігали взаємозв'язку між рівнем молочної продуктивності та результатами індукованої поліовулятивної реакції і якістю отриманих ембріонів [53].

Сергєєвим Н.І. та ін. [54] було встановлено, що на гормональну обробку позитивно реагує більша на 10,9% кількість донорів, у яких репродуктивна система в стані фізіологічної норми порівняно з проблемними тваринами. Окрім того, у фізіологічно здорових корів на 60% переважав рівень суперовуляції і

кількість видобутих придатних ембріонів була майже вдвічі більшою. Подібні дані наведені також деякими зарубіжними авторами [55, 56].

Результати суперовуляції у корів різних порід також залежать від генетично обумовленої плодючості, описано перелік порід, ліній великої рогатої худоби, що по-різному реагують на екзогенні гонадотропіни в однакових умовах. Встановлено, що корови м'ясних порід переважають за показниками рівня суперовуляції і кількістю одержаних ембріонів над молочними породами, що пояснюється впливом лактаційної домінанти на репродуктивну функцію [57, 58]. Також з'ясовано, що корови-донори різних генетичних груп неоднаково реагують на ін'єкцію гормональних препаратів [59, 60]. Тварини з кровністю $\frac{1}{2}$ голштинської $\times$ $\frac{1}{2}$ симентальської породи мають більш високий вихід ембріонів, зокрема і придатних, ніж чистопородні симентальські донори ембріонів [61].

Доречно зауважити, що якщо технічні питання індукування суперовуляції у корів описані багатьма дослідниками, то генетичний аспект цієї техніки ще перебуває на стадії початкового вивчення. Так, за повідомленням Т.Т. Глазко із співавторами [62], у корів-донорів з цитогенетичними аномаліями посилена відповідь на введення гонадотропінів, яка виражається у збільшенні числа ембріонів. Оскільки між числом ембріонів і такою цитогенетичною характеристикою як частота метафаз з абераціями хромосом є статистично достовірна кореляція ($p < 0,05$), то за успішної ембріотрансплантації існує висока вірогідність накопичення генетичного вантажу в наступних поколіннях. Висока суперовуляторна реакція яєчників на гонадотропіни має генетичну основу і може успадковуватись потомками [63, 64, 65], як і відсутність реакції на стимуляцію [66].

В літературі наводяться суперечливі дані щодо кратності використання корів в якості донорів ембріонів. Деякими авторами встановлена можливість багаторазового продуктивного використання тварин в схемах суперовуляції, при цьому показники ембріопродуктивності не знижувались, а в деяких випадках зростали [67].

1.3. Методи гормонального стимулювання суперовуляції в корів-донорів

Викликання суперовуляції у корів-донорів базується на підвищенні у їх крові вмісту фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) і стимулюванні за рахунок цього дозрівання багатьох фолікулів з регресією жовтого тіла та овуляцією дозрілих фолікулів. З цією метою користуються СЖК, гонадотропними гормонами та їх синтетичними аналогами.

Існує низка біотехнологічних методів стимулювання поліовулювативної реакції в корів-донорів [68].

У практиці тваринництва застосовують нативну очищену СЖК чи такі порошкоподібні її препарати як інтергонан, маретропін, оваритропін, гонадотропін, фолігон, серогонадотропін, препарати групи $\text{PGF}_{2\alpha}$, або його аналоги [5, 70, 71, 72].

Найбільш широкого використання в схемах суперовуляції набули гонадотропні препарати двох груп: гонадотропін сироватки жеребних кобил (ГСЖК, PMSG), гіпофізарний фолікулостимулюючий гормон (ФСГ, FSH) [73, 74, 75, 76, 77, 78].

Гонадотропін сироватки жеребних кобил (ГСЖК) – це сироватковий, складний глікопротеїд, який здійснює комплексний фолікулостимулюючий та лютеїнізуючий вплив, що зумовлено вмістом у його структурі ФСГ та ЛГ [78]. Співвідношення фракцій фолітропіна (ФСГ) та лютропіна (ЛГ) в ГСЖК не завжди буває оптимальним, що також є одним із факторів значної варіабельності результатів індукування суперовуляції [79].

У сучасних схемах індукція поліовулятивної реакції використовують стандартні гормональні препарати, виготовлені із сироватки крові жеребних кобил, шляхом очищення їх від баластних білків, під різними фірмовими назвами: «Фолігон» (Нідерланди), «Прегмагон» (Німеччина), «Гонадотропін очищений – ГСЖК», «СЖК» (Чехія), «Оваген» (США), «Серогонадотропін», «Маротропін», «Інтергонан», «Оваритропін», «Пергонал Serono», «Stimukron», «Equinex» [80], «Novormon®» [81] та ін.

На сучасному українському ринку ветеринарних препаратів єдиним гонадотропним препаратом, що зареєстрований та дозволений до використання є ГСЖК Folligon® фірми Інтервет Інтернешнл Б.В., Нідерланди (№ р.п. 0527/1-98/03 ПВ).

На перших етапах досліджень з розробки схем індукції поліовулятивної реакції у самиць великої рогатої худоби ГСЖК використовували з естрадіолом 17 β та хоріонічним гонадотропіном у фолікулярну фазу статевого циклу, але ефективність такого методу індукції була незначна [82].

Наступним етапом в розробці ефективних схем стимуляції суперовуляції стало використання синтетичних аналогів простагландинів (PGF_{2 α}). – клопростенолу. Вперше простагландини (PG) були досліджені в спермі барана та людини, також встановлено, що вони синтезуються в матці самиць. За допомогою такого синтезу матка регулює функцію жовтого тіла, що обумовлено регресивним впливом PGF_{2 α} на рецепторні структури даної ендокринної залози яєчника [83, 84]. Використання простагландинів та їх аналогів дозволяє стимулювати овуляцію у певний період статевого циклу і обмежувати вплив гонадотропіну СЖК на фолікулогенез [85].

В результаті багатьох досліджень з індукції поліовулятивної охоти було встановлено, що із збільшенням дози гонадотропіна ГСЖК збільшується середній рівень суперовуляції. Так після ведення 1000 МО і навіть 2000 МО гонадотропіну, досить значний відсоток тварин (63,4% та 33,5% відповідно) не реагували на суперовуляцію, тоді як при 3000 МО ГСЖК відсоток тварин, що реагували поліовуляцією збільшується до 80%. З підвищенням дози препарату до 4000 МО кількість овуляцій збільшувалась на 19,9% з одночасним зниженням якості ембріонів. Але зростання дози препарату гонадотропіну СЖК до 6000-7000 МО знижує кількість позитивно реагуючих донорів до 36,2%, а запліднених яйцеклітин – до 18,9%, крім того збільшується кількість неовульованих фолікулів.

Нині в більшості випадків використовують одноразову ін'єкцію ГСЖК в дозі 2,5-3 тис. МО в середині лютеліальної фази, з обов'язковим введенням синтетичного аналогу простагландину F_{2 α} через 48-72 години [86].

Існує значна кількість схем використання препаратів ГСЖК для індукції суперовуляції у корів-донорів, зокрема такі:

- ірландський метод біотехнологічної підготовки корів-донорів, який базується на використанні СЖК перед початком регресії жовтого тіла. На 16-17 добу статевого циклу донорові водять 1500-3000 ГСЖК, на 19-20 добу з 12 годинним інтервалом – по 10 мг естрадіол-бензоату і на 21 добу – 1500-3000 МО хоріонального гонадотропіну внутрішньовенно.

- датський метод передбачає попередню індукцію за допомогою простагландину лютелітичного ефекту. Для більшої гарантії простагландин вводять двічі, з інтервалом 11 днів. Час появи охоти визначають на 8-13 добу після цього в активну лютеїнову фазу і роблять ін'єкцію 1500-3000 МО ГСЖК [87, 88].

- французька схема підготовки груп донорів передбачає попередню синхронізацію статевого циклу за допомогою синхромату Б (аналог простагландину, що містить у своєму складі також прогестерон та естрадіол), який імплантують тваринам під шкіру основи вуха. На 9 добу імплантат видаляють, після чого на 19-22-й добу вводять з 12-годинними перервами ФСГ, а на 24 добу – простагландин F2 α для прискорення розсмоктування жовтого тіла.

- метод А.М. Петрова: на 10-12 добу статевого циклу коровам-донорам ін'єктують 2,5-3 тис. МО ГСЖК, а також 500 МО хоріогоніну, а на 12-14 добу PGF_{2a}. Осіменіння донорів проводять в стані статевої охоти на 14-16 добу, з подальшим вимиванням ембріонів на 21-23 добу статевого циклу [89].

Показники ембріопродуктивності корів-донорів та індекс їх поліовулятивної реакції стимульованої ГСЖК мають значну варіабельність і залежать не лише від дози, способу введення, серії гонадотропінів, часу їх виготовлення, а також від фірмової приналежності. Також доречно відмітити, що використання малих об'ємів розчину гонадотропіну створює більш високий рівень суперовуляційної відповіді, ніж великих [90, 91].

Дані, що зустрічаються в наукових виданнях щодо ефективності індукції поліовуляції гонадотропіном СЖК у корів-донорів досить суперечливі.

Пролонгована дія препаратів ГСЖК супроводжується гормональним дисбалансом, зміною ендокринного статусу донорів, формуванням асинхронної функціональної діяльності яєчників та матки, порушенням динаміки рухливості гамет і розвитку ембріонів [92]. Також формується негативний вплив на морфологічний, біохімічний та фізіологічний стан статевих органів самиць зокрема та їх організму в цілому [90, 93, 94].

Крім того, гонадотропні препарати даної групи зумовлюють збільшення тривалості статевого циклу та періоду овуляції (інтервал між першою та останньою овуляцією складає близько 56 годин), виникнення лютеїальних та фолікулярних кіст у корів-донорів, збільшення маси та об'єму яєчників з наступною овуляцією і утворенням різної кількості та величини жовтих тіл впродовж та після поліовуляції [95, 96].

Така варіація та непередбачуваність у відповідь на суперовуляцію після використання препаратів ГСЖК створює передумови для пошуку нових гормональних засобів для індукції суперовуляції, вдосконалення технології виконання гормональної обробки донорів, вивчення факторів, що впливають на кількість овуляцій, заплідненість яйцеклітин та якість ембріонів, а також розглянути дану проблему з точки зору корекції обмінних процесів. Оскільки індукована поліовулятивна реакція у корів-донорів пов'язана з напруженням усіх функціональних систем організму, а також негативним впливом індукторів суперовуляції на обмін речовин, закономірно виникає необхідність метаболічного її забезпечення із збільшенням в крові, в першу чергу енергетичних субстратів, в результаті розробки та використання, нових, ефективних, комплексних біологічно активних препаратів в схемах індукції суперовуляції [97].

Окрім того, для викликання суперовуляції застосовують менопаузальний гормон людини (МГЛ, hMG) («Пергонал-500») [98, 99, 100].

Оптимальною дозою менопаузального гормону для викликання поліовулятивного ефекту у корів-донорів є 600 МО hMG [101].

Препарати групи ФСГ («FSH (rFSH)», «ФСГ-с», «Фолікотропін», «Фолітропін», «Грофолон» [102, 103], «ФСГ-б»[104], «Поліфол» [105], «Цинк-

протамін ФСГ» [106], «Ovaset® Sanofi» [107], FSH (rhFSH) [108] та ін.) використовують донорам на 8-12 добу статевого циклу впродовж трьох [109], чотирьох [110, 111, 38] або п'яти днів з 12-годинним інтервалом у загальній дозі 32-50 мг. Доза препарату при наступних ін'єкціях знижується. Тривале введення дрібними дозами препаратів групи ФСГ пов'язано з коротким періодом напіврозпаду гормону, що складає 5-6 годин [5, 38, 112, 113].

Нині розробляються схеми стимуляції суперовуляції з використанням рекомбінантного ФСГ (rhFSH) [114], але ефективність даного гонадотропіну незначна [107], навіть у порівнянні з ГСЖК [115].

В результаті численних досліджень з порівняльної оцінки біологічної дії гонадотропних препаратів ГСЖК та ФСГ, було встановлено, що гіпофізарні гонадотропіни, внаслідок своїх хімічних, біологічних властивостей та ступеню очищення дозволяють отримати високі показники суперовуляції, а також виходу придатних ембріонів у порівнянні із сироватковими гонадотропінами [116, 117], але деякі дослідники не спостерігали таких виражених відмінностей між даними групами гормональних препаратів [118].

Результати ефективності індукованої суперовуляції та методу ембріотрансплантації в цілому оцінюють за кількістю індукованих до росту і овульованих фолікулів, шляхом підрахунку жовтих тіл яєчників донорів в переддень вимивання ембріонів, а також за кількістю та якістю одержаних доїмплантаційних зародків.

1.4. Вдосконалення схем стимуляції ГСЖК суперовуляції у корів-донорів ембріонів

Сучасні дослідження в сфері трансплантації ембріонів спрямовані на вирішення проблем, що пов'язані з відбором та підготовкою корів-донорів до гормональної регуляції функції яєчників, впливу на процеси фолікулогенезу і, як наслідок, на індукцію поліовулятивної реакції з метою підвищення її ембріопродуктивності.

Але використання екзогенних біорегуляторів в схемах суперовуляції з метою планомірного втручання в фізіологічні процеси розмноження самиць зумовлює стан гормонального та метаболічного стресу, корекція якого можлива за рахунок використання різноманітних біологічно активних речовин (біокореторів).

Пролонгований період біологічного напіврозпаду гонадотропіну СЖК [119, 120, 121] формує його залишкову ФСГ-активність в периферичному кровообігу після овуляції, що зумовлює ріст нової хвилі фолікулів, які разом із неовульованими фолікулами підвищують естрогенний фон в організмі донорів, знижуючи вихід придатних ембріонів [122, 123].

А тому основним із напрямків вдосконалення методу стимулювання суперовуляції ГСЖК є використання антигонадотропних сироваток (АС, anti-PMSG serum) в період еструсу, з метою ліквідації залишкової дії гонадотропіну [124, 125].

Антисироватку до гонадотропіну СЖК можливо отримувати шляхом гіперімунізації статевозрілих кіз проти нативної СЖК, або сироваткового гонадотропіну [126] вказує також на можливість використання кролячої антисироватки до ГСЖК (rabbit anti-PMSG serum) при індукції суперовуляції в корів.

Було встановлено, що за використання в схемах суперовуляції антисироватки до ГСЖК, збільшується вихід придатних до трансплантації ембріонів [127, 128] і рівень їх приживлення [129], зменшується кількість неовульованих фолікулів та зростає рівень суперовуляції [130].

Дослідженнями Alfuraiji M.M. [131], Hosseini A, et.al. [132], Gonzalez A., Wang H [133], Pulley SL et al. [134] встановлено ефективність використання моноклональних антитіл (МА, monoclonal antibody to PMSG) (Neutra-PMSG), що нейтралізують залишкову дію гонадотропних препаратів групи СЖК [135, 136]. Їх ін'єктують коровам-донорам в період першого осіменіння через 12-18 або 24 години після початку еструсу [137].

Світоюсом А.Г. і Сергєєвим Н.І. [138] розроблена технологія викликання суперовуляції шляхом комплексного використання гонадотропіну СЖК, рилізінг-гормону (ГН-РГ, Gn-RH), вітамінів А, Е та йодистих препаратів, що дозволило підвищити рівень овуляції, заплідненості яйцеклітин і збільшити вихід придатних ембріонів на одного позитивного донора. Використання люліберину (ГН-РГ) пов'язують з його детермінуючою моделлю овуляторної дії, що ґрунтується на преовуляторному викиду лютропіну (ЛГ) [139, 140]. А тому, на думку деяких науковців, необхідно телицям або коровам-донорам з множиною овуляцією у день еструсу ін'єкувати гонадотропін-рилізінг гормон або його синтетичні аналоги («Сурфагон», «Дірігестран», що зумовить підвищення рівня овуляції, запліднюваність гамет та вихід придатних ембріонів [141].

Слід відмітити, що додаткові гормональні препарати в схемах суперовуляції можуть бути негативним аспектом, що лише поглиблюють деструктивні зміни в ендокринному та метаболічному статусі донорів, спричинені екзогенним гонадотропіном СЖК.

Тому актуальним є проведення досліджень з пошуку та розробки нових біологічно активних препаратів, які б дали можливість зменшити кількість неовульованих фолікулів і збільшити вихід придатних ембріонів без додаткового застосування гормональних препаратів у схемах поліовуляції.

Попередні наукові напрацювання щодо використання біологічно активного препарату Глютам в схемах індукції гонадотропіном ФСГ суперовуляції у корів-донорів [142] та гармонійного поєднання його структурного компоненту глутамінату натрію з натрієвою сіллю бурштинової кислоти стало підґрунтям теоретичних передумов до розробки нових біологічно активних композицій на їх основі.

1.5. Фізіологічна роль бурштинової та глютамінової кислоти в організмі тварин та створення на їх основі біологічно активних речовин

Дія неадекватних паратипових чинників в першу чергу відображається на зміні метаболічного профілю та фізіологічного стану організму тварин. Це характерно також і для окремих індукторів поліовулятивної реакції (гонадотропінів, естрогенів, простагландинів), що застосовуються в різноманітних схемах підготовки корів-донорів ембріонів, оскільки вони спричиняють зміни окисно-відновних процесів в мітохондріях клітин [38, 143].

Однією із фундаментальних властивостей живого організму є регуляція інтенсивності фізіологічних функцій, за допомогою використання субстратів окисно-відновних реакцій.

Тому важливим і актуальним аспектом сучасної біотехнології та фармакології є розробка препаратів метаболічного типу дії, що здатні регулювати енергетичний та пластичний обмін в активно функціонуючих системах організму, діючи як енергетичний стабілізатор та активатор на молекулярному рівні з широким терапевтичним діапазоном і створюючи передумови підвищення ефективності методу трансплантації ембріонів [38].

Найбільш багатогранними можливостями в плані метаболічної корекції функціонального стану і резистентності організму володіють компоненти циклу Кребса, зокрема бурштинова кислота, що є універсальним проміжним внутрішньоклітинним метаболітом [144].

Бурштинова (етан-1,2-трикарбонова; бутадіонова) кислота $[\text{HOOCCH}_2\text{CH}_2\text{OON}]$ (БК), її солі (натрієва, калієва, літієва) та ефіри – сукцинати є інтермедіаторами циклу трикарбонових кислот і займають центральне положення у клітинному обміні, оскільки вони можуть бути джерелом енергії та здатні змінювати напрямок метаболічних потоків. Бурштинова кислота є малотоксичною речовиною і не має мутагенної дії [145, 146, 147].

Вміст ендогенної бурштинової кислоти в тканинах організму людини і тварин складає 0,2-0,8 ммоль/кг, концентрація в плазмі крові досить незначна і не

перевищує 0,04 ммоль/л [148]. Підвищений вміст в кров'яному руслі бурштинової кислоти можливий при патологічних станах анаеробіозу та глибокій гіпоксії [149].

Біологічна активність сукцинатів є унікальною: по відношенню до організму в стані фізіологічної норми вони діють, як адаптогени та актопротектори, а при наявності патологічних змін – проявляють нетипово високий терапевтичний ефект.

В основі дії бурштинової кислоти та її сполук є модифікуючий вплив на процеси тканинного метаболізму – клітинне дихання, іонний транспорт, синтез білків. При цьому амплітуда і спрямованість модифікацій залежать від вихідного функціонального стану, а її кінцевий результат виражений в оптимізації параметрів їх функціонування. У стані фізіологічної норми бурштинова кислота майже не проявляє впливу на організм людини або тварини. Проте при помірних та середніх відхиленнях від норми введення сукцинатів зумовлює відновний ефект, який більш виражений при значних зрушеннях в організмі в сторону патологічного стану. У цьому і відображається вибіркова дія сукцинатів, адже вони інтенсивно проникають лише в тканини або клітини, що знаходяться в стані збудження чи патологічної зміни [149, 150].

Під час підвищення навантаження на будь-яку із систем організму, підтримка її роботи забезпечується, переважно, за рахунок окислення бурштинової кислоти. При цьому потужність системи енергопродукції, що використовує бурштинова кислота, в сотні разів переважає над всіма іншими системами енергоутворення організму [151].

Крім безпосереднього впливу на клітинний метаболізм бурштинова кислота включає сигнальні механізми, підґрунтям яких є наявність у різних тканинах специфічних до неї рецепторів. Було встановлено, що основною ланкою сигнальної дії бурштинової кислоти є активація виділення адреналіну/норадреналіну, які в свою чергу стимулюють її утворення та окислення. Таким чином, існує субстрактно-гормональна взаємодія між

бурштиною кислотою і медіаторами симпатичної та парасимпатичної нервової системи [152].

Регуляторний потенціал сукцинатів залежить від їхнього походження. Так, ендогенна бурштинова кислота відповідає за енергетичні процеси в клітинах, майже повністю використовується мітохондріями, зберігаючи незначну стаціонарну концентрацію в крові. При появі екзогенної бурштинової кислоти в крові, рецепторні системи організму сприймають її появу, як сигнал можливої гіпоксії в тканинах. Організм відповідно формує упереджену активацію фізіологічних та біохімічних компенсаторних реакцій.

Екзогенне надходження сукцинатів стимулюють синтез білка, гемоглобіну, порфіринів, інсуліну, засвоєння глюкози та жирних кислот, а також інтенсифікують дифузію кисню в різні тканини і органи, стимулюючи клітинне дихання, нормалізують активність сукцинатдегідрогенази, посилюють біоелектричну активність серця, поліпшують гемодинаміку, пригнічують процеси перекисного окислення ліпідів, формують кардіопротекторну, гепатотропну, антистресорну, актопротекторну, радіопротекторну, адаптогенну, противовірусну, антитоксичну, репаративну та ноотропну дію.

Вплив бурштинової кислоти на гіпоталамічні структури пов'язана з посиленням ефекту естрогенів щодо гормон-залежних органів і тканин. У наднирниках даний субстрат індукує синтез глюкокортикоїдів, цим самим активуючи глюкогенез [153, 154]. Введення сукцинату також збільшує вміст пірувату в тканинах тварин, що є характерним тестом його впливу за метаболічного ацидозу [155].

Враховуючи чисельні експериментальні дані, ефективність використання екзогенних сукцинатів можливо поліпшити за рахунок їх використання у поєднанні із засобами, що одночасно збільшують рівень ендогенної бурштинової кислоти та активність сукцинатдегідрогенази. До таких речовин слід віднести глутамінову кислоту (ГК), можливості якої унікальні: більше 12 трансаміназних перетворень, окислювальне дезамінування та декарбоксилювання і метил аспартатний шлях ведуть дану фізіологічно активну речовину в кінцевому

результаті в цикл Кребса, сприяють утворенню ендогенної бурштинової кислоти [156].

Глутамінова кислота бере участь в енергетичному, пластичному, ліпідному обмінах, є колектором небілкового азоту, задіяна в синтезі замінних амінокислот та інших біологічно активних сполук, активує обидва шляхи знешкодження аміаку, цикл синтезу сечовини і глутаматсинтетичну реакцію.

Вона також є джерелом субстратів для значної кількості внутрішньоклітинних ферментів, при цьому наявність субстрату оберігає мітохондрії від загибелі при денатуруючих впливах. Введення її в організм при патологічних станах активує глутаматдегідрогеназу, маладегідрогеназу; зумовлює економну витрату вуглеводних, білкових та жирових субстратів, відіграє провідну роль у реакціях переамінування, впливає на біосинтетичні процеси в надниркових залозах, крім того має адаптогенні, антиоксидантні та антигіпоксичні властивості [157, 158].

Упродовж останніх років у медицині розпочали використовувати сполуки метаболічного типу дії, що спроможні регулювати енергетичний гомеостаз у тканинах життєво важливих органів, що перебувають в стані активного фізіологічного збудження або патологічної зміни. Такими речовинами є глутамінова та бурштинова кислота і їх солі.

На їх основі медичною фармакологією розроблено та впроваджено значну кількість препаратів:

1. Препарати, що містять глутамінову кислоту, або її похідні: «Глутаргін», «Нооглютил», «Логлутам-1», «Логлутам-2», «Глутоксим», «Глутамевіт» та ін. [159, 160, 161].

2. Препарати, що містять бурштинову кислоту, або її похідні: «Конферон», «Реамбірін», «Лімонтар». «Катахром», «Вітафакол», «Кератонік», «Янтавіт», «ЯНА», «Вітамедін», «Янтарний еліксир», «Мексидол», «Полентар», «Суфан» та ін. [162, 163].

У галузі тваринництва та ветеринарії існує ряд напрацювань щодо використання бурштинової та глутамінової кислот, а також їх похідних як

окремих біологічно активних речовин або ж у структурі біологічно активних препаратів та кормових добавок.

Так, в Інституті ветеринарної медицини НААН, було проведено ряд досліджень на свинях різних вікових груп щодо негативного впливу на їх організм технологічних стрес-факторів та встановлено позитивний вплив натрієвої солі бурштинової кислоти (сукцинату натрію) на підвищення енергетичного потенціалу, рівня адаптації і продуктивності тварин [164, 165].

Встановлено позитивний вплив використання бурштинової кислоти в складі корму на організм супоросних свиноматок, зниження ембріональної смертності, підвищення крупноплідності та життєздатності отриманих від них потомків [166,167, 168].

Канаян Л.Р. із співробітниками [169] встановили, що згодовування бурштинової кислоти курам-несучкам єреванської породи поліпшує інкубаційні властивості яєць, знижує ембріональну смертність, посилює ріст та розвиток ембріонів та виводимість курчат.

Використання препаратів «Янтарос плюс» і «Сукцинат заліза» в якості кормової добавки самкам лисиць в період відтворення здійснює стимулюючий вплив на гемопоез, інтенсифікацію вуглеводного та мінерального обмінів [170].

Досліджено вплив сукцинату у складі препарату «Янтарос плюс» на стан хворих рахітом поросят. Відмічено ряд біохімічних та морфологічних змін в їх організмі, зокрема підвищення інтенсивності росту та розвитку, збільшення вмісту гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів в крові [171].

Вивчена адаптогенна стрес-корегуюча дія бурштинової кислоти на технологічному етапі відлучення поросят, що сприяє зміцненню їх фізіологічного статусу та імунобіологічної реактивності. Крім того, використання даного інтермедіата циклу Кребса супоросним свиноматкам дозволяє збільшити відсоток виходу життєздатних поросят і зменшення кількості мертвороджених [172].

Позитивним був досвід із застосуванням бурштинової кислоти разом з антибіотиками в середовищі для зберігання сперми кнурів-плідників. Адже це

сприяло підвищенню виживання сперматозоїдів та заплідненості свиноматок [157].

Згодовування кормової добавки «Янтар» високопродуктивним коровам із розрахунку 100 г/гол. на добу впродовж 20 діб поліпшує метаболічні процеси в міокарді, нормалізує функціональний стан серця. Також сформульована доцільність використання кормової добавки «Янтар» в спортивному конярстві для підвищення працездатності коней та нормалізації показників ЕКГ [173].

Фахівцями Курського НДІ агропромислового виробництва розроблений бурштиновий біостимулятор. До складу його ін'єкційної форми входить бурштинова кислота та АСДф-2. Також був синтезований комплексний металовмісний препарат – металосукцинат. Дані препарати проявили високу імуностимулюючу активність, швидко і ефективно нормалізують обмінні процеси. На даний час їх активно використовують майже в усіх тваринницьких господарствах Курської області [174].

Humphrey T.J. et al. [175] розроблені рекомендації по використанню на птахопереробних підприємствах гарячих розчинів бурштинової кислоти для обробки продукції з метою ліквідації контамінації її сальмонелами.

Михайленко А.М. повідомляє про технологію передінкубаційної обробки качиних яєць 0,06%-ним розчином бурштинової кислоти, що має позитивний вплив на ембріогенез та зниження ембріональної смертності каченят [176].

Під час проведення клінічного випробування комплексного препарату на основі бурштинової кислоти і гідролізату крові було встановлений позитивний вплив на збереженість телят-молочників та на їхній середньодобовий приріст [177].

Протасов БИ, Комиссаров ИИ. [178] інформують про розроблення мінерально-органічної сполуки КІМ, до складу якої входить калій і розчині солі малонової та бурштинової кислот. Таке поєднання компонентів аргументувало поліфакторну (імуномодельуючу, адаптогену, антидотну) дію препарату, зокрема, нормалізацію клітинного дихання, стабілізацію обмінних процесів, активізацію процесів ферментації, інтенсифікацію перетравлення та засвоєння поживних

речовин корму. Це, в свою чергу, зумовило підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин, звірів та птиці. Одним із позитивних прикладів щодо використання препарату КІМ є ін'єктування його ягнятам в період відлучення від маток, оскільки його фармакологічна дія зумовила зниження активності процесів вільно-радикального окислення без патологічних змін показників ліпідного обміну та інтенсифікуючи сукупність пластичних та енергетичних процесів перетворення білків в організмі тварин.

Розроблена композиція з бурштинової і лимонної кислоти, яка згодовувалась курчатам кросу «Зоря-17» і зумовила збільшення інтенсивності їхнього росту та збереженості поголів'я [179].

Створення оптимальної схеми перорального використання бурштинової кислоти зумовило зниження смертності кроленят майже в 2,4 рази та зростання інтенсивності приростів їх живої маси, а в крільчих зменшення кількості викиднів [180].

Низька токсичність глютамінової кислоти і її солей, комплексоутворювальна властивість з біометалами, здатність регулювати енергетичний гомеостаз із зміною метаболічних властивостей мітохондрій при патологічних станах та екстремальних ситуаціях, є передумовою до появи нових напрямків її використання та створення високоефективних лікарських засобів [181, 182].

Себою М.В. [183] розроблено біологічно активний препарат Глютам та його модифікація Глютам-1М і на основі результатів його випробування встановлено, що за інтравенозного та підшкірного введення Глютаму в схемах індукції гонадотропіном ФСГ поліовулятивної реакції у корів-донорів збільшується вихід придатних ембріонів. Крім того, використання препарату Глютам за стимуляції аналогами простагландину $F_{2\alpha}$ статевої охоти як на фоні вітамінно-мінеральної підгодівлі телиць-реципієнтів або лише вітамінної підвищує приживлюваність ембріонів, пересаджених на 7 добу статевого циклу.

Встановлено, що біологічно активний препарат Глютам та Глютам-1М, введений в організм корів та телиць української чорно-рябої молочної породи на 6-8 добу після штучного осіменіння змінює активність ферментів і концентрацію

статевих гормонів в крові тварин, інтенсифікує енергетичний, білковий та нормалізує вуглеводний обмін без імунотоксичної, імуномодельючої дії, не змінюючи хімічний склад молока. Такі імунобіохімічні зміни в організмі корів та телиць сприяють збільшенню їх заплідненості [192].

Парантеральні ін'єкції коровам української чорно-рябої молочної породи біологічно активного препарату Глютам-1М на 4-6 добу після отелення інтенсифікують процеси перетворення глюкози і трансамінування амінокислот на 14 день, що забезпечує енергією та пластичними метаболітами процес інволюції матки в післяродовий період. Такі зміни в обмінних процесах у організмі корів сприяють зменшенню терміну приходу в статеву охоту та збільшенню їх заплідненості після першого осіменіння [184, 185].

Введення трьох ін'єкцій препарату Глютам-1М коровам голштинської породи починаючи з 265-267 дня тільності зумовлює різноспрямовану мінливість вмісту в крові холестерину, тригліцеридів, альбумінів, що сприяє більш швидкому відновленню відтворної функції в післяродовий період.

На основі глютамінової кислоти розроблено лікувальний препарат Глутасол, фармакологічна дія якого спрямована на нормалізацію кислотно-лужної рівноваги, водно-електролітного та енергетичного обміну у хворих гострими шлунково-кишковими захворюваннями новонароджених телят, що також проявляє антикетогенні і детоксикаційні властивості. Для реабілітації телят у період клінічного одужування після перехворювання диспепсією, створений лікувально-профілактичний препарат Реабіліт. До його складу, крім глютамінової кислоти, було введено макро- і мікроелементи, вітаміни, та інші біологічно активні речовини. Переоральне використання Реабіліту нормалізує білковий, азотний та енергетичний обміни, кислотно-лужну рівновагу, активує біосинтетичні процеси у тканинах телят, що перехворіли на диспепсію та сприяє приросту живої маси тіла на 100-150 г і підвищує загальну резистентність організму [186, 187].

Створений також комплексний препарат, до складу якого входить глютамінова кислота, «Профжектел-1», який відноситься до групи лікувальних

препаратів, що рекомендовані при диспепсії новонароджених телят. Даний препарат підвищує імунорезистентний стан їх організму, зумовлює нормалізацію метаболічних процесів у тканинах, відновлює структурно-функціональний стан шлунково-кишкового тракту та інших систем організму.

Шляхом модифікації «Профжектел-1», для реабілітації організму телят після перехворювання диспепсією, одержаний ефективний препарат «Профжектел-2». Його дія спрямована на активацію репаративних процесів в тканинах та відновлення гомеостазу внутрішнього середовища і нормалізації морфо-функціонального стану травного тракту [188].

Проведені іншими авторами експериментальні та клінічні дослідження впливу екзогенної глутамінової та бурштинової кислот і їх солей на організм тварин, і зокрема на статеву систему самиць, сприяли появі ідеї розробки і формуванню теоретичних передумов щодо створення нового препарату у вигляді біологічно активної композиції Стимулін-Вет [38, 189].

1.6. Висновки щодо огляду літератури та обґрунтування напрямів досліджень

1. Практично, всі відомі методи інтенсивного використання репродуктивного та генетичного потенціалу тварин ґрунтуються на гормональній регуляції фолікулогенезу та раннього ембріогенезу. Зокрема, в технології трансплантації ембріонів розроблені схеми стимуляції поліовулятивної реакції екзогенними гонадотропінами.

2. На думку багатьох авторів, індукція суперовуляції у корів-донорів – найбільш слабка ланка в методі трансплантації ембріонів, оскільки спостерігається значна варіабельність реакції яєчників на екзогенний гонадотропін, зумовлена зміною гормональної взаємодії на всіх етапах формування поліовулятивної реакції. У значній мірі, таке твердження стосується схем суперовуляції із використанням екзогенного гонадотропіну сироватки жеребних кобил (ГСЖК). Пролонгована дія препаратів ГСЖК супроводжується гормональним дисбалансом, зміною ендокринного статусу донорів, формуванням

асинхронної функціональної діяльності яєчників та матки, порушенням динаміки рухливості гамет і розвитку ембріонів. Також формується негативний вплив на морфологічний, біохімічний та фізіологічний стан статевих органів самиць зокрема та їх організму в цілому.

Це зумовлює значну кількість неовульованих фолікулів, що негативно впливає на вихід придатних ембріонів.

3. Основним із напрямків вдосконалення методу викликання суперовуляції ГСЖК є модифікація та вдосконалення схем гормональної обробки корів-донорів з метою ліквідації залишкової дії гонадотропіну. Але необхідно зазначити, що додаткові гормональні препарати, в схемах суперовуляції можуть бути негативним аспектом, що лише поглиблюють деструктивні зміни в ендокринному та метаболічному статусі донорів, що спричинені екзогенним гонадотропіном СЖК.

4. Важливим аспектом сучасної біотехнології та фармакології є розробка препаратів, метаболічного типу дії, що здатні регулювати енергетичний та пластичний обмін в активно функціонуючих системах організму і створювати передумови підвищення ефективності методу трансплантації ембріонів. Проаналізувавши експериментальні та клінічні дослідження з метаболічно-корегуючої дії, адаптогенного впливу і комплексоутворювальної здатності екологічно безпечних, економічно доступних бурштинової та глютамінової кислот є підґрунтям їх використання в біотехнологічних методах регуляції відтворної здатності самиць, а також у системі заходів забезпечення здоров'я і підвищення продуктивності тварин.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконана у лабораторії біотехнології тварин кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України. Експериментальну частину досліджень за темою дисертаційної роботи виконували на базі ВП НУБіП «Великоснітинське НДГ ім. О.В. Музиченка», ВП НУБіП «Ворзель» та ВАТ «Пуща Водиця» Києво-Святошинського району Київської області.

2.1. Відбір тварин та формування груп для досліджень.

Для досліджень було відібрано корови української чорно-рябої молочної породи, які знаходились в умовах годівлі та утримання, що відповідають зоотехнічним нормам.

У дослідях використовували клінічно здорових корів та телиць української чорно-рябої молочної породи. Відбір корів здійснювали на основі ретроспективного аналізу ветеринарно-зоотехнічного обліку їх фізіологічного стану та після загального клінічних і гінекологічних досліджень. Формування досліджуваних груп проводили за принципом пар-аналогів за живою масою, віком, рівнем молочної продуктивності, морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників.

Загальна схема проведених досліджень представлена на рис. 2.1.

