

**ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису


ТВЕРДОХЛІБ ЮЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА

УДК 636.92.082.4:577.175.6]:576.37

**ДИСЕРТАЦІЯ
МОРФОЛОГІЧНЕ ТА ГОРМОНАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ЗАСТОСУВАННЯ ГОНАДОТРОПІВ ЗА СТИМУЛЯЦІЇ
ОВУЛЯЦІЇ У КРОЛИЦЬ**

Галузь знань – 21 Ветеринарія
Спеціальність – 211 Ветеринарна медицина

Подається на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії

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

Науковий керівник – **Науменко Світлана Валеріївна,**
доктор ветеринарних наук, професор

Харків – 2024

АНОТАЦІЯ

Твердохліб Ю. В. Морфологічне та гормональне обґрунтування застосування гонадотропінів за стимуляції овуляції у кролиць. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 21 Ветеринарія за спеціальністю 211 Ветеринарна медицина – Державний біотехнологічний університет, МОН України, – Харків, 2024.

Дисертаційну роботу присвячено експериментальному обґрунтуванню застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів за стимуляції овуляції та фолікулогенезу у кролиць на основі визначення репродуктивних, морфологічних та гормональних показників протягом п'яти послідовних репродуктивних циклів. Створено удосконалені протоколи гормонально-індукованого фолікулогенезу у кролиць з урахуванням параметрів функціонального стану компартментів яєчників та залишкового вмісту стероїдних гормонів у продукції кролівництва.

Дисертація виконана у 2018-2024 рр. в умовах лабораторій кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету Міністерства освіти і науки України, відділу біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва Національної академії аграрних наук України, медичної лабораторії «Аналітика», Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області та сектору відтворення приватної кролеферми Богодухівського району Харківської області.

Кваліфікаційна наукова праця є частиною ініціативної теми з державною реєстрацією кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету (ДБТУ) «Розроблення та впровадження інноваційних методів та рішень з використанням інформаційно-технічних приладів у ветеринарній репродуктології» (термін виконання 2015-2025 рр.,

номер державної реєстрації 0114U005415). Крім того, окремі дослідження були проведені здобувачкою в рамках Програми наукових досліджень Національної академії аграрних наук України № 28 «Нано- і біотехнології у тваринництві» з виконання науково-дослідних робіт 28.00.02.12.ПШ «Визначити вплив різних схем гормональної стимуляції фолікулогенезу на репродуктивну систему кролиць» (номер державної реєстрації 0118U000223) та 28.00.02.14.ПШ «Визначити вплив тривалої періодичної дії гонадотропних препаратів різного складу на репродуктивну систему кролиць» (номер державної реєстрації 0119U001242), що виконувалися у відділі біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва Національної академії аграрних наук.

За застосування сироваткового гонадотропіну середній коефіцієнт фертильності у самиць дослідної групи 1 складав 65,9 %, а дослідної групи 2 – 59,7 %, порівняно з контрольними кролицями, у яких цей показник складав 61,7 %. Комбіноване введення гонадотропінів призводило до зниження відтворної здатності – у дослідній групі 3 показник фертильності становив 48,6 %, а у дослідній групі 4 лише 40,2 %.

Динаміка заплідненості за овуляції, індукованої гормональними засобами зазнавала наступних змін: у кролиць контрольної групи коефіцієнт фертильності протягом дослідження зростав, особливо виразні зміни були відзначені у третьому репродуктивному циклі; за введення гонадотропіну сироватки жеребих кобил у першому і другому циклі фертильність кролиць значно перевищувала дані контролю, тоді як наприкінці експерименту спостерігали протилежні зміни – у дослідній групі 1 коефіцієнт фертильності складав лише 54,8 %, у дослідній групі 2 – 50,0 %. Фертильність самиць за комбінованого введення гонадотропінів у вищій дозі (дослідна група 3) поступово зменшувалася, тоді як за застосування меншої дози, у тварин дослідної групи 4, на початку дослідження (у першому і другому циклі) фертильність була вищою контролю, а надалі різко знижувалася і наприкінці експерименту складала 25,0 %.

Аналізуючи гістоморфологію яєчників сукрольних кролиць п'ятого репродуктивного циклу контрольної групи зазначимо на переважання лютеїнових структур. Атрезія фолікулів відбувалася за двома типами: облітеруючим, характерним для первинних і вторинних фолікулів, і кістозним – в третинних фолікулах. В яєчниках сукрольних кролиць знаходилися жовті тіла різних генерацій, що було свідченням функціонування їх протягом кількох репродуктивних циклів. Кількість і ступінь розвитку жовтих тіл у правому і лівому яєчниках різнилися, що вказувало на асинхронний характер овуляцій у попередніх циклах.

Тривале застосування сироваткового гонадотропіну у дозі 40 МО (дослідна група 1) призводило до зменшення функціонального резерву яєчників внаслідок численних апоптозів ооцитів не лише в первинних та вторинних фолікулах, а й примордіальних. При цьому, товщина фолікулярної зони кіркової речовини була помітно зменшена. На місцях атрезованих примордіальних і первинних фолікулів виявлялись лакуноподібні порожнини. В деяких порожнинах виявлялися залишки блискучої оболонки у вигляді оксифільної гомогенної маси, що вказувало на деструкцію вторинних фолікулів. Атрезія більшості таких фолікулів, на відміну від контрольної групи, не супроводжувалась лютеїнізацією клітин гранульози і текоцитів (у вторинних фолікулах) та формуванням атретичних тіл.

Основними відмінностями, відміченими нами у дослідній групі 2, були: дещо більша кількість примордіальних і первинних фолікулів у кірковій речовині, при чому менша частина ооцитів мала деструктивні зміни, що вказує на зменшення негативного впливу дози 25 МО на функціональний резерв яєчників за тривалого його застосування. Визначалася більша кількість антральних фолікулів з ознаками гіперсекреторної активності клітин гранульози. Кількість жовтих тіл вагітності була більшою, а серед лютеїнових структур переважала, як і в дослідній групі 1, інтерстиційна залозиста тканина, у складі якої визначалися ендокриноцити як на стадії розквіту функціональної активності, так і на стадії регресії. Судинна реакція у мозковій речовині

повністю відповідала такій, як описана у дослідній групі 1, але порожні розширені судини мікроциркуляторного русла у кірковій речовині майже не визначались. В цілому були відсутні лімфоїдні утворення у складі внутрішньої теки фолікулів і в яєчниках.

При комбінованому застосуванні гонадотропінів судинна реакція, з ознаками гіперемії і венозного застою була менш виражена. В яєчниках кролиць дослідної групи 3 більшість судин кіркової і мозкової речовини були розширеними і виглядали порожніми. Пул примордіальних фолікулів виявляв більшу збереженість порівняно з яєчниками кролиць дослідних груп 1 і 2, але був помітно меншим порівняно з контролем. Кількість атретичних тіл була помітно більшою, порівняно з яєчниками кролиць, індукцію овуляції у яких викликали введенням лише сироваткового гонадотропіну. Попри це атрезія більшості первинних і вторинних фолікулів характеризувалась дегенеративними змінами в ооцитах і, переважно, не супроводжувалась лютеїнізацією клітин фолікулярного епітелію та текоцитів, а їх тека відзначалась потовщенням, інколи дуже суттєвим, за рахунок сполучної тканини.

В яєчниках кролиць після комбінованого застосування гонадотропінів у дозі 24 МО (дослідна група 4) на тлі прояву основних біологічних ефектів, визначених у кролиць дослідної групи 3, були встановлені мікроструктурні особливості, що вказують на високу секреторну активність інтерстиціальних гландулоцитів, порівняно з яєчниками кролиць усіх попередніх груп. Клітини інтерстиціальної залозистої тканини полігональної форми з вираженими загостреними кутами, мали помітно менші розміри та оптично щільну оксифільну цитоплазму. Між ними добре визначались щільні проміжки з розширеними судинами мікроциркуляторного русла. Також були визначені непрямі ознаки явища гіперандрогенії.

Гормональний фон кролиць зазнавав виразних змін залежно від засобу індукції овуляції, його дозування і тривалості введення. На початку експерименту у сироватці крові кролиць дослідних груп 1 і 2 нами було

встановлено зростання рівня фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), а надалі динаміка його рівня у тварин дослідної групи 1 характеризувалася незначними коливаннями у бік збільшення даного показнику ($p < 0,05$). Позитивна динаміка високої активності ФСГ у сироватці крові відзначалася у кролиць дослідної групи 2: порівняно з даними контролю рівень гормону був вищим ($p < 0,05$). У тварин дослідної групи 3 протягом дослідження нами відзначено зменшення рівня ФСГ порівняно з контрольними кролицями. Подібні зміни встановлені у дослідній групі 4 – лише у тварин першого циклу відзначали тенденцію до зростання рівня ФСГ, натомість у 2 і 3 циклах він мав тенденцію до зниження, а у четвертому і п'ятому був нижчим за дані контролю ($p < 0,05$).

Рівень лютеїнізуючого гормону (ЛГ) у сироватці крові кролів за індукції овуляції гормональними засобами також зазнавав істотних змін. У тварин дослідної групи 1 першого циклу рівень ЛГ був нижчим показників групи контролю на 15,5 % ($p < 0,05$), у другому і четвертому репродуктивному циклі мав тенденцію до зниження. Тоді як у третьому і п'ятому циклі характеризувався тенденцією до підвищення. У самиць дослідної групи 2 подібно до описаної вище групи на початку дослідження рівень ЛГ був нижчим даних контролю, а надалі було встановлено збільшення його рівня ($p < 0,05$). У самиць дослідної групи 3 встановлено вірогідне зростання рівня ЛГ протягом експерименту. Менш виразними були зміни у кролиць дослідної групи 4, хоча рівень даного гормону перевищував значення контролю.

Впливи гонадотропних засобів на динаміку рівня 17β -естрадіолу у кролиць дослідних груп мали дозозалежний ефект, як і показано морфологічними даними. Нами відзначено зростання 17β -естрадіолу у сироватці крові кролиць дослідних груп 1, 3 і 4, тоді як у тварин дослідної групи 2 рівень даного гормону не перевищував дані контролю. Натомість, гормональна стимуляція виявляла помірний вплив на рівень прогестерону у сироватці крові кролиць дослідних груп 2 і 4, у кролиць дослідної групи 3 встановлено значне зростання – гіперпрогестеронемію, а дослідної групи 1 – навпаки, зменшення рівня прогестерону порівняно з даними контролю.

Тестостеронова динаміка в організмі кролиць залежала від застосування індукторів овуляції. Так, монокомпонентне використання сироваткового гонадотропіну виявляло незначні зміни, тоді як комбіноване введення гонадотропінів викликало значне зростання рівня тестостерону у сироватці крові кролиць, а у тварин дослідної групи 4 призводило до гіперандрогенемії.

Безпечність тривалого застосування гормональних засобів у кролиць оцінювали за вмістом статевих гормонів у продукції кролівництва – м'ясі кролиць наприкінці експерименту. Рівні тестостерону і 17β -естрадіолу були на межі доступного до визначення рівня, при цьому, вміст 17β -естрадіолу змін не зазнавав, а тестостерон мав незначну тенденцію до зростання. В цілому ж, отримані результати не тільки обумовили наукову новизну дисертаційних досліджень, а й практичну значимість роботи, що підтверджена науково-методичними рекомендаціями «Застосування гормональних засобів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць» (затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 6 від 31 травня 2024 р.) і були впроваджені до навчального процесу і науково-дослідної роботи закладів вищої освіти України: Національного університету біоресурсів і природокористування та Державного біотехнологічного університету.

Ключові слова: кролиці, відтворення, статеві гормони, фолікулогенез, гонадотропін, яєчники, стимуляція, овуляція.

ANNOTATION

Tverdokhlib Yu. V. **Morphological and hormonal substantiation of the use of gonadotropins during ovulatory stimulation of rabbit does.** – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 Veterinary medicine in the specialty 211 Veterinary medicine – State Biotechnological University, MES of Ukraine, – Kharkiv, 2024.

Dissertation is devoted to the experimental substantiation of the safety of the use of serum and chorionic gonadotropins in comparison with the analogue of gonadotropin-releasing hormone for ovulatory stimulation of rabbits based on the determination of reproductive, morphological, and hormonal indicators during five consecutive reproductive cycles.

Dissertation was completed in 2018-2024 in the laboratories of the Department of Veterinary Surgery and Reproductology of the State Biotechnological University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, the Department of Biotechnology of Reproduction of Agricultural Animals of the Institute of Animal Husbandry of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, “Analytika” medical laboratory (Kharkiv), Regional State Laboratory of the State Production and Consumer Service in Poltava region and the reproduction sector of the private rabbit farm of Bogodukhiv district of Kharkiv region.

The qualifying scientific work is part of the initiative topic with state registration of the Department of Veterinary Surgery and Reproduction of the State Biotechnology University “Development and implementation of innovative methods and solutions using information and technical devices in veterinary reproduction” (implementation period 2015-2025, state number registration 0114U005415). In addition, separate studies were carried out by the grantee within the framework of the National Academy of Agrarian Sciences No. 28 “Nano- and biotechnology in animal husbandry” for the implementation of scientific research

works 28.00.02.12.PH “To determine the effect of different schemes of hormonal stimulation of folliculogenesis on the rabbits reproductive system” (state registration number 0118U000223) and 28.00.02.14.PH “To determine the effect of long-term periodic action of gonadotropic drugs of various composition on the reproductive system of rabbits” (state registration number 0119U001242), which were carried out in the Department of Biotechnology of Agricultural Animal Reproduction of the Institute of Animal Husbandry of the National Academy of Agrarian Sciences.

With the use of serum gonadotropin, the average fertility rate in females of experimental group 1 was 65.9%, and in experimental group 2 – 59.7%, compared to control rabbits, in which this indicator was 61.7%. The combined administration of gonadotropins led to a decrease in reproductive capacity – in experimental group 3, the fertility rate was 48.6%, and in experimental group 4, it was only 40.2%.

The dynamics of fertilization after ovulation induced by hormonal means underwent the following changes: in rabbits of the control group, the fertility coefficient increased during the study, especially pronounced changes were noted in the third reproductive cycle; with the introduction of serum gonadotropin of foal mares in the first and second cycle, the fertility of rabbits significantly exceeded the control data, while at the end of the experiment, the opposite changes were observed - in experimental group 1, the fertility rate was only 54.8%, in experimental group 2 - 50.0%. Fertility of females with the combined administration of gonadotropins in a higher dose (experimental group 3) gradually decreased, while with the use of a lower dose, in the animals of experimental group 4, at the beginning of the study (in the first and second cycles), fertility was higher than the control, and then sharply decreased at the end of the experiment was 25.0%.

Analysing the histomorphology of the ovaries of pregnant rabbits of the fifth reproductive cycle after the administration of a gonadotropin-releasing hormone analogue (control group), we note that luteal structures predominated. Follicular atresia was of two types: oblitative, characteristic of primary and secondary follicles, and cystic – in tertiary follicles. Yellow bodies of different generations were founding in the ovaries of pregnant rabbits, which was evidence of their functioning

during several reproductive cycles. The number and degree of development of corpora lutea in the right and left ovaries differed, which indicated the asynchronous nature of ovulation in previous cycles.

Long-term use of serum gonadotropin at a dose of 40 IU led to a decrease in the functional reserve of the ovaries due to numerous apoptosis of oocytes not only in primary and secondary follicles, but also in primordial ones. At the same time, the thickness of the follicular zone of the cortical substance was noticeably reduced. At the places of atresed primordial and primary follicles, lacuniform cavities were found. In some cavities the remains of the shiny shell were found in the form of an oxyphilic homogeneous mass, which indicated the destruction of secondary follicles. Atresia of most such follicles, unlike the control group, was not accompanied by luteinization of granulosa cells and thecaocytes (in secondary follicles) and the formation of atretic bodies.

The main differences we noted in experimental group 2 were: a slightly larger number of primordial and primary follicles in the cortical substance, while a smaller part of oocytes had destructive changes, which indicates a decrease in the negative effect of the 25 IU dose on the functional reserve of the ovaries with its long-term use. A greater number of antral follicles with signs of hypersecretory activity of granulosa cells was determined. The number of corpora lutea of pregnancy was greater, and interstitial glandular tissue predominated among the luteal structures, as in experimental group 1, but its composition included endocrinocytes both at the stage of flourishing functional activity and at the stage of regression. The vascular reaction in the medulla fully corresponded to the one described in experimental group 1, but the empty dilated vessels of the microcirculatory bed in the cortical substance were almost undetectable. There were no lymphoid formations in the internal theca of the follicles and in the ovaries.

With the combined use of gonadotropins, the vascular reaction with signs of hyperemia and venous stasis was less pronounced. Most of the cortical and medullar vessels of the rabbits' ovaries of experimental group 3 were dilated and looked empty. The pool of primordial follicles was more preserved compared to the ovaries

of rabbits of experimental groups 1 and 2. It was significantly smaller compared to the control. The number of atretic bodies was significantly higher compared to the ovaries of rabbits in which induction of ovulation was caused by the introduction of only serum gonadotropin. Despite this, atresia of most primary and secondary follicles was characterized by degenerative changes in oocytes and, mostly, was not accompanied by luteinization of follicular epithelial cells and thecocytes, and their theca was characterized by thickening, sometimes incredibly significant, due to connective tissue.

In the ovaries of rabbits after the combined use of gonadotropins in a dose of 24 IU against the background of the manifestation of the main biological effects determined in the rabbits of experimental group 3, microstructural features were established, indicating a high secretory activity of interstitial glandulocytes, compared to the ovaries of rabbits of all previous groups. The cells of the interstitial glandular tissue were polygonal in shape with pronounced pointed corners, had noticeably smaller sizes and optically dense oxyphilic cytoplasm. Between them, the slit spaces with dilated vessels of the microcirculatory bed were well defined. Indirect signs of the phenomenon of hyperandrogenism were also determined.

The hormonal background of rabbits underwent significant changes depending on the means of ovulation induction, its dosage and duration of administration. In the blood serum of rabbits of experimental groups 1 and 2, we found an increase in the level of follicle-stimulating hormone (FSH) at the beginning of the experiment, and in the future, the dynamics of its level in animals of experimental group 1 was characterized by slight fluctuations in the direction of increasing the indicator data ($p < 0.05$). Positive dynamics of high activity of FSH in blood serum was noted in rabbits of experimental group 2: compared to control data, the level of the hormone was higher ($p < 0.05$). During the study, we noted a decrease in the level of FSH in animals of experimental group 3 compared to control rabbits. Similar changes were observed in experimental group 4 - only in the animals of the first cycle was there a tendency to increase the level of FSH, on the other hand, in

the 2nd and 3rd cycles it tended to decrease, and in the fourth and fifth it was lower than the control data ($p < 0.05$).

The level of luteinizing hormone (LH) in the blood serum of rabbits after induction of ovulation by hormonal means also underwent significant changes. In the animals of experimental group 1 of the first cycle, the LH level was lower than that of the control group by 15.5% ($p < 0.05$), in the second and fourth reproductive cycles it tended to decrease. Whereas in the third and fifth cycles it characterized by an upward trend. In the females of experimental group 2, like the group described above, at the beginning of the study, the LH level was lower than the control data. However, LH level was increasing in the sequel ($p < 0.05$). In the females of experimental group 3, a probable increase in the LH level established during the experiment. The changes in the rabbits of experimental group 4 were less pronounced, although the level of this hormone exceeded the control value.

The effects of gonadotropic agents on the dynamics of the level of 17β -estradiol (17β -E) in rabbits of experimental groups had a dose-dependent effect, as shown by morphological data. We noted an increase in 17β -E in the blood serum of rabbits of experimental groups 1, 3 and 4, while in animals of experimental group 2 the level of this hormone did not exceed the control data. In females of experimental groups 2 and 4. On the contrary, hormonal stimulation had a moderate effect on the level of progesterone in the blood serum of rabbits of experimental groups 2 and 4, in rabbits of experimental group 3 a significant increase was established – hyperprogesteronemia, and in experimental group 1 – on the contrary, a decrease in the level of progesterone compared to control data. Testosterone dynamics in the body of rabbits depended on the use of ovulation inducers. Thus, the monocomponent use of eCG showed insignificant changes, while the combined administration of gonadotropins caused a significant increase in the level of testosterone in the blood serum of rabbits, and in animals of experimental group 4 it led to hyperandrogenemia.

The safety of long-term use of the hormones for stimulation of ovulation in rabbits assessed by the content of sex hormones in the rabbit meat at the end of the

experiment. The levels of testosterone and 17β -E were at the limit of the detectable level, while the content of 17β -E did not change, and testosterone had a slight tendency to increase. In general, the obtained results determined not only the scientific novelty of the dissertation research, but also the practical significance of the work, which is confirmed by the scientific and methodological recommendations “Use of hormonal agents in ovulation stimulation protocols in rabbits” (approved by the Scientific Council of the Faculty of Veterinary Medicine of the State Biotechnology University, protocol no. 6 dated May 31, 2024) and were implemented in the educational process and research work of higher education institutions of Ukraine: National University of Bioresources and Nature Management and State Biotechnology University.

Key words: rabbits, reproduction, hormones, folliculogenesis, gonadotropin, ovaries, stimulation, safety, ovulation.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, які відображають основні наукові результати дисертації:

**Стаття у періодичному науковому виданні,
включеному до наукометричної бази даних Scopus:**

1. **Tverdokhlib Yu., Naumenko S., Koshevoy V., Miroshnikova O., Syniahovska K., Kovalova L., Hryshchuk H. (2024).** Effect of Different Methods of Ovulation Induction on Sex Hormones in Serum, and Meat of Rabbit Does. *World's Veterinary Journal*, 14(1), 117–128. <https://doi.org/10.54203/scil.2024.wvj15> (Здобувачкою сплановано і виконано експериментальні дослідження, проаналізовано й узагальнено їх результати, підготовлено статтю до друку).

**Статті у наукових фахових виданнях України,
включених до міжнародних наукометричних баз даних:**

2. **Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В. (2019).** Аналіз ефективності застосування гормонального препарату «Фоллімаг» для стимуляції відтворної здатності кролиць. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 3, 11–15. <https://doi.org/10.31890/vttp.2019.03.02> (Дисертантка організувала і провела дослідження, обробила і узагальнила одержані результати, підготувала роботу до друку).

3. **Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. (2021).** Гістологічне дослідження яєчників сукрольних кролиць. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 7, 126–132. <https://doi.org/10.31890/vttp.2021.07.19> (Здобувачкою проведено гістологічні дослідження, оброблено одержані результати і підготовлено статтю до друку).

4. **Твердохліб Ю. В.** (2023). Морфологічна оцінка яєчників за стимуляції овуляції у кролиць гонадотропіном сироватки жеребих кобил у різних дозах. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25(112), 160–167. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11226>
5. **Tverdoklib Yu. V., Naumenko S. V., Koshevoy V. I., Miroshnikova O. S, Zhigalova O. Ye.** (2024). Histomorphology of the ovaries of rabbits does during ovulation induced by the combined use of gonadotropins. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 46–52. <https://doi.org/10.32718/ujvas7-1.08> (Дисертантка організувала і провела дослідження, обробила і узагальнила одержані результати, підготувала роботу до друку).

Науково-методичні рекомендації:

6. Науменко С. В., **Твердохліб Ю. В.**, Кошевой В. І., Жигалова О. Є. Застосування гормональних препаратів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць (науково-методичні рекомендації, затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 6 від 31 травня 2024 р.). Харків, 2024. 32 с. (Здобувачкою проведено експериментальні дослідження й зібрано літературу за напрямом експерименту, проаналізовано їх результати і підготовлено рекомендації до друку).

Наукові праці, які відображають апробацію результатів дисертації:

7. **Твердохліб (Скібіна) Ю. В.**, Науменко С. В., Жигалова О. Є. Вплив гонадотропних гормонів на гістоструктуру яєчників кролиць. *Priority directions of science and technology development*: матеріали VI міжн. наук.-практ. конф. (м. Київ, 20-21 лютого 2021 р.). Київ, 2021. С. 54–55. (Дисертанткою проаналізовано клінічні дані, виконано гістологічні дослідження й підготовлено тези доповідей до публікації).

8. Стрижак Т. А., **Твердохліб (Скібіна) Ю. В.**, Сушко О. Б. Сучасні породи кролів у системі гібридизації. *Аграрна галузь сучасної України: проблеми та перспективи розвитку*: матеріали I міжн. наук.-практ. конф. (м. Слов'янськ, 14 травня 2021 р.). Слов'янськ, 2021. С. 190–193. (Здобувачкою проаналізовано літературні джерела щодо сучасних порід кролів в Україні, написано тези).
9. **Твердохліб Ю. В.**, Науменко С. В., Кошевой В. І. Морфологічні особливості яєчників за комбінованого застосування гонадотропінів для стимуляції овуляції у кролиць. *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині*: матеріали ІХ всеукр. наук.-практ. конф. (м. Полтава, 15-16 лютого 2024 р.). Полтава, 2024. С. 66–68. (Дисертантка організувала і провела дослідження, обробила і узагальнила одержані результати, підготувала тези до друку).
10. **Твердохліб Ю. В.**, Науменко С. В., Кошевой В. І. Гістологічні зміни яєчників кролиць за гормональної стимуляції овуляції. *Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин*: матеріали ІV наук.-практ. міжн. дист. конф. (м. Харків, 28 березня 2024 р.). Харків, 2024. С. 136–138. (Здобувачка провела гістологічні дослідження, проаналізувала одержані результати та підготувала тези до друку).

ЗМІСТ

| | |
|---|-----------|
| АНОТАЦІЯ..... | 2 |
| ANNOTATION..... | 8 |
| СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА..... | 14 |
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ.... | 19 |
| ВСТУП..... | 20 |
| РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ВІДТВОРНОЇ ЗДАТНОСТІ КРОЛИЦЬ ТА ГОРМОНАЛЬНІ ЗАСОБИ, ЩО СТИМУЛЮЮТЬ ОВУЛЯЦІЮ, ФОЛІКУЛОГЕНЕЗ, ЇХ ХАРАКТЕРИСТИКА ТА УСКЛАДНЕННЯ, ВИКЛИКАНІ НИМИ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ..... | 28 |
| 1.1 Забезпечення репродуктивного здоров'я кролиць та особливості відтворної здатності, що чинять на нього вплив..... | 30 |
| 1.2 Засоби індукції овуляції у кролиць за штучного осіменіння, методи їх застосування та проблематика ефективності..... | 36 |
| 1.3 Біохімічні особливості, методи одержання й сфера застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів..... | 39 |
| 1.4 Безпечність гонадотропінів за застосування у високих дозах або тривалого введення самицям..... | 44 |
| 1.5 Висновок з огляду літератури..... | 46 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.. | 48 |
| РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ..... | 53 |
| 3.1 Аналіз ефективності застосування гормональних засобів за показниками відтворної здатності кролиць..... | 54 |
| 3.2 Динаміка заплідненості кролиць за тривалого застосування гонадотропінів для стимуляції фолікулогенезу..... | 59 |
| 3.3 Макроскопічні особливості органів статеві системи кролиць за використання гормональних засобів..... | 63 |
| 3.4 Гістологічна характеристика яєчників сукрольних кролиць за застосування аналогу гонадотропін-релізінг-гормону..... | 72 |

| | |
|--|------------|
| 3.5 Морфологічна оцінка органів статеві системи кролиць за тривалого введення гонадотропіну сироватки жеребих кобил у різних дозах | 80 |
| 3.6 Особливості морфологічної структури яєчників кролиць за комбінованого застосування гонадотропінів..... | 88 |
| 3.7 Порівняльний аналіз кількісного складу фолікулів яєчників кролиць за застосування різних гормональних засобів..... | 93 |
| 3.8 Оцінка гормонального балансу в організмі кролиць за стимуляції фолікулогенезу..... | 97 |
| 3.9 Визначення безпечності тривалого застосування гонадотропінів за вмістом статевих гормонів у м'ясі кролиць..... | 104 |
| РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ..... | 105 |
| ВИСНОВКИ..... | 118 |
| ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ..... | 122 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... | 123 |
| ДОДАТКИ..... | 154 |
| <i>Додаток А.</i> Список опублікованих праць за темою дисертації..... | 155 |
| <i>Додаток Б.</i> Відомості про апробацію результатів дисертаційної роботи..... | 157 |
| <i>Додаток В.</i> Акти впровадження результатів дисертації в навчальний процес та науково-дослідну роботу..... | 161 |
| <i>Додаток Г.</i> Довідка про участь дисертантки у дослідженнях, що виконувалися у відділі біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва НААН України..... | 163 |
| <i>Додаток Д.</i> Науково-методичні рекомендації..... | 164 |
| <i>Додаток Е.</i> Висновок біоетичної експертизи..... | 166 |
| <i>Додаток Ж.</i> Акт впровадження в господарстві..... | 167 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ

BSAVA – *British Small Animal Veterinary Association*;

E2 / 17- β -E – 17- β -естрадіол;

eCG / ГСЖК – гонадотропін сироватки жеребих кобил;

hCG / ХГЛ – хоріонічний гонадотропін людини;

P4 – прогестерон;

ГнРГ – гонадотропін-рилізинг гормон;

ДРТ – допоміжні репродуктивні технології;

ЛГ – лютеїнізуючий гормон;

МО – міжнародні одиниці;

НААН – Національна академія аграрних наук України;

Тс – тестостерон;

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон;

ШО – штучне осіменіння.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Галузь кролівництва є одним з провідних і перспективних напрямів сучасного ведення тваринництва в Україні, поряд із цим у світі також зростає інтерес до розведення кроликів для виробництва м'яса та хутра та як лабораторної моделі (Беседовська, 2015; Viudes-de-Castro et al., 2017; Casares-Crespo et al., 2018; Bakeer et al., 2022). Численні дослідження останніх років присвячені покращенню умов утримання й годівлі кролів, підвищенню їх продуктивних і репродуктивних параметрів, а повноцінне використання генетично обумовленого потенціалу відтворної здатності залежить як від самця, так і від самиці (Лесик, 2013; Штапенко зі співав., 2017; Огороднічук, 2022). Ефективність відтворення кролів залежить від багатьох факторів, тому необхідним є розуміння їх впливу для покращення результатів фертильності (Brun et al., 2016; Parada-Bustamante et al., 2016; Ruiz-Conca et al., 2020).

Відомо, що кролиці є рефлекторно-овулюючим видом, що потребує генерації генітально-соматосенсорних сигналів під час коїтусу для активації норадренергічних нейронів середнього мозку та стовбура мозку і формування преовуляторного піку гонадотропін-релізинг гормону (ГнРГ) (Ratto et al., 2019; Gardela et al., 2020). Таким чином, якщо овуляція у кролиць не може індукуватися без сенсорної стимуляції за використання методу штучного осіменіння (ШО), через відсутність стимуляції через коїтус, є необхідним використання аналогу гормону, відповідального за індукцію овуляції, який може бути введений внутрішньом'язовим, внутрішньовенним або інтравагінальним шляхами (Сливчук зі спіав., 2017; Viudes-de-Castro et al., 2023).

ШО є високоефективною репродуктивною технологією, що набула використання у практиці господарств з утримання кролів (Vicente et al., 2012; Gardela et al., 2020). Стандартна методика ШО у кролівництві, що була поступово впроваджена понад 20 років тому, передбачає внутрішньом'язову ін'єкцію аналогів ГнРГ (гонадореліну, бусереліну, триптореліну, лециреліну

тощо) для індукції вивільнення лютеїнізуючого гормону (ЛГ) з гіпофіза (Rebollar et al., 2012). Ефективність ШО залежить як від фізіологічного стану самиці, так і від якості еякуляту самця, особливо його редокс-статусу (Casares-Crespo et al., 2016; Sanchez-Rodriguez et al., 2020; Koshevoy et al., 2021). Враховуючи те, що використання ШО у європейському кролівництві стало поширеною практикою в Європі та в даний час застосовується більш ніж у 80 % країн Європейського Союзу, актуальними є дослідження стану статевої системи у кролиць, що піддавалися гормональним обробкам (Дудаш, 2009; Агій зі співав., 2011; Casares-Crespo et al., 2018).

Гормональні обробки самиць для стимуляції охоти і індукції овуляції, як правило, включають екзогенне введення аналогів ГнРГ, ефективність якого поліпшується одночасним застосуванням органічних фітозасобів, стимуляторів, тощо (Štochmal'ová et al., 2015; Elkomy et al., 2021; Viudes-de-Castro et al., 2023). Іншою особливістю гормональних обробок, що забезпечує підвищення плодючості з одночасним зменшенням кількості осіменінь, необхідних для заплідненості кролиць, є можливість повторного використання протягом 3-4 репродуктивних циклів, після чого відзначають втрату їх ефективності (Rebollar et al., 2006).

Застосування даної групи препаратів обмежується даними щодо їх негативних наслідків на здоров'я кролиці та приплоду, а також можливий негативний вплив на людину при споживанні продукції отриманої від оброблених тварин, що особливо актуальним стало з огляду на концепцію «Єдине здоров'я» (Hughes & Watson, 2018; Miller & Leach, 2023). Наприклад, показано негативний вплив різних доз аналогу ГнРГ – лециреліну, введених внутрішньом'язово під час осіменіння, на заплідненість, загальну кількість кроленят на послід, кількість мертвонароджених і частоту абортів (Zapletal & Pavlík, 2008). Також повідомлялося про такі недоліки, як негативні побічні ефекти на гормональний фон кролиць та низький ріст посліду через відсутність годівлі за раннього відлучення (Karsch et al., 1997; Rebollar et al., 2008; Беседовська, 2013).

Фертильність кроликів підвищувалася після введення гонадотропінів – сироваткового (гонадотропіну сироватки жеребих кобил, ГСЖК) або хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) (Brouillet et al., 2012; Cole, 2012; Salem et al., 2020). Відсутність гонадотропінів викликає розвиток субоптимального внутрішньоутробного середовища, що може перешкоджати росту плода та знижувати вагу при народженні (Albu et al., 2014; Salem et al., 2020). Поширеного застосування за стимуляції овуляції набули наступні гормональні засоби: хоріонічний гонадотропін (Harkness and Wagner, 1995), сироватковий гонадотропін (Lucia et al., 1999) та аналог ГнРГ – бусерелін (Flecknell, 2005), проте даних щодо безпечності застосування цих засобів обмаль. Також часто користуються методикою додавання аналогів ГнРГ до спермодози, проте їх ефективність знижується за рахунок дії ензимів сперміїв, тощо (Quintela et al., 2004; Gogol, 2016).

Таким чином, дослідження особливостей впливу тривалого застосування засобів стимуляції овуляції у кролиць – сироваткового і хоріонічного гонадотропінів та аналогу ГнРГ, з морфологічним та гормональним обґрунтуванням їх ефективності та безпечності є актуальним науковим завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є частиною ініціативної теми з державною реєстрацією кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету (ДБТУ) «Розроблення та впровадження інноваційних методів та рішень з використанням інформаційно-технічних приладів у ветеринарній репродуктології» (термін виконання 2015-2025 рр., номер державної реєстрації 0114U005415). Крім того, окремі дослідження були проведені здобувачкою в рамках ПНД НААН № 28 «Нано- і біотехнології у тваринництві» з виконання науково-дослідних робіт 28.00.02.12.ПШ «Визначити вплив різних схем гормональної стимуляції фолікулогенезу на репродуктивну систему кролиць» (номер державної реєстрації 0118U000223) та 28.00.02.14.ПШ «Визначити вплив тривалої періодичної дії гонадотропних

препаратів різного складу на репродуктивну систему кролиць» (номер державної реєстрації 0119U001242), що виконувалися у відділі біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва НААН.

Мета та завдання дослідження. *Мета досліджень* – експериментально обґрунтувати застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів за стимуляції фолікулогенезу у кролиць.

Досягнення цієї мети зумовило визначення наступних *завдань*:

- проаналізувати ефективність застосування гормональних засобів стимуляції овуляції та фолікулогенезу за показниками відтворної здатності кролиць;
- встановити динаміку заплідненості кролиць за тривалого застосування гонадотропінів для стимуляції фолікулогенезу;
- охарактеризувати макроскопічні особливості органів статеві системи кролиць за використання гонадотропіних засобів;
- оцінити гістоморфологію яєчників сукрольних кролиць за застосування аналогу гонадотропін-релізінг-гормону;
- провести морфологічну оцінку органів статеві системи кролиць за овуляторної стимуляції гонадотропіном сироватки жеребих кобил у різних дозах;
- визначити особливості морфологічної структури яєчників кролиць за комбінованого застосування гонадотропінів для індукції овуляції;
- провести порівняльний аналіз кількісного складу фолікулів яєчників кролиць за застосування різних гормональних засобів;
- встановити динаміку гормонального фону та визначити безпечність тривалого застосування гонадотропінів за вмістом статевих гормонів у м'ясі кролиць.

