



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40105 (13) U  
(51) МПК (2009)  
A61D 19/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ПЛОДЮЧОСТІ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН (ЩУРІВ)

1

(21) u200812421

(22) 22.10.2008

(24) 25.03.2009

(46) 25.03.2009, Бюл.№ 6, 2009 р.

(72) АНДРЕЙЧЕНКО СЕРГІЙ ВАДИМОВИЧ, UA,  
КЛЕПКО АЛЛА ВОЛОДИМИРІВНА, UA, АНДРЕЙ-  
ЧЕНКО КАТЕРИНА СЕРПІВНА, UA, ВАТЛІЦОВА  
ОЛЬГА СТАНІСЛАВІВНА, UA, НУРИЩЕНКО НА-  
ТАЛІЯ ЄВГЕНІВНА, UA, ЧЕРНИШОВ АНДРІЙ ВІК-  
ТОРОВИЧ, UA, ВАТЛІЦОВ ДЕНИС ВОЛОДИМИ-  
РОВИЧ, UA, ПУШКАРЕНКО ВІТАЛІЙ  
МИХАЙЛОВИЧ, UA

2

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАУКОВИЙ ЦЕНТР  
РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ  
НАУК УКРАЇНИ", UA(57) Спосіб підвищення плодючості лабораторних  
тварин (щурів), що включає опромінення іонізую-  
чою радіацією тварин, який **відрізняється** тим, що  
для підвищення кількості приплоду на одну самку  
одночасно опромінюють щурів обох статей, самців  
- в дозі 35 сГр, а самок - в дозі 55 сГр, після чого їх  
спаровують.

Корисна модель відноситься до способів під-  
вищення плодючості лабораторних щурів і може  
знайти широке використання у господарствах, що  
спеціалізуються на розведенні лабораторних тва-  
рин різних видів для установ наукового профілю за  
рахунок стимуляції репродуктивної функції, збіль-  
шення приплоду та збереження життєздатності  
потомства.

Відомо декілька способів, що дозволяють під-  
вищувати плодючість тварин. Це досягалось шля-  
хом ін'єкції біологічно активних речовин тваринам  
на передодні штучного осіменіння [1] і після здійс-  
нення штучного опромінення [2, 3]. Крім того, за-  
вдяки введенню спеціальних сухих кормових до-  
бавок у раціон тварин за певний термін до  
запланованого осіменіння [4], а також після прове-  
дення озвучування сім'яників тварин ультразвуком  
за декілька місяців до забору сперми для подаль-  
шого штучного осіменіння [5].

Прототипом способу, що заявляється, слід  
вважати спосіб стимуляції запліднюваності і вихо-  
ду мальків у риболовстві [6], що здійснюється  
шляхом гамма-опромінення сперми риб в дозах  
0,3-0,5 Гр до проведення штучного запліднення.  
Недоліком даного способу є те, що у лаборатор-  
них тварин, зокрема щурів, здійснення штучного  
забору сперми та реалізація штучного запліднення  
є досить складними операціями, які вимагають  
наявності професійно підготовленого персоналу,  
спеціального обладнання, наявності дорогих  
фармацевтичних препаратів гормональної приро-  
ди та достатніх затрат часу.

Корисною моделлю ставиться завдання при  
менших економічних та часових затратах збільши-  
ти народжуваність життєздатного потомства.

Поставлене завдання досягається тим, що  
спочатку здійснюється опромінення щурів-самок  
рентгеновськими променями (потужність дози 0,34  
Гр/хв., фільтри 0,5мм Cu та 1мм Al, сила струму 10  
мА, напруга 200 кВ, шкірно-фокусна відстань 50см)  
або гамма-променями (потужність дози 0,01 Гр/с) в  
дозі 55 сГр, а згодом через 4 доби 21год щурів-  
самців в дозі 35 сГр. Опромінених самців підса-  
джують для спаровування з опроміненими самка-  
ми після 15 годин після закінчення другого опромі-  
нення.