Відбір корів у групу донорів ембріонів проводили за результатами трансректального пальпаторного дослідження розміру та форми яєчників, а також наявності та стану активного жовтого тіла яєчника за методом В.І. Шеремети [38]. Критерієм відбору самиць за даною методикою є стан жовтого тіла з верхівкою над поверхнею яєчника до 0,5 см. (+), 0,5-1,0 см (++) або понад 1,0 см (+++).

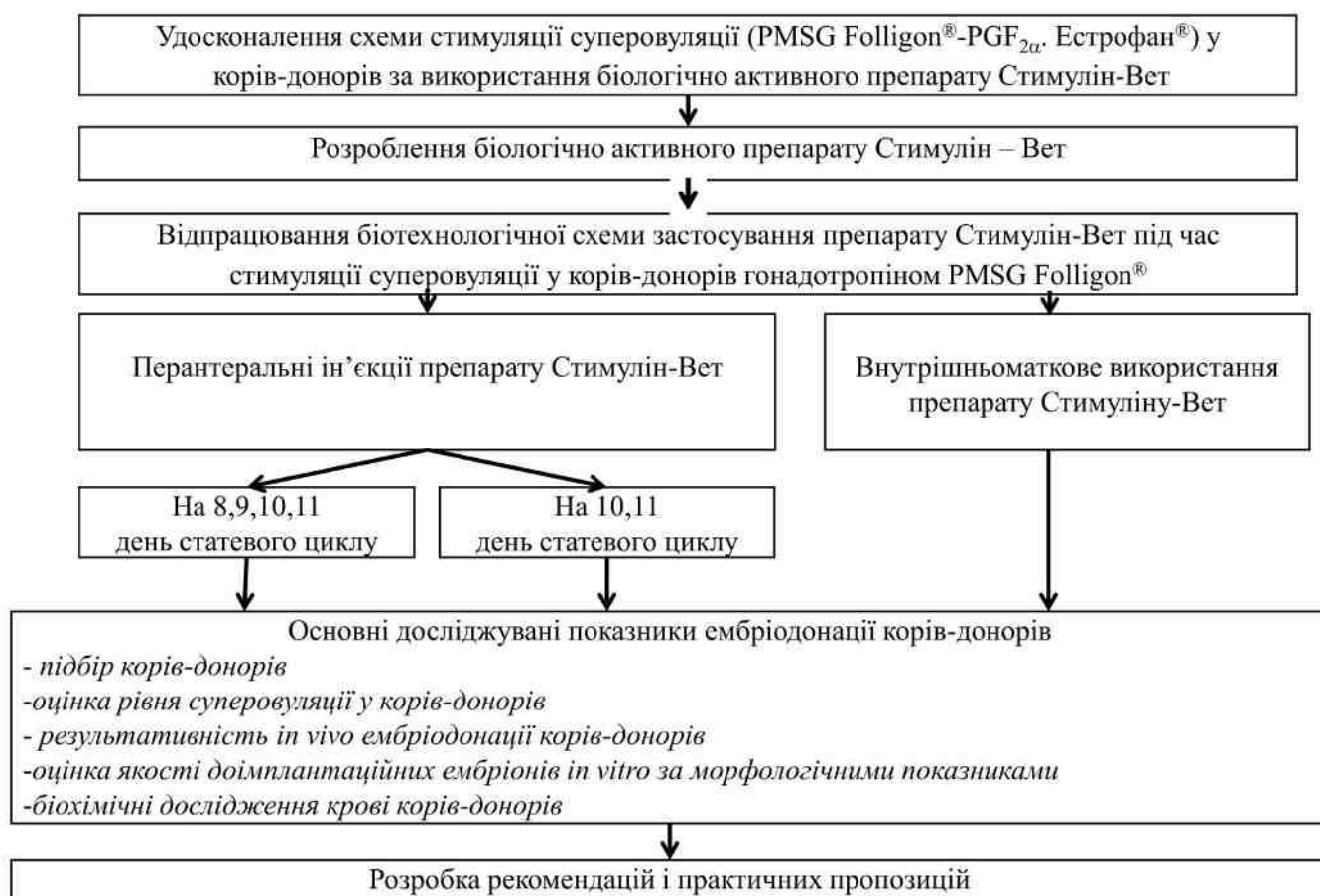


Рис. 2.1. Загальна схема досліджень

Для остаточного діагностування стану геніталій корів та з метою прогнозування запального процесу у матці тварини проводили лабораторне дослідження за експрес-методом Г.Н.Калиновського та Г.І.Підпригори, який базується на виявленні у разі запального процесу в тічковому слизі сірковмісних амінокислот [190, 191].

Для проведення тесту у пробірку до робочого розчину, що містить 4 мл 0,5% розчину оцтовокислого свинцю, краплями додавали 20% розчин їдкого натрію до утворення осаду гідрату окису свинцю. Через 15-20 секунд знову додавали розчин їдкого натрію до зникнення осаду. Далі у пробірку вносили 1,5-2,0 мл відібраного у корови перед осіменінням тічкового слизу. Пробірку струшували протягом 1-2 хвилин і поступово нагрівали, не доводячи до кипіння. Потемніння рідини в пробірці до чорного забарвлення (утворюється сірчистий

свинець) свідчило про наявність в ній сірковмістних амінокислот, абсорбованих муцинами слизу матки. За допомогою даного методу нами протестовано всіх корів, яких використали у експериментальних дослідженнях.

2.2. Гормональна індукція суперовуляції у корів-донорів та схеми використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет

Для стимуляції суперовуляції донорам на 10 добу статевого циклу інтрамускулярно вводили препарат гонадотропіну сироватки жеребих кобил (ГСЖК – PMSG) Folligon® («Intevet Internanional B.V.», Нідерланди) у дозі 2,5-3 тис. МО, однієї серії (A002A01).

Через 48 і 72 години після ін'єкції гонадотропіну коровам-донорам дослідної і контрольної груп внутрішньом'язово вводили синтетичний функціональний аналог простагландину F_{2a} клопростенол, у вигляді препарату Естрофан® (фірма «Bioveta» Чеська Республіка) в дозі 2 мл (0,5 мг активної речовини) на одну голову (рис. 2.2).

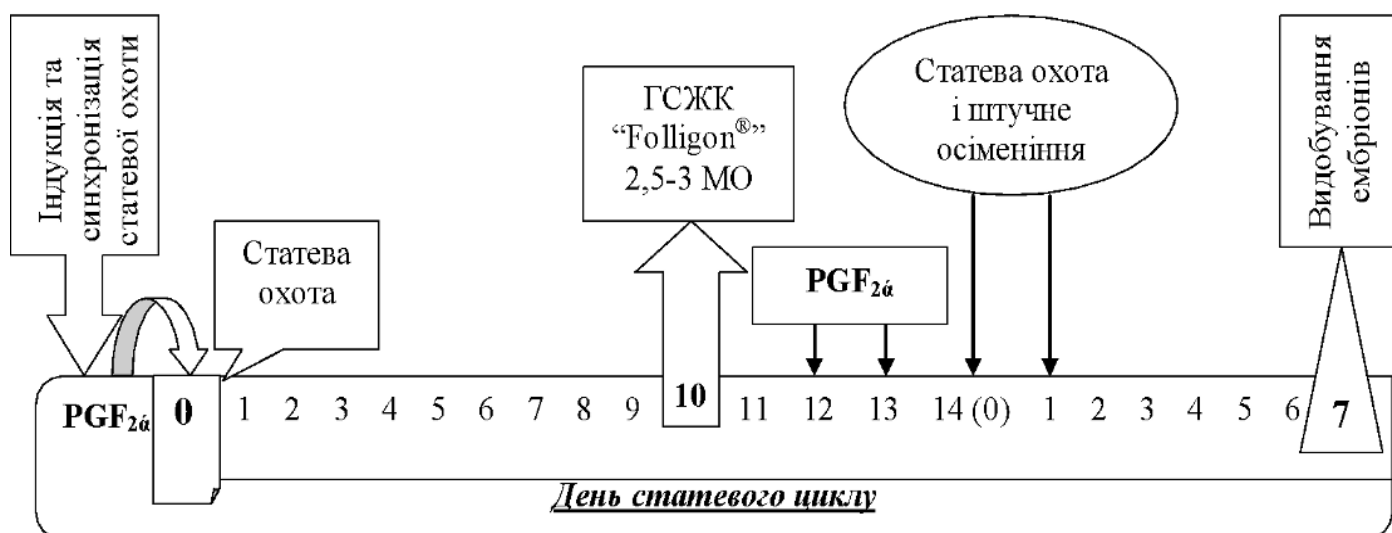


Рис. 2.2. Протокол стимуляції суперовуляції і вимивання ембріонів у корів-донорів (ГСЖК Folligon®-PG F_{2a} Естрофан®)

Дослідним тваринам першої доби статевого циклу перед уведенням препарату Стимулін-Вет для заспокоєння тварин інтрамускулярно вводили препарат «Ксила» («Interchemie», Нідерланди) у дозі 0,25 мл/100 кг живої маси тварин.

Дози гонадотропіну і кратність ін'єкцій СЖК Folligon[®] та простагландину Естрофан[®] F_{2α}, а також дози і кратність ін'єкцій препарату Стимулін-Вет різняться в залежності від серії досліджень (табл. 2.1, 2.2; 2.3).

Таблиця 2.1

Схема I пошукового досліджу

Доба статевого циклу	Введення гормонів та виконання біотехнологічних робіт
8	Відбір зразків крові із яремної вени у корів-донорів
10	Парантеральне введення гонадотропіну СЖК Folligon [®] у дозі 2,5 тис. МО
12	Відбір зразків крові із яремної вени до введення препарату Естрофан [®]
12	Внутрішньом'язова ін'єкція простагландину F _{2α} Естрофан [®] у дозі 2 мл на одну голову
14(0),1	Штучне осіменіння корів-донорів
2	Внутрішньоматкове введення донорам препарату Стимулін-Вет в об'ємі 50 мл

Біологічно активний препарат Стимулін-Вет вводили внутрішньоматково у дозі, передбаченої схемою досліджу. Для введення препарату використовували стерильний двоканальний катетер, який зрошували ізотонічним розчином та обережно вводили в канал шийки матки. Розчин стерильного препарату з температурою +36-38⁰С під помірним тиском вприскували у матку тварини після проходження останньої складки цервікального каналу. Коровам контрольної

групи провели імітацію техніки введення препарату і провели всі необхідні підготовчі маніпуляції, що і дослідним тваринам, крім безпосереднього введення препарату Стимулін-Вет який замінили на ректальний масаж матки.

У першому пошуковому досліді у корів дослідної і контрольної груп суперовуляцію стимулювали за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан (у дозі 2,5 тис. МО і 2 мл на одну голову відповідно) і коровам дослідної групи на 8, 9, 10, 11 добу статевого циклу ін'єктували внутрім'язово препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл/голову.

У другому пошуковому досліді у корів дослідної і контрольної груп суперовуляцію стимулювали за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан (у дозі 3,0 тис. МО і 2 мл на одну голову відповідно) і коровам дослідної групи на 8, 9, 10, 11 добу статевого циклу ін'єктували внутрім'язово препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл на голову (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Схема II пошукового досліді

Доба статевого циклу	Введення гормонів та проведення біотехнологічних робіт
8	Відбір зразків крові із яремної вени у корів-донорів до введення препарату Стимулін-Вет
8,9,10,11	Ін'єкції біологічно активного препарату Стимулін-Вет (доза 20 мл/голову)
10	Парантеральне введення гонадотропіну СЖК Folligon® (доза 3 тис. М.О)
12	Відбір зразків крові із яремної вени, ін'єкції препарату Естрофан® у дозі 2 мл на одну голову
12-13	Внутрішньом'язові ін'єкції простагландину F _{2α} Естрофан® у дозі 2 мл на одну голову
14(0), 1	Штучне осіменіння корів-донорів
7	Нехірургічне вимивання ембріонів у корів-донорів

У третьому пошуковому досліді суперовуляцію у корів-донорів стимулювали за ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан (у дозі 3,0 тис. МО і 2 мл на одну голову відповідно). На 10 і 11 добу статевого циклу коровам дослідної групи

вводили підшкірно за лопаткою препарат Стимулін-Вет по 20мл/голову (табл. 2.3).

Штучне осіменіння піддослідних корів-донорів проводили тричі з інтервалом 12 годин розмороженою спермою одного бугая в необлицьованих гранулах цервікальним способом з ректальною фіксацією шийки матки. В кожній дозі сперми було не менше 30 млн спермійів з прямолінійно-поступальним рухом. Аплікацію сперми здійснювали в тіло матки.

Феномени стадії статевого циклу і оптимальний час для осіменіння встановлювали візуально вранці та ввечері у стійлах, вдень – в прифермських загонах, доповнюючи ректальною пальпацією матки і яєчників.

Таблиця 2.3

Схема III пошукового досліджу

Доба статевого циклу	Введення гормонів та проведення біотехнологічних робіт
8	Відбір зразків крові із яремної вени у корів-донорів
10,11	Ін'єкції біологічно активного препарату Стимулін-Вет
10	Парантеральне введення гонадотропіну СЖК Folligon® в дозі 3 тис. МО
12	Відбір зразків крові із яремної вени
12-13	Внутрішньом'язові ін'єкції простагландину F _{2α} Естрофан®
14(0), 1	Штучне осіменіння корів-донорів
7	Нехірургічне вимивання ембріонів у корів-донорів

На 7 добу статевого циклу після першого осіменіння здійснювали ректальні дослідження яєчників у корів-донорів для оцінки ефективності гормональної обробки, підраховували кількість жовтих тіл і фолікулів з неовульованими яйцеклітинами.

2.3 Нехірургічне вимивання ембріонів у корів-донорів

Вимивання ембріонів проводили на 7 добу статевого циклу нехірургічним методом за загальноприйнятою методикою фосфатно-сольовим буфером Дюльбекко («Sigma», Німеччина) з додаванням фетальної сироватки телят і антибіотиків (гентаміцин, ампіцилін) [192].

Вимивання ембріонів проводили в умовах ферми, при фіксації тварин в стоячому положенні в станку.

Для усунення больового ефекту, під час маніпуляцій, в статевих органах донора катетером для вимивання ембріонів, проводили сакральну ін'єкцію 2% - ного розчину новокаїну в епідуральний простір, в кількості 5 мл на одну голову.

Вилучення ембріонів проводили за допомогою 2-х канального катетера фірми “Minitub”(Німеччина), комбінованим способом, шляхом почергового промивання рогів матки донора фосфатно-сольовим буфером Dulbecco («SIGMA», Німеччина), по 500 мл в кожний ріг матки.

2.3.1. Приготування вимивного середовища

У флакон з антибіотиком ампіциліном (500 тис. МО) додавали 10 мл середовища Dulbecco. Після повного розчинення антибіотика відбирали 1 мл розчину і вводили до ємкості з фосфатно-буферним середовищем (500 мл). Додавали 0,15 мл 4% розчину гентаміцину і 10 мл фетальної сироватки телят. Температура вимивного середовища перед використанням складала 37-38 °С.

2.3.2. Техніка виконання комбінованого методу вимивання ембріонів

Шприцами об'ємом 50-60 мл за порційною схемою через 2-канальний катетер під помірним тиском в порожнину рогу матки донора нагнітали вимивне середовище (рис.2.3).

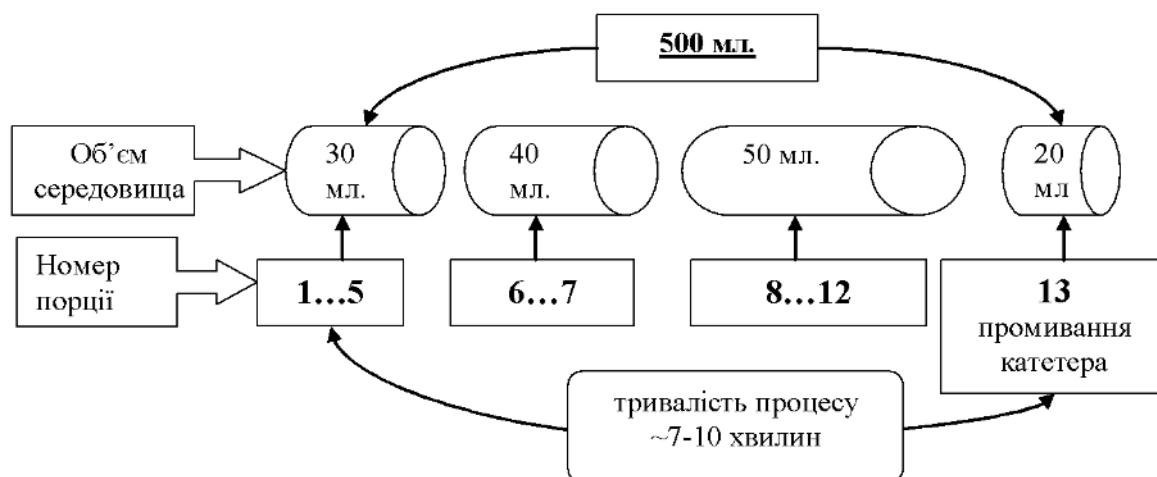


Рис.2.3. Послідовність порційного використання вимивного середовища за комбінованого методу вимивання ембріонів (з розрахунку на один ріг матки донора)

Середовище з ембріонами отримували самопливом в стерильні ємкості для ембріозбору. Кожну таку ємність нумерували, вказуючи номер донора, ріг, з якого вимивали, та рівень суперовуляції на яєчнику.

Після 30-хвилинної сидементації вимивного середовища проводили сифонізацію верхнього шару рідини, залишаючи 80 мл. з осілими ембріонами. Дану кількість середовища розділяли на три чашки Петрі, дно яких попередньо розграфлювали на лінії, відстань між якими була в межах 0,8-1 см.

Пошук та оцінку ембріонів проводили мікроскопічним методом за допомогою бінокулярної лупи МБС-10 під 16-28 кратним збільшенням.

Знайдені ембріони переносили в малі чашки Петрі (Ø 40 мм) з середовищем для короткотривалого культивування, де і здійснювали оцінку ембріонів під 98 кратним збільшенням.

Середовище для короткотривалого культивування готували додаванням до фосфатно-буферного розчину Dulbecco (D 8662 «SIGMA®») гентаміцино-ампіцилінового комплексу і 20% фетальної сироватки телят.

Якість ембріонів визначали за морфологічними ознаками за 4 бальною системою оцінок: «відміні», «добрі», «задовільні», «непридатні» (дегенеровані) ембріони. Біологічно повноцінними вважали ембріони, що мали округлу форму, гомогенну світлу цитоплазму, непошкоджену *zona pellucida*, однаковий розмір бластомерів з щільним міжклітинним з'єднанням.

За стадією розвитку 7 добові доімплантаційні ембріони розділяли на ранню морулу і морулу, ранню бластоцисту, бластоцисту та пізню бластоцисту.

До придатних відносили ембріони з оцінкою «відміні» та «добрі», у яких стадія розвитку відповідала їх віку. Відібрані придатні ембріони заморожували методом вітрифікації в пайєтах у рідкому азоті.

2.4. Біохімічні дослідження крові корів-донорів

Кров для дослідження у корів-донорів відбирали вранці до годівлі на 8, 12 добу стимульованого статевого циклу шляхом пункції яремної вени на межі середньої та верхньої третини шиї.

Біохімічні показники крові визначали в лабораторії центру сучасної ветеринарної медицини «АЛДЕН-ВЕТ» за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Stat Fax 1904 (Awareness Technology, USA).

Для досліджень використали методики:

- визначення холестерину загального проводили холестеролоксидазним методом;
- тригліцериди досліджували ферментативним методом;
- холестерин ліпопротеїдів високої щільності (Х-ЛПВЩ) визначали преципітацією ліпопротеїдів з фосфотанговою кислотою та хлоридом магнію;
- холестерин ліпопротеїдів низької щільності (Х-ЛПНЩ) – розрахунком за допомогою математичної формули;
- холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності (Х-ЛПДНЩ) – розрахунком за допомогою математичної формули.

Також, у сироватці крові досліджуваних тварин, за допомогою біохімічного аналізатора Stat Fax 1904, використовуючи набори реактивів виготовлених на Державному підприємстві «Біофарма» визначали: білок загальний, білірубін загальний, активність лактатдегідрогенези. Гамаглютамілтрансферази та вміст креатиніну, аланін аміотрансферазу (АлАТ), аспартатаміотрансфераза (АсАТ), сечовину – ферментативним кінетичним методом, альбуміни, глобуліни (α, β, γ), загальний білок – колометричним біуретовим методом; концентрацію глюкози – ферментативним колориметричним методом; вміст кальцію - колориметричним методом визначення інтенсивності забарвлення кальцію з «Арсеназо ІІІ»; неорганічний фосфор – колориметричним методом, що заснований на визначенні фосфору у вигляді фосфорномолібденового комплексу, α -амілазу, с-реактивний білок, антистрептолізин, лужна фосфатазу, тимолова пробу.

2.5. Статистична обробка отриманих результатів досліджень

Для визначення ефективності гормональної індукції поліфолікулогенезу, між досліджуваними групами, провели розрахунок відповідно до математичної формули (2.1):

Кількість гормонально індукованих до росту фолікулів розраховали за сумою жовтих тіл та неовульованих фолікулів яєчників у корів-донорів, відповідно формули (2.1):

$$ІФ = НФ + ЖТ; \quad (2.1)$$

де **ІФ** – кількість індукованих до росту фолікулів; **НФ** – неовульованих фолікулів; **ЖТ** – кількість жовтих тіл.

Ефективність методу суперовуляції відображається в кількості одержаних ембріонів, що придатні для трансплантації. А тому, був розрахований показник – рівень виходу придатних ембріонів (**РПЕ**). Для його обчислення, була використана формула, що ґрунтується на співвідношенні числа одержаних придатних доімплантаційних ембріонів до їх загальної кількості, формула (2.2).

$$РПЕ = ПЕ / ЗЕ \times 100; \quad (2.2)$$

де, **РПЕ** – рівня виходу придатних ембріонів; **ПЕ** – придатних ембріонів; **ЗЕ** – загальна кількість ембріонів.

Обрахунок рівня заплідненості яйцеклітин (**РЗЯ**) та ефективності нехірургічного методу вимивання (**ЕВ**) ембріонів в досліджуваних групах визначали за співвідношенням кількості одержаних ембріонів до суми видобутих ембріонів та незапліднених яйцеклітин за формулою (2.3) [140]:

$$\text{РЗЯ} = (\text{Е} \times 100) / \text{Е} + \text{НЯ}; \quad (2.3)$$

де, **РЗЯ** – рівень заплідненості яйцеклітин;

Е – кількість одержаних ембріонів;

НЯ – одержано незапліднених яйцеклітин.

Ефективність вимивання ембріонів (**ЕВ**) визначали за відношенням суми одержаних ембріонів відносно кількості жовтих тіл яєчників за формулою:

$$\text{ЕВ} = (\text{Е} + \text{НЯ} \times 100) / \text{ЖТ}, \quad (2.4)$$

де, **ЕВ** – ефективність вимивання ембріонів;

Е – кількість одержаних ембріонів;

НЯ – одержано незапліднених яйцеклітин;

ЖТ – кількість жовтих тіл.

Коефіцієнт (**ІВДТР**) визначали за формолою:

$$\text{ІВДТР} = \text{АсАТ} + \text{АлАТ} / \text{ГГТ}, \quad (2.5)$$

де, **ІВДТР** – коефіцієнт ефективності використання амінокислот тканинного пулу;

АсАТ – аланінамінотрансфераза;

АлАТ – аспартатамінотрансфераза;

ГГТ – гаммаглутамілтрансфераза.

Отримані результати досліджень оброблені методами математичної статистики за Н.А. Плохінським [193], Є.К. Меркур'євою [194] з використанням пакету програм Microsoft Excel в операційній системі Windows.

Для оцінки достовірності результатів використовували критерій Стюдента (t_d), прийнятий для порівняння середніх значень, а також коефіцієнт кореляції (r).

РОЗДІЛ 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. БІОТЕХНОЛОГІЯ РОЗРОБЛЕННЯ

БІОЛОГІЧНО АКТИВНОГО ПРЕПАРАТУ СТИМУЛІН –ВЕТ

3.1.1 Обґрунтування складу і способу одержання біологічно активного препарату Стимулін-Вет

При розробці нового біологічного активного препарату для удосконалення біотехнологічної схеми стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF2α Естрофан у корів-донорів в якості прототипу визначено біологічно активний препарат Глютам (патент 17291А Україна, від 01.04.97), до складу якого входять такі інгредієнти з розрахунку на 1000 мл дистильованої води, г: глютамінової кислоти - 20, глюкози 40%-вої - 20, бікарбонату натрію - 11,2 [142].

Розробка біологічно активного препарату поєднала направлений пошук фармакологічних інгредієнтів, моделювання біологічно активної композиції, а потім створення фармацевтичної форми, що дозволяє забезпечити стабільність біологічно активної композиції в умовах зовнішнього середовища та організму тварин (рис. 3.1).

Для розширення спектру біологічної дії глютамінової кислоти і її солей необхідно було підібрати поєднання лікарських засобів, що мають вплив на різні ланки метаболізму і сприяли б тенденції нормалізації нейрометаболічного гомеостазу у самиць за афізіологічної дії екзогенних індукторів поліфолікулогенезу і суперовуляції в методах сучасної і традиційної репродуктивної біотехнології.



Рис. 3.1 Структурно-логічна схема розробки біологічно активного препарату

На перших етапах пошукової роботи наша увага була прикута до бурштинової кислоти і її солей. В огляді літератури було описано біологічні якості і клінічні ефекти бурштинової кислоти за використання її в тваринництві у гуманній та ветеринарній медицині.

Теоретично бурштинова кислота, включена до складу фармакологічної композиції, не впливає на спектр нейромедіаторної активності глутамінової кислоти, але може змінити ступінь проявлення його ефектів, зокрема ноотропного, активуючого і нейропротекторного.

Враховуючи, що бурштинова кислота в чистому вигляді погано проникає через біологічні бар'єри [195], було обрано її транспортну форму – натрієву сіль бурштинової кислоти (сукцинат натрію) та за аналогією натрієву сіль глутамінової кислоти (глутамінат натрію), що теоретично потенціюють і

доповнюють один одного та проявляють фармацевтичну сумісність (фізичну, хімічну).

Кінцевий варіант досліджуваної біологічно активної композиції для ін'єкцій одержав робочу назву Стимулін-Вет.

Виходячи з вищезазначеного, нами розроблено ін'єкційний біологічно активний препарат нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет – композиція на основі натрієвої солі глутамінової кислоти, як збудливого нейротрансмітера і прикордонної сполуки між пластичними та енергетичними обмінними процесами і натрієвої солі бурштинової кислоти, як системи енергопродукування [196].

Теоретично, діючі речовини препарату повинні зумовлювати фармакотерапевтичний ефект, що спрямований на упереджену активацію білково-ліпідно-ферментативних змін організму тварин, відновлення біохімічних реакцій обміну речовин, що сприяють індукції нейроендокриної регуляції репродуктивної системи корів-донорів за використання схеми індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан, з метою поліпшення умов для дозрівання і поліовуляції зрілих яйцеклітин [197, 198, 199, 200, 201, 202].

Основою препарату Стимулін-Вет є компоненти, які виробляються хімічною промисловістю і препарат може бути виготовлений в умовах лабораторії або ветеринарної аптеки господарства за екстемпоральною рецептурою без використання складного обладнання, що обумовлює низьку собівартість препарату.

На біологічно активний препарат Стимулін-Вет розроблено технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010 [210] та одержано патент України №91772 від 25 серпня 2010 року [189].

В дослідках на тваринах параметри прецизійності препарату Стимулін-Вет вивчали на модельних композиціях однієї серії, що містили відомі кількості діючих речовин.

Компоненти біологічно активної композиції і їх фізико-хімічні властивості представлені в таблиці 3.1 [203, 204, 205].

Сукцинат натрію – хімічна сполука, сіль натрію і бурштинової кислоти. Одержують шляхом нейтралізації бурштинової кислоти їдким натрієм, являє собою білий кристалічний порошок без запаху (табл.3.1).

Таблиця 3.1

Фізико-хімічні властивості сукцинату натрію

Систематична назва	сукцинат натрію
Хімічна формула	$C_4H_5NaO_4$
Молярна маса	140,07 г/моль
Температура плавлення	$> 300\text{ }^{\circ}\text{C}$
Форма	кристалічний порошок
Агрегатний стан	безкольорові кристали
Розчинність у воді (25°C)	100 гр./100 мл.

Глутамат натрію — мононатрієва сіль глутамінової кислоти. Одержують шляхом ферментації вуглеводів (цукровий буряк, цукрова тростина, тапіока), основні властивості глутамату натрію представлені в табл. 3.2 [206, 207, 208, 209].

Таблиця 3.2

Фізико-хімічні властивості глутамату натрію

Систематична назва	натрій 2-амінопентандиоат
Хімічна формула	$C_5H_8NNaO_4$
Молярна маса	169,11 г/моль
Температура плавлення	$232\text{ }^{\circ}\text{C}$
Форма	білий кристалічний порошок
Агрегатний стан	безколірні кристали
Розчинність у воді	74 г/100 мл.

Спосіб одержання біологічно активної композиції Стимулін-Вет базується на виключно простій і доступній технології, яка передбачає змішування вихідних компонентів, фасування і стерилізація. Випадіння осаду при змішування вихідних компонентів препарату не спостерігали, що засвідчує сумісність сукцинату і глутамату натрію. Стерилізація не змінює фізико-хімічних властивостей складових компонентів препарату (рис. 3.2; 3.3).

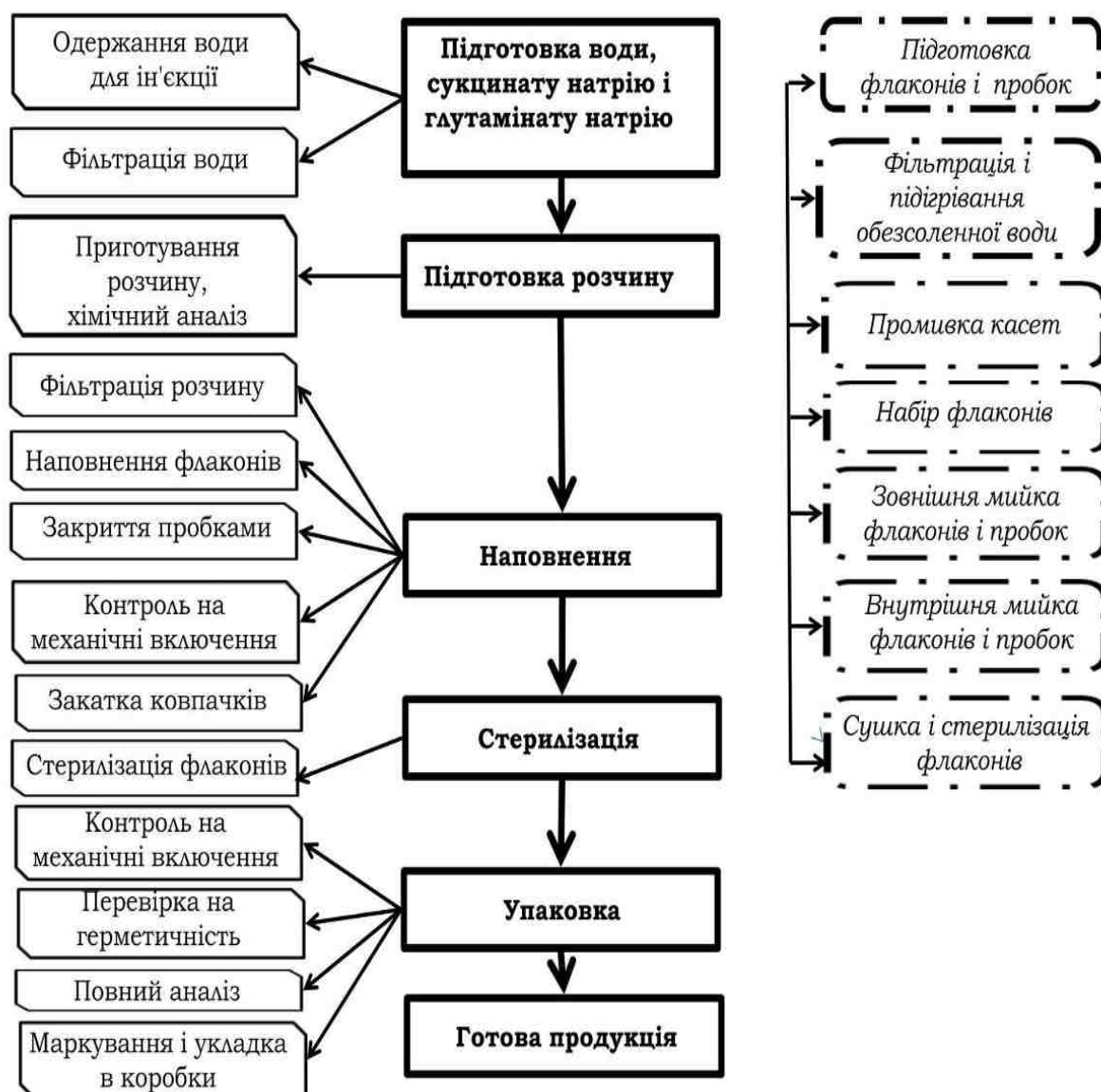
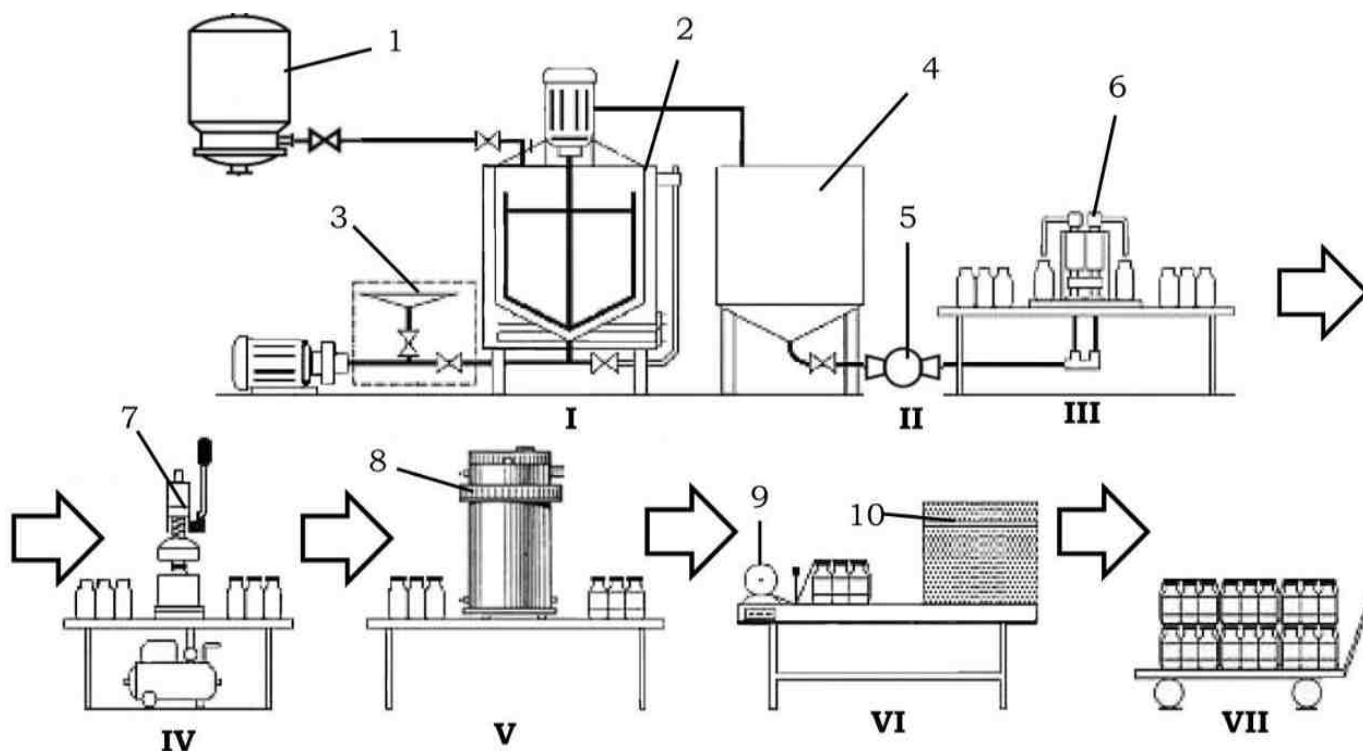


Рис. 3.2 Технологічна схема виробництва біологічно активного препарату Стимулін-Вет



**Рис. 3.3. Апаратурна схема технологічного процесу
виробництва біологічно активного препарату Стимулін-Вет**

I - підготовка води, сукцинату натрію, глутамінату натрію і приготування розчинну біологічно активної композиції (контроль: хімічний, мікробіологічний); **II** - фільтрація ін'єкційного розчину (контроль: відсутність механічних включень); **III** – наповнення флаконів (контроль: відсутність механічних включень, дозованого наповнення флаконів); **IV** - закатування ковпачків на флаконах з ін'єкційним розчином (контроль: герметичність закупорки флаконів); **V** - стерилізація флаконів (контроль: температури, експозиції стерилізації, стерильності); **VI** - маркування і укладка в коробки флаконів (контроль: відповідність зовнішнього вигляду, відсутність механічних включень, герметичність упаковки, відхилення від номінального об'єму); **VII** – транспортування готової продукції на склад.

