

**ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ КРОЛИЦЬ
НА РАННІХ СТАДІЯХ СУКРІЛЬНОСТІ ЗА ДІЇ РІЗНИХ ФОРМ
ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ СТАБІЛІЗОВАНИХ ГОНАДОТРОПІНІВ**

Ю. І. Сливчук¹, В. Я. Сирватка¹, І. І. Гевкан¹, О. В. Штапенко¹,
І. О. Матюха¹, Г. О. Мілованова², О. Ю. Сливчук¹
slyvchuk@gmail.com

¹Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса. 38, м. Львів, 79034, Україна, inenbiol@mail.lviv.ua

²Київський національний університет імені Т. Шевченка,
вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01033, Україна

Розроблено методичні підходи щодо створення нових форм ветеринарних препаратів на основі стабілізованих гонадотропінів, досліджено їх активність за умов тривалого зберігання. Досліджено вплив стабілізованих форм гонадотропних препаратів на механізми реалізації репродуктивної функції у кролематок за умов введення їм стабілізованого гонадотропного препарату у формі ліпосомальної емульсії. Об'єктом дослідження був хоріонічний гормон людини (ХГЛ), отриманий із сечі вагітних жінок. Активність гонадотропіну в нових формах препаратів на основі стабілізованого нами лізином та сахарозою гонадотропіну визначали за різницею загального та вільного хоріонічного гормону імунохемілюмінісцентним методом. Ефективність дії застосованих препаратів на репродуктивну функцію кролематок визначали за рівнем естрадіолу, прогестерону та окремих гематологічних і біохімічних показників крові кролиць у динаміці впродовж двох тижнів вагітності.

Встановлено, що диспергування призводить до втрати 10–12 % активності гонадотропіну, проте тривалість диспергування не впливає на його активність. У результаті проведених досліджень встановлено, що додані стабілізатори і ліпосомальна форма препарату забезпечують збереження активності гонадотропіну впродовж тривалого зберігання за температури від 2 °С до 4 °С та від 18 °С до 20 °С приблизно на рівні 90 %, якщо за початкову теоретичну активність рахувати ту, яка залишається після диспергування препарату з його 10–12 % втратою. Зростання активності лактатдегідрогенази та концентрації прогестерону та естрадіолу в сироватці крові кролиць за введення стабілізованих препаратів під час штучного осіменіння вказує на їх ефективну дію.

Ключові слова: ХОРІОНІЧНИЙ ГОНАДОТРОПІН, СТАБІЛІЗАЦІЯ, КРОЛИЦІ, ВАГІТНІСТЬ, ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ

**DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDICES IN BLOOD DURING EARLY PREGNANCY
IN RABBITS UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT FORMS
OF STABILIZED GONADOTROPIC PREPARATIONS**

Y. I. Slyvchuk¹, V. Y. Syrvatka¹, I. I. Hevkan¹, O. V. Shtapenko¹,
I. O. Matiukha¹, G. O. Milovanova², O. Y. Slyvchuk¹
slyvchuk@gmail.com

¹Institute of Animal Biology, NAAS,
38 V. Stusa str., Lviv 79034, Ukraine, inenbiol@mail.lviv.ua

²Kyiv National University named after T. Shevchenko,
60 Volodymyrska str., Kyiv 01033, Ukraine

Methodical approaches to creation of new forms of drugs based on stabilized gonadotropins and its activity during prolonged storage were been studied. The influence of injections of stabilized forms of gonadotropin preparations in liposomal forms on the reproductive function of female rabbits during the early stage of pregnancy was determined. The object of the study was human chorionic hormone (hCG) obtained from the urine of pregnant women. The activity of gonadotropin in new forms of drugs stabilized by lysine and sucrose was determined by immuno-chemiluminescent method based on difference between total and free hCG. The effect of stabilizing

gonadotropin on reproductive function of female rabbits was determined by the level of estradiol, progesterone and some hematological and biochemical blood parameters in dynamics within two weeks of pregnancy.