Приклад 1. Відбирали статевозрілих тварин,  
самців та самок, у віці трьох місяців. Спочатку  
опромінювали рентгеновськими променями самок.  
Для цього кожен самку переносили в пластикову  
коробку, що за своїми розмірами могла вмістити  
лише одну тварину. Опромінення здійснювали X-  
променями на установці РУМ-17 (Росія) при поту-  
жності дози 0,34Гр/хв та шкірно-фокусній відстані в  
50см при наявності фільтрів з міді товщиною  
0,5мм та алюмінію в 1мм, а також силі струму в  
рентгеновській трубці в 10 мА та напрузі в 200 кВ.  
Самок опромінювали в дозах 45; 55 та 60 сГр, від-  
повідно (табл. 1-А). До спаровування кожен самку  
тримали на звичайному харчовому раціоні в умо-  
вах виварію з 12 годинним світловим днем. Самок  
спаровували з попередньо опроміненими самцями  
через 4; 5,5 та 7 дб, відповідно. Попереднє опро-  
мінення самців проводили на установці РУМ-17

(19) UA (11) 40105 (13) U

(Росія) при аналогічних робочих параметрах (фільтри 0,5мм мідь та 1мм алюміній, шкірно-фокусна відстань 50см, струм 10 мА, напруга 200 кВ, потужність дози 0,34Гр/хв) за 5,15 та 20год до спаровування, відповідно. Опромінені самців також перед спаровуванням витримували кожного в окремій клітці наодинці в умовах віварію з 12-годинним світловим днем та на звичайному харчовому раціоні. В призначений термін самців об'єднували з самками в клітках попарно.

Статеві пари перебували весь час разом аж до закінчення вагітності, коли самців переносили в інші клітки. Народжене потомство тестували на життєздатність та наявність помітних вад у фенотипі у віці 3 днів та 3-х місяців, відповідно. Результати проведених дослідів представлені у табл. 1-Б.

З експериментів випливає, що найбільша кількість повноцінного потомства на 1 статеву пару (10,7шт.) була отримана для варіанту 1-Х, коли самок опромінювали в дозі 55 сГр, а самців в дозі 35 сГр, причому перед спаровуванням у самок після радіаційний період спокою становив 5, 5 діб, а у самців - 15год.

Встановлений показник за абсолютною величиною значно перевищував контрольний результат (варіант 2-Х), котрий був отриманий в дослідах з неопроміненими щурами. Збільшення дози опромінення самців до 40 сГр (варіант 4-Х) зумовлював зменшення зазначеного показника плодючості до рівня контролю, однак одночасно відбувалось збільшення мертвонароджених щурят (0,5 тв. на статеву пару) порівняно з контролем (0) та варіантом 1-Х (0,4). В той же час зменшення дози опромінення самців до 30 сГр призводило до аналогічного падіння показника плодючості до 8,5 та збільшення показника мертвонароджуваності до 0,5. Коли зменшували дозу опромінення самок до 45 сГр (варіант 8-Х) або збільшували до 60 сГр (варіант 7-Х) спостерігалось зменшення показника плодючості до 8,3 та 5,6, відповідно, причому в другому випадку мертвонароджуваність була де-що меншою - 0,33.

При збільшенні післярадіаційного періоду спокою для самців з 15год до 25год (варіант 5-Х) та встановлено досить помітне зменшення показника плодючості до 6,0, тоді як для післярадіаційного періоду в 5год (варіант 6-Х) показано зменшення показника плодючості лише до 7,0. Для варіанта 5-Х відмічено суттєве зростання показника мертвонародження до 8,3 при цьому також зростала кількість дорослих тварин з проявом фенотипових вад на 3-му місяці життя. Коли зменшували тривалість післярадіаційного періоду спокою для самок з 5,5 діб до 4 діб відзначалось значне падіння показника плодючості до 6,4 та максимальне зростання індексу мертвонароджуваності до 1,14. Одночасно відбувалась загибель тварин в перші 3 місяці життя, а також поява до 5% тварин з фенотиповими вадами у віці в 3 місяці. При збільшенні післярадіаційного періоду спокою до 7 діб було встановлено (варіант 10-Х) падіння показника плодючості лише до 7,5, а також помітне зменшення індексу мертвонароджуваності до 0,5. В тримісячному віці

не спостерігалось тварин з фенотиповими вадами, оскільки вони померли ще до настання цього часу.

Приклад 2. Тварин підбирали віком в 3 місяці обох статей, самок та самців, в рівних кількостях. З них формували статеві пари, окрім контролю, опромінювали гамма-променями на установці «Рокус» з потужністю дози 0,01 Гр/с при розміщенні об'єкта від джерела іонізуючої радіації на відстані в 50см. Опромінення здійснювали таким чином, як це представлено в табл. 2-А. В усіх випадках, крім контролю, спочатку опромінювали самок по одній тварині за раз в дозах 45-60 сГр, а потім вже самців також по одному за раз. Після опромінення самок витримували по одній в клітці у віварії на світловому дні в 12год та звичайному харчовому раціоні протягом 4-7 днів до початку спаровування.