Об'єкт дослідження – статева система кролиць за дії гормональних засобів для стимуляції овуляції та фолікулогенезу.

Предмет дослідження – показники відтворної здатності, динаміка заплідненості кролиць, морфологічна характеристика функціональних

компаратментів яєчників за стимуляції фолікулогенезу, гормональний баланс і рівень статевих гормонів у м'ясі самиць.

Методи дослідження – клінічні (загальний стан тварини, огляд, пальпація, тощо), репродуктологічні (аналіз ефективності ШО, розроблення протоколів стимуляції овуляції, оцінка відтворної здатності), морфологічні (макро- і мікроскопічні), гормональні (визначення рівня гормонів у сироватці крові і їх вмісту у м'ясі), статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента та аналізу ANOVA).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше на основі комплексних досліджень морфологічних та гормональних досліджень обґрунтовано застосування гонадотропінів і аналогу ГнРГ у протоколах стимуляції овуляції у кролиць.

Отримано нові наукові дані щодо впливу на відтворну здатність кролиць і гістологічну будову їх статевих залоз за овуляції, індукованої підшкірним введенням аналогу ГнРГ. Встановлено, що у першому і другому репродуктивних циклах кролиці мають низьку сприйнятливість до дії аналогу ГнРГ, що виявляється низькими показниками заплідненості і багатоплідності самиць даної групи. За тривалого введення аналогу ГнРГ на морфологічному рівні у них визначено переважання лютеїнових структур та ознаки асинхронного характеру овуляцій. Зазначимо, що у самиць були виявлені особливості гормонального фону, а саме – поступове зниження ендокринної функції яєчників (зменшення рівня ЛГ і 17β -Е протягом експерименту), тенденцію до зниження рівня ФСГ і прогестерону.

Уперше виявлено дозозалежність впливу ГСЖК за тривалого введення кролицям, що позначалося на їх фертильності і функціональному стані статевих залоз. Так, на початку експерименту встановлено підвищення репродуктивних показників порівняно з даними контролю, які наприкінці експерименту поступово зменшувалися. Було виявлено численні апоптози ооцитів у тварин п'ятого репродуктивного циклу за введення ГСЖК у дозі 40 МО, при чому відзначали помітне зменшення товщини фолікулярної зони

кіркової речовини яєчників. Відмітимо, що на початку експерименту гормональний фон кролиць зазнавав позитивної динаміки – рівні ФСГ, ЛГ і 17 β -Е були вище значень контрольної групи, тоді як наприкінці експерименту характеризувалися різноспрямованими змінами, що порушували гормональний баланс. За тривалого введення ГСЖК у дозі 25 МО відзначено зменшення негативного впливу даного препарату на стан яєчників за тривалого застосуванні – по-перше, відтворна здатність кролиць була на рівні групи контролю, по-друге, морфологічно встановлено більшу кількість примордіальних і первинних фолікулів у кірковій речовині та зменшення частини ооцитів з деструктивними змінами, і, нарешті, було виявлено позитивний вплив за рахунок зростання рівня ФСГ, ЛГ, прогестерону порівняно з контрольною і дослідної групою 1.

Уперше показано негативний вплив тривалого комбінованого застосування гонадотропінів. Наслідки застосування комбінації ГСЖК з ХГЛ призводили до значного зменшення багатоплідності кролиць у обох дозуваннях та зростання кількості осіменінь за введення 40 МО. Аналізуючи гормональний стан організму кролиць даних груп було виявлено, що у дослідній групі 3 протягом експерименту спостерігали стійкий стан гіперпрогестеронемії, що узгоджується з даними гістоморфології яєчників та відповідає патоморфологічній картині синдрому гіперстимульованих яєчників – дегенеративні зміни в ооцитах примордіальних фолікулів, виразна судинна реакція з явищами венозного застою. Напроти, у кролиць дослідної групи 4 гістологічно визначені непрямі ознаки явища гіперандрогенії, що було підтверджено значним зростанням рівня тестостерону у сироватці крові протягом експерименту.

Уперше було визначено рівні стероїдних гормонів – тестостерону і естрадіолу у м'ясі кролиць за гормонально індукованої овуляції. Важливо відмітити, що в усіх групах кролиць перевищення нижньої межі рівня статевих гормонів відзначено не було, що підтверджує безпечність запропонованих протоколів стимуляції овуляції для споживача.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами досліджень запропоновано науково обґрунтовані протоколи стимуляції овуляції у кролиць із застосуванням гонадотропіну сироватки жеребих кобил та аналогу ГнРГ для отримання максимальної кількості здорового приплоду і збереженості репродуктивного здоров'я. Також наголошено на недопущення тривалого комбінованого застосування ГСЖК з хоріонічним гонадотропіном людини, що призводить до негативних змін фолікулярного апарату яєчників кролиць, викликаючи у них незворотні зміни.

Результати досліджень увійшли до науково-методичних рекомендацій «Застосування гормональних засобів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць» (затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету МОН України, протокол № 6 від 31 травня 2024 р.), що апробовано у господарствах Харківської і Черкаської областей і рекомендовано до застосування. Основні результати досліджень впроваджено до навчального процесу і науково-дослідної роботи на кафедрах закладів вищої освіти України, що підтверджено відповідними актами наведеними у додатку В.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною науковою роботою авторки. Здобувачкою здійснено аналіз наукових джерел за темою роботи, проведено експериментальні дослідження, опрацьовано первинні дані і здійснено їх статистичну обробку, проаналізовано й узагальнено одержані результати. Планування етапів роботи, обговорення результатів досліджень, висновки та практичні пропозиції проведено за методичної допомоги наукового керівника – доктора ветеринарних наук, професора С. В. Науменко.

Апробація результатів дисертаційної роботи. Основні результати досліджень дисертації доповідались і схвалені на звітних науково-практичних конференціях за підсумками науково-дослідної роботи науковців, науково-педагогічних працівників, аспірантів та студентів (м. Харків, 2019-2021 р.), а також: науково-практичному семінарі «Сучасне кролівництво: методики годування, лікування та імунопрофілактики» (с. Іваньки, 2019 р.); міжнародній

науково-практичній конференції «Репродуктивна патологія тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики», присвяченої 80-річчю від дня народження проф. Кошевого В. П. (м. Харків, 2019 р.); науково-практичній конференції «Vet Winter Days – 2019» (м. Харків, 2019 р.); VI міжнародній науково-практичній конференції «Priority directions of science and technology development» (м. Київ, 2021 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Аграрна галузь сучасної України: проблеми та перспективи розвитку» (м. Слов'янськ, 2021 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти біологічної безпеки за емерджентних інфекційних хвороб тварин у контексті стратегії ООН «Єдине здоров'я», присвяченій 100-річчю заснування ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН (м. Харків, 2023 р.); IX всеукраїнській науково-практичній конференції «Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині» (м. Полтава, 2024 р.); IV науково-практичній міжнародній дистанційній конференції «Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин» (м. Харків, 2024 р.); XX міжнародному форуму молоді «Молодь і індустрія 4.0 в XXI столітті» (м. Харків, 2024 р.).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи викладено у 10 наукових працях, з них 1 стаття у періодичному науковому виданні, включеному до наукометричної бази даних *Scopus*, 4 статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 1 науково-методичні рекомендації та 4 тези доповідей наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертаційної роботи. Дисертацію викладено на 167 сторінках комп'ютерного тексту, вона містить анотації, вступ, огляд літератури, матеріали і методи виконання досліджень, результати, їх аналіз і узагальнення, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел та додатки. Роботу проілюстровано 38 рисунками й 12 таблицями. Бібліографія містить 238 джерел, у тому числі – 200 латиницею.

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ВІДТВОРНОЇ ЗДАТНОСТІ КРОЛИЦЬ ТА ГОРМОНАЛЬНІ ЗАСОБИ, ЩО СТИМУЛЮЮТЬ ОВУЛЯЦІЮ, ФОЛІКУЛОГЕНЕЗ, ЇХ ХАРАКТЕРИСТИКА ТА УСКЛАДНЕННЯ, ВИКЛИКАНІ НИМИ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.

Домашній кролик *Oryctolagus cuniculus* походить від європейського дикого кролика, що належить до роду *Oryctolagus* і разом із зайцями (рід *Lepus*) складають родину *Leporidae* і на сьогодні, представлений широким порідним різноманіттям (Стрижак зі співав., 2021). Кролики утримуються як домашні улюбленці, але найбільш поширено розводяться промислово, задля отримання дієтичного м'яса, а також хутра, переважно в теплих країнах Європи з м'якими кліматичними умовами (Petracci et al., 2020). Споживання кролячого м'яса історично було найвищим в регіоні Середземномор'я, проте, останнім часом вирощування кролів стало набувати розповсюдження в країнах Америки та Азії (Petracci & Cavani, 2013; Li et al., 2018).

Зростає інтерес до використання кролів як лабораторних тварин, особливо в сфері репродуктології й інших медико-біологічних наукових дослідженнях (Viudes-de-Castro et al., 2017; Vikulina et al., 2024). Вони добре підходять як модельні організми для фундаментальних і прикладних репродуктивних експериментальних досліджень, що обумовлено їх схожістю за хронологією ембріонального розвитку людини і, особливо, як вид з рефлекторною овуляцією, що стимулюється спарюванням, а також внаслідок раннього статевого дозрівання, короткого терміну вагітності, високої плодючості і невеликих розмірів (Püschel et al., 2010; Fischer et al., 2012; Adams et al., 2016).

Апробація і впровадження допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) на різних видах тварин обмежується ендокринним дисбалансом, викликаним індукцією овуляції/суперовуляції, що впливає на вирішальні етапи запліднення та раннього розвитку ембріона (Pelican et al., 2006). З цієї точки зору, кролиці є перспективною моделлю для покращення багатьох ДРТ –

інтрацитоплазматичної ін'єкції сперміїв, отримання ембріонів, їх трансферу або кріоконсервування, а також удосконалення способів штучного осіменіння (ШО) за промислового розведення кролів (Piles et al., 2013; Garcia-Dominguez et al., 2019).

Інтенсивне ведення кролівництва із використанням нових генотипів молодняку сприяє зростанню вимог щодо забезпечення генетичного потенціалу продуктивності (Voiko et al., 2021). Забезпечення повноцінної реалізації генетичного потенціалу сучасних порід кролів можливе за чіткого дотримання норм годівлі, умов утримання й використання кролів репродуктивного стада (Myroshnychenko & Zhorina, 2021; Skibina et al., 2021). Серед численних факторів, що впливають на стан здоров'я кролиць та їх відтворну здатність, провідне значення мають нутрицевтики – мікроелементи (Цинк, Йод, Сульфур, тощо), їх метаболізм та енергетичне живлення залежно від вікових і породних умов та пори року (Voiko et al., 2020a; Lesyk et al., 2022).

Проблемою сучасного вирощування кролів у світі є застосування нових добавок в раціонах та дія чинників довкілля, що негативно впливають на гематологічні показники та організм тварин в цілому, внаслідок чого, вивчення гомеостазу у кролів може допомогти у коригуванні вмісту деяких поживних речовин у раціоні (Lesyk et al., 2020; Voiko et al., 2020b). Подібні завдання поставлені і перед науковцями-репродуктологами – вивчення факторів, що позитивно або негативно впливають на виникнення овуляції у кролиць ускладнюється відсутністю відповідного методу моніторингу яєчників *in vivo* (Cervantes et al., 2015). Великий обсяг наукових досліджень щодо комбінованого застосування кормових добавок органічного походження з гормональними засобами індукції овуляції та стимуляції охоти мають обмежену кількість даних щодо безпечності останніх за тривалого застосування (Naumenko & Koshevoy, 2017; Salem et al., 2020; Koshevoy et al., 2023). При цьому, необхідно враховувати як фізіологічні особливості даного виду тварин, так і наявні дані щодо впливу засобів стимуляції овуляції та особливості їх використання у інших видів (Hashem & Gonzalez-Bulnes, 2020).

1.1 Забезпечення репродуктивного здоров'я кролиць та особливості відтворної здатності, що чинять на нього вплив

Відомо, що за промислового вирощування кролиці піддаються репродуктивному ритму, який не враховує їх благополуччя або фізіологію, що призводить до зниження тривалості життя і, як наслідок, високої щорічної заміни / вибракування (Hashem & Gonzalez-Bulnes, 2020). Рекомендаціями Європейського агентства безпеки харчових продуктів (EFSA) наголошено обмеження щодо гормональної терапії, необхідності зменшення застосування гормонів за стимуляції овуляції та фолікулогенезу, а також пошук альтернативних методів, що можуть замінити їх без шкоди добробуту тварин (Munari et al., 2019).

Кролики є рефлекторно овуляційним видом, а нейроендокринні та сенсорні стимули діють у них поєднано, що фізіологічно забезпечує преовуляторний сплеск лютеїнізуючого гормону (ЛГ) та овуляторну реакцію (Rebollar et al., 2012). Індукований спарюванням вихід гонадотропін-рилізінг гормону (ГнРГ) у кролиць має набагато вищий рівень, ніж у інших видів, та викликає негайне вивільнення ЛГ з передньої частки гіпофіза, що призводить до овуляції (Bakker & Baum, 2000; Gardela et al., 2020). Рівень ЛГ у плазмі крові починає підвищуватися протягом 3 хв після спарювання і досягає максимуму протягом 15-75 хв. (Rebollar et al., 2012).

Овуляція індукується приблизно через 10 год. після коїтусу або стимуляції ГнРГ, а запліднення відбувається через 2-3 год. після овуляції. Всі ці події є результатом ендокринної та нейронної взаємодії, в основному пов'язаної зі спарюванням, але, можливо, в узгодженому зв'язку з проникненням сперми та їх впливом на геномну реакцію статевих шляхів кролиці, як було показано раніше в інших видів (Robertson, 2005; Druart, 2012; Alvarez-Rodriguez et al., 2019).

Після настання овуляції незапліднені ооцити мігрують уздовж половини загальної довжини яйцевода протягом перших 2 год після овуляції. Одночасно

(через 2-3 год після овуляції) запліднення відбувається біля ампули. Ембріони затримуються в місці з'єднання ампула-перешийок до 48 год після спарювання, а потім проходять через частину перешийка через 70 год після спарювання, щоб, нарешті, пройти через матково-трубне з'єднання і потрапити в матку (Braden, 1953; Greenwald, 1961; Gardela et al., 2020).

У цей момент, незабаром після сплеску ЛГ, починається овуляція і відбувається розрив зрілих фолікулів яєчників. Після вивільнення ооцитів у цьому місці виробляється запальна відповідь, дуже схожа на інші запальні реакції, стимульована різноманітними змінами в репродуктивному тракті, включаючи ангиогенез, проникність судин і вичерпну клітинну диференціацію, а також вироблення медіаторів, пов'язаних із запальними процесами, наприклад стероїдів, простагландинів та цитокінів, які, у свою чергу, можуть, вивільнятися після розриву фолікула (Richards et al., 2008; Duffy et al., 2019).

Це також може бути підтверджено прямим виявленням у десять разів вищих рівнів загального кортизолу у фолікулярній рідині після сплеску ЛГ, а також підвищенням активності дегідрогеназ під час лютеїнової фази порівняно з фолікулярною фазою, відповідальної за перетворення кортизолу в активний кортизол. У цьому контексті вплив стероїдних гормонів, що модулює матку, для підготовки відповідного середовища для імплантації ембріона (Harlow et al., 1997; Thurston et al., 2007; Gong et al., 2008). У зв'язку з цим, необхідні прозапальні ефекти естрадіолу в матці, включаючи набряки, підвищену васкуляризацію та підвищення імунної антибактеріальної активності, антагонізуються дією кортизолу у різних видів ссавців, включаючи щурів, бабуїнів та овець, а також можуть застосовуватися до індукованих видів овуляції (Rhen et al., 2003; Witorsch, 2016). Також було продемонстровано, що кортизол сприяє складній дії естрогену, блокуючи диференціювання, розвиток і ріст клітин в матці, що може пригнічувати прикріплення ембріона, інвазію трофобласта та імплантацію (Ryu et al., 1999; Rhen & Cidlowski, 2006).

Велике значення в овуляторній стимуляції має рівень естрогенів і час осіменіння кролиць. Було доведено, що у самиць сплеск ЛГ відбувався через

30 хв після ін'єкції ГнРГ, при чому, найнижчий рівень даного гормону був виявлений за проведення ШО натщесерце, натомість найвищий – у тварин з високим рівнем естрогеном. Таким чином, голодування диференційовано модифікує рівень ГнРГ у гіпофізі залежно від присутності гормонів статевих залоз, що вказує на складну взаємодію між метаболічними сигналами та стероїдами яєчників (Parillo et al., 2014). На противагу цьому, у неспарованих кролиць концентрації естрадіолу, прогестерону та гонадотропінів залишаються на базальному рівні (Dall'Aglio et al., 2013).

Важливо враховувати, що під час спарювання у кролиць відбувається відкладення еякуляту, яке впливає на молекулярні та клітинні функції, як у місці запліднення, так і віддалених від нього (Parada-Bustamante et al., 2016). Вагінальне відкладення приблизно 1 мл еякуляту після спарювання, що містить близько 300 млн сперміїв, забезпечує заплідненість (Rosa et al., 2005). У кролиць протягом декількох хвилин спермії досягають яйцепроводу, хоча лише невелика їх кількість прикріплюється до його епітелію. Незабаром після овуляції відбувається поступове вивільнення сперміїв з резервуара і переміщення їх до місця запліднення (Morton & Glover, 1974; Suarez, 2016; Gardela et al., 2020).

Найважливішими гормонами, що використовуються для управління фертильністю у тваринництві, є гонадотропіни, прогестерон, естрадіол, тестостерон, мелатонін і простагландини, проте ефективність їх залежить від фармакокінетики і фармакодинаміки (Hashem & Gonzalez-Bulnes, 2020; 2021). Наприклад, деякі гормони, такі як ГнРГ і простагландин F2 α , мають низьку молекулярну масу і короткий термін життя, що обмежує їх транспорт до клітин-мішеней і, отже, їх біологічну активність. Інші гормони, зокрема глікопротеїнові гонадотропіни (ФСГ; ЛГ; eCG; hCG), можуть стимулювати утворення специфічних антитіл, що призводить до рефрактерності повторних гонадотропних обробок у різних видів сільськогосподарських тварин (De Castro et al., 2009; Forcada et al., 2011; Hashem & Gonzalez-Bulnes, 2021).

На нашу думку, необхідно розглядати взаємозв'язок між гормонами, що приймають участь в реалізації репродуктивної здатності кролиць, враховуючи їх будову, особливості синтезу й біологічні ефекти. Для дослідження нами було обрано п'ять – ФСГ і ЛГ, естрадіол, прогестерон і тестостерон. Розглянемо поокремо основні характеристики вищезазначених гормонів.

Лютеїнізуючий гормон (ЛГ) є гормоном білкової природи, що утворюється в аденогіпофізі. По суті даний глікопротеїн складається з двох субодиниць (α і β), пов'язаних між собою нековалентними зв'язками. Обидві субодиниці мають олігосахаридні фрагменти, а біосинтез α - і β -субодиниць здійснюється у вигляді неактивних попередників, при чому біологічну активність гормону визначає β -субодиниця (Vyambaragchaa et al., 2021). Біологічна роль ЛГ полягає в регуляції функцій статеві системи тварин, він разом із ФСГ об'єднується під загальною назвою «гонадотропні гормони», синтез і секреція яких стимулюється гонадоліберином гіпоталамуса (Burov et al., 2019; Науменко зі співав., 2024).

Продукція ЛГ контролюється за принципом негативного зворотного зв'язку з рівнем статевих гормонів: підвищення естрогенів та андрогенів у крові гальмує виділення ЛГ; зниження функціональної активності статевих залоз стимулює секрецію ЛГ (Dal Bosco et al., 2011). Гормон зв'язується зі специфічними рецепторами плазматичних мембран клітин яєчників у організмі самиць і стимулює утворення прогестерону. В організмі кролиць залежний від естрадіолу пік секреції ЛГ у середині статевого циклу стимулює овуляцію та формування жовтого тіла в яєчниках. Після запліднення та імплантації яйцеклітини функція ЛГ переходить до гормону плаценти – хоріонічного гонадотропіну (Sirotkin et al., 2014). Порушення синтезу, секреції чи рецепції ЛГ спостерігаються при численних спадкових і набутих захворювань, що може призвести до різних форм ураження репродуктивної функції. У практиці ветеринарної медицини в якості препарату, що має активність ЛГ, використовується хоріонічний гонадотропін, який застосовують

при зниженні функції статевих залоз у самиць, зумовленого порушенням діяльності гіпоталамуса і гіпофіза (Beasley et al., 2023).

Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) – гонадотропний гормон, що виділяється базофільними клітинами аденогіпофізів. За хімічною природою є складним білком глікопротеїном, який у самок стимулює розвиток фолікулів до моменту овуляції, посилює синтез естрогенів, підвищує чутливість статевих залоз до лютропіну. Регуляція синтезу ФСГ здійснюється рилізінг-гормоном гіпоталамічної ділянки мозку – фоліберином і за принципом зворотного зв'язку – вмістом у крові андрогенів та естрогенів (Laborde et al., 1981; Moore and Hasler, 2017).

Естрадіол – стероїдний статевий гормон, основний та найактивніший представник групи естрогену, що виробляється фолікулярним апаратом яєчників та наднирковими залозами, а під час вагітності практично увесь естрадіол продукується в плаценті (Chai et al., 2017; Abdel-Khalek et al., 2022). Як й решта естрогенів, естрадіол відповідає за розвиток вторинних статевих ознак, визначає характерні фізичні особливості організму самиць (Meibes et al., 2015).

Концентрація естрадіолу істотно змінюється впродовж нормального статевого циклу (Jolivet et al., 2022). Його рівень зберігається невисоким протягом початку і середини фолікулярної фази статевого циклу. За 3-5 днів до викиду гіпофізом ЛГ рівень естрадіолу починає зростати і сягає максимуму приблизно за 12 годин до викиду ЛГ. Через 48 годин після максимальних значень, рівень естрадіолу знижується і знову починає збільшуватися. Максимальна концентрація досягається на 9-й день після виходу яйцеклітини, і потім до кінця статевого циклу концентрація гормону знову зменшується (Li et al., 2021). Разом з прогестероном він контролює найважливіші процеси, що відбуваються в статевій системі самиць. Крім того, він відповідає за циклічні зміни в піхві, ріст тканин ендометрія та молочних залоз (Zhang et al., 2017).

За участі тестостерону відбувається регуляція водно-сольового обміну, об'єму жирової тканини і функціонування сальних залоз, а недостатнє його

продукування цього гормону підвищує ризики прояву патологій серця і судин (Garcia-Garcia et al., 2009; Koshevoy et al., 2021). Певний рівень тестостерону відповідає за нормальне формування яйцеклітини та функціонування репродуктивної системи самиці, тоді як, надлишок його, як і нестача, призводить до розвитку неплідності. Андрогенодефіцит викликає зниження показників росту кролиць із втратою м'язової маси, також тестостерон забезпечує повноцінне функціонування кісткової тканини і її щільність (González-Mariscal et al., 2007).

Прогестерон є гормоном жовтого тіла (тимчасової залози внутрішньої секреції, що утворюється в яєчнику з розірваного граафового фолікула після овуляції), здатним викликати перехід слизової оболонки матки з фази проліферації, спричиненої фолікулярним гормоном, у секреторну фазу, а після запліднення – переходу у стан, необхідний для розвитку заплідненої яйцеклітини (Kowalewski et al., 2020). Даний гормон зменшує збудливість і скоротливу здатність мускулатури матки і маткових труб, стимулює розвиток кінцевих елементів молочної залози (Peiró et al., 2010). У малих дозах стимулює, а у великих – пригнічує, секрецію гонадотропних гормонів. Гальмує дію альдостерону, що призводить до посилення секреції Натрію і Хлору із сечею, чинить катаболічну та імунодепресивну дію (Hoffman et al., 2009; Abd-Elkareem, 2017).

Кролиці у першому репродуктивному циклі не здатні виробляти достатню кількість прогестерону через недостатню розвиненість жовтого тіла. Якщо вагітність відсутня, жовте тіло виродиться ближче до кінця естрального циклу (Salem et al., 2020). Низькі концентрації прогестерону до штучного запліднення динамічно змінюються з настанням вагітності (Ubilla et al., 2001). Відомо, що хоріонічний гонадотропін людини (ХГЛ) після зв'язування з рецепторами ЛГ може провокувати додатковий синтез *P4*. Stevenson et al. (2007) підтвердили, що ХГЛ викликав додатковий природний синтез *P4* з допоміжних лютеїнових клітин після зв'язування з рецепторами ЛГ.

1.2 Засоби індукції овуляції у кролиць за штучного осіменіння, методи їх застосування та проблематика ефективності

Протягом багатьох років дискусійним залишається питання гормональних обробок кролиць під час проведення штучного осіменіння (ШО) – починаючи від дозування, можливої кратності обробок та ризиків пов'язаних з ними, до пошуку альтернативних засобів і способів підвищення відтворної здатності самиць даного виду. За рекомендаціями *British Small Animal Veterinary Association (BSAVA)*, що наведені у одному з останніх видань *BSAVA Manual of Rabbit Medicine* за редакцією Meredith A. та Lord B. (Університет Единбургу, Великобританія), для стимуляції фолікулогенезу у кролиць рекомендують застосувати лише два гормональні засоби (табл. 1).

Таблиця 1

Гормональні засоби та особливості їх застосування для індукції овуляції у кролиць за рекомендаціями *BSAVA*

| Рекомендований засіб | Дозування й особливості застосування | Вплив на статеву функцію кролиць |
|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| Хоріонічний гонадотропін | 20-25 МО, внутрішньовенно | Індукція овуляції у кролематок |
| Аналог ГнРГ – бусерелін | 0,2 мл на кролицю, підшкірно | |

За походженням ГнРГ можна розділити на дві групи: природні і синтетичні аналоги. Синтетично вироблені ГнРГ включають в себе аналог натурального ГнРГ, гонадорелін і синтетичні аналоги ГнРГ, часто звані супераналогами. Виробництво гонадореліну з гіпофіза великої рогатої худоби було заборонено в країнах ЄС через неможливість виявлення потенційної наявності пріонів губчастоподібної енцефалопатії у вихідній сировині (Zapletal & Pavlik, 2008).

Застосування аналогів ГнРГ обумовлено їх провідним впливом на функціонування статевих залоз кролиць за ШО. Так, овуляція і утворення жовтого тіла, преовуляторний сплеск рівня ЛГ в плазмі крові і постовуляторне підвищення концентрації прогестерону були виявлені тільки у кролиць, які отримували ГнРГ (Cervantes et al., 2015).

Синтетичні аналоги ГнРГ позитивно впливають на період імплантації, зменшуючи негативний вплив фолікулярних хвиль та покращуючи лютеїнову функцію у великої рогатої худоби та овець при його введенні протягом 6-11 днів після запліднення. У свиней він впливає на рівень прогестерону під час виношування плоду, підвищуючи потенціал збереженості розвиток плода (Vicente et al., 2011).

Додавання гормонального аналога до спермодози за інтравагінального введення є найменш стресовим способом індукції овуляції (Fernández-Serrano et al., 2017; Viudes-de-Castro et al., 2023). Важливо відмітити, що індукція овуляції у штучно запліднених кролиць шляхом додавання аналогів ГнРГ до спермодози є орієнтованим на благополуччя та може мати деякі переваги за практичного використання (Viudes-de-Castro et al., 2014).

Quintela et al. (2004) довели, що бусерелін, використаний для індукції овуляції у кролів, за додавання до спермодозу сприяє аналогічними результатам ШО, як і за внутрішньом'язового введення. Результати Gogol (2016) показали, що етиламід [des-Gly10, D-Ala6]-LH-RH, доданий безпосередньо до дози сперми, може ефективно стимулювати овуляцію у кроликів. Було доведено, що 10 мкг етиламиду [des-Gly10, D-Ala6]-LH-RH на самицю є достатнім для отримання результатів ШО, порівняно з такими, що отримані при внутрішньом'язовому введенні бусереліну.

З іншого боку, відомо, що введення етиламиду [des-Gly 10, D-Ala6]-LHRH в якості індуктора овуляції, не викликає збільшення плодючості кролематок, а отже має низьку економічну ефективність (Quintela et al., 2009). Фармакологічні дози лейпроліду ацетату також можуть чинити негативний вплив на функцію ооцитів шляхом прямої дії або через втручання в індуковані

гонадотропіном біологічні ефекти в яєчнику (Zanagnolo et al., 1996). Зроблено висновок, що біодоступність різних аналогів ГнРГ за додавання до спермодози, визначається активністю амінопептидаз, а також екстендер, що використовується для приготування доз штучного запліднення (Viudes-de-Castro et al., 2014).

Зауважимо, що широкого застосування методика введення індукторів овуляції до спермодози не досягла, перш за все, тому що важко визначити оптимальну дозу ГнРГ для інтравагінального введення, оскільки інтравагінальна абсорбційна здатність приблизно в 10 разів є меншою, ніж внутрішньом'язова (Munari et al., 2019). Також через високу активність ензимів, присутніх в плазмі сперми кролів, і поганою проникністю слизової оболонки піхви, кількість аналога, необхідної для успішної індукції овуляції вагінальним шляхом, може в 20-30 разів перевищувати дозу, необхідну для внутрішньом'язового введення (Viudes-de-Castro et al., 2023).

Перспективним є застосування наночастинок хітозану-декстрану, як носія для бусереліну ацетату, що дозволяє знизити концентрацію гормону додану в екстендер, не впливаючи на фертильність та плодючість кролиць (Casares-Crespo et al., 2018). Таким чином, не зважаючи на певні досягнення у розробці засобів інтравагінального призначення, переважна більшість приватних кролеферм продовжує використовувати внутрішньом'язовий і підшкірний способи введення гормональних засобів індукції овуляції у кролиць (Мирошніченко & Жоріна, 2021).

1.3 Біохімічні особливості, методи одержання й сфера застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів

Серед гонадотропінів, що використовуються для овуляторної стимуляції, виділяють сироватковий гонадотропін (*eCG*) та хоріонічний (*hCG*). *hCG* після зв'язування з рецепторами лютеїнізуючого гормону (ЛГ) може провокувати додатковий синтез прогестерону з допоміжного жовтого тіла шляхом збільшення секреції інтерферону, що сприятиме підтримці вагітності (Spencer & Bazer, 1996; Salem et al., 2020). Stevenson et al. (2007) підтвердили, що *hCG* викликає додатковий синтез прогестерону з допоміжних лютеїнових клітин.

Проте, широкому застосуванню *hCG* перешкоджають його висока вартість і обмежена кількість на фармацевтичному ринку. Натомість, *eCG*, що є важливим гормоном, який виробляється плацентою вагітних кобил і видобувається з їх крові, широко використовується для покращення відтворної здатності свиней, корів, овець і кіз, а альтернативних джерел цього гормону на даний час не існує (Vilanova et al., 2019; Vyambaragchaa et al., 2021).

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine (2008) визначив, що *eCG* є основним замінником видоспецифічного фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) у самок ссавців через його довший період напіврозпаду, ФСГ-подібну активність та порівняно низьку вартість. Його використовують у ветеринарній медицині з метою індукції росту фолікулів яєчниками і збільшення частоти овуляції перед штучним осіменінням (Gomes et al., 2020).

eCG є глікопротеїновим гормоном, що виділяється трофобластичними епітеліальними клітинами фетального походження (Allen & Stewart, 1993; Legardinier et al., 2005). Синтез *eCG* триває приблизно до 110-го дня гестації (діапазон 100-140 днів). Вважається, що функція *eCG* у кобили полягає у сприянні розвитку допоміжних жовтих тіл (Horren, 1994). ЛГ, ФСГ та *eCG* – є гетеродимерами із загальною альфа-субодиницею та гормоноспецифічними пептидними ланцюгами β -субодиниці (Pierce & Parsons, 1981).

ЛГ коней і *eCG* мають ідентичні β -субодиниці, оскільки вони продукуються одним і тим же геном (Sherman et al., 1992). Таким чином, ці гормони мають схожу біологічну активність у кобили. Однак ЛГ та *eCG* мають різні патерни посттрансляційного глікозилювання, тому *eCG* має набагато довший період напіввиведення (Martinuk et al., 1991). Механізм дії ФСГ-подібної активності *eCG* повністю не з'ясований, вважається, що він зумовлений структурною схожістю між *eCG* та ФСГ (Murphy, 2012). Оскільки *eCG* може мати як ФСГ-, так і ЛГ-подібну активність, тому його можна використовувати для індукції як тічки, так і овуляції залежно від виду та дози, а для отримання *eCG* у кобил збирають великі об'єми цільної крові один або два рази на тиждень (Vilanova et al., 2019; Thompson et al., 2023).

Для підтримання вагітності у кобили, введення *eCG* має важливе значення для багатьох програм розведення домашніх і не домашніх тварин, особливо, що утримуються в неволі (Lucia et al., 1999; Liu et al., 2007; Thompson et al., 2023). У інших видів, крім коней, *eCG* індукує вивільнення як ЛГ, так і ФСГ (Crowe & Mullen, 2013). Застосування *eCG* забезпечує індукцію статевого дозрівання, підвищення фертильності та суперовуляцію (Murphy, 2012). Обидва гонадотропіни використовуються для індукції росту фолікулів і овуляції у незрілих свинок, стимуляції овуляції у інших тварин, а також для суперовуляції та програм перенесення ембріонів (De Rensis & López-Gatius, 2014). *eCG* також широко використовується для синхронізації тічки на свинофермах, за штучного осіменіння корів, внаслідок сприятливого впливу на ембріон, що розвивається (Cassar et al., 2010; Zhao et al., 2021).

hCG був відкритий після десятиліть тривалих досліджень багатьох першопрохідців. Так, у 1920 році Хіросе продемонстрував, що екстракти плаценти стимулюють овуляцію у кроликів і морських свинок (Cole, 2009; Yoo et al., 2021). У 1929 році було виявлено, що гіпофіз виділяє два гормони, які стимулюють статеві залози: пролан А і пролан В, які згодом стали добре відомими натепер фолікулостимулюючим і лютеїнізуючим гормоном відповідно. Чотирнадцять років по тому, в 1943 році Сігар-Джонс і його колеги

вперше продемонстрували, що речовина, виділена з сечі вагітних жінок, насправді синтезується гігантськими клітинами синцитіотрофобласта плаценти, а не гіпофізом (Lunenfeld, 2004; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2008). Очищений *hCG* вперше був виділений з сечі в 1940-х роках та лише значне пізніше – в 2000 році, стали доступні рекомбінантні препарати *hCG* (Gurin et al., 1940; Lunenfeld et al., 2019).

Довгий час основною відомою роллю *hCG* було сприяння секреції прогестерону жовтим тілом на ранніх термінах вагітності, що діє через рецептор *hCG* / ЛГ. Однак зовсім недавно було описано багато інших функцій ХГЛ не тільки в плаценті, але і в міометрії, матці і плоді (Cole, 2010; Heidegger & Jeschke, 2018). *hCG* сприяє ангиогенезу та судинному генезу в судинному руслі матки під час вагітності, відіграє важливу роль у зростанні та диференціації органів у плода (Berndt et al., 2009; de Medeiros & Norman, 2009). Важливим аспектом, здатним підвищувати заплідненість самиць за обробок *hCG* є його участь в якості однієї з ключових молекул за імплантації (Perrier d'Hauterive et al., 2007). *hCG* ефективно модулює метаболічні шляхи, що сприяє збільшенню сприйнятливості ендометрія (Makrigiannakis et al., 2017). Також зазначається перспективність застосування *hCG* в програмах терапії вторинного гіпогонадизму у самців (Fink et al., 2021).

Також існують методики комбінованого застосування гормональних засобів для стимуляції овуляції у кролиць. Наприклад, введення 25 МО *eCG*, а потім 0,2 мл ГнРГ або 75 МО *hCG* на кролицю через 48 год після ШО. Результати показали, що такими комбінаціями можна комплексно синхронізувати тічку/овуляцією, покращити показники відтворної здатності у кролиць, індукованих до овуляції одноразовою дозою *eCG* або *hCG* на 5-й день після ШО (El-Ratel et al., 2020).