It was established that the dispersion leads to loss of 10–12 % of the gonadotropin's activity however, the duration of dispersion did not influence in its activity. Our results showed that with addition of stabilizers and liposomal form of drug has provided the preservation activity of gonadotropin to 90 % for long-term storage at the temperature of 2–4 °C and at 18–20 °C if taken into account the loss of about 10–12 % after dispersion. The activity of lactate dehydrogenase and concentration of progesterone and estradiol in serum were increased after injections of stabilized preparation during the artificial insemination that indicates its effective action.

Keywords: CHORIONIC GONADOTROPIN, STABILIZATION, RABBIT, PREGNANCY, HAEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРОЛЬЧИХ НА РАННЕЙ СТАДИИ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ГОНАДОТРОПИНОВ

Ю. И. Слывчук¹, В. Я. Сырватка¹, И. И. Гевкан¹, О. В. Штаненко¹,
И. О. Матюха¹, Г. А. Милованова², О. Ю. Слывчук¹
slyvchuk@gmail.com

¹Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса 38, г. Львов, 79034, Украина, inenbiol@mail.lviv.ua

²Киевский национальный университет имени Т. Шевченко,
ул. Владимирская, 60, г. Киев, 01033, Украина

Разработаны методические подходы к созданию новых форм лекарственных препаратов на основе стабилизированных гонадотропинов, исследована их активность в условиях длительного хранения. Исследовано влияние стабилизированных форм гонадотропных препаратов на механизмы реализации репродуктивной функции у крольчих в условиях применения им стабилизированного гонадотропного препарата в форме липосомальной эмульсии. Объектом исследования был хорионический гормон человека (ХГЧ), полученный из мочи беременных женщин. Активность гонадотропина в новых формах препаратов на основе стабилизированного нами лизином и сахарозой гонадотропина определяли по разнице общего и свободного хорионического гормона иммунохемилюминисцентным методом. Механизмы реализации введенных препаратов на репродуктивную функцию крольчих определяли по уровню эстрадиола, прогестерона и отдельных гематологических и биохимических показателей крови крольчих в динамике в течении двух недель беременности.

Установлено, что диспергирование приводит к потере 10–12 % активности гонадотропина, однако продолжительность диспергирования не влияет на его активность. В результате проведенных исследований установлено, что добавленные нами стабилизаторы и липосомальная форма препарата обеспечивают сохранение активности гонадотропина в течении длительного хранения при температуре от 2 °C до 4 °C и от 18 °C до 20 °C примерно на уровне 90 %, если начальной теоретическую активность считать ту, которая остается после диспергирования при приготовлении препарата с его 10–12 % потерей. Рост активности лактатдегидрогеназы и концентрации прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови крольчих при применении стабилизированных нами препаратов во время искусственного осеменения указывает на их эффективное действие.

Ключевые слова: ХОРИОНИЧЕСКИЙ ГОНАДОТРОПИН, СТАБИЛИЗАЦИЯ, КРОЛЕМАТКИ, БЕРЕМЕННОСТЬ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

У повсякденному процесі корекції безпліддя очевидним вагомим компонентом є гормональна стимуляція і терапія. Ранні відкриття з виявлення фізіологічної дії гонадотропінів у нормальному циклі яєчників спонукали ба-

гатьох вчених шукати гонадотропні екстракти достатньої чистоти, щоб забезпечити лікування безпліддя [3, 9]. Корекція репродуктивних процесів виникла з перших спроб отримати й очистити гонадотропні препарати тваринного і люд-

ського походження. Перші спроби лікування безпліддя були зроблені майже 100 років тому. Еволюційний процес розвитку гонадотропної терапії був обумовлений необхідністю зробити гонадотропні препарати безпечними, максимально очищеними й ефективними не лише у лікуванні, але й у простоті використання [1]. Зазвичай очищені гонадотропіни отримують шляхом ліофілізації і зберігають у сухому вигляді. Ліофілізовані препарати гонадотропінів є досить стабільними у зберіганні, однак під час ліофілізації та наступного їх розчинення схильні до денатурації, тому бажано отримати стійкі рідкі композиції препаратів з тривалим періодом активності гонадотропіну [4]. У наш час велике значення має отримання стійких композицій гормональних препаратів для терапевтичних цілей з тривалим збереженням активності гонадотропіну [6]. Тому розроблення нових препаратів на основі стабілізованих гонадотропінів з метою підвищення активності та ефективності їх застосування для забезпечення потреб тваринництва України є актуальним. Проведені нами раніше дослідження зі стабілізації активності гонадотропних препаратів у розчиненому вигляді впродовж тривалого зберігання показали, що додавання до рецептів у відповідній концентрації цукрів та амінокислот як стабілізаторів, окремо та сумісно, забезпечує збереження активності гонадотропіну впродовж тривалого зберігання [5, 8].

Метою роботи було розробити методичні підходи щодо створення комплексних гонадотропних ветеринарних препаратів у формі ліпосомальної емульсії і дослідити динаміку змін активності в них гонадотропіну за умов тривалого зберігання за температури 18–20 і 4 °С та вивчити механізми впливу введених препаратів на репродуктивну функцію кролематок.

Матеріали і методи

Для приготування дослідних серій препаратів А, В, С використовували хоріонічний гормон людини (ХГл), який розводили фосфатно-сольовим буфером рН 7,34, розаліквотили по 7000 mIU/ml. До розаліквотених проб додавали амінокислоту L-лізин і сахарозу та доводили об'єм до 1 см³ фосфатно-сольовим

буфером рН 7,34. Було приготовано три серії препаратів: перша слугувала за контроль, друга і третя були приготовані у формі ліпосомальної емульсії і відрізнялись між собою тим, що третя серія містила вітаміни А, D, Е. Препарати розфасували у пеніцилінові флакони у двох паралелях А–А*, В–В*, С–С* і поставили на зберігання за кімнатної температури від 18 °С до 20 °С та в холодильник від 2 °С до 4 °С. Через шість годин і кожних наступних два тижні впродовж двох місяців визначали концентрації загального (ХГл+β-ХГл) та вільного (β-ХГл) хоріонічного гормону [7, 2]. Активність ХГл визначали за різницею (ХГл+β-ХГл) і (β-ХГл). Ефективність дії препаратів досліджували на кроликах породи Термонська у ТзОВ «Горлиця» с. Добряни Львівської обл. Дослід провели на трьох групах кролиць по 4 тварини у кожній. Всі групи були дослідними і відрізнялись між собою формою введеного препарату та його складу. Під час штучного осіменіння першій групі тварин вводили гонадотропін (50 МО), розчинений у фосфатному буфері, з додаванням L-лізину 10 мг/см³+75 мг/см³ сахарози; другій групі тварин вводили препарат у формі ліпосомальної емульсії (50 МО) — гонадотропін, розчинений у фосфатному буфері, з додаванням L-лізину 10 мг/см³+75 мг/см³ сахарози; третій групі вводили той самий препарат, що й другій, тільки з вмістом вітамінів А, D, Е. Дію препарату на організм кролиць визначали за рівнем естрадіолу, прогестерону та окремих біохімічних показників у сироватці крові в динаміці під час сукрільності та за кількістю одержаного приплоду.

Результати й обговорення

Дослідження з вивчення активності гонадотропіну в препаратах впродовж тривалого зберігання за температури 2–4 °С (серії зразків А*, В*, С*) та 18–20 °С (серії зразків А, В, С) показали, що в серіях зразків у формі ліпосомальної емульсії В–В*, С–С*, де до фармакологічних композицій як стабілізатор активності гонадотропіну додавали L-лізин та сахарозу, активність ХГл впродовж двох тижнів становила 85 % відповідно до теоретичної початкової активності. Активність гонадотропіну

в контрольній серії зразків А–А* була на 10 % нижчою за відповідну в дослідних серіях зразків і становила 73,8 % проти 85,2 та 9,0 % за зберігання при кімнатній температурі та 68,9 % проти 89,5 і 84,6 % за зберігання у холодильнику. Через чотири тижні зберігання препаратів активність гонадотропіну в контрольних серіях А і А* знизилась майже на 8 % порівняно з відповідним показником на другий тиждень зберігання. У дослідній серії В активність гонадотропіну не змінювалася. В інших дослідних серіях зразків С та В* і С* активність гонадотропіну знизилась на 5 %. Зберігання препаратів впродовж шести тижнів за різних температурних режимів призвело до подальшого зниження активності гонадотропіну в контрольній серії зразків А та дослідній В при зберіганні за кімнатної температури на 5 %, а у зразку С — на 9 %. При зберіганні дослідних серій зразків В* і С* у холодильнику активність гонадотропіну не змінилась і була на одному рівні з відповідними показниками на четвертий тиждень зберігання, тоді як у контрольній серії А* цей показник навіть підвищився на 9 %. Різниця показників активності гонадотропіну за різних умов зберігання препаратів між контрольною А* і дослідними серіями зразків становила приблизно 10 %. Проте в контрольній серії А за кімнатної температури зберігання активність гонадотропіну була майже на 20 % нижчою за відповідну у всіх інших дослідних серіях зразків. Впродовж 8-тижневого зберігання активність гонадотропіну у всіх дослідних серіях зразків ліпосомальних препаратів В, С та В*, С* і контрольному А* за різних температурних режимів зберігання вирівнялась і становила 80 % відповідно до теоретичної початкової активності. У контрольній серії (А) за кімнатної температури зберігання активність становила 65 %, тобто була на 15 % нижчою за відповідну в інших серіях зразків.

Встановлено динаміку змін деяких біохімічних показників та концентрації стероїдних гормонів в сироватці крові кролематок. За дії створених препаратів відзначено тенденцію до зниження активності лужної фосфатази на 1-у добу після штучного осіменіння кролиць у всіх групах (табл. 1). На 7-у добу вагітності ця активність дещо зростала, однак на 13-у добу зно-

ву вірогідно знижувалась. Активність лактатдегідрогенази зростала вже через годину після гормональної обробки та осіменіння найбільш виразно на 7-у і 13-у добу сукрільності. Зростання активності ЛДГ було більш вираженим у групах тварин, яким вводили препарат у формі ліпосомальної емульсії. Так, активність ЛДГ у крові 1-ї дослідної групи кролиць мала тенденцію до підвищення і зросла з $212,9 \pm 26,93$ перед введенням препаратів до $341,0 \pm 42,06$ МО на 13-у добу сукрільності. У 2-й і 3-й дослідних групах кролиць, яким вводили ліпосомальні препарати, різниці в активності лактатдегідрогенази з нульового по 13-й день сукрільності були суттєвими і з високим ступенем вірогідності ($P < 0,01$ і $P < 0,001$). У 1-й групі на 13-у добу сукрільності виявлено вірогідне підвищення ($P < 0,05$) аспаратамінотрансферази, в 2-й дослідній групі спостерігаємо вірогідне підвищення активності АСТ на 7-у добу сукрільності, а на 13-у добу — вірогідне зниження цієї активності до відповідного показника перед введенням препарату. У 3-й дослідній групі активність АСТ була вірогідно вищою з першої доби після введення препарату. Активність аланінамінотрансферази вірогідно ($P < 0,05$) підвищилась у 1-й дослідній групі на 1-у добу після введення препарату, при подальших дослідженнях у цій групі спостерігаємо тенденцію до підвищення активності досліджуваного ензиму. Вірогідних різниць при дослідженні активності АЛТ в 2-й та 3-й дослідних групах не виявлено. При дослідженні активності ліпази вірогідні різниці ($P < 0,01$, $P < 0,05$) виявлено на 13-у добу сукрільності кролиць у всіх дослідних групах. На першу годину після введення препарату вірогідні різниці виявлені в активності амілази у всіх дослідних групах, причому в першій дослідній групі ці зміни були вірогідно нижчими, тоді як в інших дослідних групах ця активність коливалася. Вірогідних різниць не виявлено в активності ензиму гамаглутаматтрансферази, що вказує на нетоксичність введених препаратів. Зміна концентрації окремих метаболітів у сироватці крові кролиць у період сукрільності представлена у табл. 2. В 1-й та 3-й дослідних групах виявлено тенденцію до зниження концентрації загального білка, лише в 2-й групі на 7-й та 13-й день це зниження було вірогідним.

Таблиця 1

Динаміка активності ензимів сироватки крові кролематок у період сукрільності за застосування гонадотропних препаратів під час штучного осіменіння (M±m, n=4)
Dynamics of enzymes activity in the conditions of pregnancy under the use of gonadotropins for artificial insemination of female rabbits (M±m, n=4)

Групи тварин Groups of animals	Час забору зразків крові The time of blood sampling	АЛТ, од./л ALT, IU/L	АСТ, од./л AST, IU/L	ГГТ, од./л GGT, IU/L	ЛДГ, од./л LDH, IU/L	ЛФ, од./л ALP, IU/L	Ліпаза, од./л Lipase, IU/L	Амілаза-панкреатична, од./л Amy-p, IU/L	Креатинініназа, од./л СК, IU/L
1 дослідна 1 st experimental	0	75,96±4,89	29,73±2,69	13,67±0,80	212,72±7,89	146±7,31	66,22±3,05	190,4±3,33	1458±38,80
	1 година 1 hour	81,2±4,61	33,27±3,94	12±0,50	250,1±17,55	122,33±10,43	54,41±5,09	158,2±5,36**	1583±133,18
	1 доба 1 day	97,17±5,81*	37,57±4,56	12,67±0,47	284±15,26**	129,2±15,06	62,8±3,87	145,4±9,75**	2005±102,13**
	7 днів 7 days	84,7±9,30	36,47±4,10	14,67±0,24	388,1±37,87**	142,4±16,15	86,67±11,50	206,7±14,61	1668,95±119,41
	13 днів 13 days	76,77±4,70	49,37±7,40*	13,33±0,33	341,18±15,38***	122,3±5,21*	118,8±17,54*	178±7,19	1737±99,10*
	0	63,68±4,76	22,3±0,39	12,47±1,19	187,3±6,39	184,8±22,57	74,73±5,38	161,33±0,83	1375±87,55
2-я дослідна 2 nd experimental	1 година 1 hour	68,53±5,52	24±1,44	13,00±1,15	243,63±16,75*	153,8±8,51	80,7±7,55	176,1±3,94*	1584±94,92
	1 доба 1 day	65,95±5,18	23,97±1,00	12±1,04	325,3±21,70***	139,4±6,04	78,60±8,96	137,5±3,75***	1620±84,67
	7 днів 7 days	67,39±6,45	26,77±0,26***	14±1,21	406,55±34,48***	135,3±4,68	76,58±4,44	239±3,53***	1539±92,50
	13 днів 13 days	54,97±4,40	18,6±0,64**	12,33±1,21	419,3±26,24***	98,47±4,94*	116,7±12,75*	185,9±3,76***	1520±77,02
	0	53,5±3,58	16,44±1,35	11,5±0,98	133,4±8,69	130,2±9,45	66,47±6,36	163,34±4,60	1169±70,27
	1 година 1 hour	58,10±3,10	20,27±1,58	11±0,68	210,8±17,71**	124,9±6,28	68±7,85	156,65±5,73	1690±148,08*
3-я дослідна 3 rd experimental	1 доба 1 day	60,93±3,27	23,80±1,30**	10,67±0,62	319,7±7,62***	120,2±7,62	63,83±6,49	127,9±6,49**	1110±80,43
	7 днів 7 days	60,83±1,52	24,07±1,41**	13,33±0,54	417,78±22,55***	141±8,97	91,43±9,11	186,8±7,45*	1378±124,86
	13 днів 13 days	53,07±1,24	25,48±2,30*	12±0,39	446,8±8,95***	82,63±3,29**	131,5±11,95**	168,4±8,83	1618±61,97**

Примітка: у цій та наступних таблицях * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Note: here and in the next tables the significance is * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Таблиця 2

Динаміка змін біохімічних показників крові кролематок у період сукрільності за застосування гонадотропних препаратів під час штучного осіменіння (M±m, n=4)
 Dynamics of changes in some biochemical indicators in the conditions of pregnancy under the use of gonadotropins for artificial insemination of female rabbits (M±m, n=4)

Групи тварин Groups of animals	Час забору зразків крові The time of blood sampling	Загальний білок, г/л Tpr, g/L	Альбумін, % Alb, %	Глюкоза, г/л Glug/L	Білрубін, мкмоль/л BilT, μmol/L	Креатинін, мкмоль/л Crea, μmol/L	Холестерол, ммоль/л Chol, mmol/L	Триацилгліцероли, ммоль/л Tgcl, mmol/L	Сечовина, ммоль/л Urel, mmol/L	Сечова кислота, мкмоль/л UA, μmol/L
1 st дослідна experimental	0	54,87±0,92	48,97±1,50	7,44±0,50	1,11±0,01	108,00±7,32	1,56±0,12	1,01±0,16	2,07±0,38	4,85±1,40
	1 година 1 hour	50,87±1,71	44,27±0,53**	6,87±0,06	1,13±0,18	101,10±5,91	1,22±0,12	0,90±0,05	2,57±0,48	7,83±0,24***
	1 доба 1 day	53,37±0,64	47,07±0,72	6,82±0,07	1,01±0,06	92,53±4,48	1,37±0,06	1,88±0,25*	1,77±0,24	4,82±0,73
	7 днів 7 days	53,47±1,12	43,07±1,69*	6,26±0,42	0,82±0,25**	102,50±4,59	1,07±0,02*	2,10±0,11**	1,60±0,26	4,27±0,44
	13 днів 13 days	54,43±0,08	42,53±1,14*	6,70±0,19	0,88±0,11**	102,40±6,93	1,01±0,05*	1,61±0,10**	1,60±0,29	13,07±0,93***
2 nd дослідна experimental	0	53,20±0,20	46,6±1,06	7,14±1,03	0,97±0,24	89,07±6,13	1,19±0,16	1,09±0,32	2,07±0,13	4,12±0,58
	1 година 1 hour	52,10±0,55	45,53±1,27	7,02±0,87	0,93±0,14	95,73±3,66	1,10±0,10	0,98±0,17	2,43±0,20	5,74±0,54
	1 доба 1 day	52,17±0,06**	43,67±0,68	6,48±0,71	0,72±0,19	83,00±3,75	1,18±0,14	2,03±0,53	1,27±0,12**	4,48±0,23
	7 днів 7 days	50,77±0,39**	42,6±0,79**	5,97±0,24	0,80±0,01*	98,97±1,48	0,93±0,08	2,59±0,20**	2,07±0,14	3,97±0,46
	13 днів 13 days	50,90±0,40**	43,03±2,69	5,72±0,36	0,89±0,04**	102,40±2,51	0,86±0,06	1,57±0,33	1,83±0,37	8,47±0,77**
3 rd дослідна experimental	0	54,13±1,89	50,67±0,84	6,42±0,12	0,99±0,06	96,33±4,17	1,32±0,18	1,15±0,16	3,53±0,22	3,17±0,19
	1 година 1 hour	53,87±1,57	50,3±0,40	6,32±0,06	1,25±0,05**	105,90±5,79	1,10±0,01	0,89±0,01	3,77±0,19	9,86±4,16
	1 доба 1 day	53,87±1,54	47,43±1,12	6,45±0,18	0,80±0,17	88,83±5,75	1,47±0,17	2,56±0,46*	1,77±0,20**	3,23±0,23
	7 днів 7 days	54,03±0,43	46,37±0,71**	5,49±0,01***	0,80±0,08	102,20±5,72	1,20±0,05	2,60±0,06**	1,37±0,17***	5,47±1,07
	13 днів 13 days	51,07±0,52	44,03±0,17***	5,01±0,17***	0,96±0,08	113,60±5,27*	1,19±0,13	2,02±0,42	1,67±0,18***	6,53±1,62

**Концентрація стероїдних гормонів при сукрільності кролиць
за введення гонадотропних препаратів під час штучного осіменіння (M±m, n=4)
Steroid hormones concentration changing at the pregnancy conditions
under the use of gonadotropins for artificial insemination of female rabbits (M±m, n=4)**

Групи тварин Groups of animals	Час забору зразків крові The time of blood sampling	Естрадіол / Estradiol	Прогестерон / Progesteron
1 дослідна 1 st experimental	0	64,31±6,59	0,369±0,052
	1 година 1 hour	79,05±6,70	1,55±0,048***
	1 доба 1 day	72,70±8,05	7,26±0,45***
	7 діб 7 days	–	21,71±3,55***
	13 діб 13 days	111,37±7,29**	32,50±3,89***
2-а дослідна 2 nd experimental	0	70,32±4,10	0,40±0,033
	1 година 1 hour	78,75±5,78	1,63±0,05***
	1 доба 1 day	77,96±1,49	9,94±0,63***
	7 діб 7 days	–	23,71±1,72***
	13 діб 13 days	135,4±2,51***	35,88±3,64***
3-я дослідна 3 rd experimental	0	77,95±2,60	0,39±0,04
	1 година 1 hour	87,65±5,38	1,76±0,04***
	1 доба 1 day	79,51±4,85	10,58±0,61***
	7 діб 7 days	–	26,364±8,02*
	13 діб 13 days	149,10±5,98***	37,94±6,60**

На 7-й і 13-й день сукрільності виявлено вірогідне ($P<0,05$; $P<0,001$) зниження концентрації альбуміну в крові кролиць усіх дослідних груп. У 1-й і 2-й групах виявлено тенденцію до зниження вмісту глюкози в сироватці крові, вірогідне зниження глюкози спостерігається на 7-у і 13-у добу сукрільності кролиць 3-ї дослідної групи, яким вводили гонадотропний препарат у формі ліпосомальної емульсії з вітамінами.

У всіх дослідних групах виявлено зниження концентрації холестеролу впродовж проведення дослідження, тоді як вміст триацилгліцеролу на 1-у і 7-у добу сукрільності підвищувався, причому в 1-й і 3-й групі — вірогідно ($P<0,05$, $P<0,01$). Збільшення триацилгліцеролів може бути пов'язане з вимогами живлення матері та плода в період органогенезу. На 13-у добу вміст триацилгліцеролів суттєво знижувався. Спостерігається зниження вмісту сечовини у сироватці крові кролиць усіх дослідних груп, вірогідним це зниження виявлено на 1-у, 7-у і 13-у доби сукрільності у кролиць 2-ї і 3-ї дослідних груп, яким вводили препарати у формі ліпосомальної емульсії. Зменшення сечовини можна пов'язати з підвищеною швидкістю гломерулярної фільтрації на початку вагітності. Щодо вмісту сечової кислоти, то концентрація її впродовж дослідження збільшилася майже вдвічі в усіх групах кролиць.

У табл. 3 представлені показники стероїдогенезу. При визначенні в сироватці крові естрадіолу встановлено підвищення концентрації стероїдних гормонів в усіх групах тварин з 1-ї по 13-у добу після введення досліджуваних гонадотропних препаратів.

Концентрація естрадіолу у крові кролиць зростає майже вдвічі — з $64,31\pm 11,5$; $70,32\pm 7,18$; $77,95\pm 4,00$ пМ/л перед введен-

ням препаратів до $111,37 \pm 13,00$; $135,4 \pm 4,28$; $149,10 \pm 11,00$ пМ/л відповідно у 1-й, 2-й і 3-ій дослідних групах на 13-й день сукрільності. Через 1 годину після осіменіння кролиць і впродовж проведення дослідження спостерігали вірогідне збільшення концентрації прогестерону. На 13-у добу сукрільності спостерігали збільшення концентрації прогестерону майже у 100 разів порівняно з відповідним показником до введення препаратів.

Не встановлено різниці в кількості сукрільних самок та новонароджених кроленят на одну кролематку. У тварин третьої дослідної групи за дії комплексного гонадотропного препарату у формі ліпосомальної емульсії з вмістом тривітаміну (А, D, Е) виявлено тенденцію до збільшення кількості кроленят на кролематку, однак ця різниця не була вірогідною.

Висновки

Втрата активності гонадотропіну при диспергуванні становить 10–12 %. За різного часу диспергування, в діапазоні від 15 до 30 сек, різниць у зміні активності гонадотропіну не виявлено.

Додані стабілізатори і ліпосомальна форма препарату забезпечують активність гонадотропіну впродовж тривалого зберігання за температури 2–4 °С та 18–20 °С на рівні 90 %, якщо за початкову теоретичну активність рахувати ту, що залишається після диспергування при приготуванні препарату з його 10–12 % втратою.

Зростання активності лактатдегідрогенази і концентрації прогестерону та естрадіолу в сироватці крові кролиць за введення стабілізованих препаратів під час штучного осіменіння вказує на їхню ефективну дію.

Перспективи подальших досліджень.

Отриманню результатів, описаних у статті, пе-

редували тривалі комплексні дослідження способів зберігання та стабілізації гонадотропних препаратів за їх тривалої перетримки *in vitro*. На основі цих результатів буде розроблено схеми введення гонадотропних препаратів *in vivo* для ефективного штучного запліднення кролематок.

1. Cole L. A. New discoveries on the biology and detection of human chorionic. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2009, 7, 8 p. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2649930>.

2. Frimel G. *Immunological methods*. Moscow, Medicine, 1987, 215 p. (in Russian)

3. Larson G. H., Lewis P. E., Dailey R. A. Follicle stimulation hormone pattern and luteal function in cows receiving bovine follicular fluid during three stages of the estrus cycle. *Journal of Animal Science*, 1987, vol. 64, no. 5, pp. 1491–1497.

4. Lempiäinen A., Hotakainen K., Alfthan H., Stenman U. Loss of human chorionic gonadotropin in urine during storage at –20 °C. *Clinica Chimica Acta*, 2012, vol. 413, pp. 232–236.

5. Mc Chesney R., Wilcox A., O'Connor J. Intact HCG, free HCG beta subunit and HCG beta core fragment: longitudinal patterns in urine during early pregnancy. *Hum Reprod.*, 2005, vol. 20, pp. 928–935.

6. Pierce J. G., Parsons T. F., Glycoprotein hormones: structure and function. *Annu. Rev. Biochem.*, 1981, 50, pp. 465–495.

7. Slyvchuk Yu. I., Hevkan I. I., Matyukha I. O., Syrvatka V. Ya. Stabilizing the gonadotropin activity with the use of organic compounds. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, Nitra, Slovakia, 2014, vol. 3, pp. 160–163.

8. Slyvchuk Yu. I. The use of carbohydrates to stabilize the activity of gonadotropins. Materials of Intern. Scientific-prak. Confer. “Actual problems of scientific and practical veterinary medicine” dedicated to the Vet. Mr., Prof. G. S. Sivkova (March 28–29, 2013). Collection of scientific works of the All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology, Tyumen. Russia, 2013, no. 52, pp. 186–192.

9. Smolyaninov B. V., Krotkikh M. O. *Biotechnology of farm animals*. A tutorial. Odessa, 2008, 199 p. (in Russian)