Натомість самців після опромінення до спаровування витримували в аналогічних умовах протягом 5-25год. в залежності від варіанту досліду. Найбільшу кількість потомства на одну статеву пару - 11,2 вдалось отримати у варіанті 1-γ, коли самок попередньо опромінювали в дозі 55 сГр, а самців -35 сГр та потім витримували до спаровування протягом 5,5 діб та 15год, відповідно. Всі тварини, що народились життєздатними були без фенотипових вад, своєчасно досягали статевозрілого віку та проявляли нормальну плодючість. При збільшенні дози опромінення самців до 40 сГр спостерігалось зменшення показника плодючості до 9,0, тоді як при зменшенні дози до 30 сГр показник плодючості майже наближався до контрольного рівня - 8,8.

В той же час зміна дози опромінення самок призвела до більш суттєвих зменшень показника плодючості. Так, при дозі 60 сГр (варіант 7-γ) показник плодючості дорівнював 7,3. Одночасно було намічено зростання кількості мертвонароджених тварин та тварин з вадами у фенотипі на 3 місяці постнатального періоду. При опроміненні самок дозою в 45 сГр показник плодючості дуже помітно знизився до 5,9, хоч серед життєздатного потомства не було відмічено тварин з фенотиповими вадами. Мертвонароджуваність також була незначною, лише на рівні 4%. Коли збільшували або зменшували тривалість післярадіаційного спокою самців до 25год (варіант 5-γ) та 5год. (варіант 6-γ), відповідно, то також спостерігалось зниження показника плодючості за межі контрольного значення до 7,3 та 8,1, відповідно. Однак поява у потомстві тварин з фенотиповими вадами характерна була лише для варіанта 6-γ. При тривалості післярадіаційного періоду спокою самок в 4 доби (варіант 9-γ) та 7 діб (варіант 10-γ), спостерігалось значне зменшення показника плодючості до 6,6 та 7,3, відповідно, причому лише у варіанті 9-у одночасно помітно зросла мертвонароджуваність та кількість фенотипових вад у нащадків.

Таким чином, показано, що лише комбінація доз опромінення самців і самок у сукупності з комбінацією періодів післярадіаційного спокою для самців та самок, що використовувалась у варіантах 1-Х та 1-γ, зумовлюють максимальний приплив та появу нормального життєздатного потомства. Такий феномен можна пояснити тим, що при тоталь-

льному опроміненні самців в дозі 35 сГр радіація безпосередньо діє на пул вже утворених сперматозоїдів, котрі завдяки такому впливу набувають високо енергетичного стану та підвищеної запліднюючої здатності, оптимум реалізації яких припадає на 15год з моменту опромінення, якщо в цей момент відбувається спаровування з самками, то це максимально сприяє настанню фертилізації. Для збільшення виходу приплоду та потомства для кожної статевої пари також доцільним було попереднє опромінення самок. В цьому випадку радіація опосередковано через стимуляцію гіпоталамо-гіпофізарної системи та секрецію статевих гормонів зумовлювала посилене дозрівання фолікулів та викид ооцитів II з яєчників у яйцепроводи. Цей процес досягав максимального розвитку протягом 5,5 діб після опромінення. Однак тільки підвищену кількість яйцеклітин були здатні успішно запліднювати попередньо активовані радіацією в дозі 35 сГр сперматозоїди з підвищеним фертилізаційним потенціалом.

Запропонований спосіб дозволяє значно зменшити затрати праці та суттєво прискорити процес розведення лабораторних тварин, зокрема щурів, він також поєднує в собі простоту та ефективність.

Результати досліджень представлені в таблицях 1-А, 1-Б, 2-А та 2-Б.

Список використаних джерел

1. UA 14875А, заявка №96072640 від 03.07.1996, Спосіб стимуляції приживлюваності ембріонів у самок сільськогосподарських тварин, Шеремет В.І., Богданов Г.О., Національний аграрний університет, 18.02.1997, Бюл. №2, 1997р.

2. UA 49550, заявка №2001129034 від 25.12.2001, Спосіб стимуляції заплідненості самок сільськогосподарських тварин, Шеремет В.І., Сіроштан О.М, Опанасенко В.О. Національний аграрний університет, 16.09.2002, Бюл. №9, 2002р.

3. UA 20616, заявка №20041210884 від 28.12.2004, Спосіб стимуляції запліднюваності самок сільськогосподарських тварин, Шеремет В.І., Саба М.В., Тищенко Я.Г., Національний аграрний університет, 15.02.2007, Бюл. №2, 2007р.