Гонадотропіни, що широко використовуються для індукції овуляції та стимуляції еструсу в практичній репродуктології, володіють схожою дією, проте мають певні особливості (табл. 2).

Таблиця 2

Порівняльна характеристика сироваткового і хоріонічного гонадотропінів, що використовуються за штучного осіменіння

| Показник | Гонадотропін сироватки жеребих кобил (<i>eCG</i>) | | Хоріонічний гонадотропін людини (<i>hCG</i>) | |
|---|---|------------------------------|---|----------------------------|
| | Дані | Джерело | Дані | Джерело |
| Місце синтезу і джерело одержання | У плаценті вагітних кобил і видобувається з їх крові | Byambaragcha a et al. (2021) | Плацентою людини в материнську кров | Fournier (2016) |
| Хімічна будова, клітини-продуценти | глікопротеїновий гормон, що виділяється трофобластичними і епітеліальними клітинами фетального походження | Legardinier et al. (2005) | гетеродимерний глікопротеїн, що складається з двох субодиниць та секретується синцитіо-трофобластом | Heidegger & Jeschke (2018) |
| Вартість і кількість на ринку, наявність аналогів | Низька вартість і порівняно висока кількість на ринку, немає аналогів | Gomes et al. (2020) | Висока вартість і низька кількість на ринку, відсутність аналогів | Vilanova et al. (2019) |

Закінчення таблиці 2

| | | | | |
|---|---|------------------------|--|---|
| ФСГ/ЛГ-подібна активність і період напіврозпаду | Володіє ФСГ- та ЛГ-подібною активністю, при цьому має більший період напіврозпаду | Thompson et al. (2023) | Виражена ЛГ-подібна та ФСГ-подібна активність | Cunha & Martins (2022); d'Hauterive et al. (2022) |
| Додатковий синтез прогестерону | Збільшення кількості жовтих тіл і концентрації прогестерону | Rigoglio et al. (2013) | після зв'язування з рецепторами ЛГ з допоміжних лютеїнових клітин | Spencer & Bazer (1996); Stevenson et al. (2007) |
| Побічні ефекти високих доз або тривалого застосування | синдром гіперстимуляції яєчників (СГСЯ) і підвищення довгострокового ризику раку яєчників | Lin et al. (2021) | надмірна стимуляція фолікулогенезу, що призводить до виникнення СГСЯ | Banker & Garcia-Velasco (2015) |
| Використання у репродукції тварин | Обидва гонадотропіни використовуються для індукції росту фолікулів і овуляції у незрілих свинок, для стимуляції овуляції у інших тварин, а також для суперовуляції та програм перенесення ембріонів (De Rensis & López-Gatius, 2014). | | | |

1.4 Безпечність гонадотропінів за застосування у високих дозах або тривалого введення самицям

Описані властивості даних гормонів свідчать про їх здатність забезпечити ефективну індукцію фолікулогенезу, що сприятиме підвищенню відтворної здатності кролиць, а отже збільшуватиме рентабельність виробництва кролятини. Проте, велика кількість джерел зазначають високу вірогідність розвитку побічних ефектів та морфологічних ушкоджень функціональної тканини яєчників за невірно визначеного дозування та/або тривалого застосування гонадотропінів (Herkert et al., 2022). Отримані негативні наслідки застосування гонадотропінів пов'язані, ймовірно, з різницею між рекомбінантними формами гонадотропінів та ендогенними гормонами, що циркулюють у крові, що не тільки впливає на їх фармакодинаміку, але й змінює їх селективність і, тим самим, модифікує клітинну відповідь (Banker & Garcia-Velasco, 2015; Casarini & Simoni, 2021).

Розвиток і дозрівання статевих клітин залежать від динамічного балансу між синтезом окислювачів і антиоксидантів (Koshevoy et al., 2019; Koshevoy & Naumenko, 2022). Незалежно від джерел вільних радикалів в ооцитах, коли окислювальна стимуляція добре збалансована, вона є придатною для фізіологічних процесів (наприклад, затвердіння *zona pellucida* і дозрівання ооцитів) (Kala et al., 2016; Han et al., 2017). Однак надмірна продукція АФО пов'язана з негативними наслідками (наприклад, порушенням функції мітохондрій, старінням, пошкодженням ДНК і порушенням сегрегації хромосом (Aitken, 2020; Koshevoy et al., 2021, 2022). Мітохондріальна дисфункція виникає за нефізіологічної стимуляції яєчників та тривалого застосування гонадотропінів (Ge et al., 2012).

Тривале застосування *eCG* не позбавлене проблем, оскільки ефективність з часом може знижуватися внаслідок вироблення організмом нейтралізуючих антитіл до *eCG* (Roy et al., 1999). Побічні ефекти застосування *eCG*, такі як синдром гіперстимуляції яєчників і підвищення довгострокового

ризика раку яєчників, викликають занепокоєння щодо його безпечності (Lin et al., 2021). Також не вирішеним залишається питання впливу високих доз гонадотропінів на потенціал запліднення ооцитів і подальшу якість розвитку ембріонів (Anderson et al., 2018; Wu et al., 2018). Суперовуляція з використанням *eCG* та *hCG* замість ФСГ сприяє максимізації кількості ооцитів та передімплантаційних ембріонів, отриманих від тварин (Uysal et al., 2018).

Застосування деяких екзогенних гормональних речовин може спричинити порушення фертильності. Наприклад, відомо, що при рутинному застосуванні *eCG* знижує фертильність через імуногенність (Rebollar et al., 2006). До побічних ефектів відносять зниження частоти, досить велику кількість тварин в одному посліді, велику кількість мертвонароджених, а також підвищену зустрічність геморагічних фолікулів (Zapletal & Pavlik, 2008). Для заміщення *eCG* можна використовувати методи, що застосовуються для біостимуляції тички або сексуальної сприйнятливості в умовах, які оцінюються, наприклад, у статтях (Quintela et al., 2001; Rodriguez de Lara et al., 2003).

Результати досліджень Wu et al. (2013) показали, що стимуляція гонадотропінами може знижувати потенціал розвитку ембріонів *in vitro*, спричиняючи мітохондріальну дисфункцію в ооцитах (Ge et al., 2012), змінюючи експресію ДНК-метилтрансферази (Uysal et al., 2018) та впливаючи на трансляційний контроль матричної РНК (Ozturk et al., 2016). Зазначимо, що сироватка проти *eCG* може ефективно зменшити негативний його вплив на нормальну овуляцію мишей (Lin et al., 2015).

Крім того, тривале введення гормональних засобів пов'язане з низькою фертильністю та зниженням репродуктивних показників за рахунок вироблення антитіл (Hashem & Gonzalez-Bulnes, 2021). Було показано, що антитіла до *eCG* можуть перешкоджати біоактивності взаємодії гормону з ооцитами за допомогою двох механізмів. По-перше, через запобігання взаємодії *eCG* з його рецепторами; по-друге, конформаційною зміною *eCG* анти-*eCG* антитілами, які можуть пригнічувати біоактивність *eCG*. Варто

зазначити, що ці модуляції біоактивності *eCG* його антитілами в основному впливають на біоактивність ФСГ *eCG*, а не на активність ЛГ, яка має важливе значення для набору та розвитку фолікулів яєчників, і тому фертильність продовжує зростати після повторних процедур (Hervé et al., 2004; Kara et al., 2019). У кролів повторні обробки рекомбінантним людським ФСГ підвищували рівень антитіл до ФСГ у цих самок у момент третьої та четвертої процедур суперовуляції (De Castro et al., 2009; Hashem & Gonzalez-Bulnes, 2021).

Проте, дані щодо морфології статевих залоз у кролиць за тривалого застосування гонадотропнів обмежені. Це ж стосується і питання щодо можливого накопичення їх у продукції кролівництва, що становить потенційний ризик для людини.

1.5 Висновок з огляду літератури

Сучасні дані, наведені в підрозділах огляду літератури акцентують увагу на актуальному стані проблем відтворення у галузі кролівництва. З одного боку, особливості статевої функції кролиць, серед яких багатоплідність, короткий термін вагітності, фізіологічно обґрунтована швидкість росту і розвитку нащадків, роблять кролів привабливим об'єктом для фермерів. З іншого ж – велика кількість передумов унеможливають повноцінну реалізацію генетичного потенціалу самиць даного виду, що є провідною проблемою репродуктології тварин.

Зауважимо, що складні нейро-гуморальні складові контролю і регуляції функції відтворення потребують постійної уваги фахівців ветеринарної медицини. А існуючі фізіологічні особливості процесу розмноження у кролиць, насамперед, залежність від генітально-соматосенсорних сигналів під час спарювання, які зумовлюють генеративну й ендокринну функцію статевих

залоз, ставлять виклики перед науковцями з розроблення й удосконалення методів штучного осіменіння даного виду тварин.

При цьому, важливим аспектом повноцінності фолікулогенезу є його стадійна залежність від дії гонадотропінів. Адже, за застосування класичної схеми стимуляції овуляції і індукції еструсу за допомогою аналогів гонадотропін-релізінг гормону відзначають низьку сприйнятливність яєчників кролиць та, відповідно, зниження репродуктивних показників.

Застосування гонадотропінів також не облишене ризиків і негативних наслідків. Особливо це стосується можливого виникнення ускладнень за їх тривалого використання або введення надмірних доз. Тому варто провести дослідження щодо встановлення дозозалежності і розроблення протоколів стимуляції овуляції з застосуванням сироваткового або хоріонічного гонадотропінів, що є безпечними для здоров'я кролиць, адже дані щодо їх ефективності фрагментарні, а за тривалого введення, яке подекуди використовується, взагалі відсутні. Вирішити це завдання вважаємо можливим лише за детального, на основі морфологічного аналізу і визначення динаміки рівня гормонів у крові і м'ясі кролиць, експериментального обґрунтування.

Результати аналізу літературних джерел опубліковані у наукових статтях та тезах доповідей наукових конференцій:

- Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. (2021);
- Стрижак Т. А., Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Сушко О. Б. (2021);
- Твердохліб Ю. В. (2023);
- Tverdoklib Yu. V., Naumenko S. V., Koshevoy V. I., Miroshnikova O. S, Zhigalova O. Ye. (2024);
- Tverdokhlib Yu., Naumenko S., Koshevoy V., Miroshnikova O., Syniahovska K., Kovalova L., Hryshchuk H. (2024).

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконана у 2018-2024 рр. в умовах лабораторій кафедри ветеринарної репродуктології Харківської державної зооветеринарної академії (з 01.09.2021 р. – кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету Міністерства освіти і науки України), відділу біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва Національної академії аграрних наук України, медичної лабораторії «Аналітика» (м. Харків), Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області та сектору відтворення приватної кролеферми с. Бурівка Богодухівського району Харківської області.

Проведені дослідження відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), 1-го Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) та закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006) (висновок комісії з біоетичної експертизи ДБТУ від 01.05.2024 р., наведений у додатку Е). Матеріалом досліджень були статевозрілі кролиці породи *Hyla*, живою масою 4,5 кг, що на початку досліджень були віком 4,5 місяці (перед першим ШО, «нульового» циклу, тобто такі, що не були вагітними). Усі тварини були клінічно здоровими. Всього в експериментах використано 185 тварин, в тому числі на першому етапі – 100, на другому етапі – 25 та на третьому етапі – 60.

Дисертаційна робота виконана за трьома послідовними етапами, що включали комплексні дослідження клінічних, морфологічних і гормональних показників ефективності штучного осіменіння (ШО) кролиць та обґрунтування протоколів стимуляції овуляції із застосуванням різних гормональних засобів залежно від дозування й тривалості введення.

Схема досліджень дисертаційної роботи зображена на рис. 1.



Рис. 1. Загальна схема досліджень.

На *першому етапі досліджень* аналізували ефективність застосування гонадотропних засобів за штучного осіменіння кролиць протягом п'яти репродуктивних циклів. Фертильність кролематок визначали порівнюючи кількість осіменінь та величину заплідненості. Оцінювали кількість приплоду (загальну та за станом новонароджених кроленят).

На *другому етапі досліджень* здійснили детальний морфологічний аналіз органів статеві системи кролиць, враховуючи тривалість і дозування засобів індукції овуляції. Оцінювали макроскопічні показники, розміри і стан яєчників, матки на 7-му добу сукрольності у кролиць п'ятого репродуктивного циклу. Особливу увагу було приділено аналізу кількісного складу фолікулів на гістозрізах для комплексної оцінки функціональних компартментів яєчників самиць.

На *третьому етапі* було здійснено аналіз гормонального фону кролиць за тривалого застосування гормональних засобів стимуляції овуляції шляхом визначення рівня гормонів у сироватці крові і м'ясі.

Деталізація особливостей дослідження наведена у табл. 3.

Структура експериментальних досліджень

| Показник | Групи кролиць: | | | | |
|--------------------------------|---|---|---------------|---|---------------|
| | контрольна | дослідна 1 | дослідна 2 | дослідна 3 | дослідна 4 |
| <i>Стимуляція овуляції</i> | підшкірне введення аналогу ГнРГ у дозі 0,2 мл в день ШО (за методикою Лісін & Сушко, 2013) | | | | |
| <i>Індукція фолікулогенезу</i> | немає | гонадотропін сироватки жеребих кобил (<i>eCG</i>) | | <i>eCG</i> + хоріонічний гонадотропін людини (<i>hCG</i>) | |
| Дозування | | 40 МО | 25 МО | 40 МО | 24 МО |
| Спосіб введення | | внутрішньом'язово | | | |
| Термін введення | | за 3 дні до ШО | | | |
| <i>Перший етап</i> | <ul style="list-style-type: none"> визначення основних параметрів відтворної здатності кролиць та їх порівняльний аналіз; динаміка змін фертильності кролематок протягом п'яти послідовних репродуктивних циклів. | | | | |
| <i>Другий етап</i> | <ul style="list-style-type: none"> гістологічне дослідження яєчників сукрольних кролиць за тривалого застосування гонадотропних засобів; порівняльна оцінка динаміки кількісних параметрів функціональних компартментів яєчників кролиць. | | | | |
| <i>Третій етап</i> | <ul style="list-style-type: none"> визначення рівня гормонів у сироватці крові кролиць за тривалого введення гонадотропінів у різних дозах; оцінка вмісту статевих гормонів у м'ясі кролиць п'ятого репродуктивного циклу. | | | | |

Репродуктологічні дослідження. Визначення стану відтворної здатності кролиць нами було проведено за комплексом показників: по-перше, визначали фертильність самиць всіх груп за даними кількості осіменінь та окролів залежно від використаного індуктора овуляції. Також увагу приділяли плодючості тварин – оцінювали багатоплідність за всіма новонародженими і кількістю живих кроленят у приплоді.

Гістологічні дослідження. Досліджували яєчники кролиць у п'ятому репродуктивному циклі на 7-добу сукрольності. Яєчники відбирали після евтаназії кролиць, яку проводили за рекомендаціями *AVMA Guidelines* (2020). Після препарування і макроскопічного огляду яєчники фіксували у 10 % водному розчині нейтрального формаліну. Гістологічні зрізи виготовляли за загально прийнятою методикою із заливкою в парафін і наступним фарбуванням гематоксиліном та еозином (Горальський зі співав., 2015).

При визначенні фолікулів в яєчниках кролиць використовували класифікацію за Edson et al. (2009), засновану на сприйнятливості фолікулів до дії гонадотропінів.

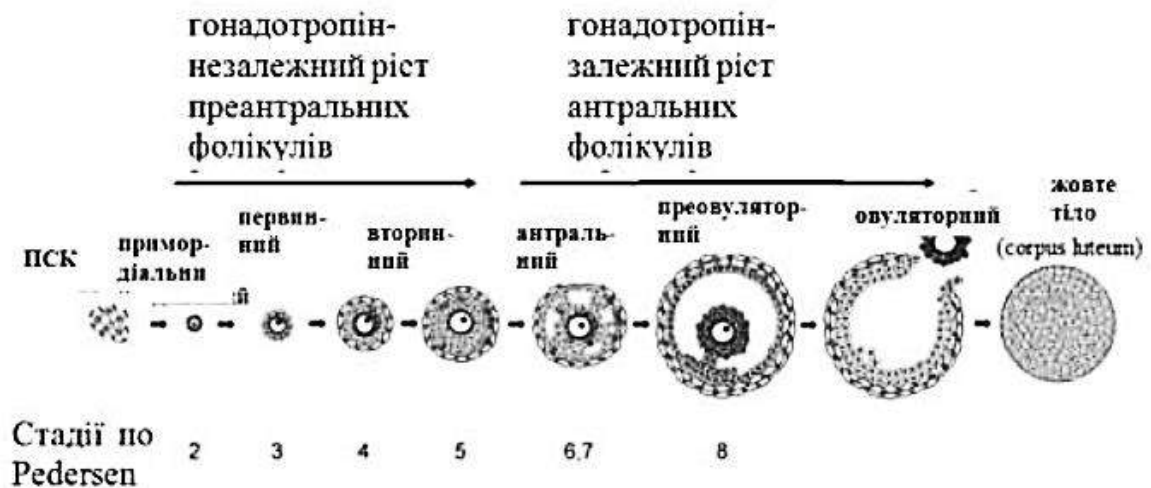


Рис. 2. Співвідношення класифікацій фолікулів яєчника за Edson et al. (2009) та Pedersen & Peters (1968)

Гормональні дослідження. Визначення балансу гормонів у організмі сукрольних кролиць проводили також на 7-му добу сукрольності, відповідно

до методики гістологічного дослідження. Гормональний фон встановлювали за двома основними напрямками – визначення рівня гормонів у сироватці крові для оцінки впливу засобів стимуляції овуляції на стан здоров'я кролиць і аналіз їх вмісту у м'ясі кролиць в рамках доказового фактору безпечності запропонованих протоколів стимуляції для людини.

Для визначення рівня гормонів у сироватці під час процедур забору крові тваринам не вводили жодних седативних або анестезуючих засобів. Кров для дослідження збирали з латеральних підшкірних вен, дотримуючись загальноприйнятої методики. Одночасно вранці відбирали зразки крові в пробірки з антикоагулянтом (натрію цитрат). Рівні фолікулостимулюючого і лютеїнізуючого гормонів, 17β -естрадіолу, прогестерону і тестостерону визначали в отриманих зразках сироватки крові кролиць за допомогою стандартних наборів *ELISA (LifeSpan BioSciences Inc., США)* імуноензимним методом на аналізаторі *Stat Fax 303 plus (Awareness Technology, США)*.

Статеві гормони в м'ясі досліджували наступним чином: після евтаназії кролиць відбирали 0,5 кг м'язової тканини від чотирьох тварин у кожній групі та розділяли на три зразки. Потім ці зразки поміщали в поліетиленові пакети і зберігали при -18°C . Поверхні м'язів були очищені від усіх жирових і сполучних тканин. Стероїдні гормони (тестостерон і 17β -естрадіол) визначали за допомогою радіоімунологічного аналізу як описано у Rebaz et al. (2019). Аналітична чутливість для тестостерону становила 0,005 мг/кг, а 17β -естрадіолу – 0,003 мг/кг.

Статистична обробка результатів дисертації. Усі розрахунки виконано за допомогою *Statistical Package for Social Science (SPSS)*, версія 22 (*SPSS Inc., США*). Визначали середнє арифметичне та похибку, достовірність різниці оцінювали за критерієм *t*-Ст'юдента (різницю вважали достовірною за * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$), також проводили однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA), вважаючи достовірною різницю коли $P < 0,05$ (Петровська зі співав., 2022).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Виклад результатів дослідження здійснено відповідно до послідовності етапів виконання роботи, зазначеним у попередньому розділі. Першочергово, провели порівняльну оцінку впливу гормональних засобів (гонадотропіну сироватки жеребих кобил (ГСЖК), хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) та аналогу гонадотропін-рилізінг гормону (ГнРГ) на ефективність заплідненості та багатоплідності кролиць. Для повноти отриманих даних використовували термін «репродуктивний цикл», в який вкладали період від першої гормональної обробки самиці (за 3 дні до штучного осіменіння (ШО) до відлучення новонароджених кроленят (18 доба після родів).

Здійснювали аналіз відтворної здатності протягом п'яти вагітностей, так, щоб від кожної кролиці отримати дані щодо кількості осіменінь, необхідних для запліднення, багатоплідності за всіма новонародженими та живими кролятами. Таким чином, протягом п'яти репродуктивних циклів, починаючи з кролиць «нульового» циклу (тобто тих, що осіменялися вперше), вводили засоби стимуляції овуляції у різних дозах і підсумовували репродуктивні показники, що описано у підрозділах 3.1-3.2.

Наступним етапом було передбачено дослідити морфологічні параметри яєчників сукрольних кролиць у п'ятому репродуктивному циклі, адже з раніше отриманих даних щодо репродуктивної здатності цих кролиць нами було встановлено різке зниження показників заплідненості, та, подекуди, навіть розвиток ускладнень, ймовірно пов'язаних з тривалим введенням гормональних препаратів. Особливості структури статевих залоз кролиць і деяких органів репродуктивної системи аналізували на макро- й мікроскопічному рівнях, а отримані результати викладені у підрозділах 3.3-3.7.

На завершення, за необхідне вважали провести всебічне дослідження динаміки гормонального фону кролиць, щоб узгодити ці дані з отриманими показниками відтворної здатності та морфологічними особливостями яєчників кролиць. Рівні гормонів (фолікулостимулюючого, лютеїнізуючого,

17 β -естрадіолу, прогестерону і тестостерону) у сироватці крові було визначено протягом п'яти репродуктивних циклів. Зауважимо, що даний етап також мав на меті оцінити безпечність запропонованих протоколів стимуляції овуляції за вмістом стероїдних гормонів у м'ясі самиць п'ятого циклу, тобто за максимально тривалого введення гормональних засобів. Встановлені зміни динаміки гормонів у сироватці крові і м'ясі кролиць наведені у підрозділах 3.8-3.9.

3.1 Аналіз ефективності застосування гормональних засобів за показниками відтворної здатності кролиць

Необхідність застосування гормональних препаратів в технології штучного запліднення кроликів обумовлена особливостями фізіології репродуктивної системи кролиць, в першу чергу коїтус-залежною овуляцією. З іншого боку, процеси фолікулогенезу на певних стадіях виявляють залежність від сприйнятливості до гонадотропінів. Таким чином, наші дослідження спрямовані на застосування гонадотропних засобів у протоколах стимуляції овуляції самиць даного виду з наступним виявленням комплексного впливу на їх відтворну здатність. Зауважимо, що з даних огляду літератури відомо, що найбільш поширеною групою засобів для індукції овуляції у кролиць є аналоги ГнРГ, що вводять підшкірно одразу після ШО, інколи додають до спермодози, тощо.

Нами був використаний підшкірний спосіб введення аналогу ГнРГ, який використовували для стимуляції овуляції у всіх кролиць в експерименті. Завданням першого етапу було порівняти результати ШО контрольних тварин з тваринами, яким стимулювали фолікулогенез ГСЖК у двох дозах (40 МО і 25 МО) – дослідні групи 1 і 2 відповідно, та комбінованим введенням ГСЖК з ХГЛ у дозах 40 МО і 24 МО (дослідні групи 3 і 4 відповідно). Сприйнятливість всіх самок оцінювали за кольором і виразністю вульви безпосередньо перед обробкою гонадотропіном і за день до штучного осіменіння.

Перш-за-все оцінювали загальну фертильність кролематок всіх груп протягом експерименту. Отримані дані показані на рис. 3.

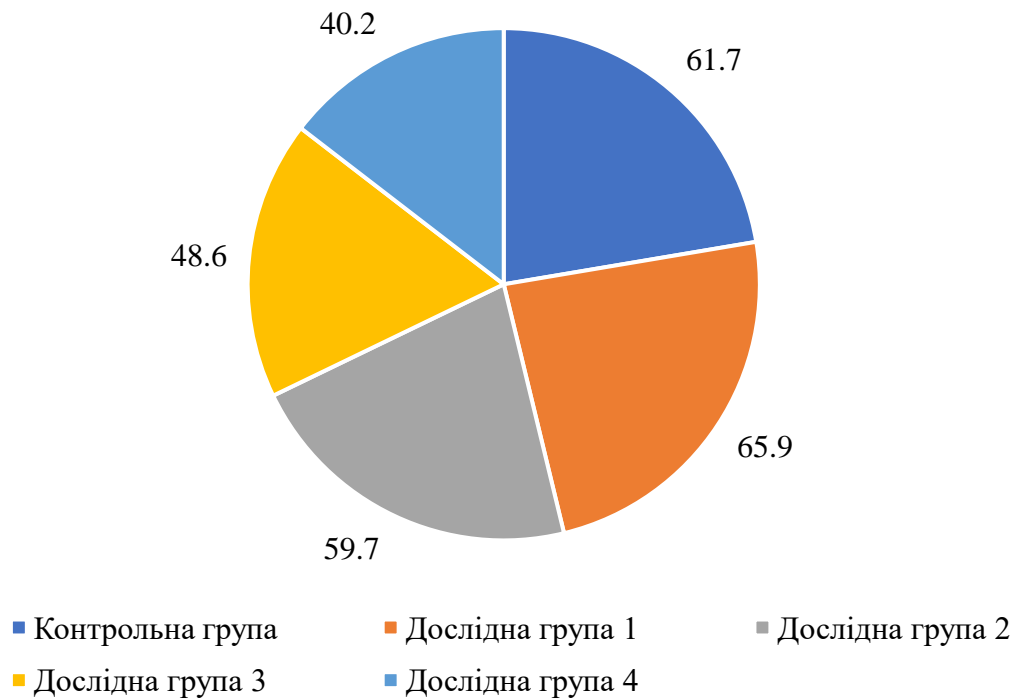


Рис. 3. Фертильність кролематок після гормональних обробок, %

З даних рисунку 3 видно, що застосування сироваткового гонадотропіну самкам другої дослідної групи характеризувалося середнім коефіцієнтом фертильності 59,7 %, що було дещо нижчим даних контролю, у яких цей показник складав 61,7 %. Найвищий показник заплідненості – 65,9 % було відзначено у першій дослідній групі кролиць. Це свідчить, про позитивний вплив застосування ГСЖК у протоколах стимуляції овуляції.

Натомість, за комбінованого введення гонадотропінів середній показник фертильності був нижчим за дані контролю – у третій дослідній групі він складав 48,6 %, а у дослідній групі 4 мав найменше значення – 40,2 %.

Провідного значення у рентабельності кролівництва мають показники приплоду у самиць, адже саме вони обумовлюють можливість отримання доходу і за ними, як правило, оцінюють ефективність заходів оптимізації

відтворення у господарстві. Тому надалі провели оцінку плодючості кролиць, підданих гормональним обробкам за вищевказаною схемою.

Дані щодо кількості осіменінь та окролів, а також отримані результати щодо багатоплідності за всіма новонародженими, зокрема живими, наведені у таблицях 4 і 5.

Таблиця 4

Ефективність штучного осіменіння за застосування гормональної обробки кролиць

| Показники ефективності ШО | | Групи кролиць: | | |
|---|-----|----------------|-----------------------|-----------------------|
| | | контрольна | дослідна 1 | дослідна 2 |
| | | аналог ГнРГ | <i>eCG</i> 40 МО/♀ | <i>eCG</i> 25 МО/♀ |
| Кількість осіменінь, од. | | 23,0±1,30 | 27,6±1,17* | 31,8±1,65** |
| Кількість окролів, од. | | 14,2±1,16 | 18,2±0,58* | 19,0±0,55** |
| Багатоплідність за всіма новонародженими | M±m | 11,3±1,24 | 8,6±0,55* | 9,8±0,93 |
| Багатоплідність за живими новонародженими | M±m | 10,8±0,99 | 8,0±0,61* | 9,9±0,96 |

Примітки: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – достовірні зміни порівняно з контрольною групою.

Застосування сироваткового гонадотропіну потребувало збільшення кількості осіменінь для заплідненості всіх самиць у дослідній групі 1 на 20,0 % ($P < 0,05$) порівняно з даними контролю, яким було проведено найменшу кількість осіменінь серед усіх груп (23,0±1,30 од.). При цьому, введення ГСЖК у вищій дозі (40 МО) привело до зростання кількості окролів на 28,2 % ($P < 0,05$). Хоча кількість окролів була вищою у контрольній групі кролиць, показники багатоплідності були зниженими: за всіма новонародженими на 23,9 % ($P < 0,05$), тоді як за живими – менше на 25,9 % ($P < 0,05$).

У другій дослідній групі за овуляції, індукованої введенням ГСЖК, кількість осіменінь перевищувала контрольні показники на 38,3 % ($P < 0,01$), а кількість окролів була найвищою серед усіх груп кролиць – на 33,8 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем. Подібно до дослідної групи 1, багатоплідність самиць даної групи за всіма новонародженими і живими кроленятами характеризувалася тенденцією до зниження.

За комбінованого застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів показники ефективності штучного осіменіння також зазнавали виразних змін (табл. 5).

Таблиця 5

Ефективність штучного осіменіння за комбінованого застосування гонадотропінів під час гормональної обробки кролиць

| Показники ефективності ШО | | Групи кролиць: | | |
|---|-----|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | контрольна | дослідна 3 | дослідна 4 |
| | | аналог ГнРГ 0,2 мл/♀ | <i>eCG+hCG</i> 40 МО/♀ | <i>eCG+hCG</i> 24 МО/♀ |
| Кількість осіменінь, од. | | 23,0±1,30 | 34,6±1,97*** | 23,4±1,57 |
| Кількість окролів, од. | | 14,2±1,16 | 16,8±0,86 | 9,4±1,44* |
| Багатоплідність за всіма новонародженими, гол. | M±m | 11,3±1,24 | 10,3±0,74 | 8,2±0,81* |
| Багатоплідність за живими новонародженими, гол. | M±m | 10,8±0,99 | 7,3±0,46** | 5,5±0,44*** |

*Примітки:** – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – достовірні зміни порівняно з контрольною групою.

У тварин дослідної групи 3 кількість осіменінь була вищою контролю на 50,4 % ($P < 0,001$), що серед усіх груп кролиць було найвищим значенням.

Кількість окролів при цьому не мала достовірних змін і виявляла незначну тенденцію до зростання. Багатоплідність за всіма новонародженими у даній групі кролематок мала тенденцію до зниження, а за живими кроленятами була нижчою на 32,4 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем.

За введення меншої дози гонадотропінів (24 МО) заплідненість самиць була на рівні контрольних показників ($23,4 \pm 1,57$ од.), а кількість окролів була найнижчою серед усіх груп, що є меншим за значення контролю на 33,8 % ($P < 0,05$). Багатоплідність за всіма новонародженими у даній групі була на середньому рівні, проте на 27,4 % ($P < 0,05$) нижче за дані контролю. Негативними змінами характеризувався показник багатоплідності за живими новонародженими – він був найнижчим серед усіх груп кролиць, а порівняно з контрольною групою меншим на 49,1 % ($P < 0,001$).

Отримані дані вказують на позитивний ефект окремого застосування сироваткового гонадотропіну за стимуляції овуляції у кролиць, і зниження показників ефективності штучного осіменіння за комбінованого введення ГСЖК з ХГЛ, а отже, необхідно деталізувати стан фертильності кролиць за послідовними репродуктивними циклами для визначення впливу тривалості та дозування на показники відтворної здатності.

3.2 Динаміка заплідненості кролиць за тривалого застосування гонадотропінів для стимуляції фолікулогенезу

Вплив тривалого застосування гормональних засобів індукції овуляції оцінювали за кількістю осіменінь і окролів, а також коефіцієнтом фертильності самиць. Динаміка кількості осіменінь за введення ГСЖК наведена на рис. 4.

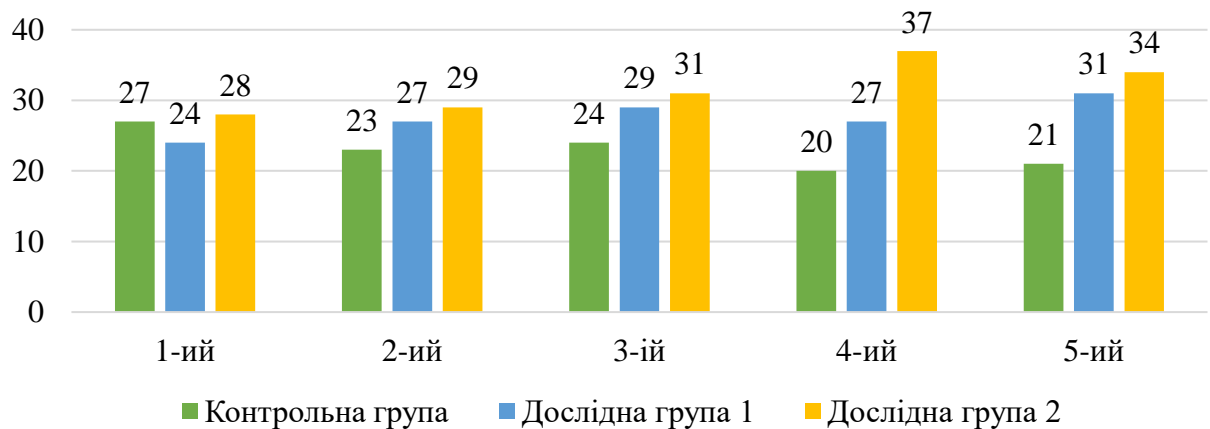


Рис. 4. Динаміка кількості осіменінь кролиць із застосуванням сироваткового гонадотропіну

Як видно з даних рисунку 4, кількість осіменінь залежала як від дозування ГСЖК, так і від кратності введення. У тварин дослідної групи 1 кількість осіменінь на початку дослідження була нижче за дані контролю, а наприкінці експерименту, як і самиць дослідної групи 2, перевищувала дані контрольної групи. Динаміка кількості окролів у самиць показана на рис. 5.

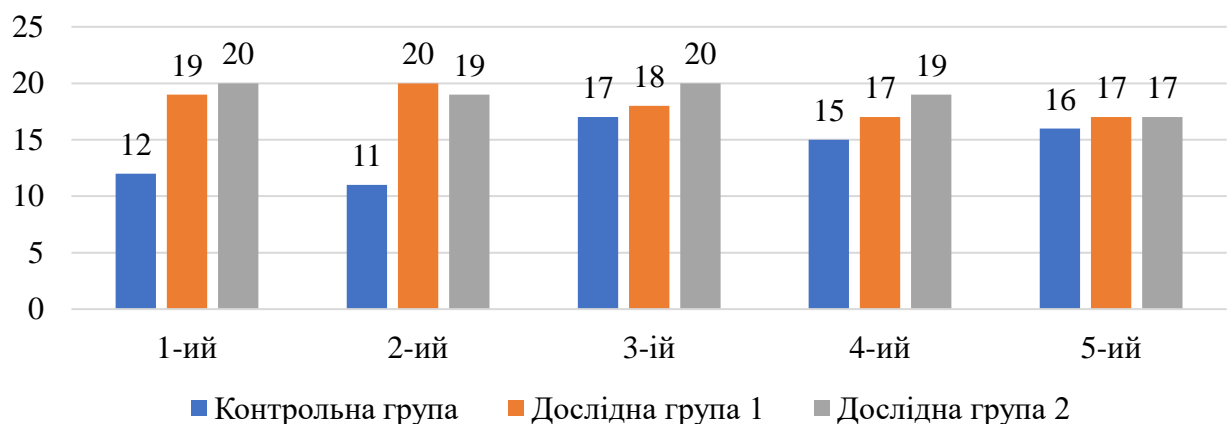


Рис. 5. Динаміка кількості окролів у самиць із застосуванням сироваткового гонадотропіну

Відмітимо, що у тварин дослідних груп 1 і 2 у першому і другому репродуктивному циклах кількість окролів значно перевищувала значення даного показнику у контрольних кролиць. Надалі, у третьому і четвертому циклах ці показники починали вирівнюватися, а наприкінці експерименту були майже на однаковому рівні. Отримані зміни динаміки кількості осіменінь і окролів обумовили коливання коефіцієнту фертильності протягом дослідження, що узагальнено на рис. 6.

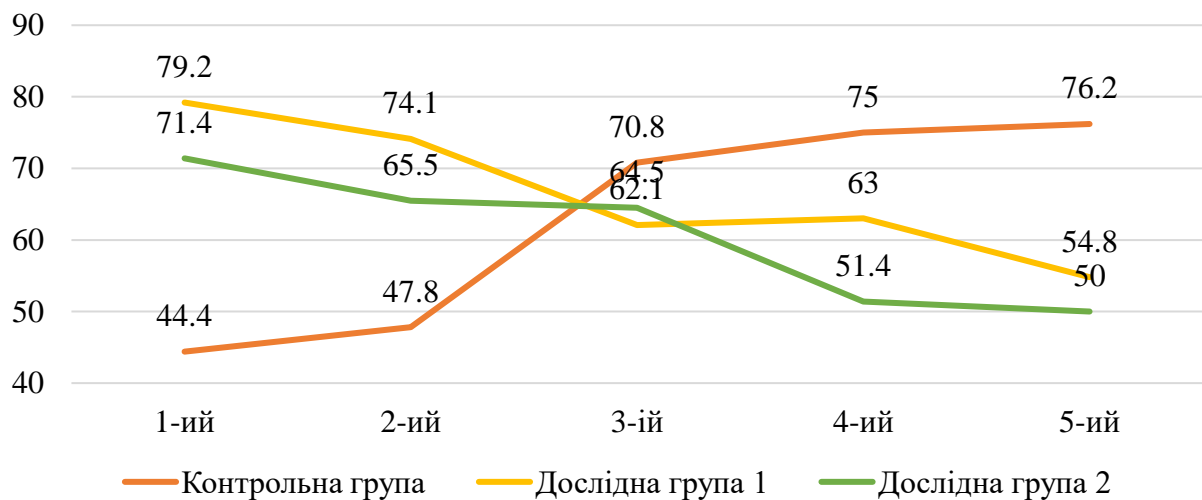


Рис. 6. Динаміка фертильності кролиць за індукції овуляції гонадотропіном сироватки жеребих кобил

Дані діаграми демонструють різноспрямованість змін відтворної здатності кролиць. За введення ГСЖК у першому і другому репродуктивному циклі фертильність кролиць значно перевищувала дані контролю, тоді як наприкінці експерименту спостерігали протилежні зміни – у дослідній групі 1 коефіцієнт фертильності складав лише 54,8 %, у дослідній групі 2 – 50,0 %. При цьому, у кролиць групи контролю коефіцієнт фертильності протягом дослідження зростав, при чому особливо виразні зміни були відзначені у третьому репродуктивному циклі.

Зміни динаміки кількості осіменінь за комбінованого застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів показані на рис. 7.

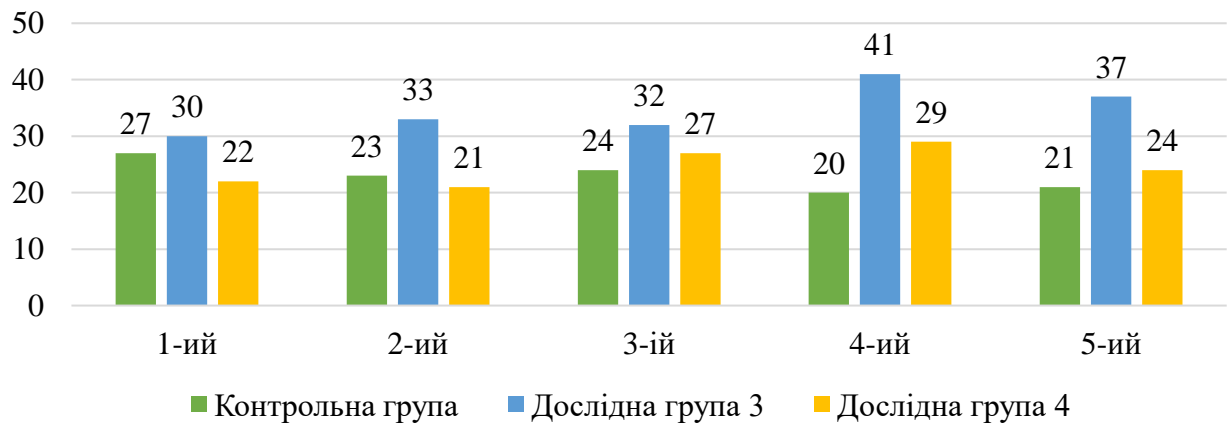


Рис. 7. Динаміка кількості осіменінь кролиць за комбінованого введення гонадотропінів

Кількість осіменінь у кролиць дослідної групи 3 була найвищою серед усіх груп тварин, при чому наприкінці експерименту вона була вищою аніж на початку. Натомість, у дослідній групі 4 кількість осіменінь у першому і другому репродуктивному циклі була нижчою за дані контролю, і навпаки, наприкінці досліджень була вищою. Варто зауважити, що у кролиць контрольної групи динаміка кількості осіменінь послідовно знижувалася протягом експерименту. Динаміка кількості окролів за комбінованого застосування гонадотропінів показана на рис. 8.

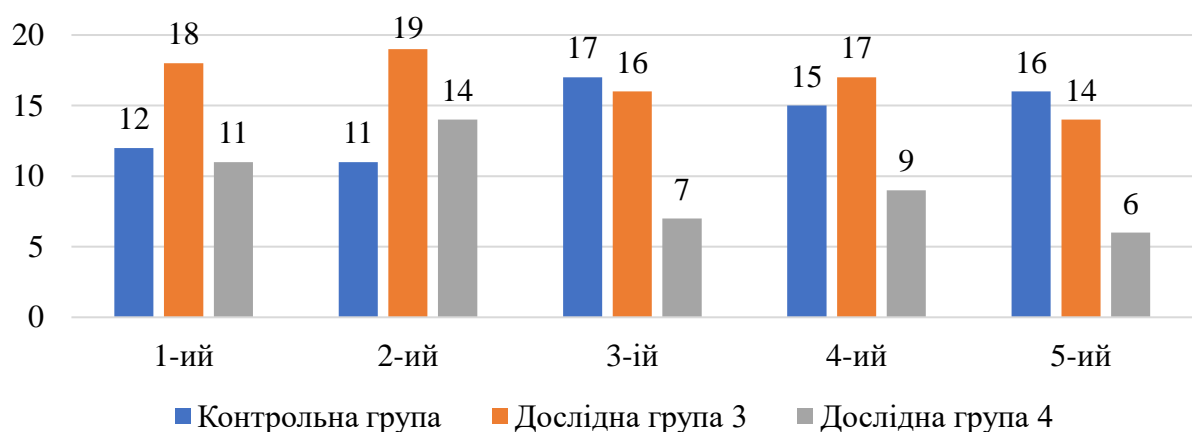


Рис. 8. Динаміка кількості окролів у самиць за комбінованого введення гонадотропінів

Кількість окролів у дослідній групі 3 характеризувалася переважно позитивною динамікою змін – на початку експерименту вона перевищувала дані контролю, а у п'ятому репродуктивному циклі була дещо нижчою. Різноспрямованість комбінованого впливу гонадотропінів була відзначена у тварин дослідної групи 4: якщо у першому циклі вона була дещо вищою контролю, потім значно зростала, а надалі – від третього до п'ятого циклу зменшувалася аж до мінімальних значень. Зміни фертильності кролиць за введення ГСЖК з ХГЛ показано на рис. 9.

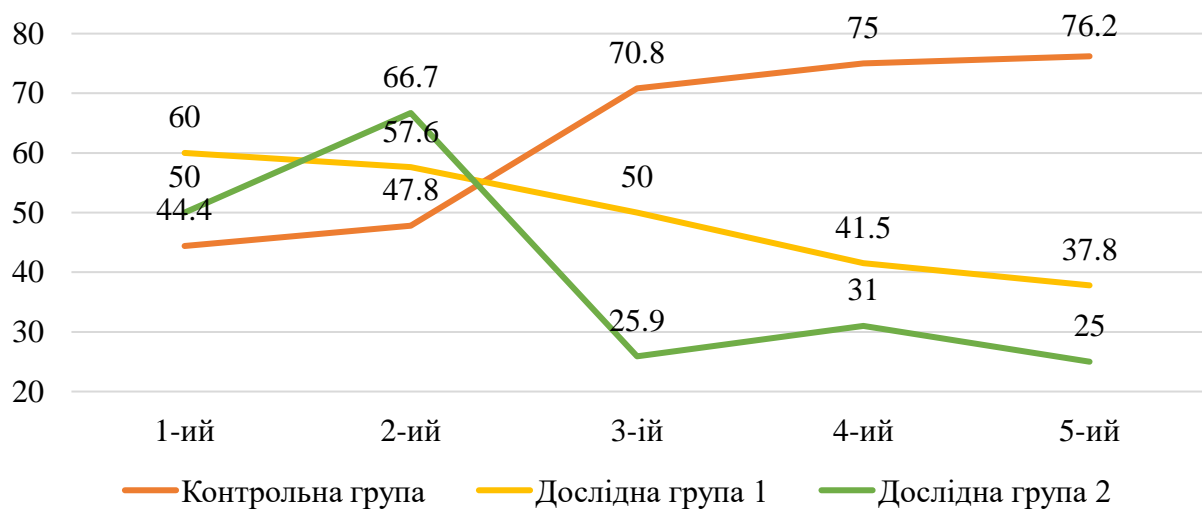


Рис. 9. Динаміка фертильності кролиць за індукції овуляції комбінованим введенням гонадотропінів

Як видно з даних рисунку 9, фертильність самиць за комбінованого введення ГСЖК з ХГЛ у вищій дозі (дослідна група 3) поступово зменшувалася. За застосування меншої дози, у тварин дослідної групи 4, на початку дослідження (у першому і другому циклі) фертильність була вищою контролю, а надалі різко знижувалася і наприкінці експерименту складала лише 25,0 %. Результати репродуктологічних досліджень свідчать про зміни відтворної здатності кролиць за тривалого застосування гормональних засобів стимуляції овуляції у кролиць, тому необхідно детально вивчити морфологічні параметри органів статеві системи і гормональний баланс.

3.3 Макроскопічні особливості органів статеві системи кролиць за використання гормональних засобів

Морфологічний етап досліджень включав відбір матеріалу для мікроскопічної характеристики, перед яким проводили макроскопічний огляд органів статеві системи кролиць. Загалом, у макроструктурі яєчників всіх груп кролиць суттєвих відмінностей і патологічних змін не виявляли.

У кролиць контрольної групи на 7 добу сукрольності яєчники макроскопічно мали жовтуватий колір і горбкувату поверхню, на якій визначались жовті тіла та пухирчасті антральні фолікули (рис. 10-11).

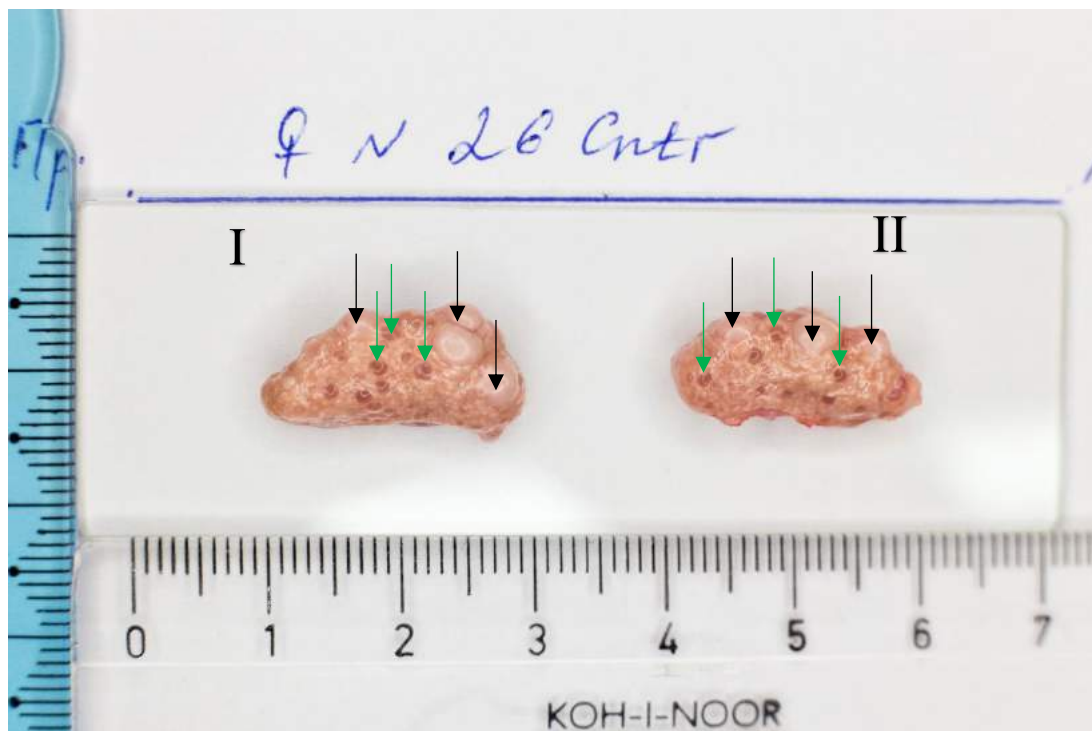


Рис. 10. Макрофото яєчників кролиці контрольної групи 5-го репродуктивного циклу (вентральна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, а зеленими – антральні фолікули.

З даних рис. 10 видно, що тривале застосування аналогу ГнРГ для стимуляції овуляції у кролиць не викликає макроскопічних ознак переродження тканини яєчника (розростання сполучної тканини, появи

новоутворень). При цьому на зображенні чітко виділяються жовті тіла і антральні фолікули. Подібні зміни були виявлені і на дорсальній поверхні яєчників, що показано на рис. 11.

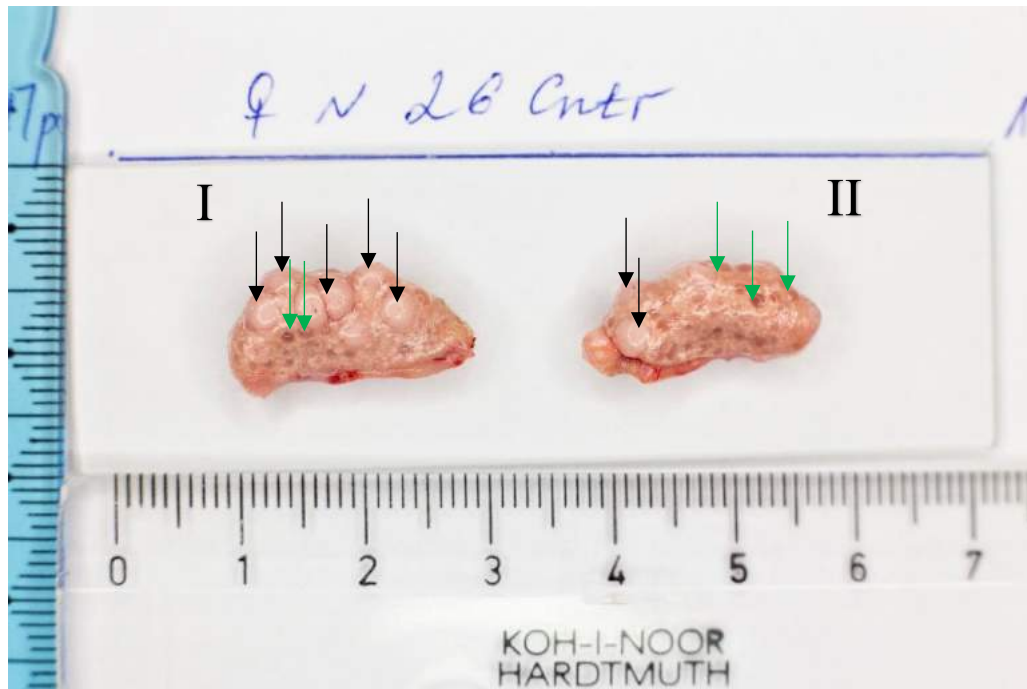


Рис. 11. Макрофото яєчників кролиці контрольної групи 5-го репродуктивного циклу (дорсальна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, а зеленими – антральні фолікули.

Таким чином, у кролиць контрольної групи було визначено наявність жовтих тіл та антральних фолікулів, що свідчило про повноцінний прояв статевих циклів протягом експерименту. Відповідно, гермінативна функція гонад у тварин цієї групи негативних змін не зазнавала.

Отримані дані, щодо фертильності самиць групи контролю, яка мала виразні зміни вже у третьому репродуктивному циклі і при цьому залишалася на доволі високому рівні наприкінці експерименту, підтвержені макроскопічними змінами у матці тварин цієї групи, що показано на рис. 12.



Рис. 12. Макрофото матки кролиці контрольної групи 5-го репродуктивного циклу (Л – лівий ріг, П – правий ріг; стрілками показано плоди, що ростуть у рогах матки).

З даних рис. 12, видно, що у рогах матки кролиць контрольної групи розвивалися плоди, рівномірно розподілені у правому і лівому рогах. Будова матки симетрична та характерна даному виду тварин. Крововилилів, новоутворень у контрольній групі самиць не виявляли.

Зміни, що були виявлені у яєчниках кролиць дослідної групи 1, показані на рис. 13-14.

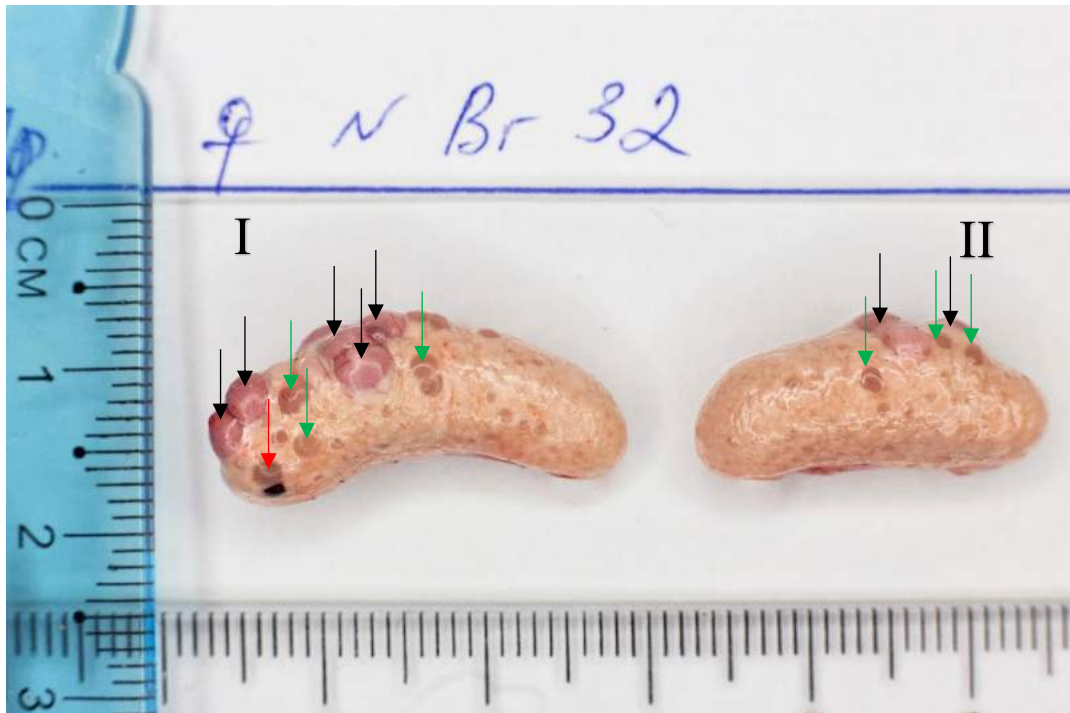


Рис. 13. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 1 (вентральна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, зеленими – антральні фолікули; червоною – геморагічний фолікул.

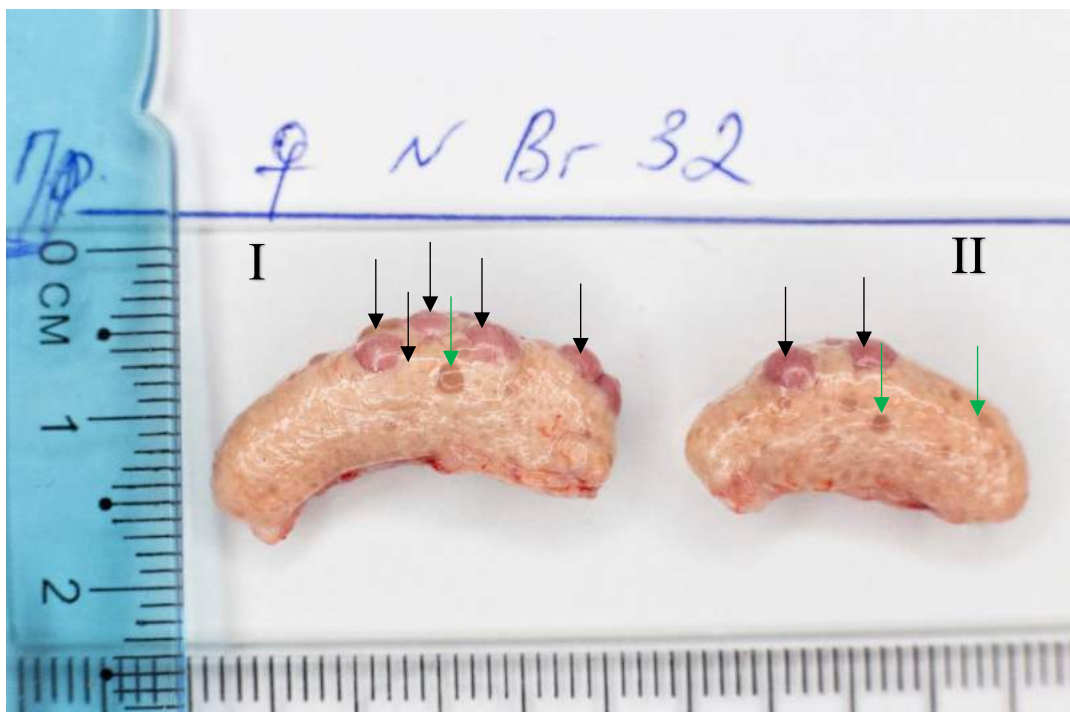


Рис. 14. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 1 (дорсальна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, а зеленими – антральні фолікули.

У кролиць дослідної групи 1 макроскопічно було визначено більшу, порівняно з даними контролю, кількість жовтих тіл, серед яких вочевидь залишалися жовті тіла минулих циклів, певна кількість антральних фолікулів і поодинокі геморагічні фолікули. Макрофото матки кролиці дослідної групи 1 наведено на рис. 15.



Рис. 15. Макрофото матки кролиці дослідної групи 1 п'ятого репродуктивного циклу (Л – лівий ріг, П – правий ріг; стрілками показано плоди, що ростуть у рогах матки).

У більшості кролиць дослідної групи 1 визначалася асиметрія розміщення плодів у рогах матки та, порівняно з контрольною групою, вища їх кількість. При цьому у деяких тварин виявляли гіперемованість і наявність ексудату, що було ознакою резорбції деяких плодів. Також нерівномірне

розміщення плодів у рогах матки та різниця у розмірі плодових міхурів свідчили про наявність різниці у їх живленні. Як було зазначено у попередніх підрозділах дисертації, багатоплідність за живими новонародженими, хоча й була вищою серед інших дослідних груп, проте за рахунок зниження показнику багатоплідності за живими новонародженими відбувалось зменшення кількості кроленят.



Рис. 16. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 2 (вентральна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, а зеленими – антральні фолікули.

З даних рис. 16 видно, що на вентральній поверхні статевих залоз кролиць дослідної групи 2 розташовувалася менша кількість жовтих тіл, аніж у контрольній і дослідній групі 1. Це свідчило, що за тривалого введення ГСЖК у самиць даної групи виникало зменшення функціональної активності яєчників. Варто зауважити, що у самиць даної групи кількість геморагічних фолікулів також була меншою за дослідну групу 1. Кількість антральних фолікулів і жовтих тіл у правому і лівому яєчнику також була різною.

Подібну макроскопічну картину спостерігали й на дорсальній поверхні гонад у кролиць дослідної групи 2, що показано на рис. 17.



Рис. 17. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 2 (дорсальна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, а зеленими – антральні фолікули.

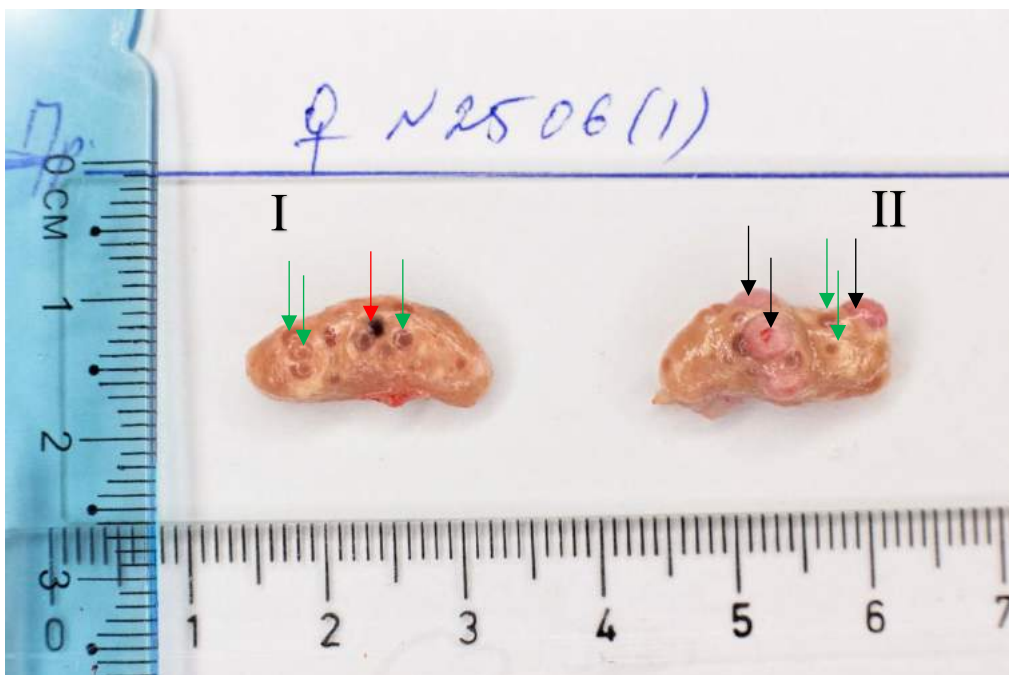


Рис. 18. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 3 (вентральна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, зеленими – антральні, а червоним – геморагічні фолікули.

Зображені на рис. 17 статеві залози кролиць (дорсальна поверхня) демонструють істотне зниження розвитку фолікулів і жовтих тіл за тривалого застосування ГСЖК у меншій дозі.

На рис. 18 показано макроскопічні зміни, виявлені у самиць 5-го репродуктивного циклу за комбінованого введення гонадотропінів. Видно, що статеві залози кролиць також були горбкуватої форми, асиметричні, містили значну кількість жовтих тіл, антральних фолікулів та 1-3 темно забарвлені пухирці діаметром 1-1,5 мм – фолікули з геморагічним вмістом. На дорсальній поверхні яєчників кролиць (рис. 19) також визначалися різні фолікули – антральні, геморагічні, а також жовті тіла.

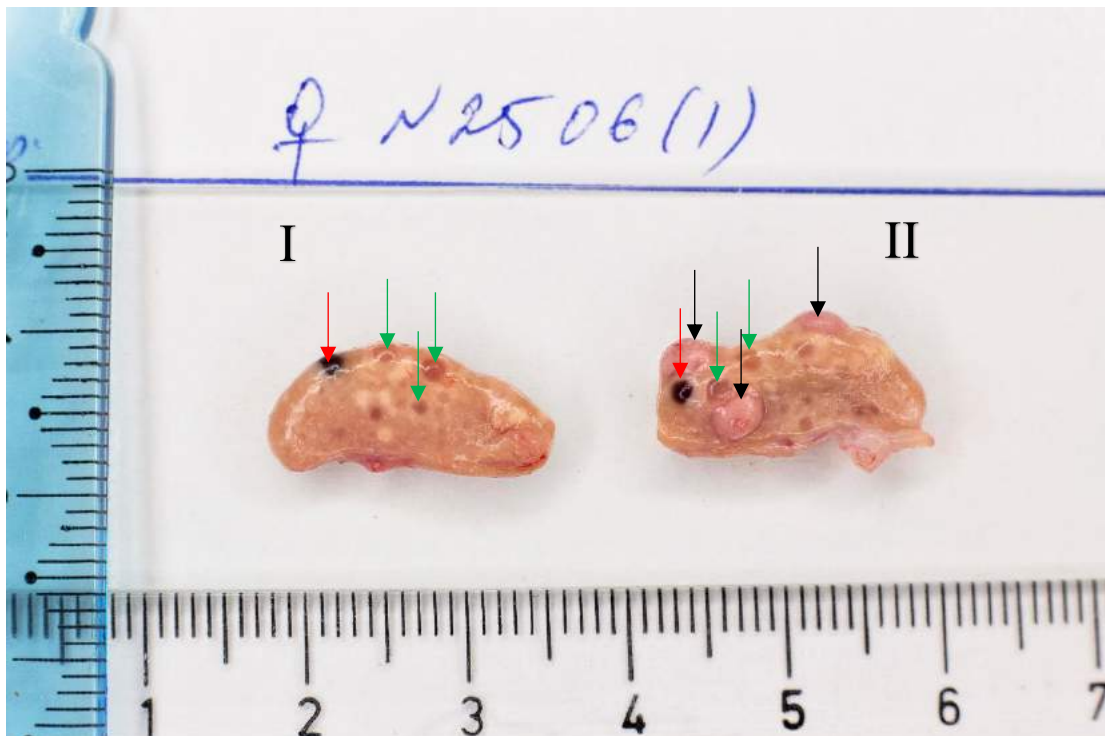


Рис. 19. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 3 (дорсальна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, зеленими – антральні, а червоними – геморагічні фолікули.

На рис. 20-21 показано макроскопічну картину статевих залоз кролиць дослідної групи 4. Вони подібно до інших груп самиць містили антральні й геморагічні фолікули та жовті тіла. Ознак новоутворень, крововиливів та інших патологій визначено не було.



Рис. 20. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 4 (вентральна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, зеленими – антральні, а червоним – геморагічні фолікули.



Рис. 21. Макрофото яєчників кролиці дослідної групи 4 (дорсальна поверхня): I – правий, II – лівий яєчники; чорними стрілками показані жовті тіла вагітності, а зеленими – антральні фолікули.

3.4 Гістологічна характеристика яєчників сукрольних кролиць за застосування аналогу гонадотропін-рилізінг-гормону

Передумовою застосування гормональних препаратів за штучного осіменіння кролиць є така особливість статевого циклу як овуляція залежна від спаровування із самцем. У кролиць, що використовуються в племінних цілях визначальним фактором вважають підтримання репродуктивного здоров'я, що зумовлює тривалість їх використання і має залежність від гістоморфології яєчників протягом кожного репродуктивного циклу – від овуляції до окролу. У зв'язку з цим дослідження гістоструктури яєчників кролематок з різними термінами використання є актуальним, особливо в умовах сучасного зростання попиту на продукцію кролівництва.

За гістологічного дослідження встановлено, що яєчник кролиць ззовні оточений білковою оболонкою, яка побудована зі щільної волокнистої сполучної тканини, вкритої одношаровим кубічним епітелієм. На серединному поздовжньому розрізі яєчників ми визначали кіркову і мозкову речовину. Кіркова значно переважала мозкову речовину.

Основу кіркової речовини утворювала волокниста сполучна тканина. В ній містились фолікули на різних стадіях розвитку, атретичні тіла, жовті тіла та інтерстиціальні ендокриноцити. Функціональний резерв яєчників формують примордіальні і первинні фолікули, які розмішувались під білковою оболонкою кількома рядами. У глибших ділянках кіркової речовини були розташовані вторинні, третинні фолікули і атретичні тіла (рис. 22-23).

Аналіз різних джерел літератури наукового і методичного характеру показав, що дослідження яєчників різних видів тварин і питання фолікулогенезу є доволі поширеними, але попри це до теперішнього часу існують розбіжності в класифікації фолікулів у яєчнику, особливо щодо визначення стадій вторинного і третинного фолікулів.

Під час визначення фолікулів в яєчниках кролиць ми спирались на класифікацію за Edson et al. (2009). Примордіальні фолікули були найменшими, утворені ооцитами та одним шаром плоских клітин фолікулярного епітелію. Первинні фолікули містили ооцити на початкових стадіях вітелогенезу – синтезу і накопичення жовтка, що у подальшому забезпечить збільшення їх розміру. В яєчниках кролиць ми визначали у складі стінки первинних фолікулів від одного до двох шарів фолікулярних клітин. За наявності двох шарів епітелію ми виявляли початкову стадію формування сполучнотканинної оболонки фолікула – теки, що утворена концентрично нашарованими фіброцитами і колагеновими волокнами. У таких фолікулах ооцити були оточені блискучою зоною у вигляді оксифільної смужки.

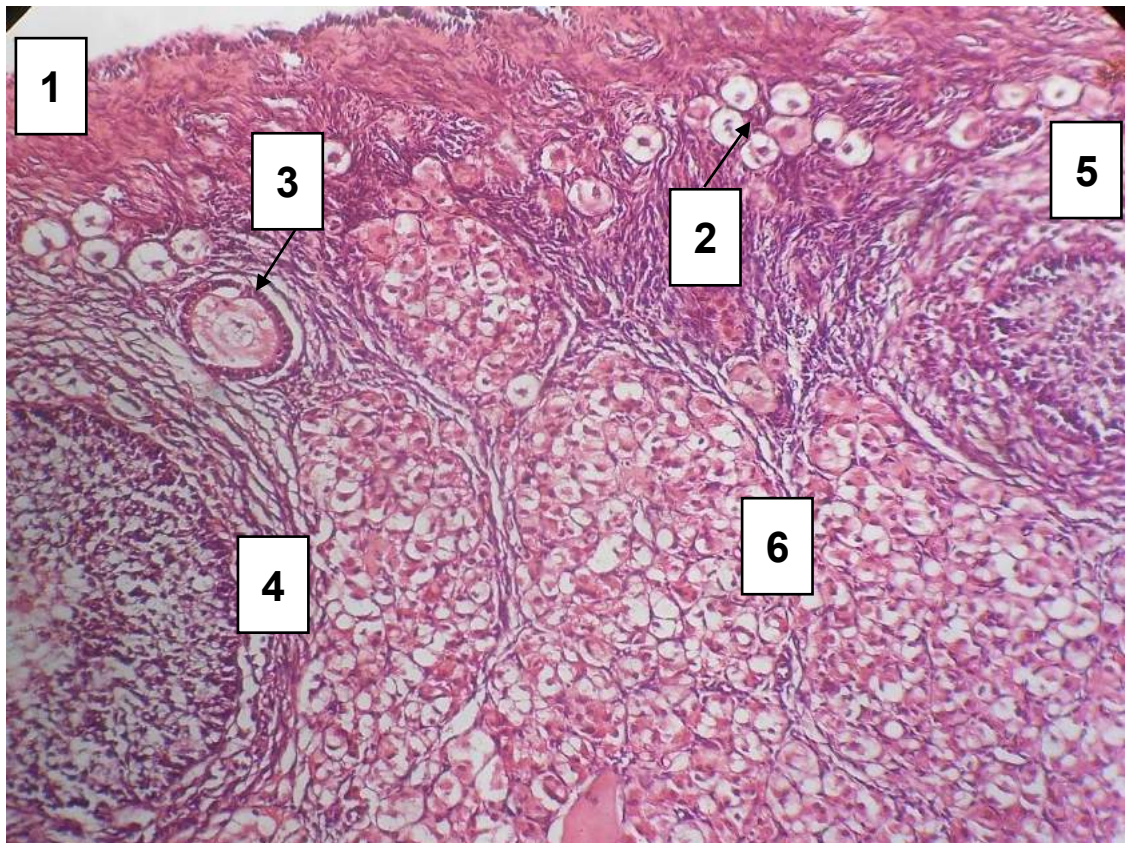


Рис. 22. Гістопрепарат яєчника кролиці контрольної групи. Зabarвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$: 1 – білкова оболонка; 2 – примордіальні фолікули; 3 – первинний фолікул; 4 – вторинний атретичний фолікул без лютеїнізації з некрозом гранульози; 5 – вторинний атретичний фолікул з лютеїнізацією текоцитів; 6 – атретичні тіла.

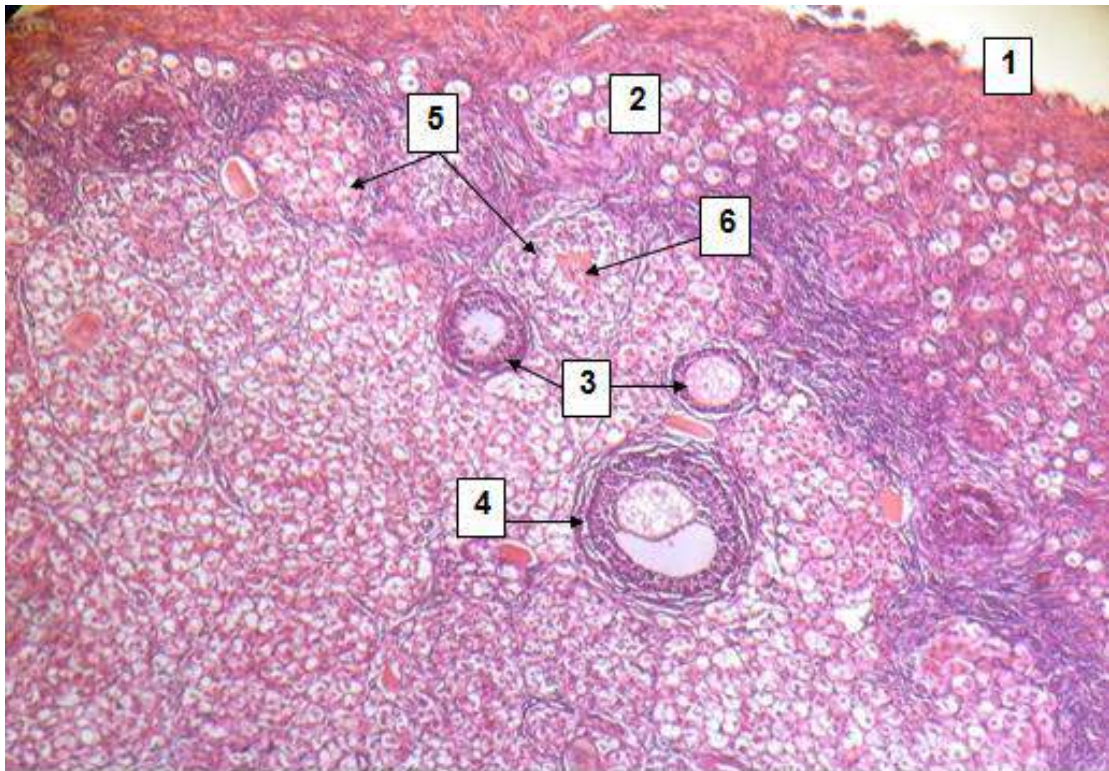


Рис. 23. Гістопрепарат яєчника кролиці контрольної групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$: 1 – білкова оболонка; 2 – примордіальні фолікули; 3 – вторинні фолікули; 4 – третинний (антральний) фолікул; 5 – атретичні тіла; 6 – залишок блискучої оболонки.

До вторинних фолікулів ми відносили фолікули з багат шаровим епітелієм і текою, диференційованою на: *theca interna*, яка містила текальні ендокриноцити і кровоносні судини, та *theca externa*, утворену волокнистою сполучною тканиною. Третинні (антральні) фолікули, які ми виявляли в яєчнику сукрольних кролиць серед фолікулярних клітин, містили або кілька невеликих порожнин, або мали одну велику порожнину.

Фолікулярний епітелій формував три клітинні типи: клітини гранульози – вистеляють внутрішню поверхню стінки фолікула, клітини кумулюса (яйценосного горбка) – прикріплюють яйцеклітину до стінки фолікула, клітини променистого вінця – оточують ооцит. Тека таких фолікулів була диференційована.

У 3-х кролиць ми виявляли від 2 до 4 фолікулів з геморагічним вмістом, або фолікулярною рідиною з домішками формених елементів крові, переважно

еритроцитів. Для цих фолікулів характерними були повна відсутність гранульози, потовщення теки та відсутність ознак лютеїнізації текальних ендокриноцитів. Ми розглядаємо такі фолікули як різновид кістозної атрезії третинних фолікулів, що не досягли овуляції.

Особливістю яєчників кролиць після кількох окролів, незалежно від застосування гормональних препаратів, є високий рівень лютеїнізації за рахунок формування не лише жовтих тіл вагітності, атретичних тіл та інтерстиційної залозистої тканини.

В яєчниках сукрольних кролиць п'ятого репродуктивного циклу атрезія охоплювала всі генерації фолікулів, крім примордіальних. У первинних і вторинних фолікулах атрезія відбувалась за облітераційним типом, супроводжувалась проліферацією та лютеїнізацією переважно текальних ендокриноцитів *theca interna* (рис. 24).

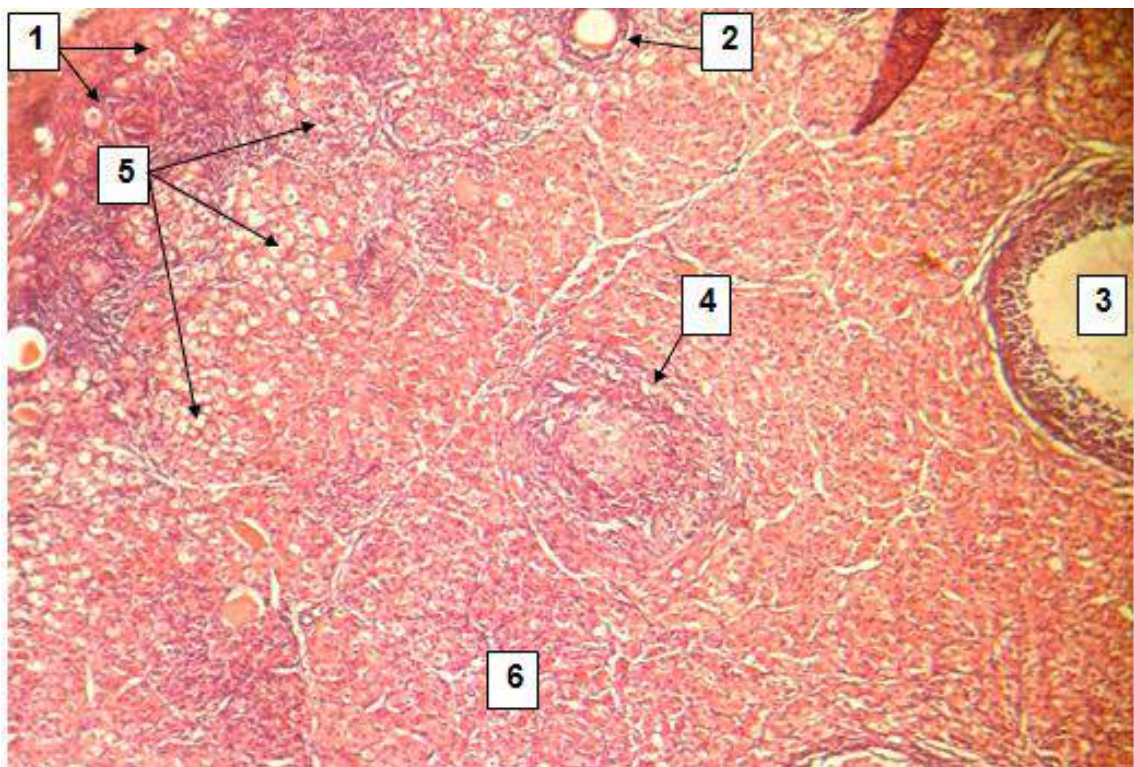


Рис. 24. Гістопрепарат яєчника кролиці контрольної групи. **Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$** : 1 – примордіальні і первинні фолікули; 2 – вторинний фолікул; 3 – третинний (антральний) фолікул; 4 – атрезія фолікула за облітеруєчим типом; 5 – атретичні тіла, 6 – інтерстиційна залозиста тканина.

Атретичні тіла утворюються в результаті лютеїнізації клітин *teca interna* та інколи клітин гранульози атретичних фолікулів. Клітини гранульози лютеїнізувались значно рідше, переважно у фолікулах, з невеликими порожнинами. Частіше ми спостерігали їх апоптоз. Лютеїнізовані первинні і вторинні фолікули (атретичні тіла) округлої форми, були утворені великими клітинами, з незабарвленою вакуолізованою цитоплазмою.

В центральній частині атретичні тіла інколи містили залишки блискучої оболонки та були зовні оточені тонким сполучнотканинним шаром *theca externa*. Такі атретичні тіла щільно розміщені у кірковій речовині і формують світлу зону, яка відмежовує примордіальні та первинні фолікули від інтерстиціальної залозистої тканини (рис. 25).

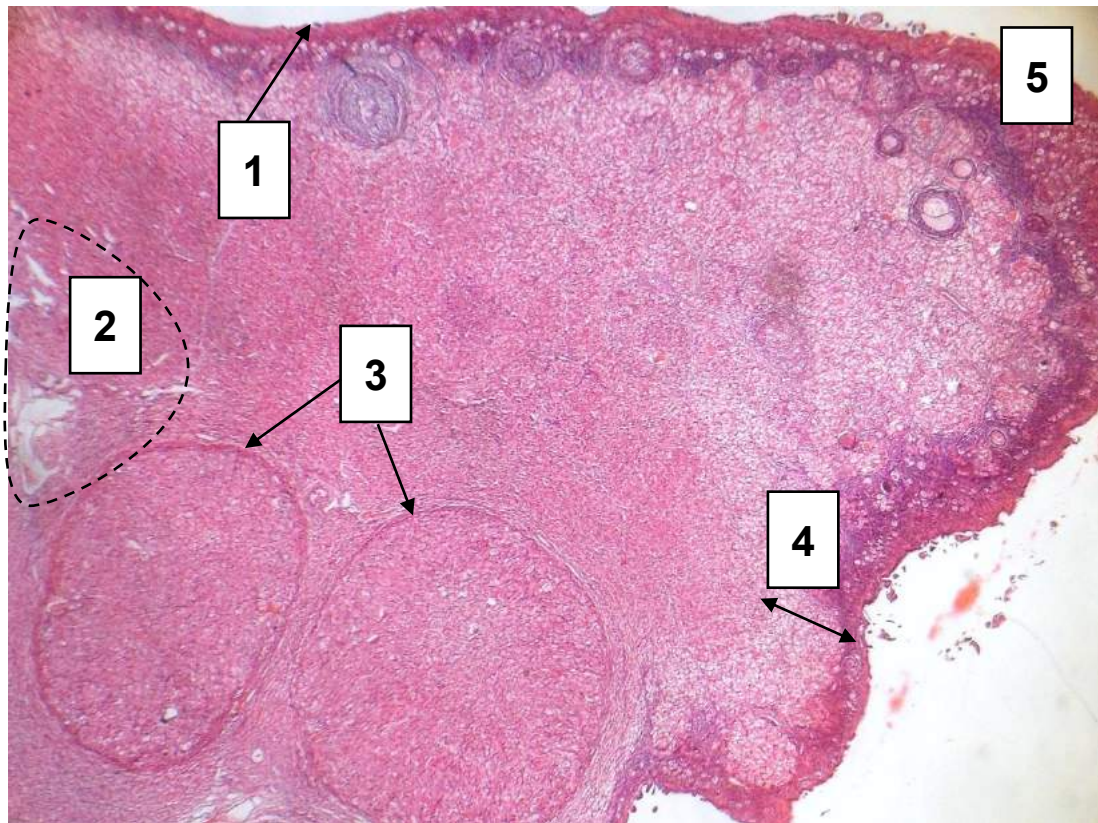


Рис. 25. Гістопрепарат яєчника кролиці контрольної групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 32$: 1 – кіркова речовина; 2 – мозкова речовина з інтерстиціальними ендокриноцитами між судинами; 3 – жовті тіла вагітності; 4 – зона атретичних тіл; 5 – зона примордіальних та первинних фолікулів.

Інтерстиціальна залозиста тканина у досліджених кролиць виявлялась у кірковій і мозковій речовині яєчника. Інтерстиціальні ендокриноцити відрізнялись оптично щільною оксифільною цитоплазмою і формували клітинні масиви довільної форми, розмежовані тонкими прошарками пухкої сполучної тканини. У складі інтерстиційної залозистої тканини візуалізувались судини мікроциркуляторного русла у вигляді порожніх щілинних просторів обмежованих ендотелієм, інколи з вмістом еритроцитів.

Таким чином у кролиць п'ятого репродуктивного циклу мікроскопічна структура яєчників мала характерні для більшості гризунів особливості, пов'язані із високим рівнем лютеїнізації паренхіми.

В яєчниках кролиць ми виявляли лютеїнові структури (жовті тіла вагітності, атретичні тіла та інтерстиціальні ендокриноцити) різного рівня диференціації: молоді, на стадії розквіту стероїдпродукуючої функції, на стадії регресії, а також білуваті тіла (рис. 26).



Рис. 26. Гістопрепарат правого яєчника кролиці контрольної групи. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 32$: 1 – жовті тіла вагітності; 2 – жовте тіло минулих циклів – на стадії регресу.

Така гістологічна картина відповідає профілю функціональних змін і гормональному статусу кролиць у певні фази репродуктивних циклів. Жовті тіла вагітності великого розміру, округлої форми, мали добре розвинені капсулу і васкуляризацію.

За порівняння лівого і правого яєчників ми спостерігали асинхронний характер рівня диференціації жовтих тіл. Так, якщо в одному з яєчників переважали молоді жовті тіла вагітності, то в другому – на стадіях активного стероїдного синтезу. Жовті тіла на стадії регресу та їх залишки ми виявляли в обох яєчниках (рис. 27).

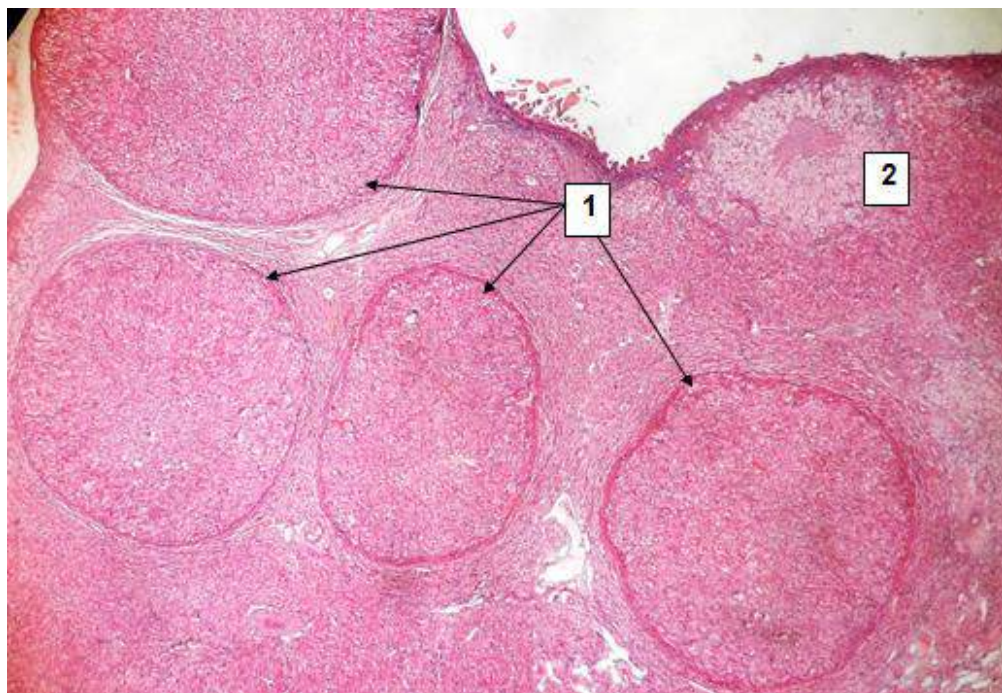


Рис. 27. Гістопрепарат лівого яєчника кролиці контрольної групи. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 32$: 1 – жовті тіла вагітності поточного циклу; 2 – жовте тіло вагітності попереднього циклу.

Лютеоцити, відповідно до стадій диференціації, відрізнялись за розміром, тинкторіальними властивостями цитоплазми і морфологією ядра. Молоді лютеоцити мали оксифільно забарвлену, оптично щільну з незначною базофілією цитоплазму. Клітини, що активно продукують стероїдні гормони, мали більший розмір і містили на периферії цитоплазми великі незабарвлені вакуолі.

На гістозрізах не рідко виявляються жовті тіла вагітності попередніх циклів, що може свідчити про їх функціонування протягом кількох циклів. Такі жовті тіла відрізнялись меншим розміром та світлим забарвленням. Лютеоцити у їх складі мали оптично прозору слабо оксифільну цитоплазму з наявністю інколи великих вакуолей. Ядра таких клітин переважно були гіперхромні або пікнотизовані, судини мікроциркуляторного русла розширені, але безкровні. Такі морфологічні ознаки свідчать про поступову регресію цих жовтих тіл.

Ядра молодих і зрілих лютеоцитів містили 1-2 ядерця і дрібнодисперсний гетерохроматин. Лютеїнові структури на стадії регресії являли собою масиви клітин, що відрізнялись слабооксифільною «пінявою» цитоплазмою, в якій зменшувалась кількість або зникали периферично розміщені прозорі вакуолі. Ядра таких клітин були переважно гіперхромні і пікнотизовані. Особливістю регресуючих лютеїнових структур були широкі безкровні судини мікроциркуляторного русла. Елімінація лютеоцитів на стадії регресії відбувається переважно апоптозом із заміщенням їх волокнистою сполучною, але не фіброзною тканиною.

Підсумовуючи, зазначимо, що у яєчнику сукрольних кролиць п'ятого репродуктивного циклу переважаючими є лютеїнові структури: жовті тіла вагітності, атретичні тіла та інтерстиціальна залозиста тканина. Атрезія фолікулів відбувається за двома типами: облітеруючим, характерним для первинних і вторинних фолікулів, і кістозним – в третинних фолікулах. Різновидом кістозної атрезії є утворення фолікулів з геморагічним вмістом. В яєчниках сукрольних кролиць п'ятого репродуктивного циклу знаходяться жовті тіла різних генерацій, що є свідченням функціонування їх протягом кількох репродуктивних циклів. Кількість і ступінь розвитку жовтих тіл у правому і лівому яєчниках різняться, що вказує на асинхронний характер овуляцій у попередніх циклах.

3.5 Морфологічна оцінка органів статеві системи кролиць за тривалого введення гонадотропіну сироватки жеребих кобил у різних дозах

Під час гістологічного дослідження яєчників дослідних кролиць встановлені наступні морфологічні зміни. Застосування протягом п'яти репродуктивних циклів *eCG* у дозі 40 МО призвело до зменшення функціонального резерву яєчників внаслідок численних апоптозів ооцитів не лише в первинних та вторинних фолікулах, а й примордіальних.

Товщина фолікулярної зони кіркової речовини була помітно зменшена, а в деяких ділянках інтерстиціальна залозиста тканина досягала білкової оболонки яєчника. На місцях атрезованих примордіальних і первинних фолікулів виявлялись лакуноподібні порожнини. В деяких порожнинах ми виявляли залишки блискучої оболонки у вигляді оксифільної гомогенної маси, що вказувало на деструкцію вторинних фолікулів.

Атрезія більшості таких фолікулів, на відміну від контрольної групи, не супроводжувалась лютеїнізацією клітин гранульози та текоцитів (у вторинних фолікулах) та формуванням атретичних тіл. Інколи такі фолікули заміщувались сполучною тканиною.

В окремих випадках ми відмічали в атрезованих первинних та вторинних фолікулах лютеїнізацію клітин гранульози, що супроводжувалось збільшенням об'ємів їх ядер і цитоплазми. Цитоплазма таких клітин не фарбувалась еозином та містила великі прозорі вакуолі. Найвні третинні фолікули знаходились в стані кістозної атрезії (рис. 28).

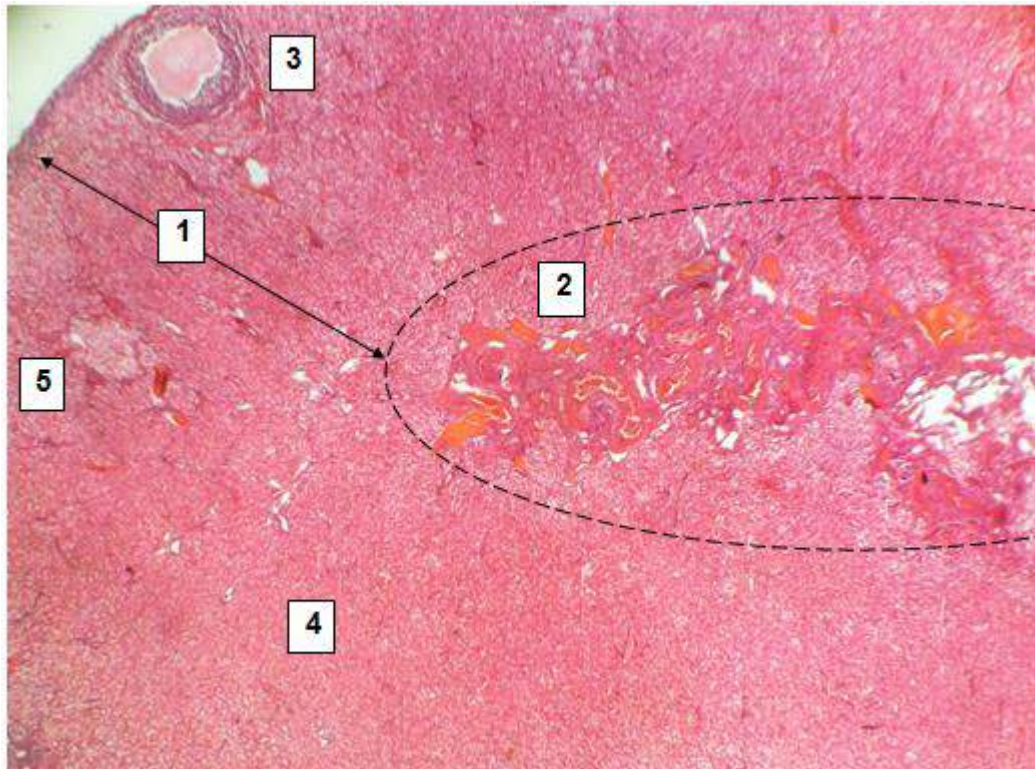


Рис. 28. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 1. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 32$: 1 – кіркова речовина; 2 – мозкова речовина з кровонаповненими судинами; 3 – кістозна атрезія третинного фолікула; 4 – інтерстиціальна залозиста тканина; 5 – атретичне тіло.

У третинних фолікулах ми відмічали морфологічні ознаки секреторної активності клітин гранульози, а саме: збільшення розміру клітин, зменшення оптичної щільності їх ядер за рахунок еухроматину, наявність краплеподібних світлих зон на апікальному полюсі. В таких фолікулах, як правило, ми спостерігали лютеїнізацію клітин внутрішньої теки. У фолікулах із сформованою однією великою порожниною, які досягали преовуляторної стадії, просвіт був порожнім, або містив оксифільну фолікулярну рідину з різним ступенем ущільнення, в деяких – до колоїдного стану. В таких фолікулах гранульоза була відшарована у просвіт порожнини або утворена кількома шарами фолікулярних клітин з ознаками апоптозу і деструкції.

Клітини гранульози втрачали міжклітинні зв'язки, часто набували відросчасту (зірчасту) форму (рис. 29).

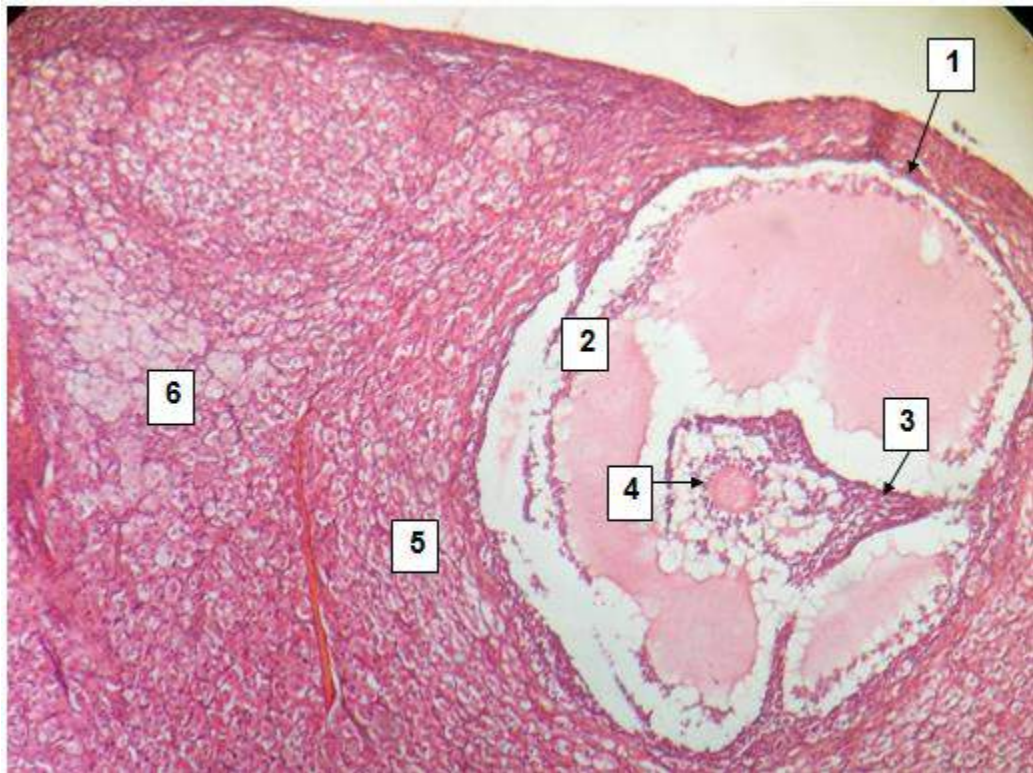


Рис. 29. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 1. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$: 1 – кістозна атрезія третинного фолікула; 2 – відшарування гранульози; 3 – клітини кумулюса; 4 – клітини променистого вінця навколо ооцита; 5 – лютеїнізовані текоцити внутрішньої теки; 6 – лютеоцити на стадії регресії.

В деяких випадках у складі лютеїнізованої внутрішньої теки фолікула ми визначали нодулярні лімфоїдні утворення (рис. 30), що може бути проявом підвищеної імунної реактивності на органному рівні, індукованої багаторазовим застосуванням eCG. В зоні розміщення лімфоїдних вузликів гранульоза фолікулів повністю відсутня, а лютеїнізовані текоцити формували світлі зони з характерними дегенеративними змінами: каріопікноз, накопичення в цитоплазмі великих прозорих вакуолей, наявність клітин лімфоїдно-макрофагального ряду і еозинофілів. Жовтих тіл вагітності в обох (правому і лівому) яєчниках було значно менше порівняно з контролем.

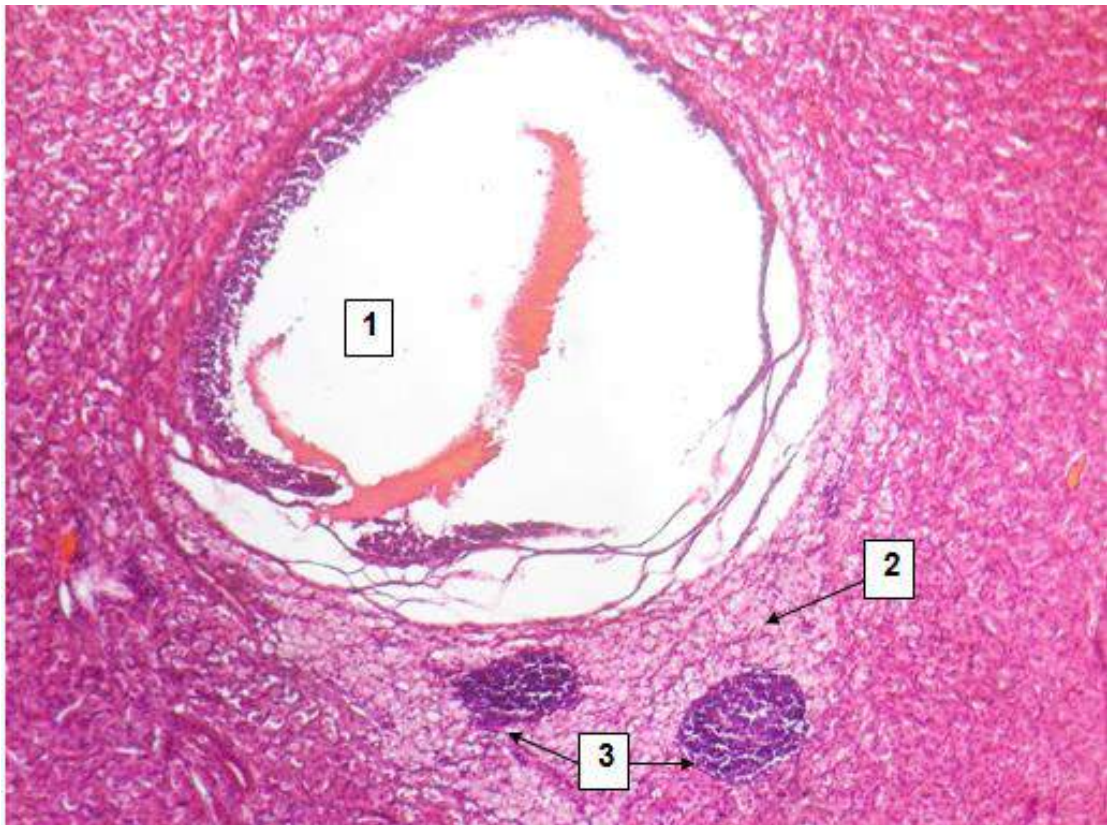


Рис. 30. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 1. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$: 1 – кістозна атрезія третинного фолікула, відшарування гранульози; 2 – лютеоцити на стадії регресії; 3 – лімфоїдні вузлики.

Інтерстиціальна залозиста тканина переважала серед усіх лютеїнових структур у кірковій речовині, а також майже повністю заміщувала пухку сполучну тканину у мозковій речовині яєчника. Морфологічні ознаки інтерстиціальних ендокриноцитів були характерними для клітин лютеїнових структур у період розквіту стероїдпродукуючої функції: перевага в ядрах еухроматину з добре вираженими 1-2 ядерцями, оксифільна цитоплазма з кількома периферично розміщеними прозорими вакуолями. Серед інтерстиціальних ендокриноцитів визначались клітини з двома ядрами і більш оптично щільною цитоплазмою і відсутністю прозорих вакуолей. Ці клітини ми розглядаємо як молоді ендокриноцити. Наявність великої кількості таких клітин є свідченням проліферації інтерстиціальних ендокриноцитів. За даними літератури припускається різне гістогенетичне походження інтерстиціальних і

текальних ендокриноцитів, а можливо і відмінності складу стероїдів, які вони продукують. Морфологічна картина, яку ми відмічали в гістоструктурі яєчників кролиць за тривалого застосування *eCG* у дозі 40 МО, може бути непрямим підтвердженням такого припущення.

З боку усіх ланок судинного русла були виражені морфологічні ознаки порушення гемодинаміки. Ці зміни ми виявляли не лише в яєчнику, а й в матці (рис. 31).

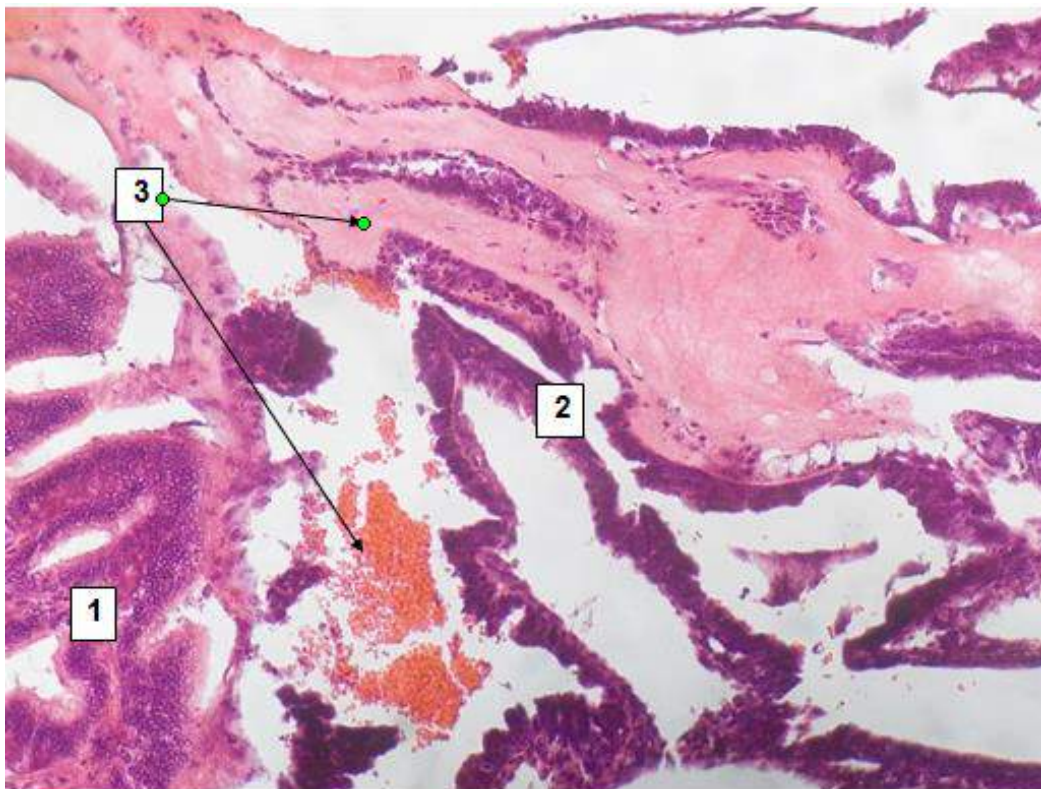


Рис. 31. Гістопрепарат матки кролиці дослідної групи 1. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$: 1 – материнська частина плаценти; 2 – плодова частина плаценти; 3 – інтраплацентарний трансудат з вмістом фібриноїду і еритроцитів.

Гіперемія артеріальних, венозних і судин мікроциркуляторного русла була виражена переважно у мозковій речовині. У кірковій речовині венозні судини і судини мікроциркуляторного русла, навпаки були переважно порожніми, але мали розширений просвіт, за рахунок чого добре візуалізувались у складі прошарків пухкої сполучної тканини, між

інтерстиціальними ендокриноцитами, у складі жовтих тіл і навіть білкової оболонки яєчника. У мозковій речовині кровоносні судини були кровонаповнені, в деяких з них ми спостерігали пристінкову агрегацію формених елементів крові без гемолізу еритроцитів. Просвіти деяких судин були заповненими лише плазмою крові. Лімфатичні судини мозкової речовини були розширеними. Така картина вказує на порушення умов гемодинаміки та реологічних властивостей крові. Внаслідок венозного застою і підвищеної проникливості судин відмічається накопичення у плаценті трансудату з вмістом фібриноїду, а інколи і формених елементів крові, що може стати причиною відшарування плодової частини плаценти з подальшими ускладненнями гестації і навіть загибеллю плодів.

Загальна морфологічна картина яєчників кролиць дослідної групи 2 відповідає описаній у 1-й експериментальній групі (рис. 32-33).

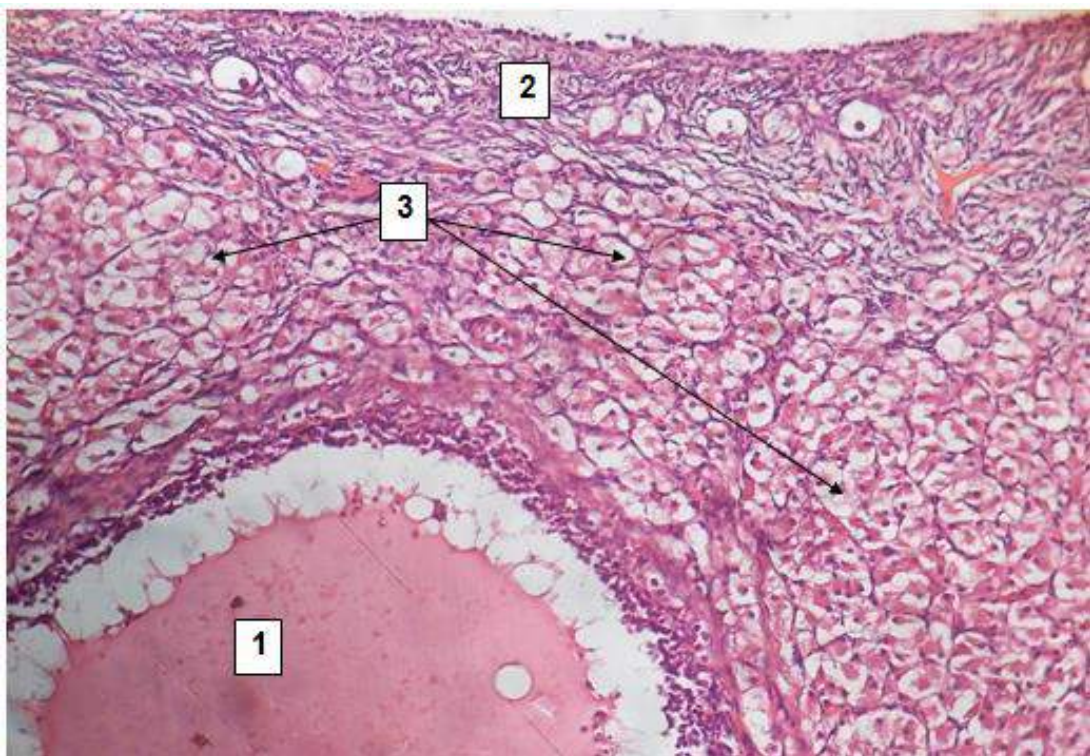


Рис. 32. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 2. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$: 1 – третинний фолікул з високою секреторною активністю гранульози; 2 – примордіальні і первинні ооцити; 3 – атретичні тіла.

Основними відмінностями, відміченими нами, були:

1. Дещо більша кількість примордіальних і первинних фолікулів у кірковій речовині. При цьому менша частина ооцитів мала деструктивні зміни, що вказує на зменшення негативного впливу препарату у дозі 25 МО на функціональний резерв яєчників при застосуванні його протягом 5-ти репродуктивних циклів.

2. Більша кількість антральних фолікулів з ознаками гіперсекреторної активності клітин гранульози. В більшості фолікулів відсутнє відшарування гранульози.

3. Кількість жовтих тіл вагітності була більшою.

4. Серед лютеїнових структур переважаючою, як і в 1-й дослідній групі, була інтерстиціальна залозиста тканина, але у її складі ми визначали ендокриноцити як на стадії розквіту функціональної активності, так і на стадії регресії. Для визначення цих стадій спирались на наступні морфологічні критерії: розмір клітин і ядра, ядерно цитоплазматичне відношення, тинкторіальні властивості цитоплазми і ядер ендокриноцитів, наявність двоядерних клітин.

5. Судинна реакція у мозковій речовині повністю відповідала такій, як описана у 1-й групі, але порожні розширені судини мікроциркуляторного русла у кірковій речовині майже не визначались. Судини мозкової речовини були кровонаповненими. Стінки кровоносних судин та периваскулярна пухка сполучна тканина нерідко були просочені плазмою крові з формуванням плазморагій, що вказує на підвищену проникливість судин. В просвіті як венозних, так і артеріальних судин була відмічена внутрішньосудинна агрегація формених елементів крові, внаслідок чого більшість судин мікроциркуляторного русла та венозних судин мозкової речовини були заповнені лише плазмою крові. Інтраваскулярно визначались численні везікули.

6. Відсутні лімфоїдні утворення у складі внутрішньої теки фолікулів і в яєчниках в цілому.

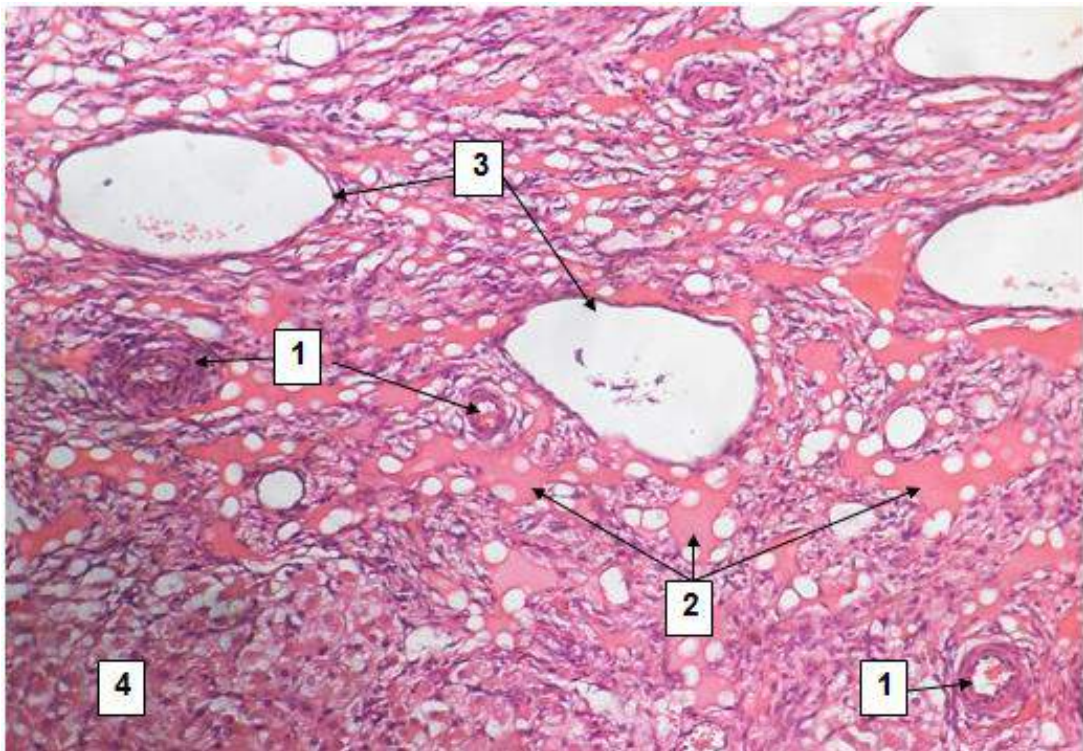


Рис. 33. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 2. Фрагмент мозкової речовини. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$: 1 – артерії; 2 – вени: розширені, не містять формених елементів крові та з великою кількістю прозорих везикул; 3 – лімфатичні судини; 4 – інтерстиціальні ендокриноцити.

Комплекс морфофункціональних змін у яєчниках кролиць, яким протягом п'яти репродуктивних циклів застосовували стимуляцію фолікулогенезу eCG у дозах 40 МО та 25 МО відповідає патоморфологічній картині синдрому гіперстимульованих яєчників. Головними ознаками були: зменшення функціонального резерву яєчників внаслідок дегенеративних змін в ооцитах примордіальних фолікулів; виразна судинна реакція, яка призводила до порушень гемодинаміки через зміну реологічних властивостей крові з наступним венозним застоєм. Серед клінічних ознак цього синдрому були зареєстровані асцит і внутрішньоочеревинна кровотеча у кількох сукрольних кролиць.

3.6 Особливості морфологічної структури яєчників кролиць за комбінованого застосування гонадотропінів

При комбінованому застосуванні *eCG* та *hCG* в дозі 40 МО судинна реакція з ознаками гіперемії і венозного застою була менш виражена (рис. 34). Більшість судин кіркової і мозкової речовини яєчників були розширеними і порожніми, але подекуди відзначались ділянки мозкової речовини з ознаками венозної гіперемії. Просвіт деяких судин був заповнений плазмою крові за повної відсутності формених елементів. В таких судинах, переважно венах, в гомогенній оксифільній масі внутрішнього судинного вмісту добре визначались незабарвлені вакуолі, які часто мали пристінкову локалізацію, що може бути свідченням реактивності ендотеліоцитів. Лімфатичні судини мозкової речовини не візуалізувались.

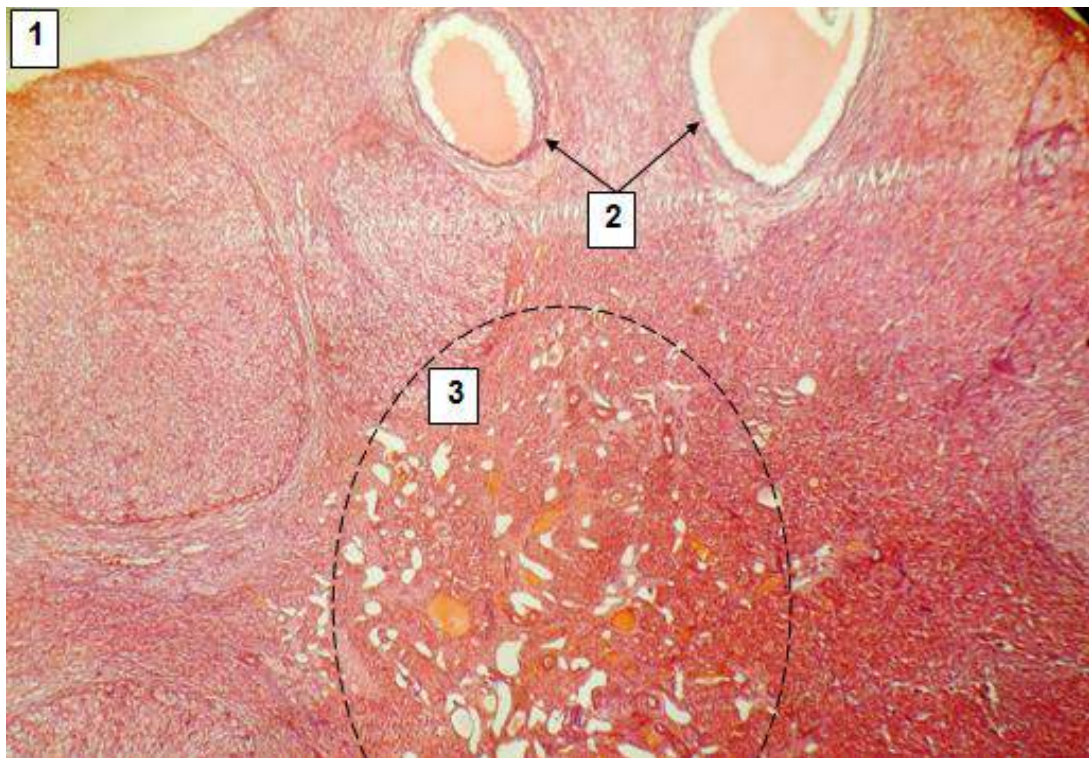


Рис. 34. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 3. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$: 1 – жовте тіло вагітності; 2 – третинні фолікули з гіперсекреторною активністю клітин гранульози; 3 – мозкова речовина.

У кірковій речовині яєчників ми визначали фолікули усіх генерацій та у стані атрезії (рис. 35). Пул примордіальних фолікулів виявляв більшу збереженість, порівняно з яєчниками кролиць 1-ї і 2-ї дослідних груп, але був помітно меншим порівняно з контролем. Кількість атретичних тіл була помітно більшою, порівняно з яєчниками кролиць, індукцію овуляції у яких викликали введенням лише *eCG*. Попри це атрезія більшості первинних і вторинних фолікулів характеризувалась дегенеративними змінами в ооцитах і, переважно, не супроводжувалась лютеїнізацією клітин фолікулярного епітелію та текоцитів, а їх тека відзначалась потовщенням, інколи дуже суттєвим, за рахунок сполучної тканини.

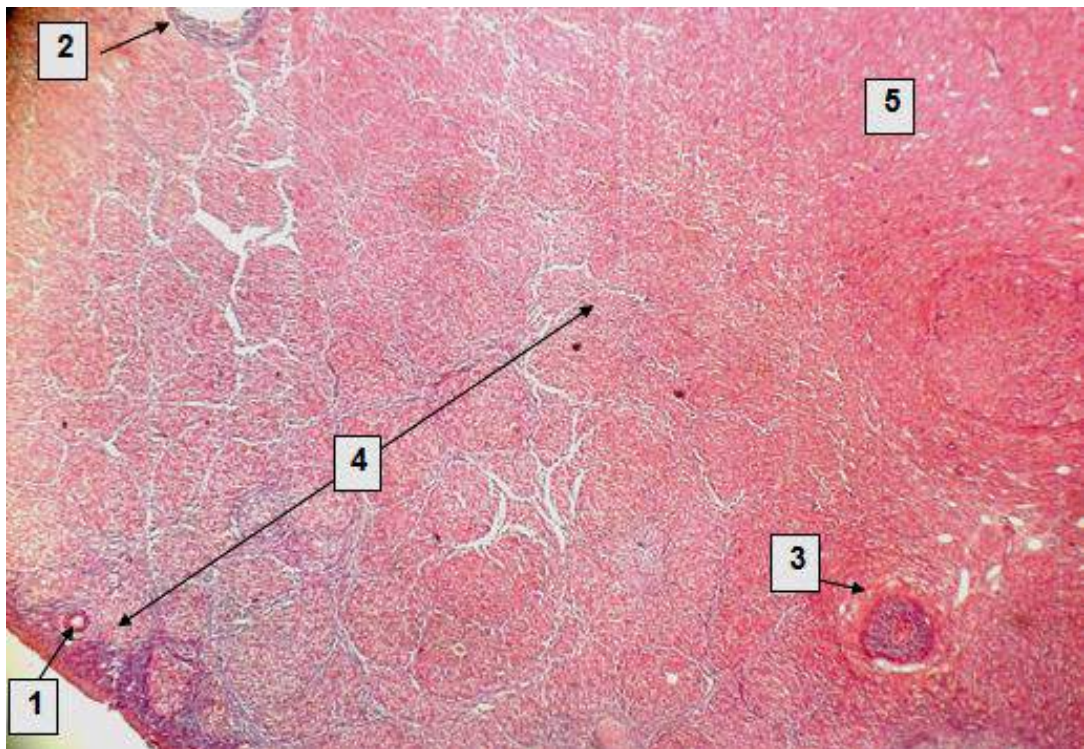


Рис. 35. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 3. Зabarвлення гематоксилином і еозином, $\times 32$: 1 – вторинний фолікул на стадії атрезії; 2 – фрагмент третинного фолікула; атретичний фолікул з потовщеною текою, атрезія за облітеруючим типом; 4 – зона розміщення атретичних тіл.

Серед третинних фолікулів ми визначали окремі фолікули із багат шаровим фолікулярним епітелієм із ознаками секреторної активності (рис. 36). Їх кількість була помітно меншою, порівняно з яєчниками кролиць,

яким застосовували лише *eCG*. Такі фолікули здебільшого не досягали розміру преовуляторних і містили лютеїнізовані текоцити. Атретичні фолікули, що досягали розміру преовуляторних, характеризувались повною відсутністю гранульози.



Рис. 36. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 3. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$: 1 – жовті тіла вагітності; 2 – кістозна атрезія третинного фолікула з геморагічним вмістом. Капсули жовтих тіл та фолікула потовщені за рахунок сполучної тканини зовнішньої теки; 3 – фрагмент мозкової речовини.

Наявні атретичні тіла були утворені округлими або полігональними клітинами, які в цитоплазмі містили великі прозорі вакуолі, за рахунок чого зона розміщення таких клітин в цілому виглядала світлішою. Ядра клітин атретичних тіл були переважно гіперхромні та пікнотизовані, що вказувало на зниження їх секреторної активності. У складі таких атретичних тіл, а також їх перифолікулярної сполучної тканини, виявлялись клітини лімфоїдно-макрофагального ряду, які інколи формували клітинні інфільтрати. Така картина може вказувати, що наявні атретичні тіла знаходяться у стані

ремодуляції. Ті, що утворились в попередніх репродуктивних циклах знаходяться у стані регресії, їх функціональна активність пригнічена.

Інтерстиціальна залозиста тканина, яка містилась в більш глибоких шарах кіркової і мозкової речовині, відрізнялась оксифільним забарвленням. Залозисті клітини великого розміру, полігональної або наближеної до округлої форми, щільно прилягали одна до одної. Між ними визначались судини мікроциркуляторного русла у вигляді прозорих, обмежованих ендотелієм щілин. В цитоплазмі гландулоцитів визначались еозинофільні гранули і дрібні, поодинокі, прозорі вакуолі середнього розміру, локалізовані переважно периферії. Ядра таких клітин мали округлу або овальну форму, містили помірну кількість дрібнодисперсного гетерохроматину та 1-2 ядерця, що є свідченням їх синтетичної активності.

В яєчниках кролиць після комбінованого застосування *eCG* та *hCG* у дозі 24 МО поряд із основними біологічними ефектами, визначеними у кролиць 3 дослідної групи, були встановлені мікроструктурні особливості (рис. 37), які вказують на більш високу секреторну активність інтерстиціальних гландулоцитів, порівняно з яєчниками кролиць усіх попередніх груп, включно з контрольною. Клітини інтерстиціальної залозистої тканини полігональної форми з вираженими загостреними кутами, мали помітно менші розміри та оптично щільну оксифільну цитоплазму. Між ними добре визначались щілинні проміжки з розширеними судинами мікроциркуляторного русла. Ядра інтерстиціальних ендокриноцитів переважно округлої форми з дрібнодисперсним гетерохроматином та 1-2 ядерцями. Розміри і форма клітин, а також ядра, вказують на підвищену не лише синтетичну, а й секреторну активність клітин. За рахунок активної секреції секреторні продукти постійно виводяться у кров, що вірогідно може стати причиною підвищення рівня відповідних гормонів у крові з проявом певних ефектів. Існує думка, що інтерстиціальні ендокриноцити є джерелом утворення оваріального тестостерону.

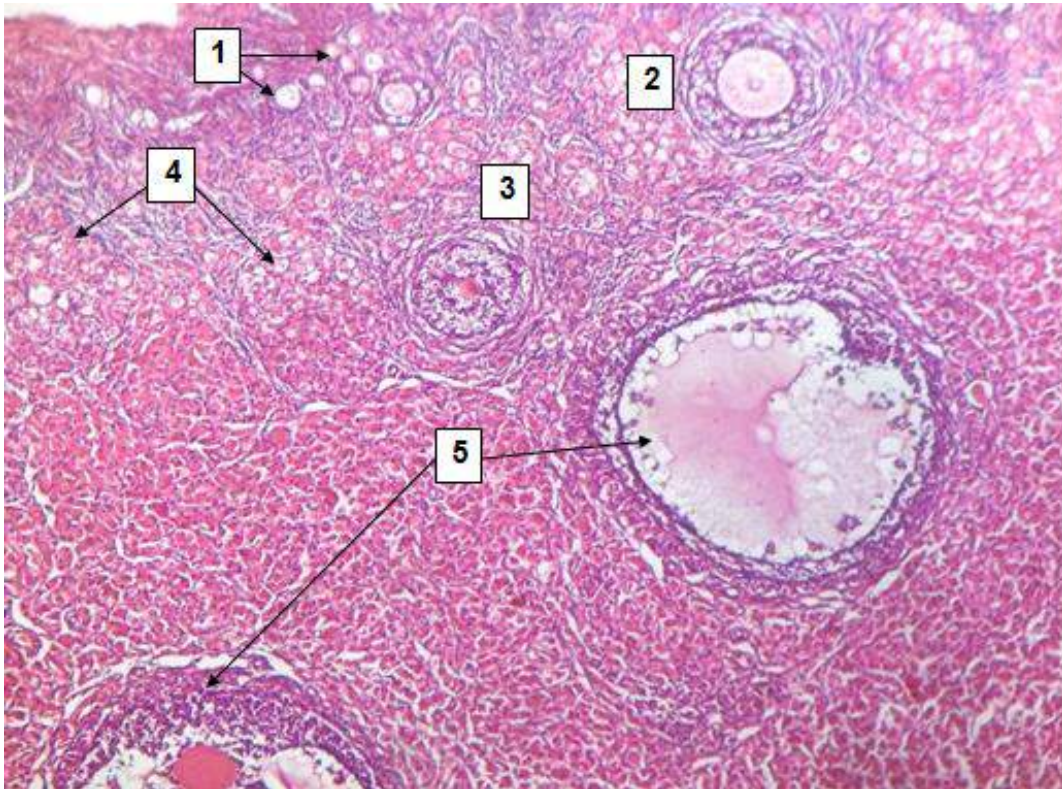


Рис. 37. Гістопрепарат яєчника кролиці дослідної групи 4. Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$: 1 – примордіальні і первинні фолікули; 2 – вторинний фолікул з лютеїнізацією текоцитів і гранульози; 3 – атрезія вторинного фолікула за облітеруюючим типом; 4 – атретичні тіла; 5 – кістозна атрезія без лютеїнізації текоцитів і клітин гранульози.

На гістопрепаратах яєчників визначали непрямі морфологічні ознаки гіперандрогенії в окремих кролиць цієї групи, а саме гальмування фолікулогенезу на стадії ранніх антральних фолікулів з їх кістозним переродженням, яке супроводжується некрозом і відшаруванням гранульози без лютеїнізації. Тоді як атрезія первинних і вторинних фолікулів проходить за облітеруючим типом з лютеїнізацією клітин гранульози і текоцитів. Така морфологічна картина є провідною ознакою синдрому полікістозних яєчників.

3.7 Порівняльний аналіз кількісного складу фолікулів яєчників кролиць за застосування різних гормональних засобів

Кількісний склад фолікулів на площі середнього поздовжнього зрізу яєчників кролиць наведено в табл. 6.

Таблиця 6

Кількісний склад фолікулів яєчників кролиць у п'ятому репродуктивному циклі за введення гонадотропіну сироватки жеребих кобил

| № з/п | Вид фолікулів | Кількість фолікулів у групах кролиць: | | |
|-------|---|---------------------------------------|------------------|------------------|
| | | контрольна (n=5) | дослідна 1 (n=5) | дослідна 2 (n=5) |
| 1 | примордіальні | 314,4±1,72 | 207,6±1,23*** | 242,7±1,41*** |
| 2 | первинні не лютеїнізовані | 13,0±1,10 | 9,1±0,77* | 11,2±0,94 |
| 3 | первинні лютеїнізовані (атретичні тіла) | 23,2±1,82 | 12,7±0,91*** | 16,9±1,17* |
| 4 | вторинні не лютеїнізовані | 3,6±0,51 | 2,2±0,27* | 2,8±0,36 |
| 5 | вторинні лютеїнізовані | 6,4±0,51 | 4,1±0,34** | 4,3±0,43* |
| 6 | третинні | 3,2±0,19 | 2,8±0,11 | 3,0±0,17 |
| 7 | геморагічні | 2,8±0,18 | 3,7±0,24* | 3,1±0,21 |
| 8 | жовті тіла вагітності | 4,2±0,37 | 2,1±0,27** | 2,9±0,31* |
| 9 | жовті тіла попередніх циклів | 2,0±0,11 | 1,8±0,07 | 0,9±0,04*** |

Примітки: * – P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001 – достовірні зміни порівняно з контрольною групою.

З даних табл. 6 видно, що тривале застосування ГСЖК за стимуляції фолікулогенезу у кролиць призводило до значного зменшення кількості примордіальних фолікулів, зокрема у дослідній групі 1 на 34,0%, а у дослідній групі 2 – на 22,8% ($P < 0,001$). Подібних змін зазнавали й інші генерації фолікулів – кількість первинних нелютеїнізованих фолікулів у дослідній групі 1 була на 30,0% ($P < 0,05$) меншою контролю, а у дослідній групі 2 мала тенденцію до зниження, при цьому кількість атретичних тіл (первинних лютеїнізованих фолікулів) також була значно зменшеною – на 45,3% ($P < 0,001$) у кролиць дослідної групи 1 та на 27,2% ($P < 0,05$) – у дослідної групи 2.

Кількість вторинних нелютеїнізованих фолікулів у самиць дослідної групи 1 була нижчою даних контролю на 38,9% ($P < 0,05$), а у дослідній групі 2 характеризувалася тенденцією до зниження. Подібні зміни визначалися у вмісті вторинних лютеїнізованих фолікулів у яєчниках кролиць – у тварин дослідної групи 1 вони були меншими контрольних значень на 35,9% ($P < 0,01$), а у дослідної групи 2 – на 32,8% ($P < 0,05$). Зауважимо, що тривале введення ГСЖК у обох дозуваннях сприяло тенденції до зниження кількості третинних та зростанню кількості геморагічних фолікулів (у дослідній групі 1 на 32,1%, $P < 0,05$).

Також зменшені кількісні показники визначалися на гістопрепаратах яєчників кролиць за показниками жовтих тіл – вагітності і попередніх циклів. Так, у дослідній групі 1 кількість жовтих тіл вагітності була меншою контролю на 50,0% ($P < 0,01$), а кількість жовтих тіл попередніх циклів мала тенденцію до зниження. Подібні зміни були відзначені й у дослідній групі 2 – кількість жовтих тіл вагітності зменшувалася на 31,0% ($P < 0,05$), а жовтих тіл попередніх циклів – на 55,0% ($P < 0,001$), як і було зазначено у попередньому розділі дисертаційної роботи.

Вплив тривалого комбінованого введення гонадотропінів на кількість фолікулів у яєчниках кролиць наведено у табл. 7.

**Кількісний склад фолікулів яєчників кролиць у п'ятому
репродуктивному циклі за комбінованого введення гонадотропінів**

| № з/п | Вид фолікулів | Кількість фолікулів у групах кролиць: | | |
|----------|---|---------------------------------------|---------------------|---------------------|
| | | контрольна (n=5) | дослідна 3 (n=5) | дослідна 4 (n=5) |
| 1 | примордіальні | 314,4±1,72 | 267,9±1,63*** | 252,1±1,49 |
| 2 | первинні не лютеїнізовані | 13,0±1,10 | 11,7±0,89 | 10,2±0,52* |
| 3 | первинні лютеїнізовані (атретичні тіла) | 23,2±1,82 | 18,3±0,84* | 14,6±0,92** |
| 4 | вторинні не лютеїнізовані | 3,6±0,51 | 3,9±0,64 | 3,4±0,47 |
| 5 | вторинні лютеїнізовані | 6,4±0,51 | 6,7±0,78 | 5,1±0,24* |
| 6 | третинні | 3,2±0,19 | 2,4±0,09** | 2,1±0,07*** |
| 7 | геморагічні | 2,8±0,18 | 2,9±0,14 | 2,7±0,16 |
| 8 | жовті тіла вагітності | 4,2±0,37 | 3,7±0,29 | 2,6±0,24** |
| 9 | жовті тіла попередніх циклів | 2,0±0,11 | 2,4±0,16 | 1,6±0,08* |

Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – достовірні зміни порівняно з контрольною групою.

Комбіноване введення гонадотропінів чинило виразний вплив на кількість фолікулів різних генерацій в яєчниках кролиць. Як і було показано на гістопрепаратах, за введення вищої дози ГСЖК + ХГЧ визначалася вища збереженість фолікулів, ніж за стимуляції фолікулогенезу лише ГСЖК. Так, у дослідній групі 3 кількість примордіальних фолікулів була нижчою контролю

на 14,8% ($P < 0,001$), атретичних тіл – на 21,1% ($P < 0,05$), а третинних фолікулів – на 25,0% ($P < 0,01$).

При цьому тенденцію до зниження мала кількість фолікулів інших генерацій – первинних і вторинних нелютеїнізованих, вторинних лютеїнізованих та геморагічних. Подібні зміни були визначені й у кількості жовтих тіл, при цьому, як вагітності, так і попередніх циклів. В цілому, досліджувані показники хоча й були меншими контрольних значень, але були вищими даних кролиць дослідних груп 1 і 2.

Різноспрямований вплив комбінованого введення гонадотропінів на кількісний склад фолікулів у яєчниках самиць був визначений у дослідній групі 4. Кількість примордіальних фолікулів була меншою на 19,8% ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою. Подібні зміни були відзначені у кількості первинних фолікулів, зокрема на 21,5% ($P < 0,05$) зменшувалась кількість нелютеїнізованих, а атретичних тіл (лютеїнізованих) – на 37,1% ($P < 0,01$).

Кількість вторинних фолікулів також була нижчою контрольних показників – лютеїнізованих на 20,3% ($P < 0,05$), а нелютеїнізованих мала тенденцію до зменшення. Відмітимо, що у даній групі кролиць кількість третинних фолікулів була найменшою серед усіх дослідних груп і на 34,4% ($P < 0,001$) нижче даних контролю. Вміст геморагічних фолікулів був на рівні контрольної групи і достовірних змін не виявляв.

Кількість жовтих тіл у яєчниках кролиць дослідної групи 4 також характеризувалася низькими показниками – кількість жовтих тіл вагітності була меншою за контрольну групу на 38,1% ($P < 0,01$), а жовтих тіл попередніх циклів – на 20,0% ($P < 0,05$).

Отримані дані щодо кількісного складу фолікулів у статевих залозах кролиць, що виникали за дії гонадотропінів, вочевидь були взаємопов'язані із гормональним балансом в організмі тварин, динаміка якого описана у підрозділі 3.8.

3.8 Оцінка гормонального балансу в організмі кролиць за стимуляції фолікулогенезу

Зміни динаміки рівня гормонів у сироватці крові і м'ясі кролиць показали особливості впливу гонадотропнів порівняно з аналогом ГнРГ. Динаміка вмісту фолікулостимулюючого гормону у сироватці крові кролиць протягом експерименту наведена у табл. 8.

Таблиця 8

Рівень фолікулостимулюючого гормону у сироватці крові кролиць за введення гонадотропними засобами ($M \pm m$, IU/L)

| Репродуктивний цикл | Групи кролиць: | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | контрольна (n=12) | дослідна 1 (n=12) | дослідна 2 (n=12) | дослідна 3 (n=12) | дослідна 4 (n=12) |
| 1 | 14.33±0.31 | 16.72±0.38*** | 17.46±0.42*** | 12.42±0.28*** | 14.67±0.33 |
| 2 | 15.17±0.23 | 16.21±0.27** | 18.73±0.47*** | 12.13±0.24*** | 14.37±0.36 |
| 3 | 14.73±0.34 | 16.03±0.31** | 17.63±0.43*** | 11.59±0.21*** | 13.86±0.31 |
| 4 | 14.26±0.29 | 15.56±0.34** | 16.47±0.37*** | 11.23±0.23*** | 13.12±0.27** |
| 5 | 13.94±0.21 | 14.83±0.28* | 15.81±0.32*** | 10.89±0.19*** | 12.77±0.24** |

Примітки: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – достовірні зміни порівняно з контролем.

Виразний вплив на зростання рівня ФСГ у сироватці крові кролиць було встановлено у тварин дослідних груп 1 і 2. Так, у першому репродуктивному циклі рівень ФСГ був вищим показників контролю на 16,7 % та 21,8 % у кролиць дослідних груп 1 і 2 відповідно ($P < 0,001$). Надалі динаміка рівня ФСГ у тварин дослідної групи 1 характеризувалася незначними коливаннями у бік збільшення даних показнику на 6,9 % у другому репродуктивному циклі, на 8,8 % – у третьому, на 9,1 % – у четвертому та лише на 6,4 % – у п'ятому циклі ($P < 0,05-0,01$). Позитивна динаміка високої активності ФСГ у сироватці крові відзначалася у кролиць дослідної групи 2: порівняно з даними контролю рівень

гормону у другому циклі був вищим на 23,9 %, у третьому – на 19,7 %, у четвертому – на 15,5 %, а у п'ятому – на 13,4 % ($P < 0,001$).

У тварин дослідної групи 3 протягом дослідження нами відзначено зменшення рівня ФСГ порівняно з контрольними кролицями. Зокрема, у самиць першого репродуктивного циклу він був нижчим показників контролю на 13,3 %, а надалі зазнавав ще більш вираженого зниження: на 20,0 % у другому циклі, на 21,3 % – у другому і третьому та на 21,9 % – у п'ятому циклі ($P < 0,001$). Подібні зміни встановлені у дослідній групі 4 – лише у тварин першого циклу відзначали тенденцію до зростання рівня ФСГ, натомість у 2 і 3 циклах він мав тенденцію до зниження, а у четвертому і п'ятому був нижчим даних контролю на 8,0 % і 8,4 % відповідно ($p < 0,01$).

Варто зазначити, що у кролиць контрольної групи рівень ФСГ від першого до п'ятого циклу супроводжувався незначними коливаннями, а наприкінці експерименту мав тенденцію до зниження.

Динаміка вмісту лютеїнізуючого гормону у сироватці крові кролиць протягом експерименту узагальнена у табл. 9.

Таблиця 9

Рівень лютеїнізуючого гормону у сироватці крові кролиць за овуляції, індукованої гонадотропними засобами ($M \pm m$, IU/L)

| Репродуктивний цикл | Групи кролиць: | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | контрольна (n=12) | дослідна 1 (n=12) | дослідна 2 (n=12) | дослідна 3 (n=12) | дослідна 4 (n=12) |
| 1 | 27.42±0.82 | 23.17±0.71*** | 24.72±0.74* | 30.46±0.91* | 29.77±0.86 |
| 2 | 24.34±0.76 | 23.52±0.69 | 26.44±0.71 | 29.84±0.84*** | 28.93±0.83*** |
| 3 | 23.74±0.72 | 24.08±0.64 | 26.13±0.69* | 29.37±0.81*** | 28.14±0.77*** |
| 4 | 22.61±0.67 | 22.14±0.63 | 25.73±0.72** | 28.61±0.84*** | 27.62±0.79*** |
| 5 | 20.27±0.61 | 21.41±0.67 | 25.32±0.70*** | 27.53±0.77*** | 26.91±0.73*** |

Примітки: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – достовірні зміни порівняно з контролем.

З даних таблиці 9 видно, що рівень ЛГ у сироватці крові кролів за індукції овуляції гормональними засобами також зазнавав істотних змін. Так, у самиць дослідної групи 3 встановлено вірогідне зростання рівня ЛГ протягом експерименту, зокрема, на 11,1 % ($P < 0,05$) у першому репродуктивному циклі, на 22,6 % – у другому, на 23,7 % – у третьому, на 26,5 % – у четвертому та 36,5 % – у п'ятому циклі ($P < 0,001$). Менш вираженими були зміни у кролиць дослідної групи 4 – динаміка рівня ЛГ порівняно з даними контролю була вищою у тварин другого циклу – на 18,9 %, третього – на 18,5 %, четвертого – на 22,2 % і п'ятого – на 32,8 % ($P < 0,001$).

Неоднозначними виявилися зміни динаміки ЛГ у кролиць, яким вводили *eCG* – дослідних груп 1 і 2. Наприклад, у тварин дослідної групи 1 першого циклу рівень ЛГ був нижчим показників групи контролю на 15,5 % ($P < 0,001$), у другому і четвертому репродуктивному циклі мав тенденцію до зниження. Тоді як у третьому і п'ятому циклі характеризувався тенденцією до підвищення. У самиць дослідної групи 2, подібно до описаної вище групи, на початку дослідження рівень ЛГ був нижчим даних контролю на 9,9 % ($P < 0,05$), натомість, у другому циклі виявляв тенденцію до зростання, а у третьому, четвертому і п'ятому циклах був достовірно вищим – на 10,1 %, 13,8 % і 24,9 % відповідно ($P < 0,05-0,001$).

Зазначимо, що подібну динаміку рівня ФСГ у тварин контрольної групи відзначали тенденції до змін рівня ЛГ. Характерними є відмінності рівня даного гормону у тварин першого і п'ятого циклів, при цьому рівень ЛГ у кролиць наприкінці дослідження був вірогідно нижчим даних першого циклу на 26,1 % ($P < 0,05$). Динаміка зниження даного гормону, як і ФСГ, спостерігалася у кролиць групи контролю протягом усього періоду дослідження.

Зміни рівня основного метаболічно активного естрогенного гормону – 17β -естрадіолу у сироватці крові кролиць протягом експерименту узагальнена у табл. 10.

Рівень 17β -естрадіолу у сироватці крові кролиць за овуляції, індукованої гонадотропними засобами ($M \pm m$, pmol/L)

| Репродуктивний цикл | Групи кролиць: | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | контрольна (n=12) | дослідна 1 (n=12) | дослідна 2 (n=12) | дослідна 3 (n=12) | дослідна 4 (n=12) |
| 1 | 22.26±0.67 | 27.24±0.74*** | 19.44±0.51** | 32.54±1.17*** | 28.71±0.77*** |
| 2 | 20.47±0.49 | 24.71±0.78*** | 18.63±0.42** | 30.88±0.94*** | 23.34±0.69** |
| 3 | 18.36±0.37 | 23.62±0.66*** | 18.31±0.42 | 26.76±0.57*** | 21.52±0.51*** |
| 4 | 17.14±0.34 | 20.43±0.47*** | 17.09±0.31 | 24.41±0.51*** | 20.91±0.43*** |
| 5 | 15.21±0.27 | 18.57±0.39*** | 14.27±0.24* | 19.13±0.41*** | 18.78±0.38*** |

Примітки: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – достовірні зміни порівняно з контролем.

Впливи гонадотропних засобів на динаміку рівня 17β -Е у кролиць дослідних груп мали дозозалежний ефект, що підтверджено морфологічними даними. Нами відзначено зростання 17β -Е у сироватці крові кролиць дослідних груп 1, 3 і 4, тоді як у тварин дослідної групи 2 рівень даного гормону не перевищував дані контролю.

У кролиць дослідної групи 1 у першому репродуктивному циклі рівень 17β -Е перевищував значення контрольної групи на 22,4 %, у другому – на 20,7 %, у третьому – на 28,7 %, у четвертому і п'ятому – на 19,2 % і 22,1 % відповідно ($P < 0,001$). Натомість, у тварин дослідної групи 2 рівень даного гормону у першому і другому циклах був меншим на 12,7 % і 9,0 % відповідно ($P < 0,01$), у третьому і четвертому – майже відповідав даним контролю, а у п'ятому репродуктивному циклі був зниженим на 6,2 % ($P < 0,05$).

Комбіноване застосування гонадотропінів для стимуляції овуляції сприяло позитивній динаміці рівня 17β -Е. Так, у самиць дослідної групи 3 на початку дослідження (у першому циклі) його рівень зростав на 46,2 % порівняно з контролем, у другому, третьому і четвертому циклах був вищим

на 50,9 %, 45,8 % і 42,4 % відповідно, а у п'ятому циклі – збільшувався лише на 25,8 % ($P<0,001$). Дозозалежна динаміка відбувалася і у тварин дослідної групи 4, де були встановлені менш виражені зміни: у кролиць відбувалося зростання рівня 17β -Е на 29,0 % у першому циклі, на 14,0 % – у другому, на 17,2 % – у третьому та на 22,0 % і 23,5 % – у четвертому і п'ятому відповідно ($P<0,01-0,01$).

Значних змін зазнавала динаміка рівня 17β -Е протягом дослідження у тварин контрольної групи. Зазначимо, що у п'ятому циклі рівень даного гормону був достовірно меншим даних першого циклу на 31,7 % ($P<0,05$). В цілому ж значення рівня 17β -Е у п'яти послідовних репродуктивних циклах постійно зменшувалися.

Зміни рівня прогестерону у сироватці крові кролиць після гормональних обробок наведені у таблиці 11.

Таблиця 11

**Прогестеронова динаміка у сироватці крові кролиць за стимуляції
фолікулогенезу гормональними засобами ($M\pm m$, pmol/L)**

| Репродуктивний цикл | Групи кролиць: | | | | |
|------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | контрольна (n=12) | дослідна 1 (n=12) | дослідна 2 (n=12) | дослідна 3 (n=12) | дослідна 4 (n=12) |
| 1 | 0.70±0.03 | 0.51±0.02** | 0.88±0.04* | 1.56±0.07** | 0.97±0.05** |
| 2 | 0.69±0.02 | 0.42±0.01** | 0.77±0.04 | 1.41±0.07** | 0.89±0.04** |
| 3 | 0.65±0.02 | 0.35±0.01** | 0.78±0.04* | 1.29±0.06** | 0.83±0.04** |
| 4 | 0.63±0.02 | 0.20±0.01** | 0.75±0.03* | 1.06±0.05** | 0.77±0.04* |
| 5 | 0.53±0.01 | 0.22±0.01** | 0.67±0.03** | 0.94±0.04** | 0.71±0.03** |

Примітки: * – $P<0,01$; ** – $P<0,001$ – достовірні зміни порівняно з контролем.

Важливим аспектом дії гормональних засобів індукції овуляції є не тільки їх здатність стимулювали фолікулогенез у яєчниках самиць, а й сприяти підтримці вагітності, що в першу чергу, забезпечується їх впливом на

прогестеронову динаміку. З даних таблиці 11 видно, що у самиць дослідних груп 2 і 4 виявляли помірний вплив на рівень Р4 у сироватці крові, тоді як у кролиць дослідної групи 3 встановлено значне зростання, а дослідної групи 1 – навпаки, зменшення рівня Р4 порівняно з даними контролю. Так, у першому циклі рівень прогестерону був нижчим на 27,1 %, у другому і третьому – на 39,1 % і 46,2 % відповідно, сягаючи максимального зниження у четвертому і п'ятому репродуктивних циклах – на 68,3 % і 58,5 % відповідно ($P < 0,01$). У самиць контрольної групи протягом експерименту були виявлені лише незначні коливання рівня Р4, проте наприкінці дослідження даний показник був нижчим на 24,3 % порівняно зі значенням першого циклу ($P < 0,05$).

Помірне зростання рівня Р4, відзначене у тварин дослідних груп 2 і 4, мало певні особливості. Так, у першому циклі він перевищував значення контролю на 25,7 % ($P < 0,05$) у кролиць дослідної групи 2 й на 38,6 % – у дослідної 4 ($P < 0,01$), у другому циклі у тварин дослідної групи 2 мав тенденцію до зростання, а у самиць дослідної групи 4 був достовірно вищим на 29,0 % ($P < 0,01$). Надалі, у дослідній групі 2 встановлено зростання на 20,0 % у третьому циклі, 19,0 % – у четвертому і на 26,4 % – у п'ятому циклі ($P < 0,05-0,01$). При цьому, у тварин дослідної групи 4 у третьому циклі рівень Р4 був вищим на 27,7 %, а у четвертому і п'ятому – на 22,2 % і 34,0 % відповідно ($P < 0,05-0,01$).

Динаміка змін рівня Р4 у кролиць дослідної групи 3 зазнавала найбільш виразних змін. Вже у першому репродуктивному циклі даний показник перевищував дані контролю в 1,23 рази, а у другому – в 1,04 рази ($P < 0,01$). Надалі зростання дещо послаблювалося – у третьому циклі рівень Р4 був більшим на 98,5 %, у четвертому – на 68,3 %, а наприкінці дослідження – в п'ятому циклі – на 77,4 % ($P < 0,01$).

З огляду на отримані морфологічні зміни визначали динаміку рівня тестостерону у сироватці крові кролиць протягом експерименту, результати якої показані у табл. 12.

Таблиця 12

**Тестостеронова динаміка у сироватці крові кролиць за овуляції,
індукованої гонадотропними засобами ($M \pm m$, ng/dL)**

| Репродуктивний цикл | Групи кролиць: | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | контрольна (n=12) | дослідна 1 (n=12) | дослідна 2 (n=12) | дослідна 3 (n=12) | дослідна 4 (n=12) |
| 1 | 0.42±0.02 | 0.51±0.03* | 0.44±0.02 | 0.75±0.09** | 1.01±0.12*** |
| 2 | 0.39±0.01 | 0.53±0.04** | 0.41±0.02 | 0.78±0.11** | 1.73±0.13*** |
| 3 | 0.44±0.02 | 0.56±0.04* | 0.46±0.03 | 0.74±0.08** | 2.16±0.17*** |
| 4 | 0.46±0.03 | 0.49±0.03 | 0.47±0.04 | 0.81±0.09** | 2.23±0.19*** |
| 5 | 0.43±0.02 | 0.48±0.03 | 0.42±0.02 | 0.83±0.11** | 2.54±0.21*** |

Примітки: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – достовірні зміни порівняно з контролем.

З даних таблиці 12 видно, що тестостеронова динаміка в організмі кролиць залежала від застосування індукторів овуляції. Так, монокомпонентне використання *eCG* виявляло незначні зміни, тоді як комбіноване введення гонадотропінів викликало значне зростання рівня Тс у сироватці крові кролиць, а у тварин дослідної групи 4 призводило до гіперандрогенемії.

У кролиць дослідної групи 1 встановлено зростання рівня Тс у першому, другому і третьому репродуктивних циклах – на 21,4 %, 35,9 % і 27,3 % відповідно ($P < 0,05-0,01$). Надалі, у четвертому і п'ятому циклах у тварин даної групи відзначалася лише невелика тенденція до зростання дослідного показнику. Подібні зміни, а саме незначне коливання рівня Тс у сироватці крові порівняно зі значеннями контролю встановлено у самиць дослідної групи 2.

Значне зростання андрогенезу в організмі самиць дослідної групи 3 підтверджено достовірним збільшенням рівня Тс протягом експерименту (68,2-100,0 %, $P < 0,01$). Натомість, у тварин дослідної групи 4 встановлено сталий розвиток гіперандрогенемії – рівень Тс у сироватці крові був вищим даних контролю в 1,41-4,9 рази ($p < 0,001$).

3.9 Визначення безпечності тривалого застосування гонадотропінів за вмістом статевих гормонів у м'ясі кролиць

Безпечність тривалого застосування гормональних засобів під час стимуляції овуляції у кролиць оцінювали за вмістом статевих гормонів у продукції кроліківництва – м'ясі кролиць наприкінці експерименту (у п'ятому репродуктивному циклі). Отримані дані відображено на рис. 38.

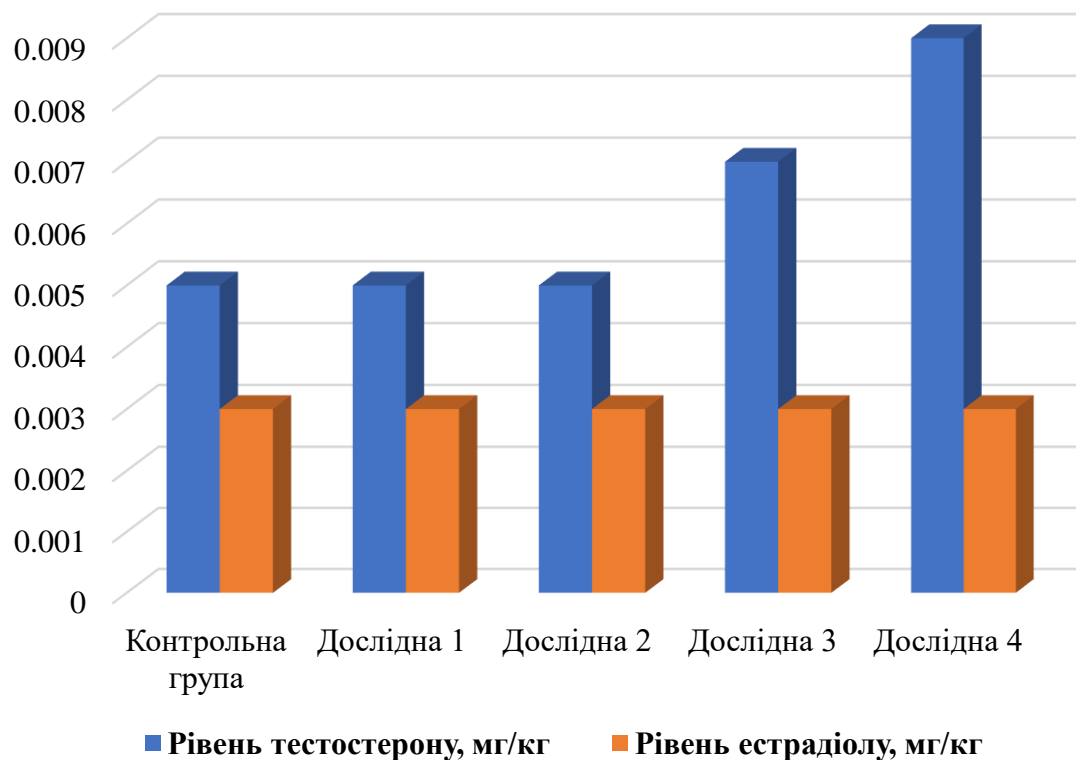


Рис. 38. Рівень статевих гормонів у м'ясі кролиць п'ятого репродуктивного циклу (n=5).

Згідно даних рис. 38 видно, що рівень статевих гормонів (Тс і 17β -Е) були на межі доступного до визначення рівня. При цьому, рівень 17β -Е змін не зазнавав, а вміст Тс мав незначну тенденцію до зростання. Висновками Регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби в Полтавській області підтверджено відсутність вмісту статевих гормонів у м'ясі кролиць після тривалого застосування гормональних засобів, що підтверджує їх безпечні регламенти у кролівництві.

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Біологічні особливості статевого циклу, а саме коїтус-залежна овуляція, є передумовою застосування гормональних препаратів за штучного осіменіння кролиць (Масалович, 2016; Панкєєв, 2021). Репродуктивне здоров'я племінних кролиць вважається визначальним фактором, який зумовлює тривалість їх використання і прямо залежить від морфологічних змін у яєчниках протягом кожного репродуктивного циклу: від овуляції до околу (Castellini et al., 2010). У зв'язку з цим дослідження гістоморфології яєчників кролематок з різними термінами використання є актуальним, особливо в умовах сучасного зростання попиту на продукцію кролівництва (Сачук, 2011; Naumenko & Koshevoy, 2017; Koshevoy et al., 2022).

Становлення штучного осіменіння у кролівництві має тривалу історію, що пов'язана із з'ясуванням нейрогуморальних механізмів регуляції овуляції та впровадженням гормональних методів індукції овуляції у кролиць (Theau-Clement & Lebas, 1996; Грунтковський, 2014). Штучне осіменіння в умовах фермерського кролівництва має низку переваг, зокрема забезпечення належних санітарних і протиепізоотичних умов, профілактику контактного травматизму, максимальну реалізацію репродуктивних якостей племінного поголів'я, оптимізацію використання людських ресурсів у технологічному процесі (Dal Bosco et al., 2011; Масалович зі спіав., 2015; García, 2018).

El-Ratel et al. (2020) показали, що введення 25 МО ГСЖК, а потім 0,2 мл гонадотропін-релізинг-гормону або 75 МО хоріонічного гонадотропіну людини є ефективними засобами підвищення відтворювальної здатності кролиць. За введення ГСЖК з ХГЛ або аналогом ГнРГ до ШО можна синхронізувати тічку/овуляцію для покращення виробництва ембріонів *in vivo* та *in vitro*. Крім того, результати вагітності можуть бути покращені у кролиць, в яких овуляція викликана одноразовим введенням ГСЖК або ХГЛ. Проте, даних щодо можливості тривалого введення гонадотропінів у науковій літературі обмаль.

В ході експерименту нами було визначено, що тривале застосування сироваткового гонадотропіну для стимуляції фолікулогенезу впливало на репродуктивні параметри кролиць наступним чином: середній коефіцієнт фертильності у самиць дослідної групи 1 складав 65,9 %, а дослідної групи 2 – 59,7 %, порівняно з контрольними кролицями, в яких цей показник складав 61,7 %. При цьому, обидві групи відрізнялися за показниками багатоплідності, а отже зростання кількості приплоду і збільшення фертильності самиць показали позитивний вплив ГСЖК за тривалого введення.

Навпаки, комбіноване застосування гонадотропінів (сироваткового й хоріонічного) викликало зниження репродуктивної здатності: у кролиць дослідної групи 3 фертильність становила 48,6 %, а у дослідній групі 4 – 40,2 %, що було значно меншим контрольної групи і нижчим порівняно з дослідними групами 1 і 2. В цілому, дані щодо стану відтворної здатності кролиць за застосування гормональних засобів узгоджуються з даними вітчизняних і закордонних дослідників (Коцюбенко, 2010; Мирошніченко & Жоріна, 2021; Viudes-de-Castro et al., 2023).

Подібний вплив на репродуктивну здатність кролиць відзначали за використання різних доз лециреліну, введених внутрішньом'язово під час осіменіння для стимуляції овуляції із попередньою обробкою 25 МО ГСЖК, зокрема, частоту запліднення, загальну кількість кроленят на послід, кількість мертвонароджених, а також частоту абортів у кролиць (Zapletal & Pavlik, 2008). Отримані дані були як на самках, що не народжували (нульового циклу), так і на самках у період лактації (перший репродуктивний цикл). Динаміка змін вищезазначених показників була позитивною і залежала від дозування аналогу ГнРГ, проте, вважаємо, що тривале застосування цих засобів призвело б, як у нашому випадку, до зменшення коефіцієнту фертильності та інших показників відтворної здатності.

Запліднення кролиць на початку післяродового періоду в поєднанні з раннім відлученням може підвищити плодючість (загальна кількість народжених і мертвонароджених кроленят) і скоротити інтервали між родами.

Синхронізація тічки підвищує плодючість, одночасно зменшуючи кількість ШО, необхідних для вагітності. Однак мало відомо про ефективність різних методів синхронізації тічки на ранніх термінах після родів. У дослідженні Rebollar et al. (2006) кролиці були штучно запліднені дев'ять разів (протягом 1 року), на 4-й день після родів з відокремленням посліду (протягом 48 або 24 годин) або через 48 годин після ін'єкції 25 МО ГСЖК. Репродуктивні параметри кролиць, в яких відлучали послід перед осіменінням, можуть бути таким же ефективними, як і лікування ГСЖК, особливо під час перших чотирьох осіменінь.

Багато авторів стверджують про можливість альтернативних методів стимуляції овуляції, еструсу за рахунок чого можна отримати не менш ефективні показники відтворної здатності кролиць і при цьому не зашкодити їх здоров'ю. Arias-Alvarez et al. (2010) вважають, що високопродуктивним кролицям у період лактації потрібні методи синхронізації тічки, щоб покращити їх репродуктивні показники. У своєму дослідженні вони вводили самкам 25 МО ГСЖК за 48 годин до ШО або застосовували негормональну стимуляцію, яка полягала у відлученні кроленят від самиці за 24 години до ШО. Автори дійшли висновків, що відлучення кроленят в ранній період лактації дає можливість отримати відтворні показники на рівні самиць, що піддавалися гормональній обробці (Arias-Alvarez, 2010).

Дослідженнями Quintela et al. (2001) продемонстровано можливість заміни сироваткового гонадотропіну, що використовується для синхронізації еструсу у кролиць у період лактації, одним із наступних режимів освітлення: день-ніч = «12-12» або день-ніч = «8-16» перед ШО, коли в обох випадках фотоперіод був змінений на день-ніч = «18-6», що підтримувався до ШО, а в наступні 4 дні після нього світлові години поступово скорочувалися до початкових графіків. Було доведено, що за використання режиму освітлення «12-12» репродуктивні показники кролиць не змінювалися, а в режимі «8-16» були значно знижені.

З іншого боку, Garcia-Garcia et al. (2009) встановили, що введення ГСЖК не вплинуло, а ні на популяцію фолікулів, а ні на швидкість ядерного дозрівання, апоптозу ооцитів. При цьому вони встановили, що інтенсивність використання кролиць або тимчасове відлучення кроленят протягом репродуктивного життя впливають на концентрацію стероїдних гормонів в сироватці крові та якість ооцитів, що призводить до зниження репродуктивних параметрів. Різниці у сприйнятливості до ГСЖК у кролиць, що мали інтенсивні або напівінтенсивні ритми відтворення визначено не було.

Варто наголосити, що середні коефіцієнти фертильності, отримані протягом п'яти послідовних репродуктивних циклів, не відображають динаміки їх змін. Так, у кролиць контрольної групи коефіцієнт фертильності весь період досліджень поступово збільшувався, особливо у третьому репродуктивному циклі. При цьому, за стимуляції фолікулогенезу гонадотропіном сироватки жеребих кобил у першому і другому циклі за фертильністю кролиць значно перевищувала контрольна група, а у п'ятому репродуктивному циклі коефіцієнт фертильності у дослідній групі 1 складав лише 54,8 %, у дослідній групі 2 – 50,0 %.

Динаміка змін фертильності кролиць за введення комбінації ГСЖК з ХГЛ у вищій дозі (дослідна група 3) характеризувалася зниженням, а при введенні меншої дози, у дослідній групі 4, у першому і другому репродуктивному циклі фертильність була вищою контролю, а надалі різко знижувалася і наприкінці експерименту складала 25,0 %. Загалом, комбіноване застосування гонадотропінів призводило до зниження параметрів відтворної здатності кролиць. Вочевидь, це було обумовлено гормонально-метаболічними змінами, які відбувалися в організмі самиць в цілому, і зокрема у статевих залозах зокрема. Тому наступним етапом було морфологічне дослідження яєчників кролиць за тривалого введення гормональних засобів.

Варто зауважити, що найбільш активний період фізіологічних досліджень яєчників кролиць припадає на 30-50-ті рр. минулого сторіччя (Friedman, 1929; Hilliard, & Sawyer, 1964). Сучасні дослідження фізіологічних

ефектів нейрогуморальної регуляції базуються на клітинно-рецепторному рівні (Rebollar, et al., 2018). У 70-х роках відкривається ера морфологічних досліджень на мікроскопічному і ультрамікроскопічному рівнях (Mori, & Matsumoto, 1973; Guido Macchiarelli, 2000), а після 2000 року провідне місце займають імуногістохімія і методи молекулярної біології (Abd-Elkareem et al., 2019). Попри це, ряд питань щодо взаємодії функціональних компартментів яєчника кролиць в механізмах гальмування овуляції, лютеїнізації фолікулів, а також генезу і функції інтерстиціальної залозистої тканини вимагають уточнень, особливо через поширення штучного осіменіння і використання гормональної індукції овуляції.

Відомо, що особливістю яєчників кролиць є високий рівень лютеїнізації паренхіми (Deanesly, 1972; Піскун & Піскун, 2017). В яєчниках гризунів, на відміну від інших ссавців, серед лютеїнових структур надзвичайно високий рівень розвитку мають інтерстиціальні ендокриноцити (Miyabayashi, et al., 2015; Kolosova, 2016), що зумовило застосування наступних термінів для їх визначення: «інтерстиціальна залозиста тканина», або «інтерстиціальна залоза» (Mori & Matsumoto, 1973; Aoyama & Shiraishi, 2019), і стало приводом для дискусій навколо функціональної ролі цього феномену (Sakurai, et al., 2003). Наявність інтерстиціальної залозистої тканини в яєчниках статевонезрілих самиць (Peters Hannah, Kenneth & McNatty, 1980) дозволило припустити її роль в паракринній регуляції фолікулогенезу та гальмуванні овуляції (Wallach & Noriega, 1970; Taya, Saidapur, & Greenwald, 1980; Aoyama & Shiraishi, 2019). Висловлюється також думка, що високий вміст лютеїнових структур в період сукрольності зумовлений фізіологічними особливостями, за яких на весь період вагітності яєчник, а не плацента, є джерелом прогестерону. При цьому, за даними літератури, ушкодження або видалення плаценти ініціює регресію лютеїнових структур яєчника (Gadsby & Keyes, 1984).

Гістологічне дослідження і аналіз стадій фолікулогенезу – процесу формування, розвитку і дозрівання фолікулів, має складнощі, що зумовлені відсутністю загальноприйнятої класифікації оваріальних фолікулів. Найбільш

детальна класифікація фолікулів у яєчниках гризунів була запропонована Pedersen, & Peters (1968), яка на базі підрахунку кількості клітин фолікула виділяла 8 стадій їх розвитку. Практичного застосування вона не знайшла через трудомісткість процесу, а також в ній не враховані зміни форми клітин фолікулярного епітелію. Більшого поширення набула класифікація фолікулів яєчника, запропонована Edson et al. (2009), яка враховує морфологію фолікулів, а також їх сприйнятливість до гіпофізарних гонадотропінів.

В репродуктивній біології усталеною є думка, що формування примордіальних фолікулів відбувається ще за внутрішньоутробного розвитку самки після завершення періоду мітотичного поділу оогоній і їх переходу до першого поділу мейозу (Зюзюн, 2017; Панкєєв, 2021). Усі фолікули яєчника містять ооцити першого порядку. Біологічним феноменом є зупинка ооцитів у диплотені профазі I мейоза, що отримало назву «мейотичний арешт», який триває до настання статевої зрілості самки і контролюється певними паракринними факторами яєчника (Emori, & Sugiura, 2014; Pan, & Li, 2019).

Таким чином у кролиць п'ятого репродуктивного циклу мікроскопічна структура яєчників мала характерні для більшості гризунів особливості, пов'язані із високим рівнем лютеїнізації паренхіми (Griffin et al., 2006; Kolosova, 2016; Breed et al., 2019). Проте, відмінності, встановлені нами, у гістоморфології яєчників кролиць були зумовлені як гормональним засобом, що вводили самицям, так і його дозуванням.

Як було зазначено вище, у статевих залозах кролиць контрольної групи переважали лютеїнові структури. Атрезія фолікулів відбувалася за облітеруючим і кістозним типом. На гістопрепаратах відзначали наявність жовтих тіл різних генерацій (вагітності і попередніх циклів), що було свідченням тривалого їх функціонування. Зауважимо, що кількість і ступінь розвитку жовтих тіл у правому і лівому яєчниках були різними внаслідок асинхронного характеру овуляцій у попередніх циклах.

У кролиць дослідної групи 1 спостерігали зменшення функціонального резерву яєчників, що було підтверджено наявністю численних апоптозів

ооцитів на гістопрепаратах – не лише в первинних та вторинних фолікулах, а й примордіальних. Також відзначали зменшення товщини фолікулярної зони кіркової речовини яєчників. В полі зору визначалися лакуноподібні порожнини на місцях атрезованих примордіальних і первинних фолікулів. В деяких з цих порожнин виявлялися залишки блискучої оболонки, що мала вигляд гомогенної маси оксифільного забарвлення – це вказувало на деструкцію вторинних фолікулів. Атрезія більшості фолікулів, на відміну від контрольної групи, не супроводжувалась лютеїнізацією клітин гранульози і текоцитів (у вторинних фолікулах) та формуванням атретичних тіл.

На гістозрізах яєчників кролиць дослідної групи 2 виявляли помірно вищу кількість примордіальних і первинних фолікулів у кірковій речовині. Важливо відмітити, що у даній групі самиць менша частина ооцитів характеризувалася деструктивними змінами – це вказувало на зниження негативного впливу ГСЖК у меншій дозі на яєчники кролиць. В антральних фолікулах виявляли ознаки гіперсекреторної активності клітин гранульози, при цьому кількість їх була вищою аніж у дослідну групу 1. Так само зростала й кількість жовтих тіл вагітності. У складі інтерстиціальної залозистої тканини визначалися ендокриноцити як на стадії розквіту функціональної активності, так і на стадії регресії. Судинна реакція у мозковій речовині відповідала такій, у дослідній групі 1, проте порожні судини не визначались у кірковій речовині мікроциркуляторного русла. Також були відсутніми лімфоїдні утворення у складі внутрішньої теки фолікулів і в яєчниках в цілому.

Подібні морфологічні ознаки визначалися на гістопрепаратах яєчників кролиць за комбінованого введення гонадотропінів. По-перше, у дослідній групі 3 була менш виражена судинна реакція з ознаками гіперемії і венозного застою, переважна більшість судин кіркової і мозкової речовини були розширеними і виглядали порожніми. По-друге, виявляли більшу збереженість порівняно з яєчниками кролиць дослідних груп 1 і 2, пулу примордіальних фолікулів, хоча при цьому він був помітно меншим порівняно з контрольною групою. По-третє, визначалася помітно більша кількість атретичних тіл.

Атрезія первинних і вторинних фолікулів характеризувалась дегенеративними змінами в ооцитах, але при цьому не супроводжувалась лютеїнізацією клітин фолікулярного епітелію та текоцитів, тека яких відзначалася суттєвим потовщенням за рахунок сполучної тканини.

В яєчниках кролиць дослідної групи 4 були встановлені гістологічні особливості, що вказують на високу секреторну активність інтерстиціальних гландулоцитів. Інтерстиціальна залозиста тканина була сформована клітинами полігональної форми, що мали помітно менші розміри та оптично щільну оксифільну цитоплазму. Між ними добре визначались щільні проміжки з розширеними судинами мікроциркуляторного русла. Також були визначені непрямі ознаки явища гіперандрогенії.

Подібні гістологічні зміни відзначалися під час дослідження впливу високоліпідної дієти на репродуктивну функцію кролиць. Варто зауважити, що високий вміст жирів у раціоні впливав на початок статевого дозрівання, ріст фолікулів, гормональний фон та ефективність стимуляції ГнРГ. Кількість антральних фолікулів була зменшеною, а кількість атретичних фолікулів – збільшена. Гістологічний аналіз яєчників показав більшу кількість атретичних фолікулів і їх залишків, що вказує на можливе посилення апоптотичних механізмів при фолікулогенезі. Паралельно гістологічний аналіз також показав значно зменшену кількість антральних фолікулів (Cordier et al., 2013).

Позитивний вплив на гістоморфологію яєчників, та, як наслідок, на відтворні якості кролиць чинить додавання в раціон куркуми. Дієтична куркума не сприяла збільшенню кількості первинних фолікулів, а також діаметр вторинних і третинних фолікулів. За впливу куркуми також збільшилась кількість живонароджених і відлучених та зменшилась кількість мертвонароджених кроленят. При цьому не відзначено її впливу на збільшення ваги та інші репродуктивні параметри. Крім того, харчова куркума сприяла зниженню смертності самок під час першого репродуктивного циклу. Таким чином, цілком імовірно, що дієтична куркума сприяє покращенню

життєздатності кроленят і може сприяти плодючості кролиць шляхом стимуляції росту фолікулів на всіх етапах фолікулогенезу (Sirotkin et al., 2018).

Згідно аналізу гістопрепаратів, було виявлено зменшення кількості фолікулів у яєчниках кролиць за тривалого введення гонадотропінів. З одного боку, введення ГСЖК мало вищі репродуктивні показники, але з іншого – призводило до значного зменшення кількості фолікулів – примордіальних, первинних (нелютеїнізованих та лютеїнізованих – атретичних тіл), вторинних нелютеїнізованих і лютеїнізованих та третинних фолікулів. Більшу виразність змін визначали у дослідній групі 1. Менша доза (25 МО) викликала помірне зменшення кількості фолікулів. За введення ГСЖК у обох групах спостерігали збільшення кількості геморагічних фолікулів порівняно з даними контролю.

Напроти, комбіноване застосування гонадотропінів чинило менший негативний вплив на морфологічний стан функціональних компартментів яєчників кролиць. Порівняно з дослідними групами 1 і 2, за введення ГСЖК + ХГЛ кількість примордіальних, первинних та вторинних фолікулів була вищою, хоча й залишалася меншою за контрольні величини. Кількість третинних і геморагічних фолікулів у самиць дослідних груп 3 і 4 була на рівні контролю.

Кількість жовтих тіл (вагітності і попередніх циклів) у всіх дослідних кролиць була меншою контролю.

Гонадотропін сироватки жеребих кобил (ГСЖК) разом із ЛГ, ФСГ і тиреотропним гормоном є членом сімейства гормонів – глікопротеїнів. У деяких видів ГСЖК демонструє високу ЛГ- і ФСГ-подібну активність. На гранульозні та текальні клітини фолікула ГСЖК має тривалий ЛГ- та ФСГ-подібний ефект, який стимулює секрецію естрадіолу та прогестерону (De Rensis & López-Gatius, 2014).

Результати Ubilla et al. (2001) свідчать, що тимчасове відокремлення кролематок від новонароджених кроленят перед ШО може сприяти високій активності фолікулярного стероїдогенезу, що призводить до підвищення концентрації 17β -естрадіолу. Ця гормональна зміна може бути наслідком

кількох стимулюючих дій, імовірно, викликаних відсутністю епізодів смоктання, і може вплинути на лютеотрофну функцію під час наступної вагітності. Проте, не було виявлено впливу даного методу на концентрації ЛГ і ФСГ протягом періоду відбору проб. Підвищення концентрації 17 β -естрадіолу спостерігалось через 48 годин після відділення посліду самиці порівняно з контрольними тваринами. Обидві групи показали низькі концентрації прогестерону до штучного запліднення. Вагітні кролиці в обох групах показали підвищення концентрації прогестерону.

Отримані дані щодо гормонального балансу у кролиць залежність його від засобу стимуляції фолікулогенезу, кількості і тривалості введення. Так, наприклад, у самиць дослідних груп 1 нами було встановлено зростання рівня ФСГ на початку експерименту, а надалі динаміка його рівня характеризувалася незначними коливаннями у бік збільшення даних показнику ($p < 0,05$). При цьому, зменшення дози ГСЖК не вплинуло на наявність позитивної динаміки рівня ФСГ у сироватці крові кролиць дослідної групи 2, що порівняно з даними контролю, мали вищі показники рівня даного гормону ($p < 0,05$). У дослідній групі 3 і 4 протягом дослідження нами відзначено зменшення рівня ФСГ порівняно з контрольними кролицями, що свідчить про негативний вплив комбінованого введення гонадотропінів.

Динаміка ЛГ у кролиць також характеризувалася виразністю змін. З одного боку, у дослідній групі 1 першого циклу рівень ЛГ був нижчим показників групи контролю ($p < 0,05$), а також у другому і четвертому репродуктивному циклі мав тенденцію до зниження. Напроти, у третьому і п'ятому циклі рівень ЛГ виявляв тенденцією до зростання. У самиць дослідної групи 2 подібно на початку дослідження рівень ЛГ був нижчим даних контролю, а надалі було встановлено його зростання ($p < 0,05$). З іншого боку, у дослідній групі 3 протягом експерименту відбувалося вірогідне зростання рівня даного гормону. Так само, хоча в меншій мірі, рівень ЛГ перевищував значення контролю у кролиць дослідної групи 4.

Протягом експерименту також визначали зміни гормональної функції статевих залоз кролиць, зокрема, за динамікою рівня 17β -Е. Варто зауважити, що гонадотропні засоби мали дозозалежний вплив на рівень даного гормону. Так, було відзначено збільшення 17β -Е у сироватці крові самиць всіх дослідних груп, крім дослідної групи 2, у кролиць якої рівень даного гормону не перевищував контрольних величин.

Також було відзначено наявність помірного впливу введення гонадотропінів на прогестеронову динаміку у кролиць дослідних груп 2 і 4. Тоді як у дослідній групі 3 визначали стійкий стан гіперпрогестеронемії, а дослідній групі 1 – навпроти, рівня прогестерону порівняно з даними контролю був нижчим.

На основі морфологічних ознак гіперандрогенії проводили визначення рівня тестостерону у крові кролиць всіх груп. Було визначено, що динаміка тестостерону виявляла залежність від застосування засобу стимуляції фолікулогенезу. У кролиць дослідних груп 1 і 2 достовірних змін рівня тестостерону протягом досліджень не визначалося. Натомість, за комбінованого введення гонадотропінів відзначали зростання рівня тестостерону у кролиць дослідних груп 3 і 4. При цьому у тварин дослідної групи 4 (ГСЖК+ХГЛ, 24 МО) гіперандрогенемія була визначена у всіх репродуктивних циклах, що унеможлиблює застосування даного дозування і в цілому обмежує можливість комбінованого застосування гонадотропінів.

Крім рівня гормонів у сироватці крові кролиць проводили також визначення вмісту статевих стероїдів у м'ясі кролиць наприкінці експерименту (в п'ятому репродуктивному циклі). Зазначимо, що вміст тестостерону і 17β -Е знаходився на межі доступного до визначення рівня – це було свідченням безпечності досліджуваних протоколів гормональної стимуляції овуляції і фолікулогенезу для споживача. При цьому, з отриманих даних видно, що вміст 17β -Е серед всіх груп кролиць не зазнавав змін, а вміст тестостерон мав незначну тенденцію до зростання у 3 і 4 дослідній групі, що узгоджується із даними Rebaz et al. (2019).

Узагальнюючи результати проведених досліджень, можна стверджувати про необхідність помірною використання засобів гормональної стимуляції фолікулогенезу у кролиць. З одного боку, тривале введення гонадотропінів та аналогу ГнРГ не викликає накопичення статевих гормонів у продукції кролівництва, але призводить до морфологічних змін яєчників кролиць, іноді незворотних і навіть загрозливих для життя тварини.

Таким чином, можемо рекомендувати наступні протоколи стимуляції овуляції та фолікулогенезу у кролиць:

- щодо використання гонадотропіну сироватки жеребих кобил: рекомендуємо застосовувати максимальну дозу 25 МО за ШО у кролиць «нульового» циклу (тобто тих, які ще не були сукрольними), максимум протягом 1-2 репродуктивних циклів (вказані дозування і тривалість введення дозволяють отримати найвищу заплідненість, мінімізуючи негативний вплив на гістоморфологію статевих залоз);

- щодо комбінованого застосування гонадотропінів за стимуляції фолікулогенезу: отримані результати вказують на негативні зміни, що визначаються у всіх самиць, оброблених комбінацією сироваткового і хоріонічного гонадотропіну протягом п'яти репродуктивних циклів, внаслідок чого гормональна обробка комбінованим введенням гонадотропінів не залежно від дози є небажаною для кролиць;

- щодо стимуляції овуляції за допомогою аналогу ГнРГ: пропонуємо використовувати даний спосіб кролицям 2-3 репродуктивних циклів, яєчники яких у попередніх обробках зазнавали дії гонадотропних гормонів і таким чином, виявлятимуть більшу сприйнятливості до дії аналогу ГнРГ. Важливо зауважити, що даний спосіб приводить до отримання достовірно вищої кількості кроленят і сприяє їх більшій виживаності.

Підсумовуючи, зазначимо, що з даних джерел літератури та власних спостережень важливим аспектом у повноцінному процесі відтворення є комплексність підходу з урахуванням селекційних ознак, видових особливостей проявів репродуктивної здатності кролиць та факторів впливу,

які можуть стимулювати (позитивна дія) або пригнічувати (негативна дія) статеву функцію (Коцюбенко & Рясенко, 2011; Гончаренко & Вінничук, 2012).

Серед таких факторів у кролиць достатньо повно досліджені такі: цитоморфологія ооцитів в різні терміни життя (Зюзюн, 2016); особливості ембріонів і вплив їх стану на потенціал розвитку кроленят (Ковтун зі співав., 2010; Беседовська, 2013; Щербак, 2015); залежність прояву еструсу від сезону окролу (Коцюбенко & Погорєлова, 2016). А також такі, що на нашу думку, мають перспективи подальших досліджень у племінному кролівництві, зокрема, застосування наноструктурованих матеріалів – наночастинок Срібла і їх впливу на гамети (Сирватка зі співав., 2013) та інших наночастинок металів як для самиць, так і самців (Koshevoy et al., 2022; Naumenko et al., 2023), ліпосомальних препаратів та антиоксидантів (Штапенко зі співав., 2014; 2017), що дозволять підвищити показники відтворної здатності, продуктивності, збереженості, росту кроленят, тощо (Якубець, 2023). Також необхідно розробити і впровадити новітні засоби стимуляції овуляції при проведенні штучного осіменіння, що відповідають вимогам добробуту тварин – інтравагінального введення аналогів ГнРГ (Кошевой зі співав., 2024).

Узагальнення отриманих результатів та їх аналіз дозволяють нам зробити наступні висновки.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі експериментально обґрунтовано застосування сироваткового й хоріонічного гонадотропінів за стимуляції фолікулогенезу у кролиць протягом п'яти послідовних репродуктивних циклів. На підставі визначення клініко-репродуктологічних показників, макро- і мікроскопічної характеристики статевих залоз та оцінки гормонального балансу із визначенням вмісту статевих гормонів у м'ясі кролиць встановлено наступне:

1. Застосування сироваткового гонадотропіну сприяло збільшенню фертильності кролиць – у першій дослідній групі (40 МО) до 65,9 %, у другій (25 МО) до 59,7 %, тоді як у контрольній групі цей показник становив 61,7 %. За комбінованого введення гонадотропінів показник фертильності у третій дослідній групі (40 МО) становив 48,6 %, а у четвертій дослідній групі (24 МО) мав найменше значення – 40,2 %.

2. Динаміка заплідненості за овуляції, індукованої гормональними засобами, зазнавала наступних змін: за введення ГСЖК у першому і другому репродуктивному циклі фертильність кролиць значно перевищувала дані контролю. Наприкінці експерименту спостерігали протилежні зміни – у дослідній групі 1 коефіцієнт фертильності складав лише 54,8 %, у дослідній групі 2 – 50,0 %. За введення ГСЖК разом з ХГЛ у дослідній групі 3 фертильність поступово зменшувалася, тоді як у тварин дослідної групи 4 у першому і другому циклі фертильність була вищою контролю, а надалі різко знижувалася.

3. Макроскопічно статеві залози кролиць мали горбкувату поверхню, жовтуватий або жовто-рожевий колір, були асиметричними, на поверхні чітко визначалися жовті тіла, антральні й геморагічні фолікули. Кількість їх була різною у правому і лівому яєчниках у різних групах самиць. Патологічних змін у яєчниках кролиць усіх експериментальних груп не було встановлено.

4. Тривале введення аналогу ГнРГ сприяло переважанню у яєчниках кролиць п'ятого репродуктивного циклу лютеїнових структур, при цьому

атрезія фолікулів відбувалася за облітеруючим (у первинних і вторинних фолікулах) та кістозним типом (у третинних фолікулах). Також у статевих залозах кролиць знаходилися жовті тіла вагітності та попередніх циклів, кількість і ступінь розвитку яких в обох яєчниках різнилися, що вказувало на асинхронний характер овуляцій у попередніх циклах.

5. У дослідній групі 1 (ГСЖК у дозі 40 МО) було встановлено зменшення функціональної активності статевих залоз, що зумовлено апоптозом яйцеклітин у фолікулах різних генерацій та зменшенням товщини фолікулярної зони кіркової речовини. Атрезія більшості фолікулів відбувалася без лютеїнізації клітин гранульози та текоцитів. За введення меншої дози ГСЖК у дослідній групі 2 (25 МО) відмічали збереження фолікулярного апарату у кірковій речовині, зменшення деструкції яйцеклітин, що свідчило про зниження негативного впливу за тривалого введення ГСЖК. Порівняно з дослідною групою 1 кількість жовтих тіл вагітності була більшою, у складі інтерстиціальної залозистої тканини були ендокриноцити з високою функціональною активністю та регресивні, при цьому лімфоїдні утворення в яєчниках були відсутніми.

6. У дослідній групі 3 (ГСЖК+ХГЛ, 40 МО) пул примордіальних фолікулів у статевих залозах виявляв більшу збереженість порівняно з дослідними групами 1 і 2, але був меншим відносно даних контролю. У самиць даної групи відзначали збільшення кількості атретичних тіл, при цьому атрезія більшості фолікулів супроводжувалася дистрофічними змінами яйцеклітин без лютеїнізації клітин фолікулярного епітелію з потовщенням теки за рахунок розростання сполучної тканини. Натомість, у дослідній групі 4 (ГСЖК+ХГЛ, 24 МО) було визначено зростання секреторної активності інтерстиціальних гландулоцитів, найвище серед усіх досліджених самиць, кількість фолікулів була вищою за дослідні групи 1 і 2, але меншою за контрольні величин. Важливо відмітити, що були встановлені непрямі морфологічні ознаки гіперандрогенії.

7. Введення гонадотропінів призводило до змін фолікулярного апарату статевих залоз кролиць – кількість примордіальних фолікулів за тривалого застосування ГСЖК зменшувалася у дослідних групах 1 і 2 на 34,0 і 22,8% ($P < 0,001$) відповідно, тоді як за комбінованого введення гонадотропінів спостерігали вищу збереженість фолікулів даного типу. Подібні зміни визначалися у кількості первинних фолікулів. Так, кількість нелютеїнізованих фолікулів у дослідних групах 1 і 4 була меншою на 30,0 і 21,5% ($P < 0,05$) поряд зі зменшенням кількості атретичних тіл. Так само, вміст вторинних і третинних фолікулів був зниженим. У дослідних групах 1 і 2 відзначали зростання кількості геморагічних фолікулів, тоді як у дослідних 3 і 4 цей показник залишався на рівні контролю. Зменшеною була і кількість жовтих тіл на гістозрізах яєчників усіх груп кролиць, окрім дослідної групи 3.

8. Застосування сироваткового гонадотропіну сприяло виразним змінам динаміки гормонів у організмі кролиць. Так, у дослідній групі 1 на початку експерименту зростав рівень ФСГ на 16,7 % ($P < 0,001$), після чого, у наступних репродуктивних циклах залишався дещо вищим контролю. Відзначали коливання рівня ЛГ, який у 1 циклі був нижчим за контроль, а надалі мав тенденції як до зниження (у 2 і 4 циклах), так і до зростання (3 і 5 цикл). Естрогенова динаміка була позитивною. Рівень 17β -естрадіолу протягом експерименту був достовірно вищим контрольних значень, досягаючи піку у 3 циклі (28,7%, $P < 0,001$). Також протягом досліджень у самиць даної групи спостерігали зниження рівня прогестерону, що досягав піку у 4 циклі (на 68,3% менше контролю, $P < 0,01$).

У кролиць дослідної групи 2 рівень ФСГ був найвищим серед усіх дослідних груп, досягаючи максимального значення у другому репродуктивному циклі (на 23,9 % вище контролю, $P < 0,001$). При чому рівень ЛГ на початку експерименту достовірних змін не зазнавав, а починаючи з 3 циклу зростав і наприкінці експерименту був вищим на 24,9 % за контроль ($P < 0,001$). Рівень 17β -естрадіолу був на рівні контрольних значень і не зазнавав позитивної динаміки, а рівень прогестерону – поступово зростав, досягаючи

найвищого рівня у 5 циклі. В обох групах за введення ГСЖК визначалося незначне зростання рівня тестостерону.

9. Комбіноване введення гонадотропінів викликало дисбаланс у гормональному фоні дослідних кролиць. Так, у тварин дослідної групи 3 рівень ФСГ протягом експерименту був нижчим контрольних величин, натомість, рівень ЛГ характеризувався зростанням, досягаючи найвищого значення у 5-му репродуктивному циклі (на 36,5% порівняно з контролем, $P < 0,001$). Відзначали значне зростання рівня 17β -естрадіолу (42,4-50,9%) у 1-4 циклах, тоді як наприкінці досліджень він був лише на 25,8% вище контролю. Від початку досліджень у самиць даної групи було визначено стан гіперпрогестеронемії, що супроводжувався достовірним зростанням рівня тестостерону

У дослідній групі 4, за введення меншої дози гонадотропінів, динаміка рівня ФСГ на початку досліджень достовірних змін не мала, а у 4 і 5 циклах була нижчою контролю ($P < 0,01$). Рівень ЛГ поступово зростав і у п'ятому репродуктивному циклі був вищим контролю на 32,8 % ($P < 0,001$). Протягом експерименту рівень 17β -естрадіолу мав помірне зростання (14,0-29,0%), подібних змін зазнавала й прогестеронова динаміка. Увесь період досліджень у кролиць цієї групи спостерігали стан гіперандрогенемії (рівень тестостерону перевищував дані контролю в 1,41–4,9 рази, $P < 0,001$).

10. Експериментально обґрунтовані дозування гонадотропінів, застосовані для стимуляції фолікулогенезу, за тривалого введення не викликали накопичення стероїдних гормонів у м'ясі кролиць – рівні тестостерону і 17β -естрадіолу були на межі доступних рівнів і достовірних змін порівняно з контролем не зазнавали.

ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ

Нашими дослідженнями показано, що тривале введення гонадотропінів та аналогу ГнРГ не викликало накопичення статевих гормонів у продукції кролівництва, але призводило до незворотних морфологічних змін яєчників кролиць, що можуть бути загрозливими для їх життя. Таким чином, згідно науково-методичних рекомендацій «Застосування гормональних засобів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць» рекомендуємо наступні засоби індукції овуляції для кролиць,:

1. Пропонуємо застосовувати гонадотропін сироватки жеребих кобил у дозі 25 МО за три дні до ШО серед кролиць «нульового» циклу (які не були сукрольними), максимум протягом 1-2 репродуктивних циклів, що сприятиме підвищенню ефективності ШО, мінімізуючи можливий негативний вплив на морфофункціональний стан статевих залоз.

2. Рекомендуємо кролицям 2-3 репродуктивних циклів вводити аналог ГнРГ підшкірно у дозі 0,2 мл на тварину, яєчники яких у попередніх обробках зазнавали дії гонадотропних гормонів, що матиме більшу сприйнятливість до дії аналогу ГнРГ.

3. Вважаємо недоцільним комбіноване застосування гонадотропінів, оскільки відзначаються негативні зміни гістоструктури яєчників і гормонального фону у всіх самиць незалежно від тривалості введення і дозування із подальшим зменшенням плодючості кролиць.

4. Отримані експериментальні дані можуть бути використані у навчальному процесі під час підготовки здобувачів вищої освіти в галузі знань 21 Ветеринарія за спеціальністю 211 Ветеринарна медицина, а також науковій, дослідницькій та інноваційній діяльності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

Агій, В. М., Нодь, Ф. К., Грига, Н. П., Грабовенський, М. І., & Бузої, Ч. Я. (2011). Теорія та практика нової репродуктивної технології у кролівництві. *Науково-технічний бюлетень*, 1(2), 394–398.

Беседовська, К. С. (2013). Оцінка морфофункціонального стану новонароджених кроленят. *Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва НААН*, 109(1), 22–26.

Беседовська, К. С. (2015). Вплив препарату Карафест+OV на структуру і функцію фетоплацентарного комплексу у кролиць. *Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва НААН*, 113, 16–22.

Гончаренко, І. В., & Вінничук, Д. Т. (2012). Кролівництво: селекційно-технологічні аспекти. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер.: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, 179, 54–59.

Грунтковський, М. С. (2014). Стимуляція овуляції фолікулів на яєчниках корів препаратом Нановулін. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Тваринництво*, 2(1), 204–208.

Дудаш, А. В. (2009). Штучне осіменіння кролів. *Науковий вісник Національний університет біоресурсів і природокористування України*, 328–331.

Зюзюн, А. Б. (2016). Цитоморфологічні дослідження ооцитів кролиць в процесі ембріогенезу *in vitro*. *Розведення і генетика тварин*, 52, 181–186.

Зюзюн, А. Б. (2017). Цитоморфологічні дослідження ооцит-кумулясних комплексів кролиць, одержаних із яєчників на різних фазах естрального циклу. *Розведення і генетика тварин*, 53, 279–284.

Ковтун, С. І., Зюзюн, А. Б., Щербак, О. В., & Гончаренко, Л. М. (2010). Дослідження ефективності формування ембріонів кролів *in vitro*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*.

Коцюбенко, Г. А. (2010). Вплив різних факторів на відтворні якості кролиць. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, 180–184.

Коцюбенко, Г. А., & Погорелова, А. О. (2016). Вплив сезону окролу на ступінь прояву, тривалість та періодичність охоти у кролиць спеціалізованих м'ясних порід. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Тваринництво*, 5, 180–183.

Коцюбенко, Г. А., & Рясенко, Є. М. (2011). Вплив генотипових та паратипових факторів на відтворювальну здатність кролиць різних порід. *Розведення і генетика тварин*, 45, 118–123.

Кошевой, В. І., Жукова, І. О., Науменко, С. В., & Савічев, О. А. (2024). Порівняльна ефективність різних способів застосування аналогу гонадотропін-релізинг гормону за стимуляції овуляції у кролиць. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки*, 26(113), 126–131. <https://www.doi.org/10.32718/nvlvet11319>

Лесик, Я. В. (2013). Відтворна здатність кролематок за впоювання суспензії хлорели, сульфату натрію, хлориду і цитрату хрому. *Ветеринарна медицина*, 97, 448–450.

Лісін, В. І., & Сушко, О. Б. (2013). Результати використання Сурфагона в у практиці штучного осіменіння кролиць. *Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва НААН*, 109(1), 174–181.

Масалович, Ю. І. (2016). Науково-експериментальне обґрунтування запліднювальної здатності кролиць за штучного осіменіння.

Масалович, Ю. І., Любецький, В. Й., & Деркач, С. С. (2015). Цитологічна картина мазків-відбитків слизової оболонки піхви кролиць. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*, 7.

Мирошниченко, І., & Жоріна, Л. (2021). Вивчення відтворювальної здатності кролематок гібридних кросів при використанні штучного осіменіння у комплексі з гормонотерапією в умовах приватної кролеферми. *Вісник*

Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарні науки, 1(52), 38–44. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2021.1.6>

Науменко С. В., Твердохліб Ю. В., Кошевой В. І., Жигалова О. Є. (2024). *Застосування гормональних препаратів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць* (науково-методичні рекомендації). Харків, 2024. 32 с.

Огороднічук, Г. М. (2022). Ефективність використання добавок мікробіологічного походження при вирощуванні кролів: монографія. Вінниця, ТОВ «Друк». 196 с.

Панкєєв, С. П. (2021). Сучасні репродуктивні методи біотехнології у тваринництві.

Петровська, І., Салига, Ю., & Вудмаска, І. (2022). Статистичні методи в біологічних дослідженнях: навчально-методичний посібник. Аграрна наука. 172 с.

Піскун, Р. П., & Піскун, А. О. (2017). Морфофункціональні зміни яєчників кролиць при згодовуванні їм холестерину. *Вісник морфології*, 23(1), 43–45.

Сачук, Р. М. (2011). Коротка зоогієнічна і добробутна характеристика технологій інтенсивного кролівництва та систем утримання кролів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 13(50), 330–336.

Сирватка, В. Я., Сливчук, Ю. І., Розгоні, І. І., & Гевкан, І. І. (2013). Вплив наночастинок срібла на гамети кролів *in vitro* та ефективність запліднення *in vivo*. *Біологія тварин*, 15(1), 126–133.

Скібіна Ю. В., Науменко С. В. (2019). Аналіз ефективності застосування гормонального препарату «Фоллімаг» для стимуляції відтворної здатності кролиць. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 3, 11–15. <https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.03.02>

Скібіна Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. (2021). Гістологічне дослідження яєчників сукрольних кролиць. *Ветеринарія, технології*

тваринництва та природокористування, 7, 126–132.
<https://doi.org/10.31890/vttp.2021.07.19>

Скібіна Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. Вплив гонадотропних гормонів на гістоструктуру яєчників кролиць. *Priority directions of science and technology development: матеріали VI міжн. наук.-практ. конф. (м. Київ, 20-21 лютого 2021 р.)*. Київ, 2021. С. 54–55.

Сливчук, Ю. І., Сирватка, В. Я., Гевкан, І. І., Штапенко, О. В., Матюха, І. О., Мілованова, Г. О., & Сливчук, О. Ю. (2017). Динаміка біохімічних показників крові кролиць на ранніх стадіях сукрільності за дії різних форм лікарських препаратів на основі стабілізованих гонадотропінів. *Біологія тварин*, 19(3), 99–106.

Стрижак Т. А., Скібіна Ю. В., Сушко О. Б. Сучасні породи кролів у системі гібридизації. *Аграрна галузь сучасної України: проблеми та перспективи розвитку: матеріали I міжн. наук.-практ. конф. (м. Слов'янськ, 14 травня 2021 р.)*. Слов'янськ, 2021. С. 190–193.

Твердохліб Ю. В. (2023). Морфологічна оцінка яєчників за стимуляції овуляції у кролиць гонадотропіном сироватки жеребих кобил у різних дозах. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25(112), 160–167. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11226>

Твердохліб Ю. В., Науменко С. В., Кошевой В. І. Морфологічні особливості яєчників за комбінованого застосування гонадотропінів для стимуляції овуляції у кролиць. *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині: матеріали IX всеукр. наук.-практ. конф. (м. Полтава, 15-16 лютого 2024 р.)*. Полтава, 2024. С. 66–68.

Твердохліб Ю. В., Науменко С. В., Кошевой В. І. Гістологічні зміни яєчників кролиць за гормональної стимуляції овуляції. *Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин: матеріали IV наук.-практ. міжн. дист. конф. (м. Харків, 28 березня 2024 р.)*. Харків, 2024. С. 136–138.

Штапенко, О. В., Гевкан, І. І., Сливчук, Ю. І., & Сирватка, В. Я. (2017). Обмін речовин за стимуляції відтворювальної здатності кролиць препаратом органічних мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії. *Біологічні системи*, 9(2), 171–175.

Штапенко, О. В., Матюха, І. О., Сливчук, Ю. І., Сирватка, В. Я., Федорова, С. В., Розгоні, І. І., & Дзень, Є. О. (2014). Вплив органічних сполук мікроелементів у формі комплексного ліпосомального препарату на показники оксидативного стресу та антиоксидантного статусу кролиць. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*, 202, 325–331.

Щербак, О. В., Ковтун, С. І., Зюзюн, А. Б., & Осипчук, О. С. (2015). Біотехнологічна модель одержання зародків кролів *in vitro* з використанням наноматеріалу. *Біологія тварин*, 17(2), 172–178.

Юрченко, Е. І. (2018). Розроблення наукових основ штучного осіменіння в УРСР (1930–1970–ті рр.) як зоотехнічного методу. *Гілея: науковий вісник*, 132, 83–85.

Якубець, Т. В. (2023). Ріст кролиць материнської форми кросу Нула NG, отриманих від різних самців, у постембріональний період онтогенезу. *Вісник аграрної науки*, 101(2), 79–85.

Abd-Elkareem, M. (2017). Cell-specific immuno-localization of progesterone receptor alpha in the rabbit ovary during pregnancy and after parturition. *Animal reproduction science*, 180, 100–120. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.007>

Abd-Elkareem, M., & Abou-Elhamd, A. S. (2019). Immunohistochemical localization of progesterone receptors alpha (PRA) in ovary of the pseudopregnant rabbit. *Animal reproduction*, 16(2), 302–310. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0128>

Abdel-Khalek, A. E., Kalaba, Z., Younan, G. E., Zaghlool, H., Aboelenin, S. M., Soliman, M. M., El-Tahan, A. M., & El-Tahan, H. M. (2022). Pre-mating plasma

prolactin profile affects California doe rabbit reproductive performance. *Saudi journal of biological sciences*, 29(4), 2329–2335.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.010>

Adams, G. P., Ratto, M. H., Silva, M. E., & Carrasco, R. A. (2016). Ovulation-inducing factor (OIF/NGF) in seminal plasma: a review and update. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 51(2), 4–17. <https://doi.org/10.1111/rda.12795>

Aitken R. J. (2020). Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction (Cambridge, England)*, 159(4), 189–201. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0452>

Albu, A. R., Anca, A. F., Horhoianu, V. V., & Horhoianu, I. A. (2014). Predictive factors for intrauterine growth restriction. *Journal of medicine and life*, 7(2), 165-171. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25408721>

Allen, W.R., & Stewart, F. (1993). Equine chorionic gonadotropin. *Equine Reproduction*. Philadelphia, USA: Lea and Febiger.

Alvarez-Rodriguez, M., Atikuzzaman, M., Venhoranta, H., Wright, D., & Rodriguez-Martinez, H. (2019). Expression of Immune Regulatory Genes in the Porcine Internal Genital Tract Is Differentially Triggered by Spermatozoa and Seminal Plasma. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 513. <https://doi.org/10.3390/ijms20030513>

Anderson, R. C., Newton, C. L., Anderson, R. A., & Millar, R. P. (2018). Gonadotropins and Their Analogs: Current and Potential Clinical Applications. *Endocrine reviews*, 39(6), 911–937. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00052>

Aoyama, M., Shiraishi, A., Matsubara, S., Horie, K., Osugi, T., Kawada, T., Yasuda, K., & Satake, H. (2019). Identification of a New Theca/Interstitial Cell-Specific Gene and Its Biological Role in Growth of Mouse Ovarian Follicles at the Gonadotropin-Independent Stage. *Frontiers in endocrinology*, 10, 553. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00553>

Arias-Alvarez, M., García-García, R. M., Rebollar, P. G., Gutiérrez-Adán, A., López-Béjar, M., & Lorenzo, P. L. (2013). Ovarian response and embryo gene expression patterns after nonsuperovulatory gonadotropin stimulation in

primiparous rabbits does. *Theriogenology*, 79(2), 323–330.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.09.019>

Arias-Alvarez, M., García-García, R. M., Torres-Rovira, L., González-Bulnes, A., Rebollar, P. G., & Lorenzo, P. L. (2010). Influence of hormonal and nonhormonal estrus synchronization methods on follicular and oocyte quality in primiparous lactating does at early postpartum period. *Theriogenology*, 73(1), 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.017>

AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals (2020). American Veterinary Medical Association. Version 2020.0.1. S2.4 Laboratory Rabbits, 63–64. ISBN 978-1-882691-09-8.

Bakeer, M., Abdelrahman, H., & Khalil, K. (2022). Effects of pomegranate peel and olive pomace supplementation on reproduction and oxidative status of rabbit doe. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 106(3), 655–663. <https://doi.org/10.1111/jpn.13617>

Bakker, J., & Baum, M. J. (2000). Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Frontiers in neuroendocrinology*, 21(3), 220–262. <https://doi.org/10.1006/frne.2000.0198>

Banker, M., & Garcia-Velasco, J. A. (2015). Revisiting ovarian hyper stimulation syndrome: Towards OHSS free clinic. *Journal of human reproductive sciences*, 8(1), 13–17. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.153120>

Barker, D. J., Lampl, M., Roseboom, T., & Winder, N. (2012). Resource allocation in utero and health in later life. *Placenta*, 33(2), 30-34. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.06.009>

Beasley, L. H., Cogger, N., & Compton, C. (2023). Use of equine chorionic gonadotropin in lactating dairy cattle: a rapid review. *New Zealand veterinary journal*, 71(2), 53–64. <https://doi.org/10.1080/00480169.2022.2139306>

Berndt, S., Blacher, S., Perrier d'Hauterive, S., Thiry, M., Tsampalas, M., Cruz, A., Péqueux, C., Lorquet, S., Munaut, C., Noël, A., & Foidart, J. M. (2009). Chorionic gonadotropin stimulation of angiogenesis and pericyte recruitment. *The*

Journal of clinical endocrinology and metabolism, 94(11), 4567–4574.
<https://doi.org/10.1210/jc.2009-0443>

Boiko, O. V., Honchar, O. F., Lesyk, Y. V., Kovalchuk, I. I., & Gutyj, B. V. (2020a). Effect of zinc nanoaquacitrate on the biochemical and productive parameters of the organism of rabbits. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(2), 243–248. <https://www.doi.org/10.15421/022036>

Boiko, O. V., Honchar, O. F., Lesyk, Y. V., Kovalchuk, I. I., & Gutyj, B. V. (2020b). Influence of zinc nanoaquacitrate on the immuno-physiological reactivity and productivity of the organism of rabbits. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(1), 133–138. <https://www.doi.org/10.15421/022020>

Boiko, O. V., Honchar, O. F., Lesyk, Y. V., Kovalchuk, I. I., Gutyj, B. V., & Dychok-Niedzielska, A. Z. (2021). Effect of consumption of I, Se, S and nanoaquacitrates on hematological and biochemical parameters of the organism of rabbits. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(2), 335–340. <https://www.doi.org/10.15421/022145>

Braden A. W. (1953). Distribution of sperms in the genital tract of the female rabbit after coitus. *Australian journal of biological sciences*, 6(4), 693–705.

Bréard, E., Delarue, B., Benhaïm, A., Féral, C., & Leymarie, P. (1998). Inhibition by gonadotropins of interleukin-1 production by rabbit granulosa and theca cells: effects on gonadotropin-induced progesterone production. *European journal of endocrinology*, 138(3), 328–336. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1380328>

Breed, W. G., Peirce, E. J., & Leigh, C. M. (2019). Ovary of the southern hairy-nosed wombat (*Lasiorhinus latifrons*): its divergent structural organisation. *Reproduction, fertility, and development*, 31(9), 1457–1462. <https://doi.org/10.1071/RD19034>

Brook, F. A., & Clarke, J. R. (1989). Ovarian interstitial tissue of the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. *Journal of reproduction and fertility*, 85(1), 251–260. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0850251>

Brouillet, S., Hoffmann, P., Feige, J. J., & Alfaidy, N. (2012). EG-VEGF: a key endocrine factor in placental development. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 23(10), 501–508. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.05.006>

Brun, J. M., Sanchez, A., Ailloud, E., Saleil, G., & Theau-Clément, M. (2016). Genetic parameters of rabbit semen traits and male fertilising ability. *Animal reproduction science*, 166, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.12.008>

Burow, S., Fontaine, R., von Krogh, K., Mayer, I., Nourizadeh-Lillabadi, R., Hollander-Cohen, L., Cohen, Y., Shpilman, M., Levavi-Sivan, B., & Weltzien, F. A. (2019). Medaka follicle-stimulating hormone (Fsh) and luteinizing hormone (Lh): Developmental profiles of pituitary protein and gene expression levels. *General and comparative endocrinology*, 272, 93–108. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.12.006>

Byambaragchara, M., Choi, S. H., Joo, H. E., Kim, S. G., Kim, Y. J., Park, G. E., Kang, M. H., & Min, K. S. (2021). Specific Biological Activity of Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) Glycosylation Sites in Cells Expressing Equine Luteinizing Hormone/CG (eLH/CG) Receptor. *Development & reproduction*, 25(4), 199–211. <https://doi.org/10.12717/DR.2021.25.4.199>

Casares-Crespo, L., Fernández-Serrano, P., & Viudes-de-Castro, M. P. (2018). Protection of GnRH analogue by chitosan-dextran sulfate nanoparticles for intravaginal application in rabbit artificial insemination. *Theriogenology*, 116, 49–52. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.008>

Casares-Crespo, L., Fernández-Serrano, P., Vicente, J. S., Marco-Jiménez, F., & Viudes-de-Castro, M. P. (2018). Rabbit seminal plasma proteome: The importance of the genetic origin. *Animal reproduction science*, 189, 30–42. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.12.004>

Casares-Crespo, L., Fernández-Serrano, P., Vicente, J. S., Mocé, E., Castellini, C., Stabile, A. M., & Viudes-de-Castro, M. P. (2018). Insemination extender supplementation with bestatin and EDTA has no effect on rabbit reproductive performance. *Theriogenology*, 105, 61–65. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.009>

Casares-Crespo, L., Vicente, J. S., Talaván, A. M., & Viudes-de-Castro, M. P. (2016). Does the inclusion of protease inhibitors in the insemination extender affect rabbit reproductive performance?. *Theriogenology*, 85(5), 928–932. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.10.044>

Casarini, L., & Simoni, M. (2021). Recent advances in understanding gonadotropin signaling. *Faculty reviews*, 10, 41. <https://doi.org/10.12703/r/10-41>

Cassar, G., Friendship, R.M., Zak, L.J., Rogan, D., & Kirkwood, R.N. (2010). Effect of dose of equine chorionic gonadotrophin on the estrus responses of gilts and weaned sows and effect of the interval between equine chorionic gonadotrophin and luteinizing hormone injections on sow performance. *Journal of Swine Health and Production*, 18, 182-186.

Castellini, C., Dal Bosco, A., Arias-Álvarez, M., Lorenzo, P. L., Cardinali, R., & Rebollar, P. G. (2010). The main factors affecting the reproductive performance of rabbit does: a review. *Animal reproduction science*, 122(3-4), 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.10.003>

Cervantes, M. P., Palomino, J. M., & Adams, G. P. (2015). In vivo imaging in the rabbit as a model for the study of ovulation-inducing factors. *Laboratory animals*, 49(1), 1–9. <https://doi.org/10.1177/0023677214547406>

Chai, F., Wan, F., Jiang, J., Wang, S., & Chen, S. (2017). Use of Estradiol Promotes Graft-Bone Healing in Rabbit Model of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction With a Polyethylene Terephthalate Ligament. *Artificial organs*, 41(12), 1153–1161. <https://doi.org/10.1111/aor.12920>

Cho, J., Tsugawa, Y., Imai, Y., & Imai, T. (2021). Chorionic gonadotropin stimulates maternal hepatocyte proliferation during pregnancy. *Biochemical and biophysical research communications*, 579, 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.09.039>

Cole L. A. (2009). New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, 7, 8. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-8>

Cole L. A. (2010). Biological functions of hCG and hCG-related molecules. *Reproductive biology and endocrinology*, 8, 102. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-8-102>

Cole, L. A. (2012). hCG, the wonder of today's science. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, 10, article number 24. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-24>

Cordier, A. G., Léveillé, P., Dupont, C., Tarrade, A., Picone, O., Larcher, T., Dahirel, M., Poumerol, E., Mandon-Pepin, B., Lévy, R., & Chavatte-Palmer, P. (2013). Dietary lipid and cholesterol induce ovarian dysfunction and abnormal LH response to stimulation in rabbits. *PloS one*, 8(5), e63101. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063101>

Crowe M. A., & Mullen, P. M. (2013). Regulation and Function of Gonadotropins Throughout the Bovine Oestrous Cycle. *Gonadotropin*. London, UK: InTech. <https://doi.org/10.5772/53870>

Cunha, T. O., & Martins, J. P. N. (2022). Graduate Student Literature Review: Effects of human chorionic gonadotropin on follicular and luteal dynamics and fertility in cattle. *Journal of dairy science*, 105(10), 8401–8410. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21991>

Dal Bosco, A., Rebollar, P. G., Boiti, C., Zerani, M., & Castellini, C. (2011). Ovulation induction in rabbit does: current knowledge and perspectives. *Animal reproduction science*, 129(3-4), 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.11.007>

Dall'Aglio, C., Millán, P., Maranesi, M., Rebollar, P. G., Brecchia, G., Zerani, M., Gobbetti, A., Gonzalez-Mariscal, G., & Boiti, C. (2013). Expression of the cannabinoid receptor type 1 in the pituitary of rabbits and its role in the control of LH secretion. *Domestic animal endocrinology*, 45(4), 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2013.08.004>

De Castro, M. P., Cortell, C., Mocé, E., Marco-Jiménez, F., Joly, T., & Vicente, J. S. (2009). Effect of recombinant gonadotropins on embryo quality in superovulated rabbit does and immune response after repeated treatments.

Theriogenology, 72(5), 655–662.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.04.022>

de Medeiros, S. F., & Norman, R. J. (2009). Human choriogonadotrophin protein core and sugar branches heterogeneity: basic and clinical insights. *Human reproduction update*, 15(1), 69–95. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn036>

De Rensis, F., & López-Gatius, F. (2014). Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 49(2), 177–182.
<https://doi.org/10.1111/rda.12268>

Deanesly, R. (1972). Origins and development of interstitial tissue in ovaries of rabbit and guinea pig. *Journal of anatomy*, 113(Pt 2), 251–260. Available at:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1271685/>

d'Hauterive, S. P., Close, R., Gridelet, V., Mawet, M., Nisolle, M., & Geenen, V. (2022). Human Chorionic Gonadotropin and Early Embryogenesis: Review. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1380.
<https://doi.org/10.3390/ijms23031380>

Di Berardino, C., Peserico, A., Capacchietti, G., Crociati, M., Monaci, M., Tosi, U., Mauro, A., Russo, V., Bernabò, N., & Barboni, B. (2021). Equine Chorionic Gonadotropin as an Effective FSH Replacement for In Vitro Ovine Follicle and Oocyte Development. *International journal of molecular sciences*, 22(22), 12422.
<https://doi.org/10.3390/ijms222212422>

Druart X. (2012). Sperm interaction with the female reproductive tract. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 47(4), 348–352.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02097.x>

Duffy, D. M., Ko, C., Jo, M., Brannstrom, M., & Curry, T. E. (2019). Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes. *Endocrine reviews*, 40(2), 369–416. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00075>

Edson, M. A., Nagaraja, A. K., & Matzuk, M. M. (2009). The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocrine reviews*, 30(6), 624–712.
<https://doi.org/10.1210/er.2009-0012>

Elkomy, A., El-Hanoun, A., Abdella, M., & El-Sabrou, K. (2021). Improving the reproductive, immunity and health status of rabbit does using honey bee venom. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 105(5), 975–983. <https://doi.org/10.1111/jpn.13552>

El-Ratel, I. T., Abdel-Khalek, A. E., & Fouda, S. F. (2020). Effect of ovarian stimulation by different gonadotrophin treatments on in vivo and in vitro reproductive efficiency of rabbit does under high ambient temperature. *Tropical animal health and production*, 53(1), 22. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02429-w>

Emori, C., & Sugiura, K. (2014). Role of oocyte-derived paracrine factors in follicular development. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho*, 85(6), 627–633. <https://doi.org/10.1111/asj.12200>

Farhud, D., Zokaei, S., Keykhaei, M., & Zarif Yeganeh, M. (2019). Strong Evidences of the Ovarian Carcinoma Risk in Women after IVF Treatment: A Review Article. *Iranian journal of public health*, 48(12), 2124–2132.

Fernández-Serrano, P., Casares-Crespo, L., & Viudes-de-Castro, M. P. (2017). Chitosan-dextran sulphate nanoparticles for GnRH release in rabbit insemination extenders. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 52(4), 72–74. <https://doi.org/10.1111/rda.13062>

Fink, J., Schoenfeld, B. J., Hackney, A. C., Maekawa, T., & Horie, S. (2021). Human chorionic gonadotropin treatment: a viable option for management of secondary hypogonadism and male infertility. *Expert review of endocrinology & metabolism*, 16(1), 1–8. <https://doi.org