1 – ємкість з водою для ін'єкцій; **2** – реактор; **3** – прилад автоматичної дозації і завантаження сухих порошкоподібних компонентів; **4** – ємкість для готового ін'єкційного розчину; **5** – фільтр тонкої очистки ін'єкційних розчинів; **6** – дозатор готових рідких лікарських форм; **7** – пристрій для закупорювання флаконів; **8** – стерилізатор для флаконів; **9** – прилад етикетування та упаковки; **10** – пакувальна тара.

Препарат за своїми органолептичними, біологічними та фізико-хімічними властивостями відповідає характеристикам і нормам, що викладені у розроблених нами Технічних умовах ТУ У 24.4-33295412-001:21010 [210] і представлені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

**Характеристики і норми компонентів
біологічно активного препарату Стимулін Вет**

Назва показника	Характеристика та норма
Зовнішній вигляд	Прозора безбарвна рідина
Наявність сторонніх домішок, плісняви, тріщин флаконів	Повинні бути відсутні
Об'єм фасування	10 см ³ , 20 см ³ , 50 см ³ , 100 см ³ . Похибка фасування $\pm 3 \%$.
Концентрація водневих іонів (рН)	6,5-7,5
Нешкідливість	Повинен бути нешкідливим
Вода для ін'єкцій	Прозора, безбарвна рідина Бактеріальні ендотоксини – менше 0,25 МО/мл.
Ідентичність глутамінату натрію	Повинен бути виявленим
Концентрація глутамінату натрію	150,0 г/л
Ідентичність сукцинату натрію	Повинен бути виявленим
Концентрація сукцинату натрію	150,0 г/л
Стерильність	Повинно бути стерильно

Приготований біологічно активний препарат Стимулін-Вет – стерильний розчин розфасований у скляні флакони відповідної вмістимості, закупоренні гумовими пробками і укріплені алюмінієвими ковпачками під обкатку.

При використанні препарату Стимулін-Вет необхідно дотримуватися загальноприйнятих ветеринарно-санітарних вимоги до особистої гігієни і техніки безпеки при роботі з ветеринарними лікарськими засобами.

Наступний етап – це розробка методів контролю якості одержаної біологічно активної композиції Стимулін-Вет і відповідність її складових компонентів.

Для контролю якості препарату перевіряли органолептичні, біологічні та фізико-хімічні показники, якість маркування та пакування кожної серії, комплектність.

Для контролю якості препарату проводили вибірку з різних місць серії у кількості за формулою:

$$n=0,4\sqrt{N}, \quad (3.1)$$

де, **n** - необхідна для контролю кількість флаконів (об'єм вибірки);

N - кількість флаконів у серії.

Із вибірки відбирають 10 флаконів методом випадкового відбирання, п'ять з яких використовують для проведення випробування, а решту (п'ять) направляють до архіву контролера для зберігання протягом 18 місяців.

Визначення зовнішнього вигляду компонентів препарату проводили візуально. Препарат являє собою прозору безколірну рідину без сторонніх домішок та осаду. Одночасно перевіряли відповідність маркування та пакування.

Стерильність контролювали згідно з вимогами Державної Фармакопеї України. Препарат повинен бути стерильним.

Концентрацію водневих іонів визначали у відповідності з інструкцією до рН-метра. Препарат відповідає вимогам стандартності при рН 6,5-7,5.

Об'єм фасування контролюють мірним посудом. Об'єм має відповідати вказаному на маркуванні. Допустима похибка фасування $\pm 3 \%$.

3.1.2. Фармако-токсикологічні властивості біологічно активного препарату Стимулін-Вет

Незважаючи на значну кількість науково-дослідних робіт в тваринництві, ветеринарії та гуманній медицині, що присвячені вивченню різних видів терапевтичної активності сукцинату і глутамінату натрію, в наукових джерелах відомості про токсичність даних фізіологічно активних речовин неоднозначні.

Так, для глутамінату натрію, середньосмертельною дозою (LD50), що викликає загибель половини піддослідних тварин впродовж експериментального періоду, становить для щурів: внутрішньошлункове введення - 16600 мг/кг, інтравенозна ін'єкція - 3300 мг/кг, підшкірна ін'єкція - 5580 мг/кг, внутрішньочеревне введення - 4253 мг/кг [211].

Напівлетальна доза (LD50) натрію сукцинату при внутрішньочеревному введенні мишам становить 3923 мг/кг, при пероральному – 7998 мг/кг. Для щурів показник LD50 при внутрішньочеревному і пероральному введенні становить 3885 мг/кг і 8175 мг/кг, відповідно [212, 213, 214].

Враховуючи вказані дози LD50, обидві речовини відносяться за ступенем токсичності до відносно нешкідливих та відповідно до 4-го класу небезпечності.

Стерильність і токсикометричну оцінку розробленого біологічно активного препарату Стимулін-Вет провели на лабораторних тваринах в умовах Херсонського державного підприємства - Біологічна фабрика.

3.1.3. Визначення стерильності біологічно активного препарату Стимулін-Вет

Враховуючи, що досліджуваний біологічно активний препарат призначений для парентерального використання, визначальним критерієм його біологічної безпеки є стерильність. Одержання стерильного не контамінованого сторонньою мікрофлорою ін'єкційного препарату є першочерговим завданням виробництва ветеринарних лікарських засобів.

Тому, метою даного дослідження було встановлення відсутності в біологічно активному препараті Стимулін-Вет життєздатних мікроорганізмів-контамінантів з максимально можливою достовірністю.

Для дослідження стерильності біологічно активного препарату Стимулін-Вет використовували рідкі стандартні поживні середовища: рідке тіогліколеве середовище (рН 7,2), для виявлення аеробних і анаеробних бактерій та рідке середовище Сабуро (рН 5,6) для встановлення і виділення дріжджів, цвілі та інших патогенних грибів (табл. 3.4).

Посіви інкубували 14 діб при температурі 30–35°C (Тіогліколеве середовище) і за температури 20–25°C (Середовище Сабуро).

Таблиця 3.4

Результати візуального обліку росту мікроорганізмів

Об'єкт випробування	Живильне середовище	
	Тіогліколеве середовище (бактерологічна контамінація)	Середовище Сабуро (мікологічна контамінація)
	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i> <i>Bacillus subtilis</i>
Біологічно активний препарат Стимулін-Вет	—	—

«—» - ріст мікроорганізмів-контамінантів відсутній

Біологічно активний препарат Стимулін-Вет витримав випробовування на стерильність, адже при візуальному обліку ріст мікроорганізмів-контамінантів був відсутній.

3.1.4. Вивчення токсичної дії біологічно активного препарату Стимулін-Вет

Метою токсикологічного дослідження препарату Стимулін-Вет є встановлення характеру і враженості його пошкоджуючої дії на організм експериментальних тварин й оцінка його безпеки.

При виборі фармакологічно активних доз інгредієнтів для препарату Стимулін-Вет, що забезпечили б належний терапевтичний ефект у більшості тварин, вихідним матеріалом слугували відомі літературні дані по гострій токсичності глютамінат натрію і сукцинат натрію [212, 213, 214, 215] та дослідження Шеремети В.І., щодо створення і встановлення впливу біологічно активного препарату «Глютам» на вихід придатних ембріонів у корів-донорів та їх рівень приживлюваності у телиць-реципієнтів [216].

Вивчення гострої токсичності, створенної біологічно активної композиції, проводили шляхом токсиметричної оцінки з вивченням симптомокомплексу отруєння за одноразового її надходження до організму лабораторних тварин.

Для вивчення гострої токсичності препарату в дослідженнях використали 24 білих нелінійних статевозрілих щура обох статей (із середньою масою тіла 201,5 гр.), які пройшли карантин в продовж 14 діб і були клінічно здоровими. Лабораторних тварин розділили на 4 групи (3 дослідних і 1 контрольна) за принципом пар аналогів і за три доби до проведення дослідів, з метою адаптації, перемістили у окремі клітки.

Випробування препарату Стимулін-Вет, на гостру токсичність, проводили за його внутрішньочеревного введення щурам трьох дослідних груп, в різних об'ємах – по 1,5 мл, 2,5 мл і 5 мл, що відповідало дозам діючих речовин препарату – 10,5; 35; 50 мг/щура.

Тварини четвертої групи були інтактними (контрольна група), їм внутрішньочеревно вводили 5 мл. води для ін'єкцій.

Максимально введений об'єм препарату Стимулін-Вет, у лікарській формі розчину для ін'єкцій, не перевищував допустимі об'єми визначені правилами

доклінічного дослідження ветеринарних лікарських засобів, для даного виду лабораторних тварин за вказаного шляху введення і становив - 5 мл.

Після введення досліджуваного розчину внутрішньочеревно, щурів розміщували знову в клітках і забезпечували вільним доступом до корму і води.

Надалі, впродовж 14 діб здійснювали спостереження за лабораторними тваринами, враховували загальний стан і поведінку, їх реакцію на зовнішні подразники, споживання води і корму, клінічні ознаки інтоксикації, а також можливу загибель тварин.

Результати дослідження гострої токсичності біологічно активного препарату Стимулін-Вет в представлені в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

**Результати дослідження гострої токсичності
біологічно активного препарату Стимулін-Вет**

Група	Кількість щурів в групі	Об'єм розчину, мл/щура	Доза діючих речовин препарату,		Токсикологічний ефект	
			мг/щура	мг/кг	Загинуло	Вижило
Контроль	6	5	-	-	0	6
Дослід №1	6	1,25	10,5	47,7	0	6
Дослід №2	6	2,5	35	159	0	6
Дослід №3	6	5	50	227,3	0	6

У щурів усіх досліджуваних груп, в продовж 1-1,5 години після внутрішньочеревного введення розчину, спостерігали незначне загальне пригнічення, скупчення тварин у клітці, стан збудливості, що є наслідком стресу після виконання ветеринарних маніпуляцій

За використання різних доз розробленого препарату, в продовж 14 діб спостереження, загибелі та токсичних реакцій у досліджуваних тварин не спостерігали, дозозалежний вплив Стимуліну-Вет на різні функції організму не реєстрували.

Отже, на основі проведеного токсикометричного дослідженнями доведено, що поєднання сукцинату натрію та глутамінату натрію не вплинуло на підвищення токсичності композиції. Препарат відноситься до 4 класу небезпеки та є відносно нетоксичним згідно з класифікацією відповідно до ГОСТ 12.1.007-76.

3.1.5 Встановлення оптимальної дози біологічно активного препарату

Стимулін-Вет для використання в схемі стимуляції суперовуляції

ГСЖК Folligon® - PGF_{2α}

Одним із складних етапів подальших досліджень біологічно активного препарату Стимулін-Вет і встановлення оптимальної дози його використання - є екстраполяція даних доклінічних досліджень на щурах, на біотехнологічну ситуацію зі стимуляції суперовуляції у корів-донорів, та зокрема вибір ефективної і безпечної дози, що може бути реалізована через алгоритм дій (рис. 3.4).

Основними підходами для трансляції доз ветеринарних лікарських засобів в біотехнологічні дослідження, є: - міжвидове перенесення доз з використанням коефіцієнту, що враховує різницю в площі поверхні тіла тварин; - пряме перенесення доз, виражений в мг/кг.; - міжвидове перенесення доз на основі даних фармакокінетики лікарського засобу.

В дослідженнях по використанню біологічно активного препарату Стимулін-Вет використали принцип прямого перенесення доз, а для проведення розрахунків використали формулу визначення еквіваленту дози (ЕД):

$$\text{ЕД} = \text{доза А мг/кг} \times (\text{маса тварин А} / \text{маса тварин В})^{0,33} \quad (3.2);$$

де, ЕД – еквівалент дози для виду В; А – щурі; В - корови-донори;



Рис. 3.4. Алгоритм вибору максимальної рекомендованої початкової дози створеного біологічного активного препарату Симулін-Вет

За результатами проведеного токсикометричного дослідження, було встановлено, що внутрішньочеревне введення щурам, препарату Симулін-Вет, в максимально допустимому об'ємі 5 мл., з концентрацією діючої речовини 227,3 мг/кг, не спричинює загибелі та токсичних реакцій у досліджуваних тварин.

Тому, при визначенні максимальної рекомендованої початкової дози біологічного активного препарату Симулін-Вет для корів-донорів використали

метод міжвидового перенесення доз і провели розрахунки використовуючи формулу (3.2.) для визначення еквівалентної дози.

За результатами проведених розрахунків встановлені наступні дози і об'єми ін'єкційних розчинів біологічного активного препарату Стимулін-Вет для корів-донорів:

1. Максимально рекомендована доза - 17,0 мг/кг діючої речовини, в перерахунку на середньо масу самиці-донора 505 кг. - це 8,5 гр. діючої речовини в робочому об'ємі 30 мл.

$$ЕД = 227,3 \text{ мг/кг} \times (0,22/505)^{0,33} = 227,3 \times 0,075 = 17,0 \text{ мг/кг}$$

2. Оптимально рекомендована доза - 11,9 мг/кг діючої речовини, в перерахунку на середньо масу самиці-донора 505 кг. - це 6,0 гр. діючої речовини в робочому об'ємі 20 мл.

$$ЕД = 159 \text{ мг/кг} \times (0,22/505)^{0,33} = 159 \times 0,075 = 11,9 \text{ мг/кг}$$

3. Мінімально рекомендована доза - 3,5 мг/кг діючої речовини, в перерахунку на середньо масу самиці-донора 505 кг. - це 1,7 гр. діючої речовини в робочому об'ємі 10 мл.

$$ЕД = 47,7 \text{ мг/кг} \times (0,22/505)^{0,33} = 47,7 \times 0,075 = 3,5 \text{ мг/кг}$$

Важливою передумовою використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет - не чинити шкідливого впливу на організм тварини після його введення.

Тому, було проведено дослідження на можливе виявлення побічної реакції на біологічно активний препарат Стимулін-Вет, у самок ВРХ, що не залежить від дози і є частиною непередбачуваних реакцій організму.

Вплив на організм корів-донорів і оптимальну дозу застосування біологічно активного препарату Стимулін-Вет, визначали за результатами внутрішньом'язових ін'єкцій в схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α}.

Коровам-донорам 3-х дослідних груп (n-5), препарат Стимулін-Вет, ін'єктували на 10 добу статевого циклу, в досліджуваних об'ємах 10, 20 та 30

мл/гол/добу при концентрації в них діючих речовин, відповідно – 1,7 гр., 6 гр., 8,5 гр.

За результатами спостережень, в продовж 3-х діб, загального і спеціального дослідження тварин, було встановлено, що досліджуваний препарат не вплинув на зміни фізіологічного стану піддослідних тварин у порівнянні з контролем.

Враховували: стан волосяного покриву корів-донорів (збереглися еластичність, блиск, оптимальний ступінь прилягання до шкіри); симетричність і відсутність запальних процесів в ділянці ін'єкції препарату; стан видимих слизових оболонок (колір, блиск, зволоженість, морфологічна цілісність).

Поведінка тварин в прифермських загонах, споживання води і корму не змінилися. При проведенні спеціальних досліджень встановили, що стан серцево-судинної і дихальної системи знаходиться в межах фізіологічної норми.

За використання досліджуваних доз препарату Стимулін-Вет (10, 20 та 30 мл/гол/добу) в схемі стимуляції суперовуляції, було встановлено, що ін'єкції Стимуліну-Вет в дозі 10 мл/гол/добу не значно вплинули на збільшення рівня суперовуляції у дослідних донорів у порівнянні з контролем. Використання у дослідних групах препарату в дозі 20 і 30 мл/гол/добу сприяло більш ефективній суперовуляції (рис.3.5).

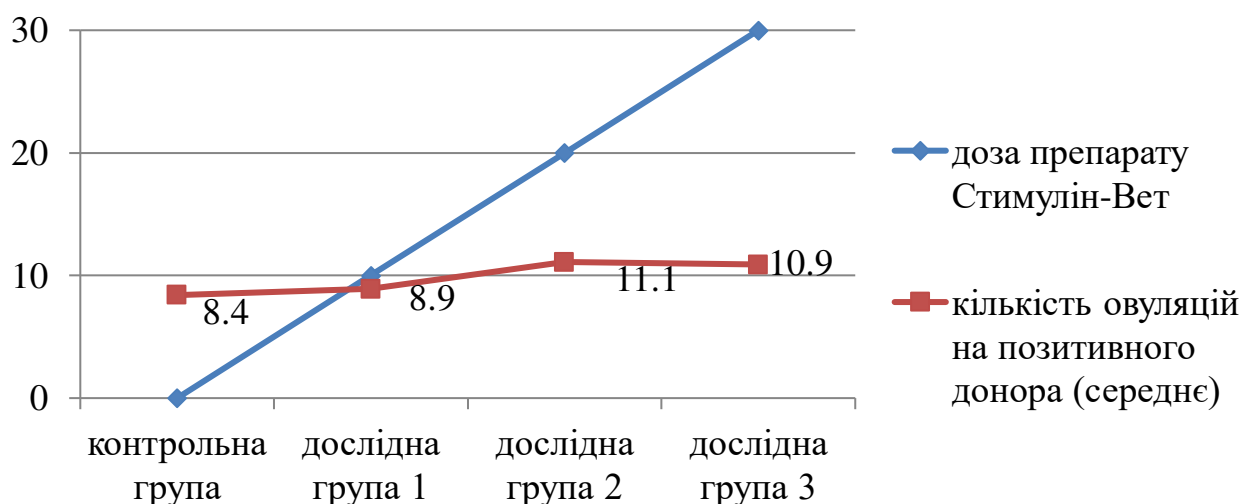


Рис. 3.5. Вплив досліджуваних об'ємів і доз діючих речовин біологічно активного препарату Стимулін-Вет на рівень суперовуляції корів-донорів

На цьому етапі між дослідними групами корів-донорів дозозалежний ефект від використаного препарату Стимулін-Вет у вибраному діапазоні доз 20 і 30 мл/гол/добу був несуттєвий.

Тому враховуючи, що для техніки виконання внутрішньом'язових ін'єкцій, а також з метою раціонального використання компонентів препарату Стимулін-Вет, найбільш оптимальною є доза препарату 20 мл/гол/добу.

3.2. ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ СТИМУЛІН-ВЕТ ДЛЯ СТИМУЛЯЦІЇ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ

3.2.1 Способи добору корів у донори ембріонів для трансплантації

3.2.1.1. Розроблення нового способу добору корів у донори на основі оцінки функціонування жовтого тіла яєчників

Ефективність використання методу трансплантації ембріонів багато в чому залежить від клінічного та фізіологічного стану корів, що створює передумови для поліовуляторної реакції та введення екзогенних гонадотропінів та формування ембріопродуктивності.

Тому одним із найважливіших моментів у технології трансплантації є добір донорів та реципієнтів.

Перед початком досліджень в стадах у господарствах проводили загальне клінічне та гінекологічне дослідження корів з метою відбору їх у групи донорів ембріонів за розробленим нами ефективним способом добору без додаткових затрат фінансів і праці [217]. Основою розробленого нами способу добору корів у донори ембріонів були результати досліджень науковців, за якими було встановлено, що реакція суперовуляції відбувається, якщо функціонування

жовтого тіла яєчника забезпечує концентрацію прогестерону в організмі донорів на рівні більше 2 нг/мл [218, 219].

На основі даного припущення нами проведено серію досліджень з метою встановлення можливості прогнозування заплідненості корів за морфологічною якістю жовтих тіл. Для цього аналізували реакцію на введення гормонів у тварин з різним станом жовтого тіла. Для реалізації мети і встановлення закономірності створили три групи корів за морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників:

I група – тварини, у яких при ректальному дослідженні встановлено, що верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника до 0,5 см (такий стан позначали як «+»)

II група – тварини, у яких при ректальному дослідженні встановлено, що верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника на 0,5 – 1 см (такий стан позначали як «++»)

III група – тварини, у яких при ректальному дослідженні встановлено, що верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника на 1 см і більше (такий стан позначали як «+++»)

З 35 відібраних для дослідження тварин найбільше було корів II групи – 19 (54,3%) і вдвічі менше тварин I і III груп (з переважанням на 5,7% корів III групи порівняно з I). У відібраних потенційних донорів стимулювали та синхронізували статеву охоту синтетичним аналогом простагландину F_{2a} Естрофан®.

За результатами дослідження встановлено, що після введення лютеолітичного препарату Естрофан® за 96 годин прореагувало статевою охотою 82,8%, з них через 48 годин 62,1%, 72 години – 34,5%, 96 годин – 3,4% (табл. 3.6).

Результати досліджень свідчать, що на ін'єкцію препарату найбільше прореагувало корів II групи – 17 голів із 19, що складає 89,4 %, що лише на 0,6% більше, ніж у III групі корів (8 голів із 9). У I групі проявили ознаки охоти 5 корів із 7 (71,4%).

Через 48 годин встановили, що у 57,8 % корів II групи за морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників виявляються ознаки статевої охоти, у III групі таких корів більш ніж вдвічі менше – (6 корів із 9, 66,7 %) і ще менше тварин I

групи прореагували на стимуляцію охоти (28,7%). Така ж тенденція збереглась і через 72 години після ін'єкції препарату Естрофан®. Через 96 годин ознаки охоти виявлялись лише в одній корові. Не проявили ознаки охоти 5 тварин із 35 (14,2%).

Необхідно зазначити, що спостерігали певну залежність між якістю жовтого тіла яєчників та кількістю тварин, які проявили ознаки статевої охоти – у I (+) групі таких тварин було менше на 18,0 %, ніж у II групі та 17,4%, ніж у III групі, що, можливо, пов'язано з функціональною неповноцінністю жовтого тіла. В цілому по групах не прореагувало 14,2%, з них по 5,7% в I та II групах і 2,8% відповідно в III групі (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Ефективність стимуляції та синхронізації статевої охоти
у корів в залежності від якості жовтого тіла яєчників**

Показник	Результати індукції статевої охоти PGF _{2α}		Групи корів за морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників n (%)		
	n	%	I (+)	II (++)	III (+++)
Оброблено корів	35	100	7 (20,0)	19 (54,3)	9 (25,7)
Проявили ознаки статевої охоти	29	82,8	5 (71,4)	17 (89,4)	8 (88,8)
З них: через 48 годин	18	62,1	2 (28,7)	11 (58,6)	6 (66,7)
72 години	10	34,5	2 (28,7)	6 (31,5)	2 (22,3)
96 годин	1	3,4	1	0	0
Не прийшли в статеву охоту	5	14,2	2 (40,0)	2 (40,0)	1 (20,0)

Порівняльна характеристика досліджуваних груп свідчить, що в III групі після ін'єкції простагландину 66,7 % тварин прийшли в охоту через 48 годин, що на 8,1% і 38% більше, ніж у II та I групі за аналогічний період. Через 96 годину статеву охоту спостерігали лише в 1 тварини з I групи, яку надалі не використовували в дослідженнях, адже групи сформували з тварин, які прореагували в інтервалі часу 48-72 години після використання лютеолітичного препарату.

Аналіз результатів суперовуляції у корів-донорів та станом жовтого тіла їх яєчників у день індукції та синхронізації статевого циклу препаратом PGF_{2α}, Естрофан показав, що у III групі всі тварини прореагували на введення екзогенних гонадотропінів, а в II та I відповідно лише 87,5% та 50% тварин. За іншими показниками суттєвої відмінності між II та III групою не спостерігали (табл.3.7).

Таблиця 3.7

Результати суперовуляції у корів-донорів

Показник	Група		
	I(+)	II(++)	III (+++)
Використано в дослідах, гол	2	8	4
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, n (%)	1 (50)	7 (87,5)	4 (100)
Овуляцій на одного реагуючого донора, шт.	6,0	8,1	8,8
Неовульованих фолікулів на донора, шт.	3,0	4,28	4,25
Індукованих до росту преовуляторних фолікулів на одного реагуючого донора, шт.	9	12,4	13
Індекс овуляції, %	66,6	65,5	67,3

Дещо інша ситуація спостерігалась у тварин I групи, адже рівень овуляції (за показником овуляцій на одного реагуючого донора) був в 1,35 разів менший,

ніж у тварин II та у 1,46 разів, ніж у III груп тварин. Аналогічна тенденція простежується і за кількістю індукованих до росту преовуляторних фолікулів: їх було менше у I групі корів в 1,37 та 1,44 рази, ніж у II та III групах відповідно. Позитивним фактом тварин I групи є менша кількість неовульованих фолікулів відносно інших груп. Але, якщо простежити індекс овуляції, який незначно відрізнявся за групами тварин і відображав відсоткове співвідношення кількості жовтих тіл, одержаних за результатами суперовуляції до загальної кількості преовуляторних фолікулів, то суттєвої відмінності не простежується. Тому доречно зауважити, що менша кількість неовульованих фолікулів в I групі була обумовлена меншим пулом індукованих до росту преовуляторних фолікулів.

Отже, введення PGF_{2α} Естрофан коровам з активно функціонуючим жовтим тілом яєчників, зумовлює в переважній більшості тварин (82,8%) появу ознак статевої охоти. Значна кількість тварин (96,5%) реагують на введення лютеолітичного препарату появою ознак статевої охоти через 48 та 72 години. За результатами суперовуляції відмічено, що в даних досліджуваних групах (II – 87,5%, III – 100%) переважна кількість тварин прореагувала суперовуляцією на введення простагландину у порівнянні з I групою корів (50%).

Отже, оскільки результати дослідження свідчать про більш виражену позитивну реакцію тварин II («++») і III («+++») груп на ін'єкцію простагладинів, що вказує на роль активності такої залози як жовте тіло, то цю закономірність доцільно враховувати при відборі тварин в групу корів-донорів ембріонів.

На основі даних результатів дослідження отримано патент на корисну модель «Спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації» № 57835 від 10.03.2011.

У всіх наступних серіях досліджень визначали морфологічний стан жовтих тіл яєчників і враховували його при формуванні контрольних та дослідних груп тварин.

3.2.1.2. Розроблення нового способу добору корів у донори ембріонів на основі біохімічних досліджень обміну Фосфору

З метою удосконалення способів відбору корів у групу донорів ембріонів нами проведений пошук додаткових об'єктивних критеріїв оцінки придатності тварини до участі у процесах трансплантації. Передумовою є припущення, що для корів-донорів ембріонів в крові є специфічним показник відношення концентрації фосфору неорганічного до активності лужної фосфатази. На основі цього розроблений спосіб відбору корів у донори для трансплантації, захищений патентом на винахід [220]. Спосіб полягає в тому, що у корів перед введенням гонадотропних гормонів відбирають проби крові і визначають відношення концентрації в крові фосфору неорганічного до активності лужної фосфатази помножене на 100 коливається в межах від 0,36 до 0,63 або має величину 2,0 і більше.

В результаті дослідів були одержані ембріони від 6 корів з 8. Кореляційний аналіз показав, що кількість придатних ембріонів вірогідно взаємозв'язана тільки з активністю лужної фосфатази ($r=0,880$) та за вмістом фосфору неорганічного ($r=0,936$). Крім того, було встановлено, що активність лужної фосфатази і вміст фосфору неорганічного вірогідно корелюють між собою (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Коефіцієнти кореляції між кількістю придатних ембріонів і вмістом фосфору неорганічного, активністю лужної фосфатази та їх коефіцієнтами

Кількість придатних ембріонів	r	p <
Активність лужної фосфатази (ЛФ)	-0,880	0,05
Концентрація фосфору неорганічного (Р)	0,936	0,01
Коефіцієнт ЛФ:Р	-0,822	0,05
Коефіцієнт (Р:ЛФ)×100	0,945	0,01

Індивідуальний аналіз засвідчив, що тварини, від яких отримані ембріони, мають такі значення активності лужної фосфатази і вмісту фосфору неорганічного, які не дозволяють виділити оптимальні параметри добору корів у донори за цими показниками. Тому були враховані коефіцієнти відношення цих інгредієнтів між собою (табл. 3.9).

Порівняльний аналіз отриманих даних свідчить, що для добору корів у донори можна використовувати величини коефіцієнту відношення фосфору неорганічного до активності лужної фосфатази помноженого на 100. Придатні для трансплантації ембріони були отримані від корів, у яких дане співвідношення коливається в межах від 0,36 до 0,63 або має величину 2,0 і більше. Цей висновок підтверджує позитивний високовірогідний зв'язок між цими ознаками ($r=0,945$).

Таблиця 3.9

Індивідуальна величина кількості придатних ембріонів, вмісту фосфору неорганічного, активності лужної фосфатази та їх коефіцієнтів

Кличка корови	Кількість придатних ембріонів, шт	Активність лужної фосфатази, ммоль/мл час (ЛФ)	Фосфор неорганічний, ммоль/л (Р)	Коефіцієнти	
				ЛФ:Р	(Р:ЛФ)×100
Рязань	0,0	122,0	2,40	50,8	1,97
Вісь	0,0	105,8	1,90	55,7	1,79
Прудка	2,0	189,1	1,20	157,6	0,63
Лірика	9,0	121,5	2,60	46,8	2,14
Проліска	2,0	210,2	1,10	191,1	0,52
Брава	2,0	220,8	0,80	276,0	0,36
Вата	2,0	219,9	0,90	244,3	0,41
Аджарія	4,0	220,4	1,00	220,4	0,45

На основі розробки цього способу оформлено патент на винахід «Спосіб відбору корів у донори ембріонів для трансплантації» 86465 Україна, опубл. 25.03.2009.

Для остаточного діагностування стану геніталій та з метою прогнозування запального процесу у матці проводили додаткове лабораторне дослідження тічкового слизу за експрес-методом Г.М. Калиновського з співавторами [218].

У всіх відібраних корів-донорів слиз не зумовлював темного кольору рідини у пробірці, що свідчить про відсутність запального процесу в матці.

3.3. Вплив біологічно активного препарату Стимулін-Вет на індукування суперовуляції корів-донорів

3.3.1. Ефективність внутрішньоматкове використання препарату Стимулін-Вет під час стимуляції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан

Відомо, що при суперовуляції перші ембріони з яйцепроводів потрапляють у матку на 3 добу статевого циклу. Введенням у матку біологічно активного препарату Стимулін-Вет ми прагнули підвищити в гістотрофії наявність енергетичних та пластичних метаболітів, а також через гуморальну систему вплинути на гіпоталамус. У результаті такої обробки тварин очікували отримати більшу кількість придатних ембріонів, інтенсифікувати їх розвиток та нормалізувати гормональний фон у донорів.

Тому на першому етапі досліджень перевіряли вплив розробленого нами біологічно активного препарату Стимулін-Вет за внутрішньоматкового введення на кількісний вихід придатних ембріонів у корів-донорів за індукції суперовуляції гонадотропіном СЖК Folligon®.

З метою індукування статевої охоти відібраним коровам-донорам внутрішньом'язово вводили синтетичний функціональний аналог простагландину F_{2α}-клопростенол в складі препарату Естрофан в дозі 2 мл (0,5 мг активної речовини) на одну голову.

На 10 добу статевого циклу для стимуляції суперовуляції донорам інтрамускульно ін'єктували гонадотропін СЖК Folligon® (Intervet, Нідерланди) в дозі 2,5 тис МО.

Через 48 годин після введення гонадотропіну СЖК Folligon® коровам-донорам ін'єктували внутрим'язово препарат Естрофан в дозі 2 мл на одну голову.

Штучне осіменіння проводили тричі з інтервалом 12 годин розмороженою спермою з необлицьованих гранул одного бугая цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки. В кожній дозі було не менше 30 млн спермій з прямолінійно-поступальним рухом. Сперму аплікували в тіло матки.

Аналіз результатів стимуляції суперовуляції показав, що введення ГСЖК Folligon® коровам-донорам української чорно-рябої молочної породи на 10 добу статевого циклу в дозі 2,5 тис. МО зумовлює суперовуляцію у 50% тварин, серед яких половина мала оптимальний рівень овуляції (табл. 3.10). При цьому спостерігається значна варіабельність (48,7%) кількості передовуляторних фолікулів. Серед них 18,2% не овулюють після регресії жовтого тіла.

Таблиця 3.10

Результати суперовуляції у корів-донорів

Показники	Група		Всього
	контрольна	дослідна	
Оброблено корів-донорів, голів	7	9	16
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції (n (%))	4 (57,1)	4 (44,4)	8 (50)
Рівень суперовуляції, $M \pm m$	8,5 $\pm$ 2,33	10,7 $\pm$ 2,56	9,6 $\pm$ 1,66
Ліміт овуляцій у донорів, $\lim_{\min-\max}$	4–13	3–16	3–16
Неовульованих фолікулів на донора, $M \pm m$	1,8 $\pm$ 0,25	1,8 $\pm$ 0,75	1,8 $\pm$ 0,25
Неовульованих фолікулів, %	20,6	16,3	18,2
Коефіцієнт мінливості овуляцій, %	54,8	47,7	48,7
Кількість тварин, що мали оптимальну (10-15) суперовуляцію, голів	2	2	4

На гормональну обробку позитивно прореагували 57,1% корів у контрольній групі і дослідній – 44,4%. Рівень суперовуляції у дослідних тварин (овуляцій на одного реагуючого донора) був більшим на 24,1%. Слід відмітити, що у дослідній, та контрольній групах спостерігається значна варіація овуляцій, відповідно: $\lim_{\min-\max}$ -3–16 та $\lim_{\min-\max}$ – 4–13. Тому різниця між групами за рівнем суперовуляції є невірогідною і знаходиться в межах помилки. Крім того, між досліджуваними групами тварин за кількістю неовульованих фолікулів не виявлено достовірної різниці. Таким чином, було вирішено проаналізувати результати стимуляції суперовуляції у корів-донорів в цілому.

Індекс ефективності вимивання ембріонів за умови проведення процесу вимивання ембріонів одним техніком, можна розглядати як ознаку, що характеризує певною мірою морфофункціональний стан матки донора. У дослідних тварин ефективність вимивання ембріонів була меншою на 8,7%, порівняно з контрольною групою (табл.3.11).

Тому, очевидно, внутрішньоматкове введення препарату зумовило такий морфофункціональний стан рогів матки донорів, який був несприятливим для вимивання ембріонів.

Згідно теоретичної передумови, введення в матку на 2 добу статевого циклу препарату Стимулін-Вет повинно зумовити зміни в якості та кількості ембріонів, які є основними показниками ефективності індукції суперовуляції.

В контрольній групі, у вимивному середовищі, придатних ембріонів знайшли більше на 16,7%, ніж у дослідній. Однак, враховуючи похибку даного показника, можна вважати цю різницю несуттєвою, тобто введення препарату не спричиняє явного негативного впливу на кількість придатних ембріонів.

Порівняльний аналіз ембріонів за якісною оцінкою показав, що у дослідній групі порівняно з контрольною групою отримано “відмінних” ембріонів менше на 57,4%, а «добрих» більше на 29,6%. Однак “задовільних” ембріонів в дослідних донорів отримано в п’ять разів більше, ніж від контрольних. Різниця між групами за непридатними до пересадження була в межах похибки.

У дослідній та контрольній групах можна відмітити досить значні відмінності в стадіях розвитку ембріонів. Так, у контрольній групі тварин кількість ембріонів на стадії морули та бластоцисти була однаковою, тоді як у дослідних донорів отримали майже в чотири рази більше морул, ніж бластоцист.

Таблиця 3.11

Ефективність вимивання ембріонів, їх якість та стадії розвитку

Показники	Група	
	контрольна	дослідна
Позитивних донорів за вимиванням, n (%)	4 (100)	4 (100)
Індекс вимивання ембріонів, %	52,9	44,2
Придатних ембріонів, шт	3,0±2,04	2,5±0,5
Із них :		
«відмінних»	1,75±1,436	0,75±0,479
«добрих»	1,25±0,629	1,75±0,250
«задовільних»	0,25±0,250	1,250±0,946
Непридатних ембріонів, шт	1,25±0,250	1,0±0,577
Морул, шт	2,3±0,63	4,0±1,91
Морул придатних, шт	1,0±0,41	1,8±0,48
Морул непридатних, шт	1,3±0,25	2,3±1,44
Бластоцист, шт.	2,3±1,93	0,8±0,25
Бластоцист придатних, шт	2,0±2,00	0,8±0,25
Бластоцист непридатних, шт	0,3±0,25	0

Порівняльний аналіз показав, що від корів-донорів дослідної групи морул отримали більше на 42,5%, ніж у контрольних, але що стосується бластоцист, то їх кількість була втричі меншою, тобто у донорів контрольної групи ембріони в матці розвивалися інтенсивніше, ніж у дослідних тварин. Так, у донорів дослідної

групи було вимито лише придатні бластоцисти (5,3%), тоді як, у контрольних – експандовані бластоцисти (27,8%) (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Кількість ембріонів за якістю та стадією розвитку, вимитих у
піддослідних донорів**

Показники	Вимитих ембріонів у групах, %	
	контрольна	дослідна
Досліджено ембріонів, шт	18	19
із них n (%): «відмінні»	7 (38,9)	3 (15,8)
«добрі»	5 (27,8)	7 (36,8)
«задовільні»	1 (5,5)	5 (26,3)
«непридатні»	5 (27,8)	4 (21,1)
Морули, n (%)	9 (50)	16 (84,2)
із них n (%): морули ранні придатні	1 (5,5)	1 (5,3)
морули рані непридатні	1 (5,5)	0
морули пізні придатні	3 (16,7)	6 (31,5)
морули пізні непридатні	4 (22,3)	9 (47,4)
Бластоцисти	9 (50)	3 (15,8)
із них: бластоцисти ранні придатні	1 (5,5)	2 (10,5)
бластоцисти придатні	2 (11,2)	1 (5,3)
бластоцисти експандовані придатні	5 (27,8)	0
бластоцисти експандовані непридатні	1 (5,5)	0

З теоретичної точки зору у стимуляції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет може сприяти стимуляції та стабілізації обмінних процесів в організмі корів-донорів, про що свідчитиме збільшення кількості придатних до пересадження ембріонів.

3.3.2. Ефективність використання препарату Стимулін-Вет на 8-11 добу статевого циклу у корів-донорів за схемою стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан

Дослід проведений з метою встановлення ефективності використання у корів-донорів препарату Стимулін-Вет в схемі суперовуляції ГСЖК Folligon® – PGF_{2α} Естрофан®.

При проведенні досліду в схему індукції суперовуляції внесли деякі зміни. Так, з метою збільшення рівня суперовуляції дозу гонадотропіну СЖК Folligon® збільшили до 3000 МО, а синтетичний аналог простагландину F_{2α}-клопростенол у вигляді препарату Естрофан ін'єктували у дозі 2 мл (0,5 мг активної речовини) на одну голову двічі – на 12 та 13 добу статевого циклу. Коровам дослідної групи на 8, 9, 10, 11 добу статевого циклу ін'єктували препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл на голову.

За результатами проведених досліджень встановлено, що у донорів дослідної групи рівень суперовуляції був на 23,5 % більший, ніж у тварин контрольної групи. Результати досліджень показали, що у контрольній та дослідній групах спостерігається значна варіація овуляцій, відповідно: $\lim_{\min-\max}$ – 3–13 та $\lim_{\min-\max}$ – 5–17. Очевидно, велика похибка зумовлена варіабельністю цієї ознаки. Крім того, аналіз величини лімітів між групами, все ж таки, свідчить про наявність тенденції до збільшення кількості овульованих фолікулів, оскільки у дослідних донорів мінімальна та максимальна кількість овуляцій була більшою, ніж у контролі відповідно на 40% та 23,5% (табл. 3.13).

Наявність неовульованих фолікулів має негативний вплив на відтворну здатність донорів, оскільки з них надалі можуть утворюватися дрібні або великі фолікулярні кісти яєчників, що зумовлюють клінічний стан анафродизії чи німфоманії.

Тому зменшення кількості неовульованих фолікулів у дослідних донорів на 64,7% порівняно з контролем, очевидно, можна вважати позитивним фактом дії препарату Стимулін-Вет.

Результати суперовуляції у корів-донорів, ($M \pm m$)

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Оброблено корів-донорів, гол	5	5
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, %	5 (100)	4 (80)
Ліміт овуляцій у донорів, $\lim_{\min-\max}$	3 – 13	5 – 17
Рівень суперовуляції, $M \pm m$	$7,8 \pm 1,88$	$10,2 \pm 2,69$
Неовульованих фолікулів на донора, шт, $M \pm m$	$3,4 \pm 1,21$	$1,2 \pm 0,63$
Кількість індукованих до росту преовуляторних фолікулів, $M \pm m$	$11,2 \pm 2,80$	$11,5 \pm 2,50$

Результати досліджень свідчать, що використання гонадотропіну СЖК Folligon® на 10 добу індукованого статевого циклу у тварин дослідної і контрольної груп зумовив рівень поліфолікулогенезу в межах $11,2 \pm 2,80$ та $11,5 \pm 2,50$ преовуляторних фолікулів на позитивно реагуючого донора. Враховуючи дані отриманих результатів, можливо констатувати, що використання біологічно активного препарату не зумовило збільшення пулу преовуляторних фолікулів та кількості позитивно реагуючих тварин у дослідній групі, але сприяло позитивній тенденції збільшення рівня овуляції за рахунок зменшення кількості неовульованих фолікулів.

Отже, включення в схему гормональної обробки препарату Стимулін-Вет спричиняє збільшення рівня суперовуляції на 23,5% та зменшення кількості неовульованих фолікулів на 64,7%. Позитивним моментом є те, що у вимивному середовищі у донорів дослідної групи придатних ембріонів виявилось більше на 28,5%, ніж контрольної. Крім того, у донорів дослідної групи були відсутні задовільні та непридатні ембріони.

Під час проведення експериментальних робіт у кожній групі тварин вимили від всіх донорів лише по одній яйцеклітині, що, очевидно, зумовлено введенням донорам двох простагландинів (табл. 3.14).

Таблиця 3.14.

Ефективність вимивання ембріонів та оцінка їх якості і стадії розвитку

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Позитивних донорів за вимиванням, n	4	4
Всього ембріонів, шт.	7,0±2,27	5,2±0,48
із них: придатних	3,8±1,80	5,25±0,48
непридатних	3,2±0,75	0
Морул, шт	6,3±1,89	3,25±0,85
Бластоцист, шт	0,7±0,48	2,0±0,91
Яйцеклітин, шт	0,3±0,25	0,3±0,25

У донорів контрольної групи індекс ефективності вимивання був більшим на 20,6%, ніж у дослідній групі, що зумовлено меншою кількістю вимитих ембріонів. Зменшення ефективності вимивання може свідчити про певні морфологічні зміни у матці корів, спричинені, очевидно, препаратом Стимулін-Вет. Це певною мірою підтверджується м'якшою консистенцією матки у дослідних корів порівняно з тваринами у контрольній групі. Такий стан матки у донорів погіршував процес вимивання ембріонів.

Слід відмітити різницю за стадіями розвитку ембріонів як в межах дослідної групи, так і між групами. Так, у дослідних донорів було вимито 61,9% бластоцист, що більше на 65% порівняно з контролем. За літературними даними на 7 добу статевого циклу вимивають в середньому 45,5% бластоцист. Така кількісна різниця між стадіями розвитку, очевидно, зумовлена зміною складу гістотрофа, спричиненою препаратом Стимулін-Вет.

Позитивним моментом отриманих результатів даного дослідження є те, що у вимивному середовищі придатних ембріонів від донорів дослідної групи знайшли більше на 27,6%, , ніж від донорів контрольної.

У дослідних донорів рівень виходу придатних ембріонів становив 100%, що в 1,9 рази переважав аналогічний показник контролю (53,7%) (табл.3.15). До того ж, у корів-донорів дослідної групи, були відсутні задовільні та непридатні ембріони.

Таблиця 3.15

**Порівняльна характеристика рівня виходу
придатних ембріонів у корів-донорів, %**

Група корів-донорів	Одержано ембріонів, шт.	Одержано придатних ембріонів, шт.	Рівень виходу придатних ембріонів, %.
Контрольна	28	15	53,7
Дослідна	21	21	100

За результатами досліджень встановлено, що у тварин контрольної і дослідної груп рівень заплідненості яйцеклітин був майже однаковий і становив 96,5% і 95,4% відповідно (рис. 3.6). Тому логічно зробити висновок, що ін'єкції коровам-донорам дослідної групи препарату Стимулін-Вет за гормональної індукції суперовуляції і афізіологічного індукованого поліфолікулогенезу, ймовірно, спричинили деякі зміни в стероїдогенезі, що опосередковано зумовило стан гормонального стресу у матці із зміною внутрішніх механізмів взаєморегуляції та секреторної властивості ендометрію. За таких умов, в окремих донорів дослідної групи, від яких не одержали зовсім або вимили незначну кількість ембріонів, матка була атонічна, дряблої консистенції. Крім того, у вимивному середовищі спостерігали наявність значної кількості слизу густої консистенції, що в свою чергу утруднював одержання вимивного середовища з катетера, а також знижував ефективність пошуку ембріонів.

Наведені негативні фактори зумовили зниження загального рівня ефективності вимивання ембріонів у дослідних корів-донорів на 20,7% відносно контролю.

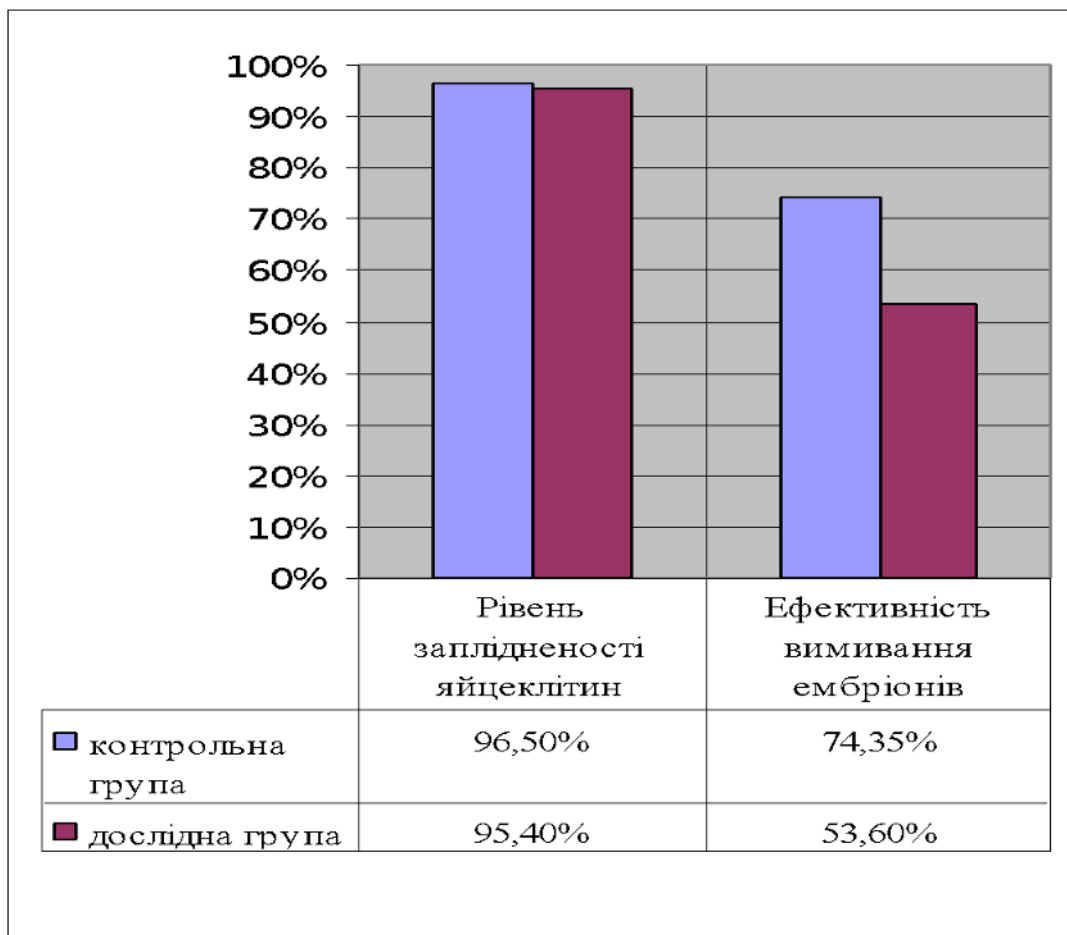


Рис. 3.6 Оцінка рівня заплідненості яйцеклітин та ефективності вимивання ембріонів у корів-донорів

Таким чином, за індукції гонадотропіном СЖК Folligon® суперовуляції у корів-донорів, внутрім'язове введення з 8 по 11 добу статевого циклу препарату Стимулін-Вет у дозі 20 мл сприяє збільшенню рівня суперовуляції (на 23,9%) та кількості придатних до пересадження ембріонів (на 27,6%) і зменшує число неовульованих фолікулів в 2,7 рази.

Негативним аспектом використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет слід вважати зниження ефективності вимивання ембріонів в 1,4 рази порівняно з контролем.

3.3.3. Ефективність використання препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу у корів-донорів за схемою стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан

Враховуючи результати попереднього досліду, що ґрунтувався на 4-кратному введенні біологічно активного препарату Стимулін-Вет дослідній групі в період індукції суперовуляції, та окремі негативні аспекти, що пов'язані із зниженням ефективності вимивання ембріонів, було прийнято рішення про апробацію нової схеми використання препарату.

На основі проведених клініко-гінекологічного обстеження і дослідження тічкового слизу в день індукованої статевої охоти було відібрано 8 корів-донорів, з яких сформували 2 групи (дослідну та контрольну) по 4 тварини.

Гормональну індукцію поліфолікулогенезу та суперовуляції у досліджуваних групах тварин здійснювали по аналогії з другим дослідом.

Одержані дані, що представлені в таблиці 3.12, дають можливість стверджувати, що кількість стимульованих до росту фолікулів за результатами гормональної обробки майже не відрізнялась між досліджуваними групами, зумовлюючи практично однотипні рівні поліфолікулогенезу.

У досліді 3 суперовуляцію у корів-донорів стимулювали за ГСЖК Folligon®-PGF_{2α} Естрофан (у дозі 3,0 тис. МО і 2 мл на одну голову відповідно). На 10 і 11 добу статевого циклу коровам дослідної групи вводили підшкірно за лопаткою препарат Стимулін-Вет по 20 мл/ голову.

У результаті проведених досліджень встановлено, що всі корови-донори прореагували на гормональну обробку. У дослідній групі варіація овуляцій була більшою, оскільки її мінімальний і максимальний рівні у дослідних корів були більшими відповідно на 50 і 72,7%. Тому у тварин дослідної групи рівень

суперовуляції вищий на 27,9% порівняно з контролем. При цьому у донорів дослідної групи неовульованих фолікулів було достовірно ($p < 0,05$) менше на 77,8%, ніж у контролі (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

Рівень суперовуляції та вихід ембріонів у позитивного донора, $M \pm m$

Показник	Група тварин, n=4	
	контрольна	дослідна
Рівень суперовуляції, шт	8,5±1,19	11,8±2,43
Ліміт овуляцій у донорів, <i>lim (min-max)</i>	6–11	9–19
Неовульованих фолікулів, шт	4,5±0,96	1,0±0,41
Всього ембріонів, шт	6,0 ±1,47	10,0±2,68
з них: придатних	3,8±1,18	7,3±1,25
непридатних	2,2±0,63	3,5±1,26
Морул, шт	4,0±0,71	6,3±0,85
з них: придатних	2,2±0,63	3,5±1,26
непридатних	1,8±0,85	2,8±1,49
Бластоцист, шт	2,0±0,82	3,7±2,25
з них: придатних	1,5±0,65	3,7±2,25
непридатних	0,5±0,29	0
Яйцеклітин, шт	0,5±0,29	0,3±0,29
Індекс вимивання ембріонів, %	76,5	87,2

Ефективність вимивання ембріонів у донорів була досить високою, хоча в контрольній групі корів-донорів відмічається зниження індексу вимивання на 12,2%.

У корів-донорів дослідної групи вимили всього 10 ембріонів, з них придатних для пересадки у 1,9 разів більше, ніж у контролі.

Порівняльний аналіз стадій розвитку ембріонів показав, що в середньому на одного донора від корів дослідної групи отримали 6,3 морули (67% від отриманих у обох групах) і 3,7 бластоцист (33%).

У дослідній групі корів-донорів вимили придатних морул більше у 1,5 рази, ніж у контрольній. В той же час у тварин дослідної і контрольної груп співвідношення більш ранніх і пізніх стадій розвитку ембріонів було майже однаковим.

Результати даного дослідження дозволяють вважати, що препарат Стимулін-Вет не впливає на інтенсивність розвитку ембріонів, а лише збільшує їх кількість, про що свідчить більша кількість морул, вимитих у дослідних корів.

Аналогічна тенденція простежується і за якістю отриманих бластоцист. У дослідних донорів їх вимили у 2,5 рази більше порівняно з контролем. Слід відмітити велику помилку середньої (m) за кількістю бластоцист, що свідчить про збільшення індивідуальної мінливості їх виходу у дослідних донорів.

Число незапліднених яйцеклітин у корів було незначним. У корів дослідної групи їх кількість була у 1,7 меншою, ніж у корів контрольної групи, однак ця різниця перебуває в межах похибки.

На підставі аналізу рівня виходу придатних ембріонів (табл. 3.17), доречно констатувати, що у дослідній групі на фоні більшої кількості одержаних ембріонів, відсоткова величина придатних ембріонів переважала на 10% аналогічні дані контрольної групи.

Аналіз заплідненості яйцеклітин за гормональної стимуляції суперовуляції дає можливість зауважувати незначний рівень варіабельності даного показника між досліджуваними групами тварин в межах 5,2% з прерогативою дослідної групи.

Подібна тенденція відмічена і в результатах ефективності вимивання ембріонів, адже в корів-донорів дослідної групи цей показник був більший на 10,8%, відносно групи контролю (рис. 3.7.).

**Порівняльна характеристика рівня виходу придатних ембріонів у
корів-донорів**

Група корів-донорів	Одержано ембріонів, шт.	Одержано придатних ембріонів, шт.	Рівень виходу придатних ембріонів, %.
Контрольна	24	15	62,5%
Дослідна	40	29	72,5%

Таким чином, можливо констатувати той факт, що введення донорам препарату Стимулін-Вет на 10 та 11 добу статевого циклу в дозі 20 мл за стимуляції гонадотропіном СЖК Folligon® суперовуляції у корів-донорів зумовлює вірогідне ($p < 0,05$) зменшення кількості неовульованих фолікулів та сприяє підвищенню ефективності вимивання ембріонів на 10,8%, одержанню більшої кількості ембріонів в 1,6 рази, та зокрема придатних до пересадження на 48%. Необхідно також відмітити, що між досліджуваними групами тварин, як і в попередньому досліді, не спостерігали відмінностей у кількості індукованих до росту преовуляторних фолікулів. Тому рівень суперовуляції збільшувався в дослідній групі лише за рахунок зменшення кількості неовульованих фолікулів. Зменшення кількості ін'єкцій препарату Стимулін-Вет до двох на 10 та 11 добу статевого циклу позитивно вплинули на рівень вимивання ембріонів у порівнянні з попереднім дослідом.

З метою підтвердження результатів, отриманих у першому досліді з третьої серії дослідів щодо впливу препарату Стимулін-Вет на рівень суперовуляції нами проведено додаткове дослідження у ВП НУБіП «Великоснітинське НДГ ім. О.В. Музиченка». Для досліді відібрали 12 корів, однак 2-х корів було вибракувано за результатами дослідження тічкового слизу.

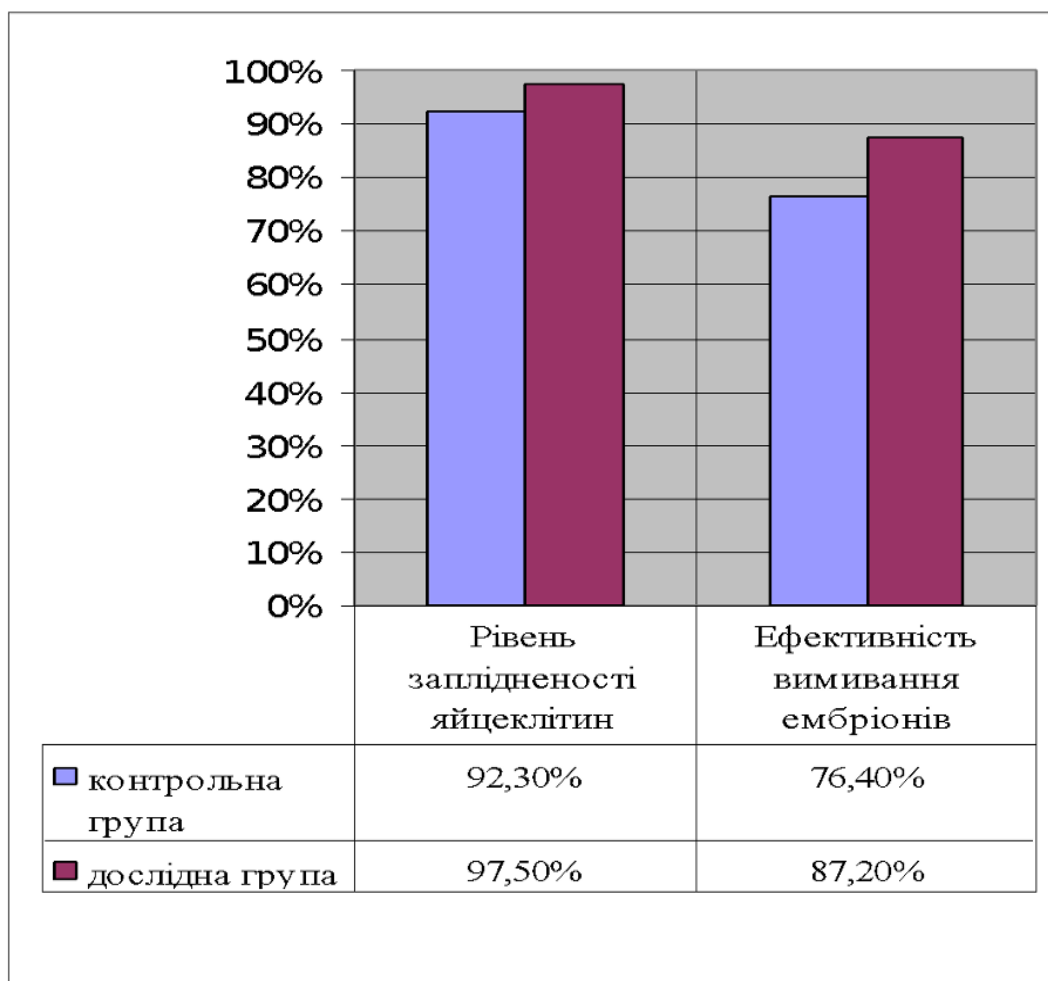


Рис.3.7. Оцінка рівня заплідненості яйцеклітин та ефективності вимивання ембріонів у корів-донорів.

Відбір тварин, індукцію суперовуляції проводили аналогічно досліді 3. Вимивання ембріонів не проводили. На 7 добу статевого циклу визначали рівень суперовуляції шляхом підрахунку жовтих тіл та неовульованих фолікулів на обох яєчниках за ректального дослідження (табл. 3.18).

У результаті проведеного досліді встановлено, що в обох групах на гормональну обробку прореагувало лише 80% корів-донорів. У дослідній групі рівень овуляції був більший на 32,4% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. У дослідних корів також достовірно менше у 2,5 рази неовульованих фолікулів, ніж у контролі.

Отже, отримані результати підтвердили, що індукція суперовуляторної реакції гонадотропіном СЖК Folligon® в дозі 3000 МО з введенням на 10 і 11 добу статевого циклу біологічно активного препарату Стимулін-Вет створює передумови для підвищення її ефективності.

Таблиця 3.18

Результати суперовуляції у корів-донорів,

Показник	Група тварин	
	контрольна	дослідна
Оброблено корів-донорів, гол	5	5
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, n(%)	4(80)	4(80)
Ліміт овуляцій у донорів, min-max	5–8	7–11
Овуляцій на одного реагуючого донора, шт	6,25 ±0,75	9,25 ±0,85*
Неовульованих фолікулів, шт	3,75± 0,48	1,5± 0,29**
Кількість індукованих до росту преовуляторних фолікулів	10,0±1,22	10,8±1,22

Примітка: *- $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Наступним критерієм оцінки ефективності гонадотропної індукції суперовуляції є встановлення кількості стимульованих до росту преовуляторних фолікулів. Це дає можливість аналізувати інтенсивність гормонально обумовленого поліфолікулогенезу не лише на тлі шаблонної оцінки ректально встановленої кількості жовтих тіл яєчників, але і враховувати кількість неовульованих фолікулів, що сумарно формують показник кількості індукованих до росту фолікулів. Така комплексна оцінка дозволяє вважати, що власне біологічно активний препарат Стимулін-Вет, використаний в схемі суперовуляції, як впродовж даного досліджу так і попередніх проведених досліджень, не вплинув на селективний відбір преовуляторних фолікулів та їх наступний гормонально зумовлений ріст, адже між досліджуваними групами не спостерігали вірогідної різниці даного показника.

Не зважаючи на майже однакову кількість преовуляторних фолікулів між досліджуваними групами, результати суперовуляції суттєво різнилися. У тварин дослідної групи виявили, що овуляція відбулась на рівні 86% з утворенням жовтих тіл, що на 23,5% більше ніж у контрольній групі. Крім того, кількість неовульованих фолікулів у групі контрольних корів-донорів переважала на 23,6% аналогічний показник досліду (рис. 3.8).

Таким чином, індукція суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан і за дози ГСЖК Folligon® у 3000 МО та використання на 10 та 11 добу статевого циклу біологічно активного препарату Стимулін-Вет сприяло достовірному зростанню рівня суперовуляції в 1,5 рази, а також зменшенню кількості неовульованих фолікулів в 2,5 рази відносно показників контролю.

З метою більш детального вивчення впливу препарату Стимулін-Вет на рівень овуляції і якість ембріонів у корів донорів залежно від виробничих умов господарства провели дослідження на базі ВП НУБіП НДГ «Ворзель».

Дослід проводили для вивчення впливу біологічно активного препарату Стимулін-Вет на рівень суперовуляції та якість ембріонів у корів-донорів. За результатами проведених загальних клінічних та гінекологічних досліджень було відібрано 9 корів, яким стимулювали статеву охоту. Але після лабораторного дослідження тічкового слизу за експрес-методикою з групи було вибракувано три тварин з позитивною реакцією на сірковмісні амінокислоти. За аналогією з попередніми дослідями було сформовано контрольну та дослідну групи по 3 тварини в кожній.

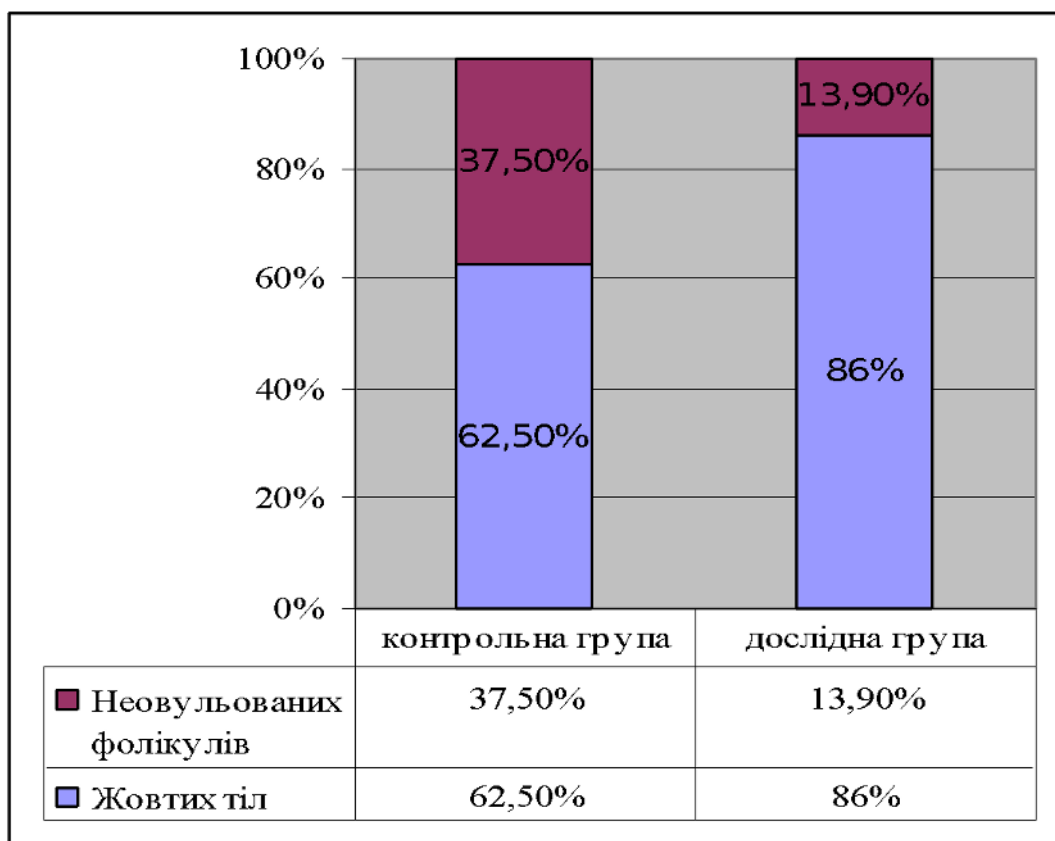


Рис. 3.8. Співвідношення жовтих тіл та неовульованих фолікулів у корів-донорів досліджуваних груп.

Індивідуальний аналіз рівня суперовуляції показав, що у контрольній групі лише один (33%) донор мав позитивну суперовулятивну реакцію, а у дослідній групі таких донорів було два (67%) (табл. 3.19).

Крім того спостерігалася значна варіабельність за рівнем суперовуляції, адже у дослідних донорів отримали жовтих тіл в 3,3 рази більше, ніж у контролі. Аналогічна тенденція відзначена щодо кількості неовульованих фолікулів: так, у корів-донорів дослідної групи виявлено фолікулів на 53% менше, порівняно з контролем ($p < 0,01$). Що стосується кількості ембріонів та їх якості, то необхідно зауважити, що у дослідній групі було отримано ембріонів всього у 3,7 разів більше, ніж у контрольній групі, яких придатних було більше у 2,8 рази.

Індивідуальний аналіз
рівня суперовуляції у донорів контрольної та дослідної групи, (n = 6)

Корови-донори	Рівень супер-овуляції, шт.	Неовульованих фолікулів, шт.	Всього ембріонів, шт	Придатних ембріонів, шт	Яйцеклітин, шт
Контрольна група					
№ 9025	3	5	2	2	1
№ 8975	2	4	1	1	0
№ 8973	1	4	1	1	0
M±m	2,0±0,58	4,3±0,33	1,3±0,33	1,3±0,33	0,3±0,33
Дослідна група					
№ 9014	11	2	7	4	2
№ 3062	8	1	7	6	1
№ 8972	1	3	1	1	0
M±m	6,7±2,96	2,0±0,58*	5,0±2,0	3,7±1,45	1,0±0,58

Примітка: *-р <0,01-порівняно з контролем

Необхідно також зауважити, що у корів-донорів дослідної групи кількість стимульованих до росту фолікулів в період гормонально індукованого поліфолікулогенезу була в 1,4 рази більшою ніж у контролі (табл. 3.20). Але враховуючи варіацію кількості жовтих тіл ($\lim_{\min-\max}$ – 1–11) та неовульованих фолікулів ($\lim_{\min-\max}$ – 1–3), яку спостерігали за індивідуального аналізу результатів суперовуляції у дослідній групі, можливо зробити висновок, що різниця між групами за кількістю індукованих до росту преовуляторних фолікулів є невірогідною і знаходиться в межах помилки.

Таблиця 3.20.

**Кількість індукованих до росту преовуляторних фолікулів
у позитивно реагуючих донорів ($M \pm m$)**

Група корів-донорів	Неовульованих фолікулів ($H\Phi$), шт	Кількість жовтих тіл ($ЖТ$), шт	Індукованих до росту фолікулів ($I\Phi$), шт
Контрольна	4,3 $\pm$ 0,33	2,0 $\pm$ 0,58	6,3 $\pm$ 0,88
Дослідна	2,0 $\pm$ 0,58	6,7 $\pm$ 2,96	8,7 $\pm$ 2,60

Отримані результати аналізу загального рівня ембріопродуктивності свідчать, що у корів контрольної групи рівень виходу придатних ембріонів був більший на 28,6%, ніж у корів дослідної, але необхідно зауважити про значно меншу при цьому кількість одержаних ембріонів в цілому у контрольній групі (табл. 3.21).

Таблиця 3.21.

**Порівняльна характеристика рівня виходу придатних ембріонів у
корів-донорів, %**

Група корів-донорів	Одержано ембріонів, шт.	Одержано придатних ембріонів, шт.	Рівень виходу придатних ембріонів, %.
Контрольна	4	4	100%
Дослідна	14	10	71,4%

Показники рівня заплідненості яйцеклітин і ефективності вимивання ембріонів незначно відрізнялися між тваринами досліджених групових структур. У тварин дослідної групи аналізовані показники (рівень заплідненості яйцеклітин і ефективність вимивання ембріонів) були більшими лише на 2,3% та 1,7% відповідно по відношенню до контролю, що є несуттєвою різницею і не уможливорює констатацію прерогативи однієї із груп корів-донорів (рис. 3.9.).

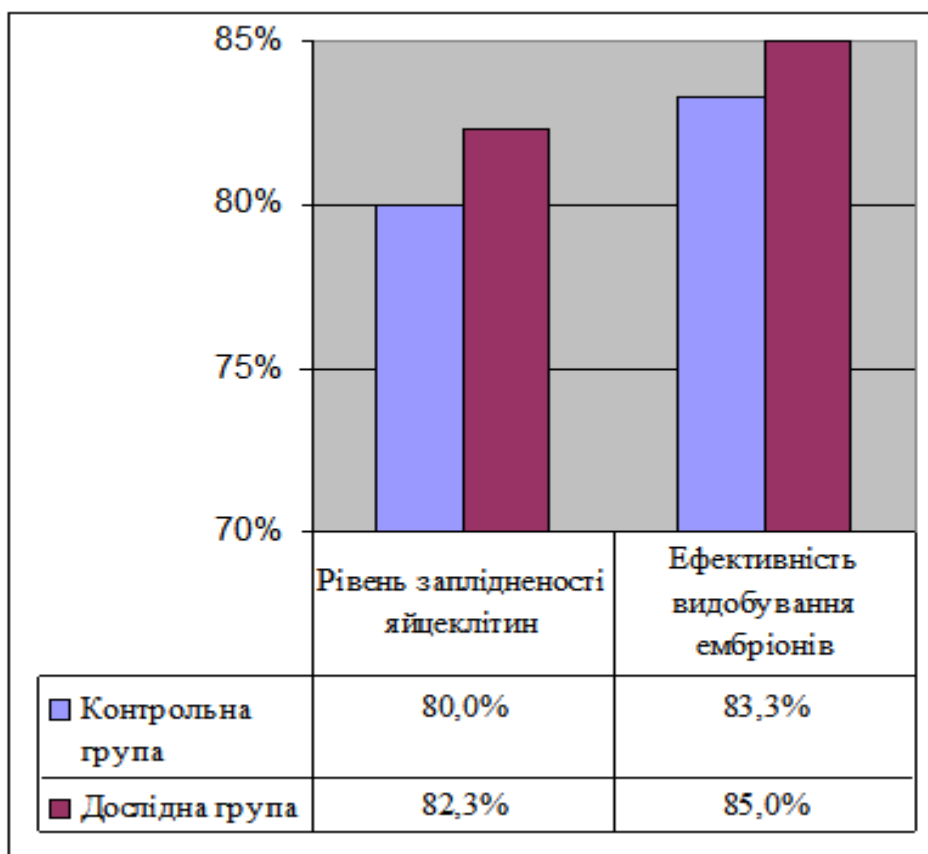


Рис.3.9. Оцінка рівня заплідненості яйцеклітин та ефективності вимивання ембріонів у корів-донорів

Таким чином, ін'єкції біологічно активного препарату Стимулін-Вет дослідним донорам на 10 та 11 добу індукованого статевого циклу, в період гормональної індукції гонадотропіном СЖК суперовуляції, зумовили зменшення кількості неовульованих фолікулів на 53% ($p < 0,01$), а також збільшення видобутих ембріонів в 3,7 та придатних в 2,8 рази більше, ніж у контрольній групі. Всі представлені позитивні зміни в ефективності суперовуляції у дослідній групі, відбувалися на фоні незначно збільшеного рівня індукованих до росту преовуляторних фолікулів, заплідненості яйцеклітин та ефективності вимивання ембріонів.

3.4. РЕАКЦІЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ СИСТЕМИ КОРІВ-ДОНОРІВ НА ВВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТУ СТИМУЛІН-ВЕТ

3.4.1. Динаміка активності ферментів крові корів-донорів за введення препарату Стимулін-Вет на 8 – 11 добу статевого циклу у схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon®-PGF_{2α} Естрофан

Вивчення динаміки активності маркерних ензимів у крові після використання схеми стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан (у дозі 3,0 тис. МО і 2 мл на одну голову відповідно) і за введення коровам дослідної групи на 8 – 11 добу статевого циклу препарату Стимулін-Вет.

Кров для дослідження у корів-донорів дослідних груп відбирали вранці до годівлі на 8, 12, 7 добу стимульованого статевого циклу шляхом пункції яремної вени на межі середньої та верхньої третини ший.

Аналіз отриманих результатів досліджень свідчить, що на 8 добу статевого циклу перед введенням препарату різниці за активністю ферментів між дослідною та контрольною групою не виявлено (табл. 3.22).

Після введення контрольним коровам-донорам ГСЖК Folligon® в крові тварин збільшились показники активності трансфераз порівняно з 8 добою статевого циклу. Так, активність АлаТ достовірно збільшилась порівняно з 8 добою статевого циклу на 21,24% ($p < 0,05$), тоді як у дослідних корів на 12 добу статевого циклу порівняно з 8 добою збільшилась активність АсАТ і АлаТ відповідно на 12,0 і 11,6%. Окрім цього, у дослідних корів активність АсАТ була вищою на 7,2% ($p < 0,05$), ніж в контролі. У дослідних тварин на 7 добу статевого циклу активність АсАТ і АлаТ знизилась на 10,4% ($p < 0,01$) і 3,8% порівняно з 12 добою і була нижчою, ніж у контролі відповідно на 3% і 6,8% (табл.3.22).

Ін'єктування дослідним донорам на 12 добу циклу препарату Стимулін-Вет у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан зумовило зростання активності АлаТ та АсАТ порівняно з вихідним рівнем. Причому активність АсАТ вірогідно збільшувалась на 7,7%, відносно контролю.

Активність лужної фосфатази у дослідних донорів після ін'єкцій препаратів зросла на 3,25% та 7%, а ГГТ зменшилась на 6,7% та 16,3% порівняно з 8 добою статевого циклу та контролем відповідно.

Співвідношення трансаміназ характеризує фізіологічну координованість катаболізму і анаболізму, яка відображається коефіцієнтом де Рітіса.

На початку дослідження різниця за коефіцієнтом де Рітіса між тваринами дослідних груп була незначною і зумовлена, очевидно, індивідуальними особливостями тварин.

Таблиця 3.22

Активність ензимів крові корів-донорів, $M \pm m$

Показники	День статевого циклу			
	Контроль, n=5		Дослід, n=5	
	8	12	8	12
АсАТ, од/л	59,4±1,96	62,2±1,36	59,8±2,01	67,0±1,45*
АлАТ, од/л	19,6±1,29	23,8±1,16	19,0±0,84	21,2±0,80
ЛФ, од/л	76,8±2,27	71,2±3,04	73,8±2,85	76,2±2,97
ГГТ, од/л	20,0±0,84	23,2±1,43	20,8±0,86	19,4±0,51
Коефіцієнт де Рітіса	3,0±0,13	2,62±0,06	3,2±0,05	3,2±0,07*
АсАТ+АлАТ/ГГТ	4,0±0,29	3,7±0,10	3,8±0,13	4,6±0,24*

Примітка: * $p < 0,05$ -порівняно з контролем

В крові контрольних донорів після введення гонадотропіну достовірно знизився коефіцієнт де Рітіса на 12,6% до 2,62 ($p < 0,05$) в порівнянні з 8 добою статевого циклу, тоді як у дослідних тварин він не змінився. Тобто, у контрольних донорів, очевидно, введення ГСЖК Folligon® різко збільшує енерго-пластичні затрати в організмі на поліфолікулогенез, змінює матаболічну рівновагу у бік анаболізму, тоді як у дослідних тварин зберігається початкова координованість катаболізму та анаболізму за рахунок інгредієнтів препарату.

Введення гонадотропіну контрольним донорам змінило фізіологічну координованість трансаміназ, що обумовлено зниженням коефіцієнту де Рітиса і, очевидно, свідчить про зміну метаболічних потоків у напрямі інтенсифікації анаболічних реакцій.

На противагу контрольним донорам коефіцієнт де Рітиса в дослідній групі між 8 і 12 днем циклу не змінювався, навіть при врахуванні збільшення активності обох трансаміназ після спільного введення гонадотропіну з препаратом Стимулін-Вет. Можливо, це обумовлено тим, що ензими, які досліджувались, були взаємопов'язані через глютамінову кислоту, яка є складовою препарату Стимулін-Вет і формували субстратно-ензимну регуляцію інтенсивності метаболічних потоків на рівні крові. При цьому зберігалась фізіологічна координованість католічного і анаболізму в організмі донорів, незважаючи на агресивний вплив індуктора викликання множинного росту фолікулів, що у кінцевому рахунку сприяло збільшенню кількості овуляцій і виходу придатних ембріонів.

Значна кількість неовульованих фолікулів за стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon®, можливо, зумовлена його тривалим напіврозпадом, що спричинює дисбаланс між ендогенним фолітропіном (ФСГ) та лютропіном (ЛГ). Очевидно, що Стимулін-Вет здатен корегувати співвідношення ФСГ і ЛГ, внаслідок чого відбувається регуляція енергетичного обміну в системі гіпоталамус-гіпофіз, що в свою чергу сприяє збільшенню кількості овульованих фолікулів.

Отже, у контрольних тварин забезпечення зростаючих енергетичних потреб реалізується через активацію глюкозо-аланінового шунта, а у дослідних інтенсивним використанням інгредієнтів препарату Стимулін-Вет в циклі трикарбонових кислот.

Ефективність використання амінокислот тканинного пулу оцінюють за співвідношенням АсАТ+АлАТ/ГГТ (коефіцієнт ІВДТР), оскільки сума амінотрансфераз відносно ГГТ свідчить про інтенсивність використання допоміжного тканинного резерву [231].

У контрольних донорів індукція суперовуляції введенням ГСЖК зумовила на 12 добу циклу підвищення активності ГГТ на 16%, що в свою чергу спричинило зниження на 6,8 % коефіцієнта ІВДТР порівняно з вихідним рівнем.

У дослідних донорів на 12 добу статевого циклу активність ГГТ була нижчою на 6,7%, ніж на початку дослідження. Така динаміка активності ГГТ і вірогідне підвищення АсАТ, сприяли зростанню ($p < 0,05$) на 21 % та 23,3% коефіцієнта ІВДТР порівняно з вихідним рівнем та контролем відповідно.

Вірогідне збільшення коефіцієнта ІВДТР свідчить, що у дослідних донорів інтенсивне використання внутрішніх резервів для забезпечення компенсаторних механізмів при зростаючій біоенергетиці організму, зумовленої введенням ГСЖК, було кореговане біологічно активним препаратом Стимулін-Вет у напрямку їх економного та адаптивного використання.

Такі зміни активності досліджуваних ферментів та їх коефіцієнтів у дослідних донорів сприяли зменшенню неовульованих фолікулів та одержанню більшої кількості придатних ембріонів [221, 222].

На 7 добу статевого циклу у контрольних та дослідних донорів різниця активності АсАТ, АлАТ та ЛФ порівняно з 8 днем була в межах похибки. Лише активність ГГТ у контрольних донорів залишилася збільшеною, а у дослідних тварин продовжувала зменшуватися.

Таким чином, як показали дослідження, препарат Стимулін-Вет, ін'єктований коровам-донорам у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан, зумовив зростання активності АсАТ, АлАТ і ЛФ і зниження ГГТ на 12 добу циклу, що сприяло фізіологічній координації біохімічних процесів під час поліфолікулогенезу, і забезпечило поліпшення суперовулятивної реакції.

3.4.2. Динаміка активності ферментів крові корів-донорів за введення препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу у схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon®-PGF_{2α} Естрофан

Дослідження динаміки активності трансаміназ і ферментів у крові корів-донорів провели у третій серії дослідів, коли суперовуляцію стимулювали за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан (у дозі 3,0 тис. МО і 2 мл на одну голову відповідно) введенням коровам дослідної групи препарату Стимулін-Вет по 20 мл на голову на 10 і 11 добу статевого циклу.

Результатами досліджень встановлено, що у контрольних корів-донорів активність трьох ферментів – АлАТ, АсАТ і ЛФ – у досліджувані періоди статевого циклу змінювалась в межах похибки, тобто була стабільною (табл. 3.23).

Таблиця 3.23

Активність ензимів крові корів-донорів, $M \pm m$

Ферменти	День статевого циклу			
	Контроль, n = 4		Дослід, n = 4	
	8	12	8	12
АсАТ, од/л	59,7±1,25	58,2±1,11	60,5±0,65	63,5±1,04*
АлАТ, од/л	20,7±0,63	21,5±0,65	19,5±0,96	25,2±0,95*
ЛФ, од/л	65,2±1,38	64,7±1,89	63,0±1,08	70,0±2,2
Коефіцієнт де Рітиса	2,9±0,04	2,7±0,12	3,1±0,16	2,5±0,08

Примітка: *p < 0,05-порівняно з контролем

У корів-донорів обох груп на 8 добу статевого циклу активність амінотрансаміназ була майже однаковою. Ін'єктування препарату Стимулін-Вет на 10 та 11 добу статевого циклу коровам-донорам дослідної групи зумовило на 12 добу зростання активності АсАТ і АлАТ відповідно на 4,7% та 22,6%

порівняно з 8 добою циклу. Це сприяло статистично вірогідній ($p < 0,05$) різниці активності АсАТ та АлАТ між дослідною та контрольною групами, яка зросла відповідно на 8,3% та 14,6%.

Через 8 діб після другого введення препарату (на 7 добу статевого циклу) активність АсАТ та АлАТ у дослідних тварин знизилась на 2,4 % та 6,7 % порівняно з 12 добою статевого циклу, але була вищою, ніж у контролі відповідно на 3,7% та 10,6%.

Необхідно підкреслити, що збільшення активності ферментів АлАТ та АсАТ у деяких випадках інтерпретують як діагностичні фактори фізіологічного стану організму та розвитку деяких патологій.

Для встановлення патологічного стану чи фізіологічної норми організму тварин за зміною активності амінотрансфераз використовують індекс де Рітіса, який, на думку деяких авторів, в стані фізіологічної норми має дорівнювати 2 із значним коливанням у бік зростання цього показника [223].

Збільшення активності обох амінотрансфераз у дослідних донорів на 12 та 7 добу статевого циклу зумовило зменшення коефіцієнта де Рітіса на 7,4% та 8,2% порівняно з контролем. Отримані дані не слід трактувати як негативний фактор, оскільки різниця в середніх величинах коефіцієнтів була в межах похибки. Крім того, співвідношення цих ферментів було не нижче 2.

На початку досліді різниця в активності ЛФ між дослідними та контрольними донорами була в межах 3,4%. Після введення донорам препарат Стимулін-Вет активність ензиму на 12 добу статевого циклу зросла на 10% ($p < 0,05$) та 7,5 % у порівнянні з 8 добу та контрольними тваринами.

У контрольній групі між 12 та 7 добою статевого циклу не спостерігали різниці в активності ЛФ. Аналогічна картина характерна і для дослідної групи. Але в дослідних донорів активність ферменту на 7 добу статевого циклу була вірогідно більшою на 9,1 %, ніж на початку досліді. Тобто більша активність ферменту, яка зумовлена препаратом Стимулін-Вет майже не змінилася впродовж восьми календарних днів.

Отже, у корів-донорів біологічно активний препарат Стимулін-Вет спричиняє збільшення активності амінотрансаміназ та ЛФ, зумовлюючи при цьому пролонгований ефект у зміні їх активності.

Суперовуляція у корів-донорів пов'язана з напруженням всіх функціональних систем організму, тому закономірно виникає необхідність метаболічного його забезпечення. Дослідження показали, що препарат Стимулін-Вет, через наявність в своїй структурі такої фізіологічно активної речовини як глутамінова кислота та деяких універсальних внутрішньоклітинних метаболітів, виявляє різнобічну клініко-фармакологічну активність. Амінотрансферази за допомогою а-кетоглутарової та піровиноградної кислоти здійснюють зв'язок із білковим, ліпідним та вуглеводним обміном і каталізують синтез найпоширеніших амінокислот – аланінової, аспаргінової та глутамінової. Ці реакції зворотні: амінотрансферази здійснюють їх синтез та розпад. Тому екзогенне надходження глутамінової кислоти за системою зростання вмісту субстрату – збільшує їх активність, очевидно, через стабілізацію ферментів і зниження швидкості їх розпадань [224].

Зростання активності лужної фосфатази, очевидно, свідчить про спроможність компонентів препарату регулювати енергетичний гомеостаз у тканинах статевої системи під час стимуляції суперовуляції за рахунок активації ендогенних ферментних систем і транспорту в клітину екзогенних метаболітів.

Таким чином, препарат Стимулін-Вет, введений коровам-донорам у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан, спричиняє зростання активності АсАТ, АлАТ і ЛФ на 12 добу статевого циклу і зумовлює пролонгований ефект збільшення їх активності до 7 доби статевого циклу, що відбувається в межах фізіологічної норми.

3.4.3. Динаміка обміну загального холестерину та його ліпопротеїдних фракцій у крові корів-донорів під час стимуляції у них суперовуляції

Для детальнішого обґрунтування модифікуючого впливу компонентів препарату Стимулін-Вет на процеси тканинного метаболізму, що в кінцевому результаті зумовило підвищення ефективності індукованої суперовуляції, нами було проведено дослідження динаміки обміну загального холестерину та його ліпопротеїдних фракцій у крові корів-донорів під час стимуляції у них суперовуляції гонадотропіном за схемою індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α}.

Аналіз отриманих результатів досліджень показує, що донори дослідної та контрольної груп на 8, 12 добу статевого циклу мали в крові майже однаковий вміст загального холестерину. На 12 добу статевого циклу у донорів обох груп спостерігалось зниження концентрації холестерину відносно вихідного рівня (8 доба) в контролі на 9% та більшою мірою у дослідних – на 14% (табл. 3.24).

Таблиця 3.24

Ліпідний профіль у крові піддослідних корів-донорів, ммоль/л

Біохімічні показники	Добу статевого циклу			
	Контроль, n=5		Дослід, n=4	
	8	12	8	12
Загальний холестерин	3,8±0,19	3,4±0,18	3,7±0,21	3,2±0,26
Тригліцериди	0,2±0,06	0,2±0,02	0,2±0,04	0,3±0,03
Х-ЛВІЩ	1,3±0,72	1,3±0,15	1,4±0,17	1,1±0,09
Х-ЛНІЩ	1,9±0,17	1,8±0,07	2,0±0,16	1,8±0,23
Х-ЛДНІЩ	0,2±0,03	0,3±0,02	0,2±0,02	0,3±0,02

У донорів обох груп між 8 і 12 добою статевого циклу концентрація триацилгліцериду збільшилась, але з різною інтенсивністю. Так, у контрольних тварин вміст даного інгредієнта не змінився, тоді як у дослідних – на 33,3%.

У крові контрольних донорів вміст Х-ЛВЩ в досліджувані періоди статевого циклу був майже однаковий. У дослідних тварин його концентрація на 12 добу статевого циклу зменшилась на 18,5 і 28,3% порівняно з контрольною групою та базовим рівнем.

Доведено, що жовте тіло на яєчниках корів, починаючи з 5 доби статевого циклу, значно збільшує секрецію прогестерону, похідним якого є холестерин ліпопротеїнів високої щільності [225, 226]. Вміст прогестерону змінюється залежно від рівня Х-ЛВЩ. Так, встановлено у дослідженнях *in vitro*, що клітини жовтого тіла збільшують продукцію прогестерону одночасно зі зростанням концентрації Х-ЛВЩ [227]. Тому вірогідне зменшення на 12 добу статевого циклу даного ліпопротеїну побічно свідчить про інтенсивніший процес синтезу прогестерону в лютеїнальних клітинах жовтого тіла яєчника дослідних донорів, що позитивно впливає на якість доїмплантаційних ембріонів.

Динаміка вмісту Х-ЛНЩ у крові піддослідних донорів у різні дні статевого циклу була аналогічною з холестерином. Після 8 доби статевого циклу у крові донорів рівень Х-ЛНЩ знизився.

Тобто, у дослідних тварин зміна концентрації Х-ЛНЩ залежала від індивідуальних особливостей, очевидно, зумовлених реакцією на введення нейротропно-метаболічного препарату Стимулін-Вет.

У донорів обох груп вміст у крові Х-ЛДНЩ змінювався у досліджувані дні статевого циклу паралельно з динамікою триацилгліцериду. При цьому між тваринами обох груп не спостерігалось різниці у інтенсивності зміни його концентрації. Так, на 12 добу статевого циклу вміст Х-ЛДНЩ на контролі та в досліді збільшився на 16,0 і 16,6% порівняно з 8 добою.

Враховуючи, що між дослідною і контрольною групами статистично значущої різниці між вмістом холестерину та його фракцій у різні дні статевого циклу не спостерігалось, було вирішено їх об'єднати для встановлення загальної

динаміки концентрації досліджуваних інгредієнтів під час стимуляції гонадотропіном суперовуляції у корів-донорів.

Дані, наведені в таблиці 3.24 підтверджують результати порівняльного аналізу проведеного щодо кожної групи. Так, на 12 добу статевого циклу у крові донорів вірогідно зменшувався вміст холестерину, Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ і збільшувалася концентрація тригліцеридів та Х-ЛДНЩ. Причому у цей день найбільшу варіабельність показали інгредієнти, концентрація яких зростала, що свідчить про індивідуальні особливості їхнього синтезу в організмі корів-донорів під час фолікулогенезу (табл. 3.25).

Таблиця 3.25

Ліпідний профіль у крові піддослідних корів-донорів, ммоль/л

Показник	Добу статевого циклу, n=9			
	8		12	
	М ±m	Cv%	М ±m	Cv%
Холестерин	3,76±0,06	4,96	3,34±0,07	7,02
Тригліцериди	0,22±0,02	23,05	0,28±0,01	20,7
Х-ЛВЩ	1,54±0,06	12,6	1,26±0,06	14,6
Х-ЛНЩ	1,98±0,05	8,7	1,8±0,04	8,25
Х-ЛДНЩ	0,24±0,01	10,33	0,39±0,1	82,1

Отже, у корів-донорів під час росту на яєчниках фолікулів, індукованого введенням екзогенного гонадотропіну, спостерігається зменшення концентрації холестерину, Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ та збільшення росту тригліцеридів і Х-ЛДНЩ. Введення донорам у цей період нейротропно-метаболічного препарату Стимулін-Вет інтенсифікує ці процеси, не спричинюючи змін у концентрації Х-ЛДНЩ.

Отримані коефіцієнти кореляції показали, що в досліджувані дні статевого циклу вміст холестерину мав прямий зв'язок з Х-ЛВЩ і Х-ЛНЩ та обернений з Х-ЛДНЩ і триацилгліцеридом. При цьому на 12 добу статевого циклу у корів-

донорів вміст холестерину вірогідно у високому ступені корелює з ліпопротеїдами високої щільності (табл.3.26).

Таблиця 3.26

**Коефіцієнти кореляції між показниками ліпідного профілю
у корів-донорів**

Кореляція між вмістом загального холестерину та	Доба статевого циклу	
	8	12
Х-ЛВЩ	0,534	0,827
Х-ЛНЩ	0,448	0,619
Х-ЛДНЩ	-0,655	-0,240
Тригліцеридами	-0,383	0,030

Вірогідне зменшення вмісту Х-ЛВЩ у крові дослідних донорів на 12 добу статевого циклу та його вірогідний прямий зв'язок з концентрацією холестерину дозволяють припустити, що його зменшення в цей день зумовлено більш інтенсивним синтезом ліпопротеїду, ніж у контрольних групах тварин. Відомо, що ліпопротеїд даної фракції спроможний проникати через базальну мембрану та концентруватися у внутріфолікулярній рідині і є потужним донатором етерифікованого холестерину для стероїдогенезу у фолікулах [227, 229]. Крім того, інтенсивність біосинтезу холестерину, його транспорт підпорядковані багатогранній регуляції як з боку різноманітних внутріклітинних метаболітів, так і гормонів, зокрема і статевих [221,230].

Тому інтенсивніше зниження концентрації холестеролу та Х-ЛВЩ може побічно свідчити, що препарат Стимулін-Вет за індукції гонадотропіном СЖК суперовуляції у корів-донорів певною мірою стимулював біохімічні процеси стероїдогенезу. Інтенсифікація синтезу естрогенів під час поліфолікулогенезу, можливо, зумовила вищий пік лютропіну. Також інтенсивніше використання загального холестерину та перерозподіл його ліпопротеїнових фракцій у

сироватці крові, на нашу думку, могли диференційовано вплинути на метаболізм та ріст клітин теки, гранульози фолікула, а також і лютеїнальних клітин. Усі морфофункціональні зміни в організмі донорів, яким вводили препарат нейротропної метаболічної дії і були підґрунтям для поліпшення рівня суперовуляції на 23,9%, зменшення у 2,7 рази кількості неовульованих фолікулів та збільшення на 27,6% придатних до пересадження ембріонів [231].

Ін'єктування дослідним коровам-донорам гонадотропного препарату СЖК Folligon® і біологічно активного препарату Стимулін-Вет зумовило на 12 добу статевого циклу зниження загального холестерину на 11,6%, а у контролі на 8,9% у порівнянні з вихідним рівнем (табл. 3.27)

Таблиця 3.27

Показники ліпидограми корів-донорів

Біохімічні показники	Добу статевого циклу			
	Контроль, n = 4		Дослід, n = 4	
	8	12	8	12
Холестерин загальний, ммоль/л	4,15±0,52	3,78±0,42	4,05±0,34	3,58±0,24
Х-ЛВЩ, ммоль/л	1,30±0,13	1,23±0,07	1,28±0,09	0,95±0,06*
Х-ЛНЩ, ммоль/л	2,55±0,35	2,12±0,22	2,48±0,21	2,17±0,13
Х-ЛДНЩ, ммоль/л	0,3±0,05	0,43±0,10	0,29±0,06	0,26±0,08
Тригліцериди, ммоль/л	0,51±0,02	0,59±0,02	0,47±0,04	0,64±0,04

Примітка: *-р < 0,05-порівняно з контролем

Доречно відмітити, що зниження холестерину в досліджуваних групах корів-донорів відбувалося не однотипно по відношенню до транспортних ліпопротеїнових фракцій крові, що можливо обумовлено використання в дослідній групі препарату Стимулін-Вет (рис. 3.10).

У відсотковому співвідношенні у контрольній групі на 12 добу статевого циклу динаміка зниження загального холестерину зумовлена переважно за

рахунок холестерину Х-ЛНЩ (16,8%) та в незначній мірі Х-ЛВЩ (5,3%), на противагу дослідній групі, де здебільшого спостерігали вірогідне зниження концентрації Х-ЛВЩ (25,8%) відносно вихідного рівня ($p < 0,05$) та контролю ($p < 0,05$).



Рис. 3.10. Співвідношення ліпопротеїнів різних фракцій у корів-донорів контрольної (а) і дослідної (б) груп

Підсумовуючи аналіз статистичних даних доречно відмітити, що примусова зміна гормонального статусу в організмі донорів за стимуляції суперовуляції

вплинула на обмін холестерину та спектр ліпопротеїнів. Адже встановлено, що інтенсивність біосинтезу холестерину його транспорт підпорядкований багатогранній регуляції, як із сторони різноманітних внутрішньоклітинних метаболітів так і гормонів, зокрема і статевих [232].

В свою ж чергу використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет за індукції суперовуляції у корів-донорів за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан, в деякій мірі скорегував біохімічні процеси обміну холестерину та розподілу фракцій ЛПП під час поліфолікулогенезу, чим можливо забезпечив поліпшення рівня суперовуляції (на 23,9%) та збільшення кількості придатних до пересадження ембріонів (на 27,6%) і зменшив число неовульованих фолікулів в 2,7 рази [39].

У тварин дослідної групи на 12 добу статевого циклу спостерігали зменшення холестерину переважно за рахунок Х-ЛВЩ, на 25,8% відносно контролю ($p < 0,05$), що, можливо, зумовило більш інтенсивний стероїдогенез у організмі донорів, як в фолікулярний період так і в стадію васкуляризації.

Адже ліпопротеїди даної фракції є потужними донаторами холестерину і єдиними, що спроможні подолати базальну мембрану та концентруватися у внутрішньофолікулярній рідині. Такі зміни в показниках ліпідограми дослідної групи звичайно недоречно обґрунтовувати безпосереднім впливом препарату Стимулін-Вет, однак необхідно враховувати його комплексний нейромедіаторний та метаболічний ефект на фоні гормональної депресії гонад зумовленої екзогенним гонадотропіном СЖК за індукції суперовуляції у корів-донорів.

Таким чином, використання гонадотропінів ГСЖК Folligon® та препарату Стимулін-Вет зумовлюють зменшення загального холестерину та перерозподіл його ліпопротеїнових фракцій в сироватці крові, що, на нашу думку, могло диференційовано вплинути на метаболізм та ріст клітин теки, гранульози фолікула, а також і лютеліальних клітин.

3.4.4 Економічна ефективність використання препарату Стимулін-Вет при стимуляції суперовуляції та одержанні ембріонів у корів-донорів української чорно-рябої молочної породи

В основі впровадження нового елементу будь-якого технологічного процесу повинно бути економічне обґрунтування.

Тому, важливим показником, що характеризує ефективність застосування біологічно-активного препарату Стимулін-Вет в протоколах стимуляції суперовуляції у корів-донорів, є економічна ефективність, що визначає не тільки загальну результативність проведених досліджень, а й доцільність його подальшого використання в практиці біотехнології відтворення великої рогатої худоби.

Розрахунок економічної ефективності використання біологічно-активного препарату Стимулін-Вет здійснювали з урахуванням формування нормативної собівартості, ціни одержання і трансплантації ембріонів великої рогатої худоби (П.І. Шаран, Г.Г. Кравченко, С.І. Ковтун та ін., 2006р.).

Шаран П. І. та ін. [----] визначили, що нормативні виробничі витрати на одержання одного нативного ембріона від корів-донорів молочних і молочно-м'ясних порід становить 279,34 грн., а враховуючи мінімальний прибуток на рівні 5% до повної собівартості, формує рівень мінімальної ціни одного ембріона у розмірі – 293,31 грн. (за середньозваженими цінами акцептованими в 2006р.).

Економічна ефективність використання біологічно-активного препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу, розраховувалась на основі аналізу фактичних витрат на біотехнологічні операції протоколу стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан та нехірургічного вимивання ембріонів у корів-донорів.

Під час досліджень встановлено, той факт, що введення донорам препарату Стимулін-Вет на 10 та 11 добу статевого циклу в дозі 20 мл за стимуляції гонадотропіном СЖК Folligon® суперовуляції у корів-донорів сприяє одержанню

більшої кількості ембріонів в 1,6 рази, та зокрема придатних до пересадження на 48%, відповідно у дослідній групі придатних – $7,3 \pm 1,25$ та у контролі $-3,8 \pm 1,18$.

Обрахунок вартості ембріона, одержаного за використання удосконаленого протоколу суперовуляції з біологічно-активним препаратом Стимулін-Вет (**Vu**), здійснювали за формулою 3.3:

Vu- вартість одного придатного для пересадження ембріона за використання Стимулін-Вет, грн.;

Vs – нормативний рівень мінімальної ціни одного ембріона за стандартної схеми суперовуляції, грн.;

Vu = (Vs + S)/Ku (3.3) **S**-вартість біологічно-активного препарату Стимуліну-Вет витраченого в протоколі стимуляції суперовуляції, грн.;

Ku-кількість одержаних придатних до трансплантації ембріонів дослідної групи, шт.

Vu=(293,3+25)/7,3=43,6 грн.

Економічну ефективність використання біологічно-активного препарату Стимулін-Вет в протоколі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан (**Ef**), обраховували як додаткову вартість одержаних ембріонів, придатних для трансплантації, за формулою 3.4:

Ef = (Vs – Vu)/Ku (3.4)

Ef= 7,3х(293,3-43,6)=1822,41 грн.

Додаткові витрати (**Dv**) на біотехнологічні операції протоколу стимуляції суперовуляції та вимивання ембріонів у корів-донорів за використання біологічно-активного препарату Стимулін-Вет обраховували за формулою 3.5:

Vs – нормативний рівень мінімальної ціни одного ембріона, грн.;

Dv = (VsхKs) + S (3.5) **Ks**-кількість одержаних придатних до трансплантації ембріонів дослідної групи, шт.

S-вартість препарату Стимуліну-Вет витраченого в протоколі стимуляції суперовуляції, грн.;

$$Dv = (293,3 \times 3,8) + 25 = 1139,54 \text{ грн.}$$

Економічний ефект (**F**) від удосконалення схеми стимуляції суперовуляції у корів-донорів за використання біологічно-активного препарату Стимулін-Вет на 1 грн. витрат становить:

$$F = Ef/Dv \quad (3.6)$$

$$F = 1822,41 / 1139,54 = 1,59 \text{ грн.}$$

Отже, удосконалення схеми стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF2α Естрофан у корів-донорів за використання препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу, зумовлює економічний ефект на 1 грн витрат – 1,59 грн. Собівартість одержаних ембріонів знижується на 20,0 %.

РОЗДІЛ 4.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Впровадження у практику тваринництва штучного осіменіння інтенсифікувало участь в цьому процесі бугаїв-плідників. Адже відомо, що спермою одного бугая можна штучно осіменити до 50 тисяч корів і телиць. Участь самиць з високим генетичним потенціалом у селекційному процесі була обмежена, незважаючи на біологічну здатність до продукування за своє життя до 200 тисяч яйцеклітин, з яких реалізується не більше 10-12. Для вирішення цієї проблеми науковцями розроблена технологія трансплантації ембріонів, яка є самостійним селекційним методом, доповнюючим технологію штучного осіменіння.

Використання методу трансплантації в селекції великої рогатої худоби базується на трьох основних закономірностях:

- збереження в умовах *in vitro* життєздатності доімплантаційних ембріонів;
- толерантності материнського організму до чужорідних ембріонів;
- відсутності впливу організму реципієнта на генотип трансплантанта.

Ефективність практичного використання трансплантації ембріонів як селекційного методу на пряму залежить від низки послідовних біотехнологічних операцій. Однією з найважливіших ланок в сучасній методиці проведення ембріотрансплантації є індукція суперовуляції. Однак стимуляція суперовуляції у корів-донорів є непередбачуваною і недостатньо ефективною. На думку багатьох авторів саме індукція суперовуляції у корів-донорів є найслабшою ланкою у методі ембріотрансплантації. Пояснити це можна значною варіативністю реакції яєчників на екзогенний гонадотропін, який призводить до змін гормональної взаємодії на всіх етапах формування суперовулятивної реакції [69]. Значною мірою це стосується схем стимуляції суперовуляції за використання гонадотропіну сироватки жеребих кобил (ГСЖК) чи фолікулостимулюючого гормону (ФСГ). Препарати групи ГСЖК проявляють комплексний фолікулостимулюючий і лютеотропний вплив, який обумовлений вмістом у препараті фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів [233].

Дослідниками встановлена різна ефективність індукції суперовуляції у корів-донорів залежно від типу гонадотропінів СЖК (ГСЖК) чи ФСГ. Гонадотропін СЖК менш ефективний, ніж ФСГ. Однак всі відомі схеми використання ГСЖК не забезпечують суперовуляції у 30% тварин, а стимуляції більшими дозами зменшує кількість придатних ембріонів [234].

До того ж відомо, що ГСЖК має тривалий період біологічного напіврозпаду, що спричиняє залишок значної його кількості у крові корів. Його пролонгована дія обумовлює ріст нової хвилі росту фолікулів і збільшення концентрації естрогенів в організмі корів-донорів, що призводить до негативних морфо-функціональних змін в матці і яйцепроводах, тим самим збільшуючи число дегенерованих ембріонів і обумовлює значну кількість неовульованих фолікулів, що негативно впливає на вихід придатних ембріонів [7, 235].

Крім того, 25-35% потенційних донорів взагалі не реагують на ін'єкцію гонадотропінів, а на одного позитивно реагуючого донора можливо одержати в середньому від 3,5 до 4,5 придатних ембріонів, що суттєвим недоліком в

технології ембріотрансплантації, стримуючи її широке впровадження в практику тваринництва.

Тому велика увага вченими приділяється пошуку нових способів удосконалення індукції суперовуляції щоб забезпечити отримання необхідної кількості придатних до пересаджування ембріонів. [236].

Нині науковцями з метою збільшення кількості придатних ембріонів проведено значну кількість досліджень із вдосконалення методу стимуляції суперовуляції у корів-донорів. Так, запропоновано використання в схемах індукції суперовуляції у донорів біологічно активних речовин, зокрема розроблені рекомендації з використання вітамінів А, Е, D I B₆ [235]. Розроблені також рекомендації для використання з цією ж метою АСД-2 [237], і антигонадотропних сироваток [69, 238]. Окрім того показано, що суперовуляцію у корів-донорів покращує використання гонадотропін-рилізінг-гормону [7] або збільшення кратності ін'єкцій простагландину F_{2α} до 2-3 разів з інтервалом 6-8 годин [235]. Вважається, що додаткові гормональні навантаження на організм самиці донора ембріонів, які обумовлені екзогенними гонадотропінами, мають негативний вплив. Вони посилюють деструктивні процеси в ендокринному статусі тварин, формують енергетичний та гормональний дисбаланс [239].

Тому дослідження щодо пошуку і розроблення нових біологічно активних препаратів метаболічного типу дії, здатних регулювати енергетичний та пластичний обмін в організмі тварини і створювати передумови підвищення ефективності методу трансплантації мають велике наукове і практичне значення.

Відомо, що відтворна функція тварин залежить від функціонування в організмі самки гіпоталамо-гіпофізарної системи в різні періоди репродуктивного циклу. На її активність і реалізацію опосередковано мають вплив різні чинники зовнішнього середовища. Одними з таких чинників можуть бути препарати метаболічно-нейротропної дії, які шляхом інтенсифікації обмінних процесів у нервовій системі в період функціонування репродуктивної системи сприяють овуляції зрілих яйцеклітин [258].

На основі цієї гіпотези можливе вдосконалення технології *in vivo* трансплантації ембріонів за індукції екзогенними гонадотропінами максимально позитивної суперовулятивної відповіді гаметогенними органами самиці, запліднення яйцеклітин, утворенням зиготи і її подальшим розвитком впродовж стадій дроблення і бластуляції, і, відповідно одержання максимальної кількості якісних, доімплантаційних ембріонів, придатних до ембріодонації.

В результаті досліджень нами був розроблений біологічно активний препарат Стимулін-Вет, до складу якого входять інтермедіатори циклу трикарбонових кислот, які здатні активувати шляхи мобілізації для підтримки аеробного енергетичного обміну [240, 144].

Відомо, що відтворна функція самиць регулюється складною нейрогуморальною системою, до якої входять кора головного мозку, гіпоталамус, гіпофіз, яєчники, матка, а також наднирники і щитовидна залоза. Координуючим і регулюючим органом нервової і ендокринної систем є гіпоталамус, який зв'язаний з відтворною функцією [241]. Гіпоталамус за допомогою гормональних рецепторів обробляє інформацію щодо концентрації статевих гормонів у крові тварин і надсилає до нейросекреторних клітин сигнали для їх збудження або гальмування [242]. Нейросекреторний механізм формує у центральній нервовій системі потік імпульсів по нервових волокнах та гормонів крові, які впливають на статеву систему самиць ссавців. Активізація цієї системи через стимулюючий вплив певних речовин може покращувати функціонування відтворної здатності тварин.

Метаболічні процеси живого організму є енергозалежними та супроводжуються утворенням накопиченням та витратою енергії внаслідок тканинного дихання та фосфорилювання і найчутливіше реагують на зміни фізіологічного стану організму. Зокрема це стосується корів-донорів, у яких індуктори суперовуляції (гонадотропіни та простагладини) зумовлюють інтенсифікацію окислювальних процесів в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчниковій системі.

Природними метаболічними препаратами є ті, що за хімічною структурою подібні до речовин організму. Одними із таких є сукцинат натрію та глутамінат натрію, які входять до складу препарату Стимулін-Вет як основні діючі інгредієнти.

Екзогенне надходження сукцинату натрію у систему кровообігу активує рецепторні системи організму як хибний сигнал розвитку гіпоксичного стану в тканинах, цим самим обумовлюють каскад необхідних перетворень в організмі, формуючи упереджену активацію фізіологічних шляхів мобілізації та підтримки аеробного енергетичного обміну. Організм реагує на цей сигнал зрушеннями в ендокринній, гормональній регуляції, покращенням периферійного кровообігу, полегшенням віддачі кисню оксигемоглобіном та низкою інших фізіологічних та біохімічних компенсаторних реакцій. Сукцинат монополізує дихальний ланцюг, миттєво формує високий рівень багатих на енергію сполук, має здатність підвищувати вміст відновлювальних мітохондріальних НАД і стимулювати перебіг у клітині відновних синтезів, підтримувати транспорт кальцію.

Сукцинат натрію (сіль бурштинової кислоти) можна віднести до групи біологічно активних речовин з широким спектром дії на живий організм. Багатогранність її впливу на функції організму забезпечується тим, що вона є одним з ключових компонентів універсального внутріклітинного механізму – циклу Кребса, в якому відбувається повне окислення активованої оцтової кислоти, яка утворюється при витраті вуглеводів, жирів і окремих амінокислот [243, 244].

При надходженні ззовні сукцинату натрію у кров активізуються рецепторні системи організму як сигнал розвитку гіпоксичного стану в тканинах, що спричиняє каскад необхідних перетворень в організмі для активації аеробного енергетичного обміну. Організм реагує на цей сигнал зрушеннями в ендокринній, гормональній регуляції, покращенням периферійного кровообігу, полегшенням віддачі кисню оксигемоглобіном та низкою інших фізіологічних та біохімічних компенсаторних реакцій. Сукцинат натрію монополізує дихальний ланцюг, миттєво формує високий рівень багатих на енергію сполук, має здатність

підвищувати вміст відновлювальних мітохондріальних НАД (нікотинамід-аденін-динуклеотид) і стимулювати перебіг у клітині відновних синтезів, підтримувати транспорт кальцію. Система окислювання сукцинату у мітохондріях за потужністю накопичення енергії перевищує окислення інших речовин трикарбонового циклу [245]. Цим визначається його особлива роль у регулюванні енергетики клітини. Для сукцинату натрію характерне центральне положення у клітинному обміні. Його метаболічна роль – бути джерелом енергії та субстратом для синтезу вуглеводів, амінокислот і ліпідів.

Глутамінова кислота є фізіологічно активною речовиною, яка здатна активувати внутрішні ферментні системи організму і сприяти транспорту в клітину екзогенних метаболітів. Глутамінова кислота відіграє значну роль в регуляції енергетичного обміну мітохондрій, оскільки є джерелом янтарної кислоти. Глутамінат натрію є джерелом субстратів для внутріклітинних ферментів. Введення в організм глутамінової кислоти активує глутаматдегідрогеназу, малатдегідрогеназу та обумовлює економнішу витрату вуглеводних, білкових і жирових субстратів. Превентивна дія глутамінової кислоти пов'язана із збільшенням концентрації α -кетоглютарової кислоти з наступним накопиченням у тканинах щавлевої кислоти і тим самим створенням передумов залучення в цикл Кребса лактату та інших недоокислених продуктів.

Таким чином, сукупність властивостей сукцинату та глутамінату натрію зумовили їх поєднання в біологічно активну композицію у новому розробленому нами препараті нейротропної дії Стимулін-Вет. Теоретично препарат має регулювати енергетичний гомеостаз у життєво важливих органах за різних фізіологічних навантажень, зокрема під час гормональної індукції суперовуляції.

Проведені дослідження по стимуляції ГСЖК суперовуляції у корів-донорів ембріонів спільно з використанням препарату Стимулін-Вет довели позитивний вплив ін'єкцій препарату на організм донорів через зменшення кількості неовульованих фолікулів та збільшення виходу придатних ембріонів.

За повідомленням Л.М. Безверхої з співавторами [246] розроблений нами препарат Стимулін-Вет сприяє збільшенню багатоплідності і великоплідності

свиней. Це можна пояснити наявністю в препараті фізіологічно активної речовини як глутамінова кислота, яка має різнобічну клініко-фармакологічну дію через стабілізацію ферментів і зниження швидкості їх розпадання та сприяє зменшенню вмісту естрогену в крові, надмірна кількість якого спричинює дисбаланс у гормональній регуляції овуляції і розвитку ембріонів.

Отже, препарат нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет має перспективу використання, оскільки він негормональний, дешевий і може бути виготовлений у умовах підприємств будь-якої форми власності.

Отримані нами результати досліджень неоднозначно свідчать, що введення препарату Стимулін-Вет наряду з гонадотропіном СЖК Folligon® інтенсифікує ріст преовуляторних фолікулів, сприяє їх овуляції і підвищує ефективність вимивання ембріонів. Якщо порівняти результати використання препарату Стимулін-Вет у трьох дослідках з дещо відмінними схемами стимулювання суперовуляції, то очевидним є той факт, що найвищий рівень овуляції і найменше число неовульованих фолікулів виявились у третій серії дослідів, де суперовуляцію стимулювали введенням на 10 добу статевого циклу ГСЖК Folligon® у дозі 3000 МО і двічі (на 12 і 13 добу) PGF_{2α} Естрофан® у дозі 2 мл на одну голову двічі і введенні тваринам дослідної групи на 10 і 11 добу статевого циклу по 20 мл препарату Стимулін-Вет (рис. 4.1).

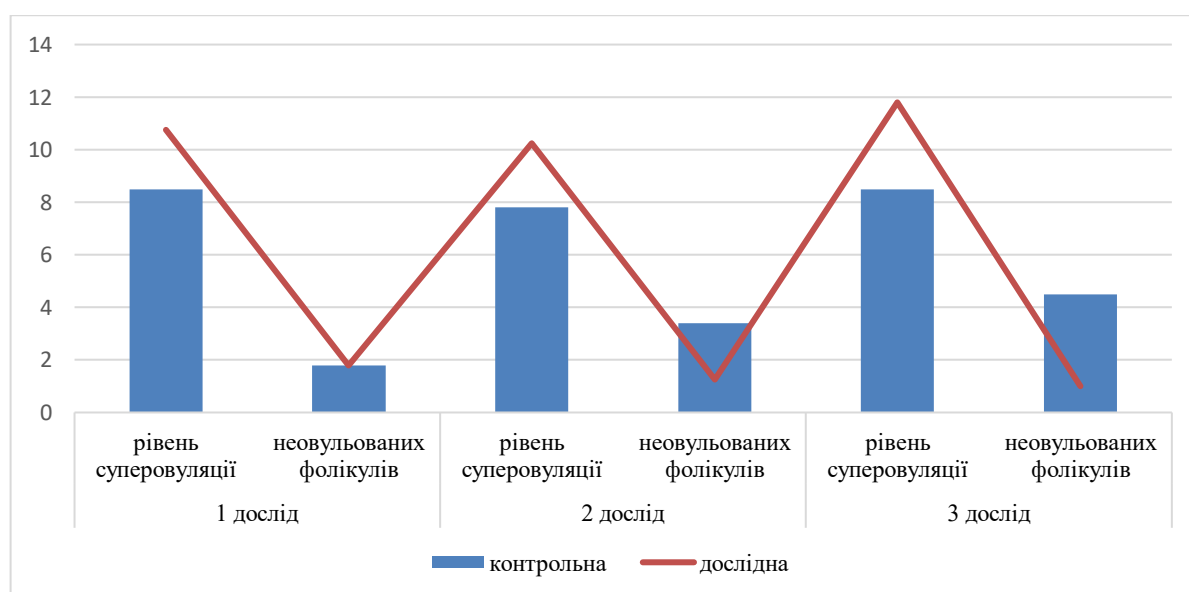


Рис. 4.1. Ефективність суперовуляції у корів-донорів контрольної і дослідної груп після введення препарату Стимулін-Вет

Аналіз отриманих ембріонів показав, що у донорів дослідної групи після введення препарату Стимулін-Вет вимито ембріонів, придатних до пересаджування реципієнтам, в 1,6 рази більше, ніж у корів контрольної групи (рис. 4.2).

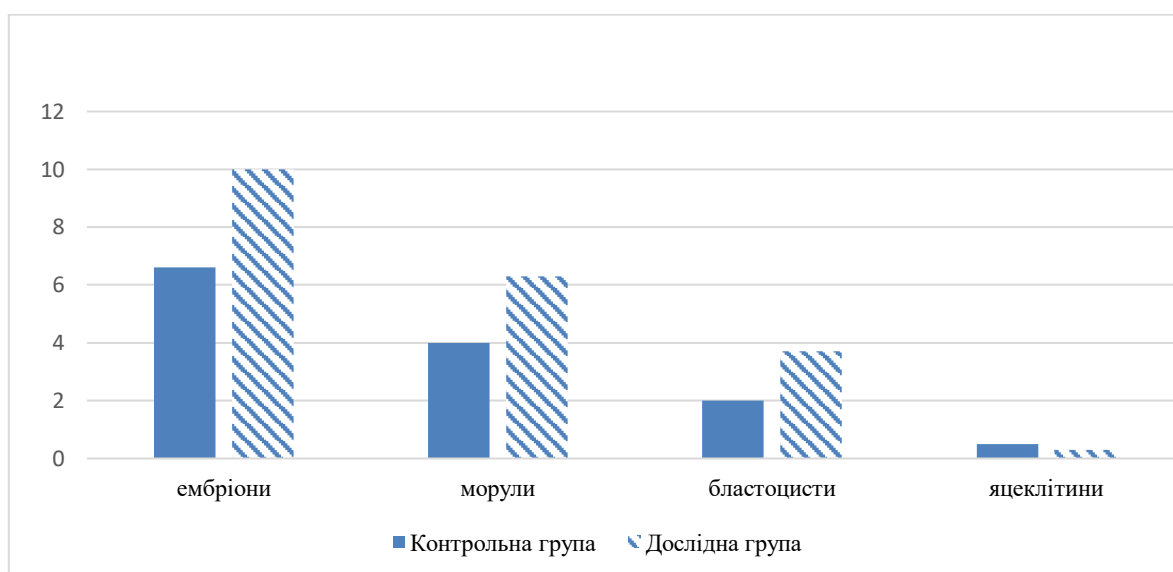


Рис. 4.2. Ефективність вимивання ембріонів за участі препарату Стимулін-Вет

Як видно з рисунку, у донорів дослідної групи більше вимито і придатних до пересаджування ембріонів на стадії морули і стадії бластоцисти після введення коровам донорам препарату Стимулін-Вет.

Як повідомляють вчені, які вивчали дію препарату Стимулін-Вет з метою визначення його впливу на рівень запліднюваності корів, введення коровам-донорам підшкірно двох ін'єкцій даного препарату після осіменіння сприяє достовірному зменшенню на 28,6% кількості тварин з ановуляторним циклом порівняно з контролем [247].

Введення препарату Стимулін-Вет, на думку авторів, стимулює не лише овуляцію фолікулів в яєчниках, а і ріст жовтого тіла, завдяки чому воно виділяє в кров велику кількість прогестерону, який і обумовлює збільшення запліднювальності корів [248].

Отримані результати досліджень на практиці підтверджують теоретичні припущення, що сполуки анаболічної нейротропної дії, які об'єднані в препараті Стимулін-Вет регулюють енергетичний і пластичний обмін в системі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники, коригуючи співвідношення між ЛГ і ФСГ, сприяючи збільшенню кількості овуляцій. Це підтверджується даними про те, що поява у кровообігу екзогенних інтермедіаторів циклу трикарбонових кислот, які входять до складу біологічно активного препарату, сприймається рецепторною системою організму як сигнальний чинник умовної гіпоксії в тканинах. Адекватна відповідь організму супроводжується низкою фізіологічних і біохімічних компенсаторних реакцій, які базуються на інтенсифікації енергетичного обміну, особливо у збуджених центральних регуляторних утвореннях, в першу чергу в гіпоталамусі [144].

Для визначення ефективності використання препаратів нейротропної метаболічної дії дуже важливим є визначення морфофункціональних і біохімічних змін в організмі самиць після їх введення. Всі морфофункціональні зміни, що відбуваються в організмі тварин, відображаються у біохімічному складі крові. Аналіз функціональних змін біохімічних показників крові дає можливість визначити інтенсивність перебігу цих змін [249].

Тому біохімічні показники крові розглядали як метаболічну характеристику фізіологічного стану самки в період прояву еструсу, під час якого вводили нейротропно-метаболічний препарат Стимулін-Вет та його вплив на репродуктивну функцію в цілому [250].

Індикаторами морфофункціонального стану тварин при використанні у схемах індукції суперовуляції препарату Стимулін-Вет вважали активність ферментів при обміні холестерину і розподіл фракцій ліпопротеїнів.

Отримані результати опосередковано підтверджують теоретичний прогноз, що сполуки метаболічної нейротропної дії, які поєднані в препараті Стимулін-Вет, регулюють енергетичний та пластичний обмін в системі гіпоталамус-гіпофіз, корегуючи співвідношення між ФСГ і ЛГ і сприяють збільшенню рівня овуляцій. Це підтверджується даними, що поява у кровообігу екзогенних нейромедіаторів циклу трикарбонових кислот, які входять до складу Стимулін-Вет, сприймаються рецепторною системою організму як сигнальний фактор умовної гіпоксії у тканинах. Адекватна відповідь організму супроводжується низкою фізіологічних та біохімічних компенсаторних реакцій, що ґрунтуються на інтенсифікації енергетичного обміну, особливо у збуджених центральних регуляторних утвореннях, в першу чергу, у гіпоталамусі.

Крім того, логічно припустити, що препарат, діючою речовиною якого є глутамінова кислота та її метаболіти, зумовлюють упереджену активацію шляхів мобілізації та підтримки аеробного енергетичного обміну, що сприяє синтезу ЛГ-рилізінг гормону в гіпоталамусі, який стимулює додаткове виділення гіпофізом лютропіну у кров донорів і, як наслідок, поліпшує результати суперовуляції.

Порівняльний аналіз динаміки біохімічних показників крові дослідних і контрольних тварин показав, що введення препарату Стимулін-Вет інтенсифікує процеси обміну холестерину та розподілу фракцій ліпопротеїдів під час поліфолікулогенезу, що сприяє покращенню суперовулятивної реакції. Результати проведених нами досліджень свідчать про різну фізіологічну координованість трансаміназ у корів-донорів контрольної і дослідної груп. На противагу контрольним донорам, співвідношення АсАТ і АлАТ, яке виражається коефіцієнтом де Рітіса, в дослідній групі не змінювалось, навіть з урахуванням збільшення активності обох трансаміназ після введення ГСЖК спільно з препаратом Стимулін-Вет. Можливо, це обумовлене тим, що ензими були взаємопов'язані через глутамінову кислоту (складову препарату) і формували субстрактно-ензимологічну регуляцію інтенсивності метаболічних потоків на рівні крові. При цьому зберігалась фізіологічна координованість католічного і анаболізму в організмі донорів, незважаючи на агресивну дію індуктора

стимуляції суперовуляції, що в цілому сприяло збільшенню кількості овуляцій і виходу придатних ембріонів.

Таким чином, у результаті проведених досліджень розроблено біотехнологічний препарат та спосіб його застосування за стимуляції у корів-донорів суперовулятивної реакції. Даний біологічно активний препарат нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет при введенні у організм донорів в період морфофункціональної активації їх статеві системи дією екзогенного ГСЖК, обумовлює зміну активності трансаміназ, що є свідченням інтенсифікації білкового обміну. Такі зміни обмінних процесів в організмі донорів сприяють росту більшої кількості фолікулів на яєчниках і обумовлюють активацію синтезу ЛГ-рилізінг-гормону в гіпоталамусі, який стимулює додаткове виділення в кров гіпофізом ендogenous лютропіну, що покращує результати суперовуляції. Окрім того, відбуваються морфофункціональні зміни в ендометрії матки донорів, що сприяє вимиванню більшої на 40% кількості ембріонів, в тому числі на 48% придатних до пересадки.

У препараті Стимулін-Вет поєднані сполуки анаболічної та нейротропної дії. Значна кількість неовульованих фолікулів, за стимуляції ГСЖК Folligon® суперовуляції у корів-донорів, можливо, зумовлена його тривалим напіврозпадом, що спричинює дисбаланс між ендogenous фолітропіном та лютропіном. Діюча речовина препарату зумовлює упереджену активацію шляхів мобілізації та підтримки аеробного енергетичного обміну, що сприяє синтезу ЛГ-рилізінг гормону в гіпоталамусі, який стимулює додаткове виділення гіпофізом лютропіну в кров донорів і як наслідок поліпшує результати суперовуляції.

Отже, введення препарату Стимулін-Вет за стимуляції разом із гонадотропіном СЖК Folligon® суперовуляції у корів-донорів, зумовлює вірогідне зменшення кількості неовульованих фолікулів у 4,5 рази та сприяє вимиванню більшої кількості ембріонів на 40%, у тому числі і придатних до пересадження – на 48%.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі викладено теоретичне узагальнення способів стимуляції суперовуляції у корів-донорів ембріонів та наведено результати власних експериментальних досліджень щодо розробки біологічно активного препарату нейротропно-метаболічної дії та удосконалення за його участі схем індукції поліовулятивної реакції.

1. Розроблено біологічно активний препарат нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет на основі сполук глютаміна натрію і сукцинату натрію та спосіб його застосування у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан з метою збільшення кількості овульованих фолікулів та ембріонів, придатних до трансплантації.

2. Двократне введення коровам-донорам на 10-ту та 11-ту добу статевого циклу препарату Стимулін-Вет в дозі 20 мл/гол/добу за індукції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан СЖК сприяє зростанню рівня суперовуляції на 41,2 %, зменшення кількості неовульованих фолікулів на 64,1% ($p < 0,05$).

3. Доведено, що біологічно активний препарат нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет, введений у період морфофункціональної активації статевої системи корів-донорів, стимульованої дією екзогенного гонадотропіну, обумовлює зміни в ендометрії матки корів-донорів, що сприяє вимиванню більшої кількості ембріонів та зокрема придатних до пересадження на 47,5%, відносно показників у тварин контрольної групи.

4. Встановлено, що оптимальними коровами-донорами можуть бути ті тварини, у яких у сироватці крові коефіцієнт відношення неорганічного Фосфору до активності лужної фосфатази в межах від 0,36 до 0,63, а також у цих корів верхівка жовтого тіла виходить за межі яєчника на 0,5 см і більше.

5. Виявлено, що введення препарату Стимулін-Вет коровам-донорам дослідної групи на 10-й і 11-й дні статевого циклу зумовило зростання активності АсАТ, АлАТ і ЛФ відповідно на 8,3, 14,6 та 10,0% ($p < 0,05$) порівняно з

контрольною групою, а також зумовило пролонгований ефект у збільшенні їх активності до 7-го дня в межах фізіологічної норми.

6. З'ясовано, що використання препарату Стимулін-Вет під час стимулювання суперовуляції ГСЖК зумовлює зменшення концентрації холестеролу його ліпопротеїнових фракцій Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ, не зумовлюючи змін у концентрації Х-ЛДНЩ. Встановлений вірогідний кореляційний зв'язок між вмістом холестеролу та холестеролу ліпідів високої щільності ($r = 0,827$).

7. Впровадження удосконаленої біотехнології індукції суперовуляції у самок великої рогатої худоби за використання біологічно активного препарату дозволяє знизити собівартість ембріонів на 20,0 %.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для виробництва біологічно активного препарату нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет необхідно керуватись нормативним документом Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010.

2. З метою підвищення відтворної здатності корів за використання біотехнологічної схеми індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF_{2α} Естрофан тваринам-донорам ембріонів необхідно на 10-ту і 11-ту добу статевого циклу внутрішньом'язово вводити препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл/гол/добу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Басовський МЗ, Рудик ІА, Буркат ВП. Вирощування, оцінка і використання плідників. Київ: Урожай;1992. 216 с.
2. Яблонський ВА. Біотехнологія відтворення тварин. Київ: Арістей; 2004. 296 с.
3. Baruselli PS, Ferreira RM, Salesa JNS, Gimenes LU, Filho MFS, Martins M, Rodriguesb CA. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. Theriogenology. 2011; 76: 1583-93.
4. Selk G. Embryo transfer in cattle. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma Cooperation Service. 2014; 3158:8.
5. Осташко ФІ. Біотехнологія воспроизведения крупного рогатого скота. Київ: Аграрная наука, 1995. 183 с.
6. Горлов ИФ, Комлацкий ГВ, Нестеренко МА, Нимбона КД, Мосолова ДА. Экономические перспективы использования биотехнологий в животноводстве. Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2019. 5: 57-60.
7. Смолянинов БВ, Кротких МО. Контроль и регуляция воспроизводительной функции самок сельскохозяйственных животных. 2004; Одесса: СМІЛ. 197 с.
8. Симоненко ВП. Эффективность технологических приемов и методов получения эмбрионов крупного рогатого скота вне организма [автореферат диссертации]. Жодино: 2005. 20 с.
9. Бригида АВ, Бурсаков СА, Скачкова ОА Факторы, влияющие на реакционный ответ яичников коров-доноров эмбрионов при введении экзогенных гонадотропинов (обзор). Достижения науки и техники АПК. 2018; 32(6): 56-63. doi:10.24411/0235-2451-2018-10614.
10. Леткевич ЛЛ, Ганджа АИ, Голубец ЛВ. Эндокринные закономерности формирования фолликулогенеза у коров-доноров эмбрионов. Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. 2005; 2: 84-7.

11. Шеховцов СЮ. Прояви і значення гетерозису при трансплантації ембріонів великої рогатої худоби [автореферат дисертації]. Чубинське. Інститут розведення і генетики тварин УААН. 2005. 20 с.
12. Lubbadeh WF, Graves CN, Spahr SL. Effect of Repeated Superovulation on Ovulatory Response of Dairy Cows. *J. Anim Sci.* 1980. 50:124-127
13. Довгопол ВФ, Дуванов ОВ, Іванченко МІ. Ефективність біотехнології трансплантації ембріонів великої рогатої худоби у Полтавській області. *Вісник Полтавської державної аграрної академії.* 2010; 3: 138-41.
14. Шаран М.М., Гузеватий О.Є., Шаловило С.Г. Підвищення приживленості ембріонів, одержаних *in vitro*, застосуванням біологічно активних речовин // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького . 2009. №2-2 (41).
15. Рябых ВП, Логинов АГ. Фолликулогенез в яичниках коров в период вызывания суперовуляции. *Материалы Международной науч.-практ. конф. ВНИИЖ. Дубровицы.* 2007, 157.
16. Сергеев НИ. Факторы влияющие на суперовуляторный ответ у коров. Состояние и перспективы развития биотехнологии в животноводстве. Тезисы докладов. Львов. 1988, 79-80.
17. Воробьев ДН., Кирикович ЮК., Жук НФ. Эффективность вызывания полиовуляции у коров-доноров абердин-ангусской породы. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі.* 2005; 4: 98-101.
18. Шаран М. М., Гримак Х. М. Стан і перспективи застосування біотехнологічних методів відтворення у племінному вівчарстві // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки. – 2017. – №. 19, № 74. – С. 67-7
19. Sanchez Z, Lammoglia MA, Alarcon MA. Is the Production of Embryos in Small-Scale Farming an Economically Feasible Enterprise? *Reproduction in domestic Animals.* 2015; 50 (4): 574-9.

20. Лебедев В., Бушманов В. О гормонах и эмбриопродуктивности. Молочное и мясное скотоводство. 1993; 1:24.
21. Сергеев Н., Лебедев В., Ибрагимов Ю., Алмарданов А. Применение гипофизарных препаратов при трансплантации эмбрионов. Зоотехния. 1990; 7:69-72.
22. Эрнст ЛК, Сергеев НИ. Трансплантация эмбрионов у сельскохозяйственных животных. Москва: Агропромиздат; 1989. 139 с.
23. Liang A, Salzano A, D'Esposito M. Anti-Mullerian hormone (AMH) concentration in follicular fluid and mRNA expression of AMH receptor in granulosa cell as predictive markers of good buffalo (*Bubalus bubalis*) donors. Theriogenology. 2016; 86: 4. 963–970.
24. Завертяев БП. Состояние и перспективы исследований по получению эмбрионов крупного рогатого скота. Материалы Всесоюзного совещания. Алма-Ата. 1991. 67-76.
25. Мадисон ВЛ. Применение метода трансплантации эмбрионов в селекции молочного скота. Применение трансплантации эмбрионов в селекции сельскохозяйственных животных: Бюлл. науч. работ ВИЖа. Дубровицы, 1988; 89:7-10.
26. Смылова НИ. Влияние возраста скота и сезона года на уровень суперовуляции и качество эмбрионов. Трансплантация эмбрионов в молочном скотоводстве и овцеводстве: Бюлл. научн. работ ВИЖа. Дубровицы. 1985; 77:13-15.
27. Монева П. Изследване на влиянието на възрастта, максималната млечност, междуотелния период и срока за третиране след отелване върху суперовуляцията при крави донори. Животновъд. науки. 1989. 26 (5):19-26.
28. Lamand DR. Hormonal induction of multiple ovulations in the bovine. J. Anim. Sci. 1972; 34.-№.3.-P. 901.
29. Machado PF, Baruselli PS. Intrinsic and extrinsic factors that influence ovarian environment and efficiency of reproduction in cattle Ars vet. 1995; 11(2): 50-59.

30. Evans AC, Mossa F, Walsh SW, Batista EOS, Vieira LM. Effects of maternal environment during gestation on ovarian folliculogenesis and consequences for fertility in bovine offspring. *Animal Reprod.* 2017; 14 (1):48–60.
31. Mehmood MU, Mehmood S, Riaz A. Superovulatory response in Summer anestrus Buffaloes and cattle treated with estrus synchronization protocol. *J. Anim. and Plant Sc.* 2012; 22 (4): 888–93.
32. Косовский ГЮ, Попов ДВ, Бригида АВ. Влияние теплового стресса на получение эмбрионов от коров-доноров калмыцкой породы в период воспроизводства. *Наука и образование XXI века: опыт и перспективы: материалы международной науч.-практ. конф., посвященной 20-летию Конституции Республики Казахстан и Ассамблеи народа Казахстана. Уральск.* 2015; II: 144-8.
33. Tores-Junior JRS, Pires MFA, Sa WF. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in Bos Indicus cattle. *Theriogenology.* 2008; 69: 155-66.
34. McGowan MR, Braithwaite M, Jöchle W, Mapletoft RJ. Superovulation of beef heifers with pergonal (HMG): A dose response trial. *Theriogenology.* 1985. 24: 173-84.
35. Saumande J, Chupin D. Induction of superovulation in cyclic heifers: The inhibitory effect of large doses of PMSG. *Theriogenology.* 1986. 25: 233-47.
36. Gonzalez A, Lassier JG, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Superovulation of beef heifers with Folltropin: A new FSH Preparation containing reduced LH activity. *Theriogenology.* 1990. 33: 519-29.
37. Wichmann U. Erhebungen über umweltbedingte und genetische Einflüsse auf die Eignung von Spenderkuh Im Rahmen des Embryotransfers. *Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.* 1990. 97 p.
38. Шеремета ВІ. Підвищення ефективності методу трансплантації ембріонів великої рогатої худоби. Київ. АртЕк; 2005. 120 с.
39. Нежданов АГ, Скрипицын ЮА, Терновых СВ. Эффективность гормональной индукции полиовуляции у коров. *Ветеринария.* 2002; 9:35- 8.

40. Murphy BD, Mapletoft RJ, Manns J, Humphrey WD. Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology*. 1984. 21:117-25.
41. Дуванов ОВ. Ефективність стимуляції поліовуляції корів-донорів. *Вісник аграрної науки*. 2007; 5: 74-6.
42. Bergfeld J, Guiard V, Uhlig H. Zur Bedeutung, Herstellung und Wertbestimmung eines internationalen PMSG-Substandards. *Mh. Vet. Med.* 1982. 37: 504-7.
43. Braileanu GT, Albanese C, Card C, Chedrese PJ. FSH bioactivity in commercial preparations of gonadotropins. *Theriogenology*. 1998. 49:1031-7.
44. Donaldson LE, Ward DN, Glenn SG. Use of porcine follicle stimulating hormone after chromatographic purification in superovulation of cattle. *Theriogenology*. 1986; 25: 747-57.
45. Lindsell CE, Rajkumar K, Manning AW, Emery SK, Mapletoft RJ, Murphy BD. Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotrophins. *Theriogenology*. 1986; 25:167.
46. Советкин СВ, Назаров ЕА. Гонадотропин очищенный – ГСЖК для стимуляции полиовуляции у коров. *Зоотехния*. 1992; 3-4:32-3.
47. Seidel GE. Application of transfer and related technologies to cattle. *J.Dairy Sc.* 1984; 67 (11); 2786-96.
48. Воронцова М, Тарадайкин Т, Дронин А. Опыты трансплантации эмбрионов. *Молочное и мясное скотоводство*. 1988; 3: 19-20.
49. Гавриков А, Алексеенко А, Маслеев Ц. Суперовуляторная реакция у коров на экзогенные гонадотропины. *Молочное и мясное скотоводство*. 1991; 6:24-5.
50. Villasenor M, Coscioni AC, Galvao KN. Gossypol disrupts embryo development in heifers. *Journal of dairy science*. 2008; 91(8): 3015-24.
51. Тяпугин ЕА, Хилькевич СН, Байтлесов ЕУ, Титова ВА, Насибов ФН. Качество эмбрионов от здоровых, проблемных и высокопродуктивных коров-доноров. *Аграрная наука*. 2007; 5: 29-32.

52. Жильцов МЗ. Методические указания по использованию французской технологии трансплантации эмбрионов. Москва. Госагропром; 1986. 32с.
53. Sartori R, Monteiro PL. J Jr, Wiltbank MC. Endocrine and metabolic differences between *Bos taurus* and *Bos Indicus* cows and implications for reproductive management. *Animal Reproduction*. 2016; 13(3): 168–181.
54. Сергеев НИ, Некрасов АА, Смылова НИ. Технология пересадки эмбрионов крупного рогатого скота. *Животноводство*. 1986; 1: 45-7.
55. Donaldson LE. LH and FSG profiles at superovulation and embryo production in the cow. *Theriogenology*. 1985; 23:441-7.
56. Garveric HA, Smith MF. Mechanisms associated with subnormal luteal function. *J. Anim. Sci.* 1986; 62: 92-105.
57. Хетагурова БТ. Сравнительная оценка гормональной индукции полиовуляции коров-доноров разных пород [диссертация]. Владикавказ. 2014. 174 с.
58. Юдин НС, Лукьянов КИ, Воевода МИ, Колчанов НА. Применение репродуктивных технологий для повышения эффективности геномной селекции молочного крупного рогатого скота. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(3):277-285. DOI 10.18699/VJ15.035.
59. Chankitisakul V, Pitchayapipatkul J, Chuawongboon P. Comparison of three superovulation protocols with or without GnRH treatment at the time of artificial insemination on ovarian response and embryo quality in Thai native heifers. *Tropical Animal Health and production*. 2017; 49. 3: 633-9.
60. Viana JHM, Vargas MSB, Siqueira LGB. Efficacy of induction of luteolysis in superovulated cows is dependent on time of prostaglandin F2 alpha analog treatment: effects on plasma progesterone and luteinizing hormone profiles. *Theriogenology*. 2016; 86. (4): 934-9.
61. Бугров АД, Ткачева ИВ, Погорелов АС. Значение генетических и паратипических факторов при получении эмбриопродукции от коров-доноров. *Науково-технічний бюлетень*. 2008. Харків. 76-8.

62. Глазко ТТ, Косовский ГЮ, Попов ДВ. Взаимосвязь геномной нестабильности и эмбриопродуктивности у коров-доноров эмбрионов. Ветеринария Кубани. 2015; 6: 9-11.
63. Gaddis K LP, Dikmen DJ. Null Evaluation of genetic components in traits to superovulation, in vitro fertilization, and embryo transfer in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100(4): 2877-91.
64. Jatton C, Koeck AM. Sargolzaei Genetic analysis of superovulatory response of Holstein cows in Canada. *Journal of Dairy Science*. 2016; 99(5): 3612-23.
65. Landry DA, C. Fortin AM. Bellefleur. Comparative analysis of granulosa cell gene expression in association with oocyte competence in FSH – stimulated Holstein cows. *Reproduction Fertility and Development*. 2017; 29(12): 2324- 35.
66. Cory AT, Price CA. Lefebvre Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine follicle-stimulating hormone receptor and effects of genotypes on superovulatory response traits. *Animal Genetics*. 2013; 44 (2):197–201.
67. Бугров ОД, Тарасенко МВ, Ткачова ІВ Багаторазове отримання ембріопродукції від корів-донорів Вісн. Полтав. Держ. с.г ін-ту. 2001; 2- 3: 39.
68. Боднар ОО, Мізик ВП, Керничий СП, Захарова ТВ. Розробка комплексних схем відновлення та стимуляції відтворної функції свиноматок. *Наук. вісник вет. медицини. Зб. наук. праць БЦНАУ*. 2010; 6 (79): 30-2.
69. Никоян ПЕ. Суперовуляция и оплодотворяемость яйцеклеток в зависимости от сезона года и уровня овуляции. Сборник научн. тр. “Эндокринология и трансплантация зародышей сельскохозяйственных животных”. ВИЖ, Дубровицы. 1983; 44: 68-73.
70. Яблонський ВА, Хомин СП, Калиновський ГМ, Харута ГГ. Харенко МІ, Завірюха ВІ, Любецький ВЙ. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології. Вінниця. Нова книга; 2006. 592 с.
71. Monniaux D, Chupin D, Saumande J. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*. 1983; 19: 55-82.

72. Jensen AM, Greve T, Madej AM, L.-Edgvist A. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG- Pg 21 treated cow. *Theriogenology*. 1982; 18(1): 33- 44.
73. Looney CR, Boutte BW, Arehald LF, Godke RA. Comparison of the once daily and twice daily FSG injections for super ovulating beef cattle. *Theriogenology*. 1981; 15: 13-22.
74. Hahn J. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. *Theriogenology*. 1992; 38 (2): 269-275.
75. Байтлесов ЕУ. Биотехнологические методы интенсификации воспроизводства маточного стада в мясном скотоводстве [автореферат диссертации]. Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ»; 2011. 45 с. 75
76. Suzuki C, Yoshioka K, Iwamura S. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the prooestrus phase in Holstein heifers. *Domest. Anim. Endocrinol*. 2001; 20: 267-78.
77. Назаров МВ, Руднева ЯА Гормональная индукция стадии возбуждения полового цикла у коров и телок. *Научн. журнал КубГАУ*. 2018; 136 (2): 2- 11. doi 10.21515/1990-4665-136-034
78. Зиновьева НА, Позябин СВ, Чинаров РЮ. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2020. 55(2): 225- 242 doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.225rus
79. Панкратова АВ, Насибов ФН, Косовский ГЮ. Значение и перспективы репродуктивных биотехнологий в скотоводстве. Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: сб. статей III Междунар. науч.-практ. конф. Владикавказ. 2012; 310-3.
80. Gonzalez A, Heng Wang H, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Superovulation in the cow with pregnant mare serum gonadotrophin: Effects of dose and non pregnant mare serum gonadotropin serum. *Can. Vet. J*. 1994; 35.
81. Martins CM, Reis PO, Gimenes LU, Sales JNS, Crepaldi GA, Baruselli PS. Superstimulation with eCG or FSH in Holstein (*Bos taurus*) donors inseminated at fixed time. *J Anim. Reprod*. 2009; 6 (1):279.

82. Смолянінов БВ, Кротких МО. Біотехнологія відтворення сільськогосподарських тварин. Одеса: СМІЛ; 2008. 200 с.
83. Stephen A. Levine Organic Germanium A Novel Dramatic Immunostimulant. *Journal of Orthomolecular Medicine*. 1987; 2 (2): 83-7.
84. Равилов МН, Анзоров ВА, Чапаев АМ. и др Применение простагландинов для повышения оплодотворяемости. Диагностика, терапия и профилактика акушерско-гинекологической патологии у животных. Московская ГАВМ им. К. И. Скрябина. 1994. 76-9.
85. Henricks D M, Rawlings NC, Ellicot AR. Use of prostaglandin F2a to induce parturition in beef heifers. *J. Anim. Sci*. 1977; 44: 438-41.
86. Попов ДВ, Безбородов НВ. Способ вызывания суперовуляции у коров-доноров. *Вестник Алтайского гос. аграр. унив*. 2010; 9 (71):59-65.
87. Яблонский ВА. Трансплантация эмбрионов у сельскохозяйственных животных. Кишинев. 1988. 96 с.
88. Смыслова НИ. Результаты суперовуляции коров-доноров в зависимости от исходного гормонального фона. Трансплантация эмбрионов у крупного рогатого скота. Таллин, 1986. 13-5.
89. Петров АМ. Методические рекомендации по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. Москва. 1995. 37 с.
90. Сергеев НИ. Методические рекомендации по гормональному вызыванию суперовуляции у коров-доноров при трансплантации эмбрионов. Дубровицы. 1988. 22 с.
91. Маслев Ц, Алексеенко А, Гавриков А, Ралчев И, Лалев И, Карадочев В, Дронин А. Многократная суперовуляция у коров-доноров. *Молочное и мясное скотоводство*. 1990; 3: 32-35.
92. Смолянинов БВ, Бучко АМ, Кобулей ДЭ. Индукция полиовуляции у коров при трансплантации. Боровск. 1990; 2: 134-5.
93. Лиєпа ЛЛ. Важнейшие факторы, влияющие на приживаемость эмбрионов у телок-реципиентов. Тез. докл. конф. «Использование горм. препар. в животноводстве». Москва. 1991.116- 7.

94. Некрасов АА. Технология получения антисыворотки к СЖК при гормональном вызывании полиовуляции. Трансплантация эмбрионов в молочном скотоводстве и овцеводстве. 1985. 19-20.
95. Довгопол ВФ, Осташко ФИ, Исаченко ВВ. Совершенствование нехирургического метода трансплантации эмбрионов. Зоотехния. 1992; 2. 14-17.
96. Шаран ММ. Експериментальне обґрунтування та удосконалення методів трансплантації і кріоконсервації ембріонів великої рогатої худоби. [автореферат дисертації]. Львів: ІБТ. 2010. 41 с.
97. Armstrong DT. Recent advances in superovulation of cattle. Theriogenology. 1993; 39: 397–424.
98. Alcivar AA, Maurer RR, Anderson LL. Endocrine changes in beef heifers are superovulated with follicle-stimulating hormone (FSH-P) or human menopausal gonadotropin. Journal of Animal Science. 1992. 70(1): 224-231.
99. Genazzani LAR, Oliva O, Inaudi P, Cremonesi F, Monittola C, Aureli G. Clinical and endocrinological investigations on superovulation induced in heifers by human menopausal gonadotropin. Journal of Reproduction and Fertility. 1982; 66:219-225.
100. Sugano M, Shinogi T. Superovulation with Human Menopausal Gonadotrophin in Japanese Black Cows. Journal of Mammalian Ova Research. 2002; 19(3): 77-80.
101. Bergfelt DR, Bo GA, Mapletoft RJ, Adams GP. Superovulatory response following ablation-induced follicular wave emergence at random stages of the oestrous cycle in cattle. Anim. Reprod. Sci. 1997; 49:1–12.
102. Sanderson N, Martinez M. A single administration of a long-acting recombinant ovine FSH (roFSH) for cattle superovulation. Theriogenology. 2020. 154 (15): 66- 72. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.04.037
103. Голубец ЛВ. Система биотехнических приемов и методов повышения репродуктивного потенциала крупного рогатого скота. [автореферат диссертации] Жодино: Ин-т животноводства Мац. акад. наук Беларуси. 2002. 35 с.

104. Трохименко ВЗ, Шеремета ВІ. Відтворна здатність корів за умови введення біологічно активного препарату в останню декаду тільності. Передгірне та гірське землеробство і тваринництво: міжвід. тем. зб. – Львів: Оброшино; 2008. 50(1):118-23.

105. Масс АА. Фолликулогенез и гормональный статус коров-доноров эмбрионов при индуцировании суперовуляции [автореферат диссертации] Харьков: ИЖ УААН. 1991. 23 с.

106. Kanitz W, Becker F, Schneider F, Kanitz E, Leiding C, Nohner H-P, Pöhlend R. Superovulation in cattle: practical aspects of gonadotropin treatment and insemination. *Reprod. Nutr. Dev.* 2002; 42: 587–599.

107. Takagi M, Kim IH, Izadyar F, Hyttel P, Bevers MM, Dieleman SJ, Hendriksen PJ, Vos PL. Impaired final follicular maturation in heifers after superovulation with recombinant human FSH. *Reproduction.* 2001; 121 (1):941–951.

108. Purwantara B, Schmidt M, Callesen H, Greve T. Follicular development and embryo recovery following 3 versus 8 FSH injections in heifers. *Acta Vet. Scand.* 1994; 35: 89–92.

109. Diaz T, Pancarci SM, Drost M, Schmitt EJ, Ambrose JD, Fredriksson WE, Thatcher WW. Effects of the persistent dominant follicle on the ability of follicle stimulating hormone to induce follicle development and ovulatory responses. *J. Dairy Sci.* 2001; 84: 88–99.

110. Gong JG, Armstrong DG, Baxter G, Hogg CO, Garnsworthy PC, Webb R. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. *Theriogenology.* 2002; 57: 1591–1602.

111. Kelly P, Duffy P, Roche JF, Boland MP. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. *Anim. Reprod. Sci.* 1997; 46: 1–14.

112. Шаран М.М. Ефективність застосування фолікотропіну у складі ліпосомальної емульсії для індукції поліовуляції у корів-донорів при багаторазовому їх використанні // Науковий вісник Львівського національного

університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького . 2008. №2-1 (3)

113. Wilson JM, Moore K, Jones AL, Looney CR. Recombinant bovine follicle-stimulating hormone: Dose and duration regimes for superovulation of embryo donors. *Theriogenology*. 1989; 31: 273.

114. Wilson JM, Jones AL, Moore K, Looney CR, Bondioli KR. Superovulation of cattle with a recombinant-DNA bovine follicle stimulating hormone. *Anim. Reprod. Sci.* 1993; 33: 71–82.

115. Elsdon RP, Nelson LD, Seidel GE. Superovulation cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotropin. *Theriogenology*. 1978; 9: 17-26.

116. Umut Taşdemir U, Karaşahin T, Satılmış M, Kizil SH, Kaymaz M. Various FSH Administration on Superovulatory Response and Embryo Yield in Anatolian Black Heifers Kocatepe Veterinary Journal. 2016;9(4): 322-326. DOI: 10.5578/kvj.35305.

117. Goulding D, Williams DH, Roche JF, Boland MP. Factors affecting superovulation in heifers treated with PMSG. *Theriogenology*. 1996; 45: 765- 73.

118. Murphy BD, Martinuk SD. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr Rev*. 1991; 12: 27-44.

119. Moor RM, Osborn JC, Crosby IM. Gonadotrophin-induced abnormalities in sheep oocytes after ovulation. *J Reprod Fertil*. 1985; 74: 167-172.

120. Abdel-Khalek AE, El-Ayek MY, Darwish SA, Ahmed I A. Superovulatory response of egyptian buffaloes treated with A single dose of PMSG as affected by diameter of the dominant follicle. *Journal of Animal and Poultry Production*. 2016. 7(6): 197- 201. doi: 10.21608/JAPPMU.2016.48701

121. Saumande J, Chupin D, Mariana JC, Ortavant R, Mauleon P. Factors affecting the variability of ovulation rates after PMSG stimulation. In: *Control of Reproduction in the Cow*. Sreenan JM, ed. Martinus Nijhoff. 1978; 195- 224.

122. Bevers MM, Dielemen SJ, Blankesteyn DM, van Tol HTM, van den Broek J. Changes in pulsatile secretion patterns of LH, FSH, progesterone, androstenedione

and oestradiol in cows after superovulation with PMSG. *J Reprod Fertil.* 1989; 87: 745-754.

123. Zeitoun M, Yassen AM, Hassan AA, Fathelbab AZ. Superovulation and embryo quality in beef cows using PMSG and a monoclonal anti-PMSG. *Theriogenology.* 1991; 35(3):653-667 DOI: 10.1016/0093-691X(91)90461-L.

124. Хилькевич С, Тяпугин Е. Роль трансплантации эмбрионов в селекционной работе. *Молочное и мясное скотоводство.* 1994; 14: 8-11.

125. Liguoy Y, Aiju Z. Concentrations of serum progesterone and PMSG in cows treated with PMSG and anti-PMSG serum. *Journal of Nanjing Agricultural University (China).* 1990; 13(1): 87-91.

126. Saumande J, Procureur R, Chupin D. Effect of injection time of anti-PMSG serum on ovulation rate and quality of embryos in superovulated cows. *Theriogenology.* 1984; 21: 727-731.

127. Rommel P, Rehbock F. Comparative studies of superovulation in high-producing cows. *Arch Exp Veterinarmed.* 1990;44(1):117-25.

128. Plam V, Bevers MM, Willemse AH, Dieleman SJ. Effect of suppression by a progesterone releasing intravaginal device and subsequent induction by GnRH of the preovulatory LH surge on follicular function and development in PMSG/PG-treated cows. *J Reprod Fert.* 1994; 101:43-49.

129. Kostov L. Die Anwendung von PMSG-Antiserum bei induzierter Superovulation von donoren. *Tagungsber. Akad. Landwirtschaft Swiss. DDR.* 1986. 252:127-8.

130. Сапсалева СА Прогестагенная регуляция воспроизводительной функции у самок крупного рогатого скота при эмбриотрансплантации [автореферат диссертации]. Жодино: НППЦ НАН Беларуси по животноводству. 2016. 22 с.

131. Alfuraiji MM, Atkinson T, Broadbent PJ, Hutchinson JSM. Superovulation in cattle using PMSG followed by PMSG-monoclonal antibodies. *Anim. Reprod. Sci.* 1993; 33:99-109.

132. Hosseini A, Niasari-Naslaji A, Gharagozloo F. Effect of time of eCG administration on the fate of ovarian follicle in Holstein heifers. *Iran J Vet Res.* 2018; 19(1): 15–21.
133. Gonzalez A, Wang H, Carruthers TD, Murphy BD, Mapletoft RJ. Increased ovulation rates in PMSG-stimulated beef heifers treated with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenology.* 1994; 33: 519-529.
134. Pulley SL, Wallace LD, Mellieon HI Jr, Stevenson JS. Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. *Theriogenology.* 2013;79:127–134.
135. Shu-Bin Fu, Hua-Lin Zhang, Hasan Riaz, Sibtain Ahmad§ , Xiao-Min Wang, Xiang Li, Guo-Hua Hua, Xiao-Ran Liu, AiZhen Guo¹ and Li-Guo Yang: Effects of Different Doses of PMSG on Reproductive Performance in Chinese Holstein Dairy Cows. 2013; *Pak Vet J*, 33(2): 209-212.
136. Palta P, Kumar M, Jaikhani S, Manik RS, Madan ML. Changes in peripheral inhibin levels and follicular development following treatment of buffalo with PMSG and Neutra-PMSG for superovulation. *Theriogenology.* 1997; 15;48(2):233-40.
137. Kostov L, Vasilev G, Tsolov S, Nikolov I, Grigorov K. Superovulation induction in donor cows using the embryo transfer method. *Vet Med Nauki.* 1986;23(5):79-85.
138. Свитоюс АГ, Сергеев НИ. Результаты гормонального вызывания суперовуляции у коров-доноров фоллитропином. Применение трансплантации эмбрионов в селекции с.-х. животных. Дубровицы, 1988: 23-6.
139. Das N, Kumar TR. Molecular regulation of follicle-stimulating hormone synthesis, secretion and action. *Journal of Molecular Endocrinology.* 2018; 60: 131-55.
140. P. Guay and M. Bedoya Effects of Gn-RH on Blood Serum Hormone Concentrations, Ovulation Rates and Embryo Production in Lactating Cows Treated with PMSG. *Canadian Journal of Comparative Medicine.* – 1981. – Т. 45. – №. 4. – С. 352.

141. Оборин АЕ. Эффективность применения простагландинов и ризлинг-гормона в различные периоды полового цикла для повышения результативности осеменения у самок крупного рогатого скота [диссертация] Дубровицы: ВИЖ. 2010. 118 с.

142. Шеремета ВІ Теоретичне обґрунтування та розробка методів підвищення ефективності біотехнології відтворення великої рогатої худоби [автореферат дисертації] Біла Церква: БНАУ. 1999. 40 с.

143. Чомаев АМ. Эффективность применения биологически активных веществ для нормализации воспроизводительной функции высокопродуктивных коров [диссертация]. 1998. Дубровицы: ВИЖ. 276 с.

144. Арабська ЛП, Смірнова ОА, Толкач СІ, Несвітайлова КВ. Бурштинова кислота та можливість її застосування у педіатрії. Перинатология и педиатрия. 2006; 1 (25): 72-6.

145. Киц ЕА. Фармакологическое действие препарата КИМ при применении его в качестве адаптогена в период отбивки ягнят. Ветеринарная медицина. 2008; 2-3: 27-9.

146. Attali V, Parnes M, Ariav Y. Regulation of insulin secretion and proinsulin biosynthesis by succinate. Endocrinology. 2006; 147(11): 5110- 8.

147. Ariza AC, Deen PMT, Robben JH. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress related conditions. Front. Endocrinol. 2012; 3(22): 1–8.

148. Лабенська ІБ. Бурштинова кислота – потенційний фармакофор при моделюванні нових біорегуляторів на основі азотовмісних гетероциклів. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2016; 2 (48): 3-13.

149. Коваленко АЛ, Белякова НВ. Янтарная кислота: фармакологическая активность и лекарственные формы. Фармация. 2000; 5-6: 41- 3.

150. Денисюк ОМ, Степанюк ГІ. Застосування бурштинової кислоти для посилення протигіпоксичного ефекту антигіпоксантив. Медична хімія. 2014; 16(4) : 97.

151. Correa P, Kruglov E, Thompson M. Succinate is a paracrine signal for liver damage. *J. Hepatol.* 2007; 47 (2): 262-9.

152. Одинак ММ, Янишевский СН, Цыган НВ. Применение сукцинатов для коррекции метаболических нарушений в зоне ишемической полутени у пациентов с инсультом. *Неврологический вестник.* 2014; 4: 26–31.

153. Карпухина ЕГ, Анисимова ИВ. Экологически чистый способ стимуляции роста, развития и воспроизводства кроликов в условиях интенсивной технологии выращивания. Проблемы экологической безопасности агропромышленного комплекса. *Сергиев Посад.* 1998. 3: 110-3.

154. Висоцький АМ, Сердюк ІО, Чумаченко ВВ. Вплив сукцинату натрію на резистентність і продуктивність свиней. *Збірник статей наук.- практ. конф. «Збереження молодняку с.-г. тварин – запорука розвитку тваринництва України».* Харків. 1994. 137-9.

155. Загородний МІ, Яковлєва ІЮ, Максимчук ОО. Клініко-фармакологічні властивості нікотинаміду та бурштинової кислоти. *Ліки.* 2005; 5-6: 7-10.

156. Евглевский АА, Рыжкова ГФ, Евглевская ЕП, Ванина НВ, Михайлова ИИ, Денисова АВ, Ерыженская НФ. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии.* 2013; 9: 67-69.

157. Комлацкий ВИ, Кудинова АФ. Взаимосвязь продуктивности и поведения свиноматок. *Тр. Кубанского ГАУ.* 1994; 336: с.115-23.

158. De Busser EV. Effect of Organic Acid in Drinking Water During the last 2 weeks Prior to slaughter on Salmonella Shedding by Slaughter Pigs and Contamination of carcasses. *Zoonoses and Public Health.* 2009; 56 (3):129- 136.

159. Коханов ІВ., Горчакова НО., Чекман СІ. Фармакодинаміка глютамінової кислоти та її похідних. *Ліки.* 2004; 5-6: 24.

160. Туманов ВА, Горчакова ВА, Тимченко ОГ, Яковлєва ІЮ. Вплив кислоти глютамінової, глутаргіну, глютоксиму на працездатність та процеси

перекисного окислення ліпідів в експерименті. Фітотерапія. Часопис. 2006; 2: 36-8.

161. Меркулова ЮВ, Гомон ОН, Чайка ЛА. Фармакологическое исследование препарата глутаргин. Глутаргін – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки : зб. наук. праць, наук.-практ. конф. Харків. 2003; 1: 7–9.

162. Меркулова ЮВ, Белостоцкая ЛИ, Вертова ОН. Глутамат аргинина при остром токсическом гепатите. Провизор. 1997; 5: 18-9.

163. Коваль ЮМ. Фітотерапія в комплексному лікуванні гінгівіту у дітей та підлітків [автореферат дисертації] Львів: ЛДМУ ім. Данила Галицького. 2001. 24 с.

164. Тихонова ЕО, Ляпина ЕП, Шульдяков АА, Сатарова СА. Использование препаратов, содержащих сукцинат в клинике инфекционных болезней. Терапевтический архив. 2016; 11: 121-7.

165. Чекман ІС, Горчакова НО, Олійник СА, Середенко ММ, Барабой ВБ, Ніженковський ВІ. Вивчення актопротекторних та адаптогенних властивостей суфану. Вестник гигиены и эпидемиологии. 2000; 4 (1): 7-9.

166. Чумаченко ВВ. Біохімічні та імунологічні основи системи профілактики стресу у свиней [автореферат дисертації]. Київ: НАУ. 2007. 25 с.

167. Чумаченко В.Е., Чумаченко В.В. Влияние натрия янтарно кислого на показатели естественной резистентности у поросят при технологическом стрессе. Ветеринарные и зооинженерные проблемы в животноводстве и научно-методическое обеспечение учебного процесса. Минск. 1997. 158- 160.

168. Басанкин АВ, Антипов ВА. Применение янтарной кислоты супоросным свиноматкам для стимуляции развития плода. Ветеринарная патология. 2007; 2:189-190.

169. Канаян ЛР, Акопян ВИ, Натишвили НН, Саакян СГ, Александрян КМ, Кочарян ЕН. Действие янтарной кислоты на эмбриогенез при скормливании ее курам-несушкам. Птицеводство. М. 1988. 5.

170. Софронычев А. Влияние препаратов «Янтарос плюс» и «Сукцинат железа» на обменные процессы и продуктивные показатели лисиц. Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2008; 7: 57-9.

171. Папуниди КХ, Шагеев МИ. Влияние препарата «Янтарос плюс» на некоторые показатели крови поросят, больных рахитом. Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: мат. межд. коорд. совещания. Воронеж. 1997. 28-9.

172. Карелин АИ, Безбородова ЕА. Применение янтарной кислоты в свиноводстве. Методические рекомендации. Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина. М. 1995.

173. Копылов СН, Шестакова АН. Изменение ЭКГ у коров и лошадей при применении кормовой добавки «Янтар». Ветеринария. 2007; 5: 44-7.

174. Лебедев АФ, Швец ОМ, Евглевский АА. Разработка и применение препаратов на основе янтарной кислоты. Ветеринария. 2009; 3: 48-51.

175. Humphrey TJ, Whitehead A, Gawler AH, Henley A, Rowe B. Numbers of *Salmonella enteritidis* in the contents of naturally contaminated hens' eggs. Epidemiol Infect. 1991; 106(3):489-96. doi:10.1017/s0950268800067546.

176. Михайленко АМ. Эффективность влажной обработки утиных яиц. Научно-технический бюллетень ВАСХНИЛ. 1988; 23: 23-4.

177. Невструев НА, Лимаренко АА, Терехов ВИ, Мамуков АИ, Цыбульский АМ. Клинические испытания комплексного препарата на основе гидролизата крови и янтарной кислоты. Новые фармакологические средства для животноводства и ветеринарии. Материалы науч.-практ. конф., посвященной 55-летию ГУ Краснодарской НИВС. Краснодар. 2001; 118.

178. Протасов БИ, Комиссаров ИИ. Стратегия применения адаптогенов для стимуляции продуктивности у сельскохозяйственных животных. Сельскохозяйственная биология. 2012; 6:12-23.

179. Папуниди ЭК, Габдрахманова АР, Смоленцев СЮ. Влияние препаратов на основе органических кислот и растительного сырья на прирост

живой массы и качество мяса цыплят. Вестник Марийского ГАУ Серия «Сельскохозяйственные науки». 2019; 5:1. DOI: 10.30914/2411-9687-2019-5-1-28-34.

180. Карпухина ЕГ, Найденский МС. Янтарная кислота – стимулятор для кроликов. Кролиководство и звероводство. 1997. 3: 8-9.

181. Волков МС, Генкин АМ, Готов НА, Маевский ЕИ. Глутаминовая кислота. Биохимическое обоснование практического использования. – Свердловск: Свердловско-Уральское зд-во. 1975; 119 с.

182. Шеремета ВІ. Теоретичне обґрунтування та розробка методів підвищення ефективності біотехнології відтворення великої рогатої худоби [дисертація] Київ: НАУ; 1999. 384 с.

183. Себа МВ. Корекція заплідненості корів і телиць та метаболізму в їх організмі препаратом Глютам. [автореферат дисертації] Біла Церква: БНАУ; 2005. 21 с.

184. Себа МВ, Шеремета ВІ. Морфобіохімічні зміни в крові телиць після введення препарату глютам. Науковий вісник НАУ. 2004; 78: 175-181.

185. Себа МВ. Запліднюваність телиць чорно-рябої молочної породи після введення біологічно активних препаратів. Науковий вісник НАУ. 2005; 85: 165.

186. Шеремета ВІ, Сіроштан ОМ. Підвищення ефективності заплідненості корів біологічно активним препаратом Глютам. Науковий вісник НАУ. 2003; 63. 158-63.

187. Hamman JH. Review. Composition and applications of Aloe vera leaf gel. Molecules. 2008; 13:1599-1616.

188. Томчук ВА. Энтеросорбенты, их свойства и применение. Біологія тварин. 2014; 16 (1): 148-159.

189. Шеремета ВІ, Вергелес ОІ. винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Препарат для стимулювання овуляції та спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації з його допомогою. Патент України №91772. 2010 серп. 25. 189.

190. Калиновський ГМ. Експрес-метод діагностики ендометритів. Тваринництво України. 1983; 9: 39-40.
191. Підопригора ГІ. Лікування прихованого ендометриту. Тваринництво України. 1984; 6: 37-8.
192. Бугров ОД, Тихона ГС. Санація ембріонів великої рогатої худоби: метод. Рекомендації. Харків, Інститут тваринництва УААН. 2004; 8 с.
193. Плохинский Н.А. Биометрия. 2-е изд. - М.: Изд-во МГУ. 1970. 367 с
194. Меркурьева ЕК. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. Москва: Колос; 1970. 424 с.
195. Favero TG, Zable AC, Abramson JJ. Hydrogen peroxide stimulates the Ca^{2+} release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *Biologically Chemie*. 1995; 270 (43): 255-63.
196. Гуніна ЛМ. Доцільність використання композицій на основі бурштинової кислоти в спорті вищих досягнень. Педагогіка, психологія і медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту. 2012; 5:50-4.
197. Авдеев АЮ, Безбородов НВ. Физиолого-биохимические аспекты применения глутамил-триптофанового комплекса и карбетоцина для стимуляции репродуктивной функции у коров. Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2014. 2 (31):95-106.
198. Себа МВ. Корекція заплідненості корів і телиць та метаболізму в їх організмі препаратом Глютам [дисертація] Біла Церква: БНАУ; 2005.—144 с.
199. Kostowski K, Wply U. Wybranych preparatów na przebieg okresu porodowego u krów, *Zycie Weter*. 1988. 63(1): 2-5.
200. Вихляева ЕМ. Руководство по эндокринной гинекологии. М.: Мед.информиздат.1997. 768 с.
201. Курбат МН. L-Глутамат: современный взгляд на известную аминокислоту. *Нейрохимия*. 2009. 26(3): 202-7.
202. Деримедведь ЛВ, Тимченко ВА. БАДы на основе янтарной кислоты. *Провизор*. 2002. 13: 10-3.

203. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Disodium-succinate>
(accessed on Jan. 16, 2020)
204. <https://ru.wikipedia.org/wiki>
205. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Monosodium-succinate>
(accessed on Mar. 29, 2020)
206. <https://uk.wikipedia.org/wiki>
207. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/7313/natriyu-glutamat>
208. http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/Additive-292.pdf
209. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Monosodium glutamate, CID = 23672308, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Monosodium-glutamate> (accessed on Mar. 29, 2020)
210. Вергелес ОП, Шеремета ВІ, Опанасенко ОС. Біологічно активний препарат «Стимулін-Вет» Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010.
211. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Monosodium-glutamate>
212. Шалимов СА, Борщевская МИ, Волченкова ИИ, Корчевая ЛМ, Майданевич НН. Изучение острой и хронической токсичности натрия сукцината. Совр.пробл. токсикологии. 2001. 3: 72–6.
213. Maekawa A, Todate A, Onodera H. Lack of toxicity/carcinogenicity of monosodium succinate in F344 rats. Food Chem Toxicol. 1990. 28(4):235-241.
214. Belsito DV. Final Report of the Cosmetic Ingredient Review Expert Panel on the Safety Assessment of Dicarboxylic Acids, Salts, and Esters. International Journal of Toxicology. 2012. 31(1): 5-76.
215. Хабриев РУ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина. 2005. 458 с.
216. Шеремета ВІ, Вергелес ОІ. винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації. Патент на корисну модель № 42098 2009 черв 25.

217. Шеремета ВІ, Вергелес ОП, Себа МВ. Новий спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. Вісник аграрної науки. 2010; 12: 34- 35.

218. Калиновський ГМ, Карпюк ВВ. Шнайдер ВЛ. Субклінічний хронічний ендометрит і ускладнення, що його супроводжують. Наук. -техн. Бюлетень ІТ НААН. 2013; 109: 126-130.

219. Шаран ММ. Добір корів-донорів ембріонів шляхом визначення функції яєчників шкірною алергічною реакцією //Біологія тварин. – 2007. – Т. 9. – №. 1-2. – С. 238-243.

220. Шеремета ВІ, Вергелес ОП. винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб відбору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент України №86165. 2009 берез. 25.

221. Вергелес ОП, Шеремета ВІ. Використання біологічно активного препарату в схемі стимуляції поліовуляції у корів-донорів. Ветеринарна медицина України. 2009; 3: 22-3.

222. Лях ЮГ. Значение биохимических исследований крови крупного рогатого скота при беспривязной технологии содержания молочного стада в хозяйствах Беларуси. Животноводство и ветеринарная медицина. 2016; 1 (20): 55-9.

223. Farhadi SA, Sanchez EB, Fettis MM, Seroski DT, Freeman S, Restuccia A, L Keselowsky B, Hudalla GA. Locally anchoring enzymes to tissues via extracellular glycan recognition. Nature Communications/ 2018. 9: 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07129-6>.

224. Христиановский ПИ, Гребенюк СЕ, Белименко ВВ. Изменение содержания прогестерона в крови коров и телок под влиянием гормональных препаратов и физиотерапии. Российский ветеринарный журнал. 2014; 3: 13-14.

225. Смертина ЕЮ, Павлов АВ. Содержание половых и стероидных гормонов в сыворотке крови коров ирменского типа. Сиб. Вестн. 2016; 4: 75-78.

226. Carroll LJ. Progesterone production by cultured bovine luteal cells in the presence of bovine low- and high-density lipoproteins purified by heparin affinity

chromatography. 86-th Ann.Meet. Amer. dairy Sci. Assoc. (ADSA). Aug. 12-15, 1991. Dairy Sci. 1991; 1: 195-9.

227. Kessler EC, Gross JJ, Bruckmaier RM, Albrecht C. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. J. Dairy Sci. 2014; 97: 5481-90. doi.org/ 10.3168/jds.2014-7926

228. Xu N, Cardoso FC, Pineda A, Trevisi E, Shen X, Rosa F, Osorio JS, Loor JJ. Grain challenge affects systemic and hepatic molecular biomarkers of inflammation, stress, and metabolic responses to a greater extent in Holstein than Jersey cows. Journal of Dairy Science. 2017; 100(11): 9153-62. doi.org/10.3168/jds.2017-13321.

229. Корнят С.Б., Шаран Н.М., Андрушко А.Б., Яремчук И.М. Метаболічний профіль крові корів за лікування гіпофункції яєчників гормональними та фітопрепаратами // Ukrainian Journal of Ecology. 2015. №2 (15)

230. Холодова ЮД, Чаяло ПП. Липопротеины крови. Київ: Наук. думка; 1990. 208 с.

231. Решетникова НМ., Рябых ВП, Кувшинова ВС, Кордюков АП. Взаимосвязь реакции суперовуляции у коров с гормональным уровнем. Сб. тр. Биология воспроизведения и биотехнологические методы разведения. Москва. 1992. 25-32.

232. Квасницкий АВ, Мартыненко НА, Близнюченко АГ. Трансплантация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. Київ: Урожай; 1988. 260 с.

233. Лиєпа ЛП., Мальцева ИВ. Результаты гормонального вызывания суперовуляции у коров с использованием антисыворотки на СЖК. Применение метода трансплантации эмбрионов в селекции сельскохозяйственных животных: бюл. науч. работ. Дубровицы. 1988. 89: 41-43.

234. Saumande J, Chuing D. Production of PMSG anti-serum in cattle. Assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. Theriogenology. 1982; 15: 125-34.

235. Овчинников АВ. Уровень полиовуляции у коров-доноров в зависимости от размера яичников и состояния желтого тела. Эндокринология и

трансплантация зародышей сельскохозяйственных животных: сб. научн. тр. Дубровицы. 1983; 44: 74-8.

236. Коростелева ДА. Трансплантация эмбрионов как один из методов сохранения и рационального использования генофонда крупного рогатого скота. Инновационные тенденции развития российской науки. Мат. XII Международной науч.-практ. конф. молодых ученых. Красноярск. 2019. 108- 110.

237. Мороз ТА. Выживаемость эмбрионов крупного рогатого скота при трансплантации. Биология воспроизводства и биотехнологические методы разведения сельскохозяйственных животных. 1989; 135-40.

238. Saumande J., Chuing D. Production of PMSG anti-serum in cattle. Assay of inhibitory activity and use in superovulated heifers. Theriogenology. 1982; 15: 125-34.

239. Sheremeta VI, Bezverha L. Fertility of Large White breed sows when using biologically active products. Proceedings of Vinnytsia national agrarian University. 2011; 8 (48): 84-8. [Ukrainian].

240. Шеремета ВІ, Вергелес ОП. Використання препарату «Стимулін» у трансплантації ембріонів. Вісник аграрної науки. 2009; 10: 35-7.

241. Соколов ВД, Андреева ИЛ, Соколов АВ. Иммуностимуляторы в ветеринарии. Ветеринария. 1992; 7-8: 49-50.

242. Hoyda TD, Samson WK, Ferguson AV. Adiponectin depolarizes parvocellular paraventricular nucleons controlling neuroendocrine and autonomic function. Endocrinology. 2009; 150 (2): 832-40.

243. Яковлева ЕГ, Анисько РВ, Горшков ГИ. Янтарная кислота – природный адаптоген и иммуностимулятор. Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2015; 7: 164-7.

244. Bezawork-Geleta A, Rohlena J, Dong L, Pacak K. Mitochondrial Complex II: At the Crossroads. Trends in biochemical sciences. 2017; 42 (4): 312-25. doi: 10.1016/j.tibs.2017.01.003.

245. Frezza C. Mitochondrial metabolites: undercover signalling molecules // Interface Focus. 2017; 7 (2): 1-16. doi: 10.1098/rsfs.2016.0100.

246. Безверха ЛМ, Трохименко ВЗ, Захарін ВВ. Відтворювальна здатність свиноматок великої білої породи за використання біологічно активних препаратів «Глютам 1М» та «Стимулін-Вет». Сучасні проблеми селекції розведення та гігієни тварин. 2019; 1(104): 94-101.

247. Шеремета ВІ, Грунтковський МС. Стимуляція біологічно активним препаратом овуляції фолікулів на яєчниках корів. Таврійський науковий вісник. 2012; 2: 224-8.

248. Шеремета ВІ, Грунтковский НС. Повышение уровня оплодотворяемости коров при использовании биологически активного препарата «Стимулин-Вет» Актуальные проблемы развития животноводства: сб. науч. трудов. 2013; 2: 48-54.

249. Шеремета ВІ, Безверха ЛН, Себа МВ, Трохименко ВЗ. Підвищення відтворювальної здатності свиноматки при дії препарату Глютам 1. Фізіол. журн. 2017; 63(4): 72-9.

250. Вергелес ОП, Шеремета ВІ. Фізіологічна роль бурштинової та глутамінової кислоти в організмі тварин і створення на їх основі біологічно активних препаратів. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2009; 138: 399-409.

251. Шляхто ЕВ. Трансляционные исследования как модель развития современной медицинской науки. Трансляционная медицина. 2014;(1):5–18. [Shlyakhto EV. Translational research as a model of progress in current medical science. Translyatsionnaya meditsina = Translational Medicine. 2014;(1):5–18 (In Russ)]

252. Food and Drug Administration et al. Guidance for industry: estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers //Center for Drug Evaluation and Research (CDER). – 2005. – С. 7.

253. Шаран, П. І., Кравченко, Г. Г., Ковтун, С. І., Мадісон, Л. В., & Мадісон, В. В. (2006). Формування нормативної собівартості, ціни одержання і трансплантації ембріонів великої рогатої худоби. Розведення і генетика тварин, (40), 195-205.

254. Шекунова ЕВ, Ковалева МА, Макарова МН, Макаров ВГ. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2020;10(1):19–28. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28>

255. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. FASEB J. 2008;22(3):659–61. <https://doi.org/10.1096/fj.07-9574LSF>

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А



**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВИХ
ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ**

**ХЕРСОНСЬКЕ ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО -
БІОЛОГІЧНА ФАБРИКА**

вул. Адмірала Макарова, 9, м. Херсон, 73011
тел/факс (0552) 38-07-60
тел. 29-18-93, 29-23-28
E-mail: biofabrika2010@ukr.net

п/р UA573282090000026008000030707 Регіональне відділення
АБ «Південний» в м. Херсоні, МФО 328209 код 00483027,
свідоцтво № 30457451, індивід. податковий № 004830221032

15.06.2010 № 726/01-Ч

**Лист-відгук на технологію
виготовлення біологічно активного препарату «Стимулін-ВЕТ»**

Біологічно активний препарат «Стимулін-ВЕТ, призначено для стимуляції разом з гонадотропіном СЖК суперовуляції у корів-донорів.

У препараті «Стимулін Вет» поєднані сполуки анаболічної та нейротропної дії. Діючі речовини препарату зумовлюють упереджену активацію шляхів мобілізації та підтримки аеробного енергетичного обміну, що сприяє синтезу ЛГ-рилізінг гормону в гіпоталамусі, який стимулює додаткове виділення гіпофізом лютропіну в кров донорів і як наслідок поліпшує результати суперовуляції.

Споживачами препарату є сільськогосподарські підприємства з розведення великої рогатої худоби, власники великої рогатої худоби, а також наукові установи.

Препарат розроблено здобувачем наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук, спеціальність 03.00.20 «Біотехнологія», Вергелесом Олександром Петровичем під керівництвом доктора сільськогосподарських наук, професора Шеремети Віктора Івановича.

«Стимулін-ВЕТ» легкий та малозатратний у виробництві. Він складається з компонентів, що виробляються хімічною промисловістю та може бути виготовлений в умовах лабораторії, або ветеринарної аптеки господарства за екстемпоральною рецептурою без використання складного обладнання, що обумовлює низьку собівартість препарату. Діючими речовинами в препараті виступають розчини натрію глютамінату та натрію сукцинату.

Методи контролю якості препарату адекватні, відповідають вимогам Державної фармакопеї України та дають змогу довести, що препарат безпечний та ефективний у застосування.

На потужностях нашого підприємства за розробленою технологією було виготовлена та контрольована експериментальна серія препарату.

За усіма критеріями препарат відповідав вимогам технічних умов ТУ У 24.4-33295412-001:2010.

В.о. директора



Т.О. Терпецька

ДОДАТОК Б



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57835 (13) U

(51) МПК
A01K 67/02 (2006.01)
A61K 31/07 (2011.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ИНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДОБОРУ КОРІВ У ДОНОРИ ЕМБРІОНІВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

1

(21) u201011090
(22) 15.09.2010
(24) 10.03.2011
(46) 10.03.2011, Бюл. № 5, 2011 р.
(72) ШЕРЕМЕТА ВІКТОР ІВАНОВИЧ, МЕЛЬНИЧУК
СЕРГІЙ ДМИТРОВИЧ, ВЕРГЕЛЕС ОЛЕКСАНДР
ПЕТРОВИЧ
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

2

(57) Спосіб добору корів у донори ембріонів для
трансплантації, що передбачає, перед синхроніза-
цією статевих циклів аналогами простагландину
F_{2α}, виявлення жовтих тіл на яєчниках під час рек-
тальних досліджень матки самиць, який відрізня-
ється тим, що в донори ембріонів для трансплан-
тації відбирають корів, у яких верхівка жовтого тіла
виходить за межі яєчника на 0,5 сантиметрів і бі-
льше.

Корисна модель відноситься до сільського го-
сподарства, а саме - до тваринництва у галузі ско-
тарства, зокрема до біотехнології відтворення ве-
ликої рогатої худоби.

Відомий спосіб відбору телиць-реципієнтів за
морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників під
час ректальних досліджень на 6-7 день статевого
циклу (Шеремета В. І., Опанасенко В. О. Морфо-
логічна оцінка яєчників телиць-реципієнтів // Тва-
ринництво України. 1995. - № 6. - С. 17)

Недоліком даного способу є те, що оцінка жо-
втого тіла проводиться у телиць-реципієнтів у кон-
кретні дні статевого циклу. Крім того, телиць-
реципієнти порівняно з донорами мають велику
різницю в функціональному призначенні. Телиць-
реципієнтам пересаджують на 6-7 день статевого
циклу ембріони, отримані від корів-донорів.

Найбільш близьким по суті до способу, який
заявляється, є спосіб відбору корів-донорів за фу-
нкціональним станом яєчників на підґрунті алергі-
чної реакції шкіри тварин після внутрішньошкірно-
го введення естрадіолу та прогестерону (Пат.
41798 U Україна МПК A01K67/02 A61K31/07 Спосіб
відбору корів-донорів і телиць реципієнтів / Шарам
М. М., Шаловило С. Г., Андрушко О. Б. - (Україна)
№ 200814844; Заявл. 23.12.2008; Прийнято рішен-
ня 10.06.2009; 10.06.2009 опуб. Бюл. № 11. - 2009
р.)

Недоліком даного способу є внутрішньошкірне
введення окремих стероїдних гормонів, що вима-
гає додаткових фінансових і трудових затрат, але
не виключає ректальних досліджень на виявлення
жовтого тіла на яєчнику під час синхронізації ста-
тевих циклів у корів-донорів.

В основу корисної моделі поставлено завдан-

ня створити ефективний спосіб добору корів у до-
нори під час синхронізації статевих циклів без зна-
чних фінансових та трудових затрат.

Поставлене завдання досягається тим, що ви-
користовується спосіб добору корів у донори емб-
ріонів для трансплантації, що передбачає, перед
синхронізацією статевих циклів аналогами проста-
гландину F_{2α}, виявлення жовтих тіл на яєчниках
під час ректальних досліджень матки самиць, згід-
но корисної моделі, в донори ембріонів для транс-
плантації відбирають корів, у яких верхівка жо-
втого тіла виходить за межі яєчника на 0,5
сантиметрів і більше.

Приклад. Досліди проводили на базі ВП Наці-
онального університету біоресурсів та природоко-
ристування України НДГ "Великоснітинське ім. М.
О. Музиченка", "Ворзель" та БАТ "Пуща Водиця"
на коровах української чорно-рябої молочної по-
роди. Для дослідів було відібрано 53 корів 4-6-
річного віку, із живою масою 500-550 кг та з надо-
єм за найвищу лактацію 4500-5600 кг, що знахо-
дилися в умовах годівлі та утримання, які відпові-
дають зоотехнічним нормам.

З метою синхронізації статевої охоти відібра-
ним коровам внутрішньом'язово вводили синтети-
чний аналог простагландину F_{2α} - клопростенол, у
виді препарату - "Естрофан®" (фірма
"BIOVETA" Чеська Республіка) в дозі 2 мл на одну
голову. Для стимуляції множинної овуляції на 10-й
день статевого циклу інтрамускулярно ін'єктували
донорам препарат гонадотропіну сироватки жере-
бих кобил (ГСЖК) - "Folligon®" (виробництва фір-
ми "INTEVET" Голандія), однієї серії (A002A01), в
дозі 2,5-3,0 тис. М.О. Через 48 та 72 години після
введення гонадотропіна, коровам-донорам ін'єкту-

(19) UA (11) 57835 (13) U

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

3

57835

4

вали внутрішньом'язово препарат "Естрофан®" у дозі 2 мл, на одну голову. Осіменіння проводили через 48 годин після введення першого лютеолітичного препарату, заморожено - відтаєною спермою одного бугая, що мала в дозі не менше 15 млн. сперматозоїдів з прямолінійно поступальним рухом, цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки, тричі з інтервалом 12 годин.

Групи формували за результатами морфологічної оцінки жовтого тіла під час ректальних досліджень матки корів. За умови якщо верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника до 0,5 см його

позначали одним "+", (I група), від 0,5 до 1,0 см. двома "++" (II група), 1,0 см і більше трьома "+++" (III група).

Результати досліджень показали, що після введення естрофану через 48 годин статеву охоту виявили у 60 % корів. При цьому в групах корів з жовтими тілами, верхівка яких виходила за межі яєчника більше 0,5 см., прореагувало проявом статевої охоти на екзогенний простагландин майже її двічі більше самоць, ніж у групі тварин із меншим жовтим тілом (табл. 1).

Таблиця 1

Результати індукції статевої охоти та суперовуляції у корів

Показник	Кількість самоць		Групи корів за морфологічною оцінкою жовтого тіла яєчників, n-%		
	n	%	I (+)	II (++)	III (+++)
Оброблено корів, гол.	53	100	14-26,4	27-50,9	12-22,6
Проявили ознаки статевої охоти, гол.	45	84,9	11-78,5	24-88,8	10-83,3
З них: через 48 годин	27	60,0	4-36,3	16-66,7	7-70,0
72 години	15	33,3	4-36,3	8-33,3	3-30,0
96 годин	3	6,6	3-27,2	0	0
Не прийшли в статеву охоту, гол.	8	15,1	3-21,4	3-11,1	2-16,6
Оброблено корів-донорів, гол.	28	100	6-21,4	14-50,0	8-28,6
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, гол.	23	82,1	4-66,7	11-78,5	7-87,5

Після синхронізації у донори було відібрано 28 корів. Серед них 82 % прореагувало суперовуляцією на введення ГСЖК. У групах донорів у яких жовті тіла на яєчнику оцінили перед синхронізацією в "++" та "+++", суперовуляцією прореагувало більше на 11,8 % та 20,8 % тварин, ніж у групі з одним "+" (табл. 1).

У донорів із різних груп різниця за рівнем суперовуляції та кількістю неовульованих фолікулів була в межах похибки. Але у групах донорів з більшим жовтим тілом перед синхронізацією, серед отриманих ембріонів, придатних до пересадження було більше на 25,7 % та 36,2 %, ніж у самоць з меншою залозою (табл. 2, 3).

1. Рівень суперовуляції у піддослідних корів-донорів

Таблиця 2

Показник	Група					
	I (+), n=6		II (++) n=14		III (+++), n=8	
	M±m	Cv, %	M±m	Cv, %	M±m	Cv, %
Кількість жовтих тіл, шт.	7,2±0,83	28,5	7,92±0,82	38,7	8,5±1,66	55,2
Неовульованих фолікулів, шт.	3,0±0,37	29,8	2,9±0,52	66,19	3,2±0,67	58,7

2. Кількість ембріонів вимитих у піддослідних корів-донорів

Таблиця 3

Показник	Група					
	I (+), n=5		II (++) n=11		III (+++), n=6	
	M±m	Cv, %	M±m	Cv, %	M±m	Cv, %
Всього ембріонів, шт.	3,8±0,97	57,1	5,7±0,93	56,4	5,17±1,25	59,2
Із них: придатних до пересадження	3,0±0,45	33,3	3,9±0,76	67,15	4,7±1,26	65,9

Отже, корови-донори, у яких перед синхронізацією статевої охоти верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника на 0,5 см і більше, ліпше реагують на ГСЖК і при цьому від них можна

отримати більшу кількість придатних до пересадження ембріонів.

Таким чином, перед синхронізацією статевої охоти у корів, яких відбирають у донори, необхід-

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Б

5

57835

6

но під час ректальних досліджень матки визначати розмір верхівки жовтого тіла. У донори слід відбирати корів, у яких верхівка виходить за межі яєчника на 0,5 сантиметри і більше. Серед корів з меншою верхівкою жовтого тіла необхідно провести повторний добір у донори в наступний статевий цикл.

Заявлений спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації за розміром верхівки жовтого тіла яєчника перед синхронізацією статевих циклів простий, ефективний, не вимагає додаткових затрат праці та фінансів, і виконується під час одного з багатьох технологічних елементів методу трансплантації ембріонів.

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

Підписне

Тираж 23 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

ДОДАТОК В



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ В



УКРАЇНА

(19) UA (11) 91772 (13) C2

(51) МПК (2009)
 A61K 31/194 (2006.01)
 A61K 31/197 (2006.01)
 A61P 15/08 (2006.01)
 A61D 19/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
 І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
 ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
 ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ СТИМУЛЮВАННЯ ОВУЛЯЦІЇ ТА СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ З ЙОГО ДОПОМОГОЮ

1

(21) а200815337
 (22) 31.12.2008
 (24) 25.08.2010
 (46) 25.08.2010, Бюл.№ 16, 2010 р.
 (72) ШЕРЕМЕТА ВІКТОР ІВАНОВИЧ, ВЕРГЕЛЕС ОЛЕКСАНДР ПЕТРОВИЧ
 (73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
 (56) UA 73794 C2, 15.09.2005
 SU 1 009 366 A, 07.04.1983
 US 4 255 420 A, 10.03.1981
 CU 22321 A1, 30.01.1995
 (57) 1. Препарат для стимулювання овуляції та виходу придатних для трансплантації ембріонів, що містить суміш біологічно активних речовин, який відрізняється тим, що суміш біологічно активних речовин містить глутамінат натрію, сукцинат натрію у такому співвідношенні інгредієнтів, г:

2

глутамінат натрію 100-200
 сукцинат натрію 100-200
 дистильована вода 1000.
 2. Спосіб одержання ембріонів у великої рогатої худоби для трансплантації, що містить введення внутрішньом'язово донорам на 10-12 день статевого циклу ін'єкції розчину гонадотропіну СЖК, через 2-3 дні після ін'єкції гонадотропіну вводять простагландин F_{2α} і в період виявлення статевої охоти донорів трикратно осіменяють з інтервалом 12 годин заморожено-розмороженою спермою та вимивають ембріони на 7-8 добу після першого осіменіння, який відрізняється тим, що донорам вводять внутрішньом'язово 4 дні підряд препарат за п. 1 в одноразовій дозі 20 мл, починаючи за два дні до ін'єкції гонадотропіну, одночасно з ін'єкцією гонадотропіну СЖК та на наступний день.

Винахід відноситься до сільського господарства, а саме до тваринництва. Відомий спосіб отримання ембріонів у великої рогатої худоби для трансплантації (авт. свідот. СРСР № 1009366 МКВ А01К62/02; А61D7/00), який включає введення внутрішньом'язово тваринам-донорам 120-150 тис. М.О. вітаміну А, 80-100 мг вітаміну Е на голову відразу після виявлення статевої охоти та щоденно впродовж 18-25 днів згодовують йодистий калій в дозі 100-200 мг/гол. На 10-12 день статевого циклу донорам ін'єктують гонадотропін СЖК і одночасно додатково вводять вітамін А та Е в дозах 60-75 тис. М.О. і 40-50 мг на голову відповідно. Через 48 годин після введення гонадотропіну тваринам ін'єктують простагландин. Підготовлених донорів осіменяють трьохразово з інтервалом 12 годин. На 7-8 день після першою осіменіння проводять вимивання ембріонів хірургічним або нехірургічним способом.

Недоліком даного способу є те, що він трудомісткий, використовується значна кількість різних препаратів і не сприяє зменшенню кількості нео-

вульованих фолікулів, що зумовлює необхідність під час штучного осіменіння донорів, введення біологічно активних речовин які її стимулюють.

Винаходом ставиться завдання при менших затратах робочого часу, препаратів на підготовку тварин до суперовуляції збільшити кількість овульованих фолікулів і придатних до пересадження та замороження ембріонів.

Поставлене завдання досягається тим, що використовується спосіб одержання ембріонів у великої рогатої худоби для трансплантації та препарат для стимуляції овуляції та виходу придатних ембріонів, що включає введення внутрішньом'язово донорам на 10 - 12 день статевого циклу ін'єкції розчину гонадотропіну СЖК, через 2-3 дні після ін'єкції гонадотропіну вводять простагландин F_{2α} і в період виявлення статевої охоти донорів трьохкратно осіменяють з інтервалом 12 годин заморожено-відтаяною спермою та вимивають ембріони на 7-8 добу після першого осіменіння, згідно винаходу донорам вводять внутрішньом'язово 4 дні підряд препарат для стимулювання овуляції та

(13) C2

(11) 91772

(19) UA

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ В

3

91772

4

виходу придатних до трансплантації ембріонів в одноразовій дозі 20 мл, починаючи за два дні до, одночасно з ін'єкцією гонадотропіну СЖК та на наступний день; препарат для стимулювання овуляції та виходу придатних до трансплантації ембріонів це суміш біологічно активних речовин, яка містить глютамінат натрію, сукцинат натрію, дистильовану воду у такому співвідношенні інгредієнтів, г: глютамінат натрію – 100-200; сукцинат натрію – 100-200; дистильована вода – 1000.

Приклад. Досліди проводилися в НДГ "Ворзель" та в ВП НАУ "Великобританське НДГ ім. О.В.Музиченка" на коровах-донорах української чорно-рябої молочної породи. У контрольних (n=5) та дослідних (n=5) донорів супероуляцію стимулювали гонадотропіном СЖК "Фолігон" в дозі 3000 М.О., який вводили на 10 день статевого циклу. Простагландин $F_{2\alpha}$ вводили донорам двічі через 48 та 72 години після ін'єкції гонадотропіну.

Дослідним донорам ін'єктували внутрішньом'язово на 8, 9, 10, 11 дні статевого циклу препарат згідно з винаходом в одноразовій дозі 20 мл. Контрольним тваринам у ці дні аналогічно вводили 10 мл фізіологічного розчину.

Результати проведених дослідів свідчать, що у донорів дослідної групи рівень супероуляції був більший на 23,9 % порівняно з контрольними тваринами. Порівняння похибки між групами свідчить про відсутність впливу препарату на цей показник. Аналіз лімітів показав, по-перше те, що велика похибка зумовлена варіабельністю цієї ознаки, а по-друге все ж таки свідчить про наявність тенденції до збільшення кількості овульованих фолікулів, оскільки у дослідних донорів мінімальна та максимальна кількість овуляцій була відповідно більшою на 40% та 23,5%. Крім того, у дослідних донорів було менше на 31,4% неовульованих фолікулів, ніж у контрольній групі (табл.1).

Таблиця 1

Результати супероуляції у корів-донорів, $M \pm m$

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Оброблено корів-донорів, гол.	5	5
Корови-донори, що реагували на індукцію супероуляції (n-%)	5-100%	4-80%
Овуляцій на одного реагуючого донора	7,8 $\pm$ 1,88	10,25 $\pm$ 2,69
Ліміт овуляцій у донорів, $\lim_{min-max}$	3-13	5-17
Неовульованих фолікулів, шт	3,4 $\pm$ 1,21	1,25 $\pm$ 0,63
Відсоток неовульованих фолікулів, %	43,6	12,2
Позитивних донорів за вимиванням, n	4	4
Всього ембріонів на позитивного донора, шт	7 $\pm$ 2,27	5,25 $\pm$ 0,48
Із них: придатних до пересадження	3,75 $\pm$ 1,80	5,25 $\pm$ 0,48
непридатних до пересадження	3,25 $\pm$ 0,75	0

Порівняльний аналіз з дослідною групою показав, що у контрольній групі було більше на 20% донорів, що прореагували на супероуляцію, але менше на цю ж кількість тварин, у яких вимили ембріони.

У дослідних донорів було вимито всього ембріонів менше на 25 %, ніж у контролі. Але якість ембріонів за морфологічними ознаками була вищою, оскільки придатних ембріонів отримали більше на 27,6%.

Таким чином, чотирикратне введення донорам препарату згідно з винаходом за стимуляції гонадотропіном СЖК "Фолігон" супероуляції у донорів зумовлює зменшення кількості неовульованих фолікулів та збільшення виходу придатних до пересадження ембріонів. До складу препарату входять не дорогі інгредієнти і він може бути виготовлений як у лабораторних, так і в промислових умовах.

Комп'ютерна верстка Л.Литвиненко

Підписне

Тираж 26 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

ДОДАТОК Г



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Г



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42098 (13) U
 (51) МПК (2009)
 A61D 19/02 (2009.01)
 A61D 19/04 (2009.01)
 A61K 38/24

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
 І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
 ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
 ВЛАСНОСТІ

ОПИС
 ДО ПАТЕНТУ
 НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
 відповідальність
 власника
 патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

1

2

(21) u200815336
 (22) 31.12.2008
 (24) 25.06.2009
 (46) 25.06.2009, Бюл. № 12, 2009 р.
 (72) ШЕРЕМЕТА ВІКТОР ІВАНОВИЧ, ВЕРГЕЛЕС
 ОЛЕКСАНДР ПЕТРОВИЧ
 (73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
 І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
 (57) Спосіб одержання ембріонів великої рогатої
 худоби для трансплантації, що включає введення
 внутрішньом'язово донорам на 10-12 день стате-

вого циклу ін'єкції розчину гонадотропіну СЖК,
 через 2-3 дні після ін'єкції гонадотропіну вводять
 простагландин F_{2α}, а в період виявлення статевої
 охоти донорів трикратно осіменяють з інтервалом
 12 годин заморожено-відтаяною спермою та ви-
 мивають ембріони на 7-8 добу після першого осі-
 меніння, який відрізняється тим, що донорам
 вводять під шкіру 2 дні підряд препарат "Стимулін"
 в одноразовій дозі 20 мл, одночасно з ін'єкцією
 гонадотропіну СЖК та на наступний день.

Корисна модель відноситься до сільського го-
 сподарства, а саме до способів розведення сіль-
 ськогосподарських тварин.

Відомий спосіб одержання ембріонів у великої
 рогатої худоби для трансплантації (А. С. СРСР №
 1009366. МКИ А01К 62/02; А61D 7/00), який вклю-
 чає введення внутрішньом'язово тваринам-
 донорам 120-150 тис. М.О. вітаміну А, 80-100 мг
 вітаміну Е на голову відразу після виявлення ста-
 теві охоти та щоденно впродовж 18-25 днів зго-
 довують йодистий калій в дозі 100-200 мг/гол. На
 10-12 день статевого циклу донорам ін'єктують
 гонадотропін СЖК і одночасно додатково вводять
 вітамін А та Е в дозах 60-75 тис. М.О. і 40-50 мг на
 голову відповідно. Через 48 годин після введення
 гонадотропіна тваринам ін'єктують простагландин.
 Підготовлених донорів осіменяють трьохразово з
 інтервалом 12 годин. На 7-8 день після першого
 осіменіння проводять вимивання ембріонів хірургі-
 чним або нехірургічним способом.

Недоліком даного способу є те, що він трудо-
 місткий, використовується значна кількість різних
 препаратів і не сприяє зменшенню кількості нео-
 вульованих фолікулів, що зумовлює необхідність
 під час штучного осіменіння донорів, введення
 біологічно активних речовин які її стимулюють.

Корисною моделлю ставиться завдання при
 менших затратах робочого часу, препарату на
 підготовку тварин до суперовуляції збільшити кіль-
 кість овульованих фолікулів, вимитих ембріонів,

серед яких придатних до пересадження та замо-
 роження.

Поставлене завдання досягається тим, що у
 спосіб одержання ембріонів великої рогатої ху-
 доби для трансплантації, що включає введення
 внутрішньом'язово донорам на 10-12 день стате-
 вого циклу ін'єкції розчину гонадотропіну СЖК,
 через 2-3 дні після ін'єкції гонадотропіну вводять
 простагландин F_{2α} і в період виявлення статевої
 охоти донорів трикратно осіменяють з інтервалом
 12 годин заморожено-відтаяною спермою та ви-
 мивають ембріони на 7-8 добу після першого осі-
 меніння, згідно корисної моделі, донорам вводять
 під шкіру 2 дні підряд препарат "Стимулін" в одно-
 разовій дозі 20 мл, одночасно з ін'єкцією гонадот-
 ропіну СЖК та на наступний день.

Приклад. Досліди проводилися в ВП НАУ "Ве-
 ликоснітинське НДГ ім. О.В.Музиченка" на коро-
 вих-донорах української чорно-рябої молочної
 породи. У контрольних (n = 4) та дослідних (n = 4)
 донорів суперовуляцію стимулювали гонадотропі-
 ном СЖК "Фолігон" в дозі 3000 Од, який вводили
 на 10 день статевого циклу. Простагландин F_{2α}
 вводили донорам двічі через 48 та 72 години після
 ін'єкції гонадотропіну. Дослідним донорам ін'єкту-
 вали під шкіру на 10, 11 дні статевого циклу пре-
 парат "Стимулін" в одноразовій дозі 20 мл. Кон-
 трольним тваринам у ці дні аналогічно вводили 10
 мл фізіологічного розчину.

(19) UA (11) 42098 (13) U

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Г

3

42098

4

Результати проведених дослідів свідчать, що у донорів дослідної групи рівень суперовуляції був більший на 29,1 % порівняно з контрольними тваринами. Аналіз лімітів показав, що у дослідних донорів мінімальна та максимальна кількість овуляцій була відповідно більшою на 28,6 % та 41,0 % порівняно з контролем. Крім того, у дослідних до-

норів було вірогідно ($P < 0,05$) менше на 35,5 % неовульованих фолікулів, ніж у контрольній групі.

Порівняльний аналіз дослідної групи із контрольною показав, що кількість донорів, які мали оптимальну (10-15 овуляцій) суперовуляцію становила відповідно 57,1% та 28,6%.

Таблиця.

Результати суперовуляції у корів-донорів, М±m

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, гол	4	4
Овуляцій на одного реагуючого донора, шт	8,00±1,05	11,29±1,92
Ліміт овуляцій у донорів, $\lim_{\min-\max}$	5-13	7-22
Неовульованих фолікулів на донора, шт	3,9±0,83	1,4±0,37*
Відсоток неовульованих фолікулів, %	48,2	12,7
Кількість тварин, що мали оптимальну (10-15) суперовуляцію, гол.	2	4
Позитивних донорів за вимиванням, гол	4	4
Всього ембріонів на позитивного донора, шт	6,0±1,47	10,0±2,68
Із них: придатних до пересадження	3,8±1,18	7,25±1,25
непридатні до пересадження	2,3±1,03	2,8±1,49

* $P < 0,05$

Отже двократне введення донорам під шкіру препарату "Стимулін" сприяє більш ефективній суперовуляції індукованої гонадотропіном СЖК "Фолігон"

У дослідних донорів загальна кількість вимитих ембріонів та серед них придатних до пересадження було більше відповідно на 40 % та 49,3 % порівняно з контролем.

Таким чином, двократне введення донорам препарату "Стимулін" за стимуляції гонадотропіном СЖК "Фолігон" суперовуляції у донорів зумовлює вірогідне зменшення кількості неовульованих фолікулів та сприяє вимиванню більшої кількості ембріонів в тому числі і придатних до пересадження. До складу препарату входять не дорогі інгредієнти і він може бути виготовлений як у лабораторних, так і в промислових умовах.

Комп'ютерна верстка І.Скворцова

Підписне

Тираж 28 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

ДОДАТОК Г



ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ І



УКРАЇНА

(19) UA (11) 86165 (13) C2
(51) МПК (2009)
A61D 19/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВІДБОРУ КОРІВ У ДОНОРИ ЕМБРІОНІВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

1

2

(21) а200713748
(22) 10.12.2007
(24) 25.03.2009
(46) 25.03.2009, Бюл.№ 6, 2009 р.
(72) ШЕРЕМЕТА ВІКТОР ІВАНОВИЧ, UA, ВЕРГЕ-
ЛЕС ОЛЕКСАНДР ПЕТРОВИЧ, UA
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУР-
СІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ, UA
(56) SU 1009366 A, 07.04.83.
RU 2026038 C1, 09.01.95.
RU 2032338 C1, 10.04.95.
RU 2066955 C1, 27.09.96.
RU 2216592 C2, 20.11.03.
Лица Л.Л. Отбор коров для использования в ка-
честве доноров эмбрионов по показателям обме-

на веществ. Бюл.науч.работ. ВАСХНИЛ. ВНИИ
животновод. - 1991. - №104. - С.39-42. Резюме.
Шеремета В.И. Теоретичне обґрунтування та роз-
робка методів підвищення ефективності біотехно-
логії відтворення великої рогатої худоби: Автореф.
Дис. ... д.сільськ.н. - Біла Церква, 1999.
(57) Спосіб добору корів у донори ембріонів для
трансплантації, що передбачає відбір крові у корів
перед введенням гонадотропних гормонів, який
відрізняється тим, що в донори ембріонів відби-
рають корів, у яких коефіцієнт відношення концен-
трації в крові фосфору неорганічного до активності
лужної фосфатази, помножений на сто, колива-
ється в межах від 0,36 до 0,63 або має величину
2,0 і більше.

Винахід відноситься до сільського господарст-
ва, а саме до тваринництва.

Відомий спосіб добору корів у донори ембрі-
онів для трансплантації [Нежданов А.Г., Скрипичин
Ю.А., Терновых СВ. Эффективность гормональ-
ной индукции полиовуляции у коров // Ветерина-
рия. - 2002. - 10.-С. 35 – 39], який включає відбір
крові з яремної вени корів перед введенням гона-
дотропних препаратів та визначенням у ній конче-
нтрації прогестерону, кортизолу, холестерину,
загального білку та загальних ліпідів

Недоліком даного способу є те, що він має ве-
лику собівартість, працемісткий та довготривалий.

Винаходом ставиться завдання при менших
затратах часу, праці та коштів відібрати корів у
донори ембріонів для трансплантації.

Поставлене винаходом завдання досягається
тим, що у способі добору корів у донори ембріонів
для трансплантації, що включає відбір крові у ко-
рів перед введенням гонадотропних гормонів, згі-
дно винаходу в донори ембріонів відбирають корів
у яких коефіцієнт відношення концентрації в крові
фосфору неорганічного до активності лужної фо-
сфатази помножене на сто коливається в межах
від 0,36 до 0,63 або має величину 2,0 і більше.

Приклад. Дослід проводили на базі навчально-
дослідного господарства "Великоснітинське ім.
М.О.Музиченка" Національного аграрного універ-

ситету на коровах української чорно-рябої молоч-
ної породи. Для дослідів було відібрано 8 корів
4...6-річного віку, з надоем за найвищу лактацію
4500-5300кг.

Для синхронізації статеві охоти відібраним
коровам внутрішньом'язово вводили простаглан-
дин F2α (естрофан) в об'ємі 2мл. У корів стиму-
лювали супервуляцію гонадотропіном СЖК "Фо-
лігон", який вводили на десятій день статевого
циклу в дозі 2,5 тис. М.О. Ембріони у корів вими-
вали комбінованим способом на сьомий день ста-
тєвого циклу.

Кров, для біохімічних досліджень, відбирали в
корів з яремної вени до ін'єктування гонадотропіну.
У сироватці крові за допомогою біохімічного аналі-
затора СТАТ-ФАКС-1904 визначали: активність
лактатдегідрогенази, гаммаглутамілтрансферази,
лужної фосфатази, α-амілази, аспартатамінотранс-
ферази, аланінамінотрансферази та вміст креа-
тиніну, сечовини - ферментативним кінетичним
методом; загальний білок - колориметричним біу-
ретовим методом; концентрацію глюкози -
ферментативним колориметричним методом;
вміст кальцію колориметричним методом визна-
чення інтенсивності забарвлення кальцію з «Арсе-
назо ІІІ»; неорганічний фосфор - колориметричним
методом, що заснований на визначенні фосфору у
вигляді фосфорномолібденового комплексу. Для

(19) UA (11) 86165 (13) C2

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Г

3

86165

4

визначення активності та вмісту досліджуваних інгредієнтів крові корів використовували набори реактивів виготовлених на Державному Київському підприємстві з виробництва бактеріальних препаратів «Біофарма». Біометрична обробка отриманих даних проводилась за допомогою програми Microsoft Excel. Результати досліджень показали, що з 8 корів ембріони були одержані від 6 тварин. Кореляційний аналіз показав, що кількість придатних ембріонів вірогідно в високій ступені взаємозв'язана тільки з активністю лужної фосфатази ($r = -0,880$) та вмістом фосфору неорганічного

($r = 0,936$). Крім того було встановлено, що активність лужної фосфатази і вміст фосфору неорганічного вірогідно ($P < 0,05$), в високому ступені, негативно корелюють ($r = 0,985$) між собою (табл. 1).

Індивідуальний аналіз засвідчив, що тварини, від яких отримані ембріони мають такі величини активності лужної фосфатази і вмісту фосфору неорганічного, які не дозволяють виділити оптимальні параметри добору корів у донори за цими інгредієнтами. Тому були вираховані коефіцієнти відношення цих інгредієнтів між собою (табл.2).

Таблиця 1

Коефіцієнти кореляції між кількістю придатних ембріонів і вмістом фосфору неорганічного, активністю лужної фосфатази та їх коефіцієнтами

Кількість придатних ембріонів x	r	P _≤
активність лужної фосфатази (ЛФ)	-0,880	0,05
концентрація фосфору неорганічного (Р)	0,936	0,01
коефіцієнт ЛФ : Р	-0,822	0,05
коефіцієнт (Р : ЛФ)х100	0,945	0,01

Порівняльний аналіз отриманих даних свідчить, що для добору корів у донори можна використовувати величини коефіцієнту відношення фосфору неорганічного до активності лужної фосфатази помноженого на сто, оскільки придатні

для трансплантації ембріони були отримані від корів у яких він коливається в межах від 0,36 до 0,63 або має величину 2,0 і більше. Цей висновок підтверджує позитивний високо вірогідний взаємозв'язок між цими ознаками ($r = 0,945$).

Таблиця 2

Індивідуальна величина кількості придатних ембріонів, вмісту фосфору неорганічного, активності лужної фосфатази та їх коефіцієнти

Кличка корови	Кількість придатних ембріонів, шт	Активність лужної фосфатази, ммоль/мл час (ЛФ)	Фосфор неорганічний, ммоль/л (Р)	Коефіцієнти	
				ЛФ:Р	(Р:ЛФ)100
Рязань	0,0	122,00	2,40	50,8	1,97
Вісь	0,0	105,80	1,90	55,7	1,79
Прудка	2,0	189,10	1,20	157,6	0,63
Лрика	9,0	121,50	2,60	46,8	2,14
Проліска	2,0	210,20	1,10	191,1	0,52
Брава	2,0	220,80	0,80	276	0,36
Вата	2,0	219,90	0,90	244,3	0,41
Аджарія	4,0	220,40	1,00	220,4	0,45

Комп'ютерна верстка В. Ключіні

Підписне

Тираж 28 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

ДОДАТОК Д

УКРАЇНА

ДКПП 24.42.23

УКНД 11.220

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник
Голови Державного комітету
ветеринарної медицини України

Горжесв В.М.

« 17 » Вгесня 2010р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. директора ВП НУБіП України
«Немішаївський агротехнічний коледж»,
кандидат с.-г. наук, доцент

Рожко В.І.

« 17 » Вгесня 2010р.

Біологічно активний препарат «Стимулін-ВЕТ»

Технічні умови

ТУ У 24.4 – 33295412 - 001 : 2010

(Вводяться вперше)

Введені в дію « 20 » Вгесня 2010р.Термін дії до « 20 » Вгесня 2015р.

«ПОГОДЖЕНО»

Директор Державного науково-
контрольного інституту біотехнології і
штамів мікроорганізмів,
доктор ветеринарних наук

Ушкалов В.О.

« 17 » Вгесня 2010р.

«РОЗРОБЛЕНО»

В.о. завідувача відділення ТВіПТТ
ВП НУБіП України
«Немішаївський агротехнічний коледж»

Вергелес О.П.

« 02 » Вгесня 2010р.

Доктор сільськогосподарських наук,
професор

Шеремета В.І.

« 2 » Вгесня 2010р.

Зоотехнік-селекціонер

Опанасенко О.С.

« 2 » Вгесня 2010р.

ДОДАТОК Е

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА
ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

СТИМУЛЯЦІЯ СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ГСЖК СПІЛЬНО З БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМ ПРЕПАРАТОМ «СТИМУЛІН-ВЕТ» (Методичні рекомендації)

КИЇВ – 2013

УДК 57.089.3:636.2.082:615.3

Укладачі:

В.І. Шеремета, професор, доктор сільськогосподарських наук;
О.П. Вергелес, аспірант
Кафедра генетики розведення та репродуктивної біотехнології тварин ім. М.А. Кравченка
НУБіП України

В рекомендаціях наведені узагальнюючі літературні дані і результати власних досліджень щодо стимуляції суперовуляції у корів-донорів української чорно-рябої молочної породи за допомогою гонадотропіна СЖК та розробленого біологічно активного препарату «Стимулін-Вет».

Матеріали методичних рекомендацій розраховані на зооветспеціалістів, студентів зооветеринарного та біотехнологічного профілю, фермерів.

Рецензенти:

С.Д. Мельничук професор, доктор біологічних наук, член-кореспондент НААН України, директор Української лабораторії якості та безпеки продукції АПК НУБіП України;
В.А. Яблоцький професор кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин НУБіП України, доктор біологічних наук, заслужений діяч науки і техніки, член-кореспондент НААН України;
М.П. Журавель доцент кафедри розведення та генетики тварин ім. М.А. Кравченка НУБіП України, кандидат біологічних наук.

**Стимуляція суперовуляції у корів-донорів за допомогою ГСЖК
спільно з біологічно активним препаратом «Стимулін-Вет»
(методичні рекомендації) .– К.: АВІАЗ, 2013.– 32 с.**

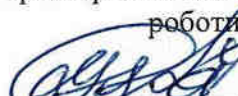
ISBN 978-966-8936-04-3

Рекомендації затверджені науково-технічною радою Міністерства аграрної політики України. Протокол № 3 від 3 серпня 2010 року

© Національний університет біоресурсів та природокористування України
© В.І. Шеремета, О.П. Вергелес, 2013
© ПП «АВІАЗ»

ДОДАТОК Є

ПОГОДЖЕНО
Проректор з навчальної і виховної роботи


Кваша С.М.
«02» 12 2019 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перший проректор НУБіП України


Ібатуллін І.І.
«02» 12 2019 р.

АКТ

**Про впровадження/використання результатів
кандидатської дисертаційної роботи
у навчальний процес**

Даним актом стверджуємо, що результати дисертаційної роботи на тему:

«УДОСКОНАЛЕННЯ СХЕМИ СТИМУЛЯЦІЇ
СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ ЗА ВИКОРИСТАННЯ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН»
назва теми

що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата
сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія, виконаної

Вергелесом Олександром Петровичем

ППЗ здобувача

впроваджено у навчальну програму при викладанні навчальних дисциплін:
«Біотехнологія у тваринництві», «Біотехнологія відтворення тварин», «Технологія
речовин і препаратів», «Сучасні методи регулювання відтворної здатності»

назва навчальних дисциплін

використано результати що до відбору потенційних корів-донорів за
морфологічною оцінкою жовтих тіл яєчників та показниками гормонально-
метаболічного статусу, а також технології розробки біологічно активного препарату
Стимулін-Вет (ТУ У 24.4-33295412-001:2010) і схеми його використання в
протоколах індукції суперовуляції ГСЖК Folligon® - PGF2α Естрофан у корів-
донорів з метою зменшення кількості неовульованих фолікулів та збільшення
придатних до трансплантації ембріонів

необхідно конкретизувати, які результати дисертаційної роботи і яким чином використані

при викладанні навчальних дисциплін: «Біотехнологія у тваринництві»,
«Біотехнологія відтворення тварин», «Технологія речовин і препаратів», «Сучасні
методи регулювання відтворної здатності»

перелік навчальних дисциплін

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ Є

на кафедрі генетики, розведення та біотехнології тваринництва

назва кафедри

у підготовці фахівців ОС «Бакалавр» та «Магістр» за спеціальністю

204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва»

назва спеціальності

у Національному університеті біоресурсів і природокористування України

назва ВНЗ

Декан
факультету тваринництва та
водних біоресурсів
кандидат с.-г. наук, доцент

Кондратюк В.М.

Заступник
декана з навчальної роботи,
кандидат ветеринарних наук,
доцент

Кононенко Р.В.

Завідувач кафедри
генетики, розведення та
біотехнології тваринництва,
доктор с.-г. наук, професор

Рубан С.Ю.

ДОДАТОК Ж

ВИТЯГ

з протоколу № 7 засідання VII-ї конференції молодих вчених та аспірантів
Інституту розведення і генетики тварин УААН
від 12.05.2009р.

Присутні: голова журі: В.П.Буркат
члени журі: С.Ю.Рубан (за згодою),
В.І.Ладика (за згодою), С.І.Тарасюк (за
згодою), М.Я.Єфіменко І.В.Гузев,
Ю.В.Мільченко, Є.М.Рясенко;
присутні в залі – 68 чоловік.

Лічильна комісія: О.І.Яценко, Т.А.Веселкова.

СЛУХАЛИ: Доповідь аспіранта кафедри розведення та генетики тварин
ім. М.А. Кравченка НУБіП України **Вергелеса Олександра Петровича** на
тему: «Індукція поліовуляції у корів-донорів з використанням гонадотропіну
СЖК «FOLLIGON®» та біологічно активного препарату «СТИМУЛІН»,
науковий керівник – д. с.-г. наук, професор Шеремета Віктор Іванович.

УХВАЛИЛИ: Рішення про преміювання доповідача у номінації:

**«Актуальність і науково-практичне значення наукових
досліджень».**

Рішення прийнято одноголосно

Голова конкурсної комісії,
академік УААН

Секретар конкурсної комісії,
канд. с.-г. наук



В.П. Буркат

В.П. Буркат

Є.М. Рясенко

Є.М.Рясенко

АКТ НУБіП
в навчальний процес
1ст.

АКТ НУБіП
в навчальний процес
2ст.

АКТ
впровадження
виробництво
1 ст

АКТ
впровадження
виробництво
2 ст

Довідка
Впровадження
Поліський університет

НМЦ