4. UA 53857, заявка №2001117788 від 14.11.2001, Спосіб підвищення генетично-функціональних можливостей сільськогосподарських тварин і птиці, Бельченко П.І., Карунський О.Й., Кванін Ю.В., Іванюк П.І., Харчук Ю.І., 17.02.2003, Бюл. №2, 2003р.

5. SU 1729507, заявка №4844432/15 від 04.04.1990, Спосіб стимуляції сперматогенеза у хряков (Россия), Короткевич О.С., Антонюк В.С. і Петухов В.Л., Новосибирский сельскохозяйственный институт, 30.04.1992, Бюл. №16, 1992р.

6. А.М. Кузин, Д.А. Кауманский Прикладная радиобиология Москва, "Энергоиздат", 1981. - стр. 20.

Таблиця 1-А

Вплив попереднього тотального опромінення щурів рентгенівськими променями на утворення та формування потомства

№ досліджу	Доза опромінення самців, сГр.	Доза опромінення самок, сГр	Тривалість інтервалу між закінченням опромінення самців та початком спаровування з самками, год	Тривалість інтервалу між закінченням опромінення самок та початком спаровування з самцями, діб
1-Х	35	55	15	5,5
2-Х(контроль)	0	0	0	0
3-Х	30	55	15	5,5
4-Х	40	55	15	5,5
5-Х	35	55	25	5,5
6-Х	35	55	5	5,5
7-Х	35	60	15	5,5
8-Х	35	45	15	5,5
9-Х	35	55	15	4
10-Х	35	55	15	7

Таблиця 2-А

Вплив попереднього тотального опромінення щурів  
гамма-променями на утворення та формування потомства

№ до- сліду	Доза опро- мінення са- мців, сГр.	Доза опро- мінення самок,сГр	Тривалість інтервалу між закін- ченням опромінення самців та початком спаровування з самка- ми, год	Тривалість інтервалу між закін- ченням опромінення самок та початком спаровування з самця- ми, діб
1-γ	35	55	15	5,5
2-γ (кон- троль)	0	0	0	0
3-γ	30	55	15	5,5
4-γ	40	55	15	5,5
5-γ	35	55	25	5,5
6-γ	35	55	5	5,5
7-γ	35	60	15	5,5
8-γ	35	45	15	5,5
9-γ	35	55	15	4
10-γ	35	55	15	7

Таблиця 1-Б

Вплив попереднього тотального опромінення щурів  
рентгенівськими променями на утворення та формування потомства. Результати дослідів

№ дослі- ду	Загальна кількість самців, шт	Загальна кількість самок, шт	Загальна кількість приплоду, шт	Загальна кількість мертвонароджених тварин, шт	Загальна кількість тварин після 3 міс. після народження, шт	Загальна кількість ста- тевозрілих фенотипово нормальних тварин, шт	Середня кількість повноцінно- го потомст- ва на 1 ста- теву пару, шт.
1-Х	7	7	79	3	75	75	10,7
2-Х (кон- троль)	5	5	43	0	43	43	8,6
3-Х	6	6	57	3	52	52	8,5
4-Х	4	4	37	2	34	34	8,5
5-Х	6	6	45	5	38	36	6,0
6-Х	5	5	39	1	35	35	7,0
7-Х	6	6	35	2	33	33	5,6
8-Х	5	5	46	2	43	42	8,3
9-Х	7	7	58	8	47	45	6,4
10-Х	6	6	49	3	45	45	7,5

Таблиця 2-Б

Вплив попереднього тотального опромінення щурів  
гамма-променями на утворення та формування потомства. Результати дослідів

№ осліду	Загальна кількість самців, шт	Загальна кількість самок, шт	Загальна кількість приплоду, шт	Загальна кількість мертвонароджених тварин, шт	Загальна кількість тварин після 3 міс. після народження, шт.	Загальна кількість статевозрілих фенотипово нормальних тварин, шт	Середня кількість повноцінного потомства на 1 статеву пару, шт.
1-γ	6	6	71	4	67	67	11,2
2-γ (конт-роль)	7	7	62	1	61	61	8,7
3-γ	5	5	48	2	46	45	8,0
4-γ	8	8	75	3	72	70	8,8
5-γ	6	6	45	1	44	44	7,3
6-γ	7	7	62	3	58	57	8,1
7-γ	5	5	45	5	40	37	7,3
8-γ	8	8	49	2	47	47	5,9
9-γ	7	7	52	3	49	46	6,6
10-γ	6	6	45	1	44	44	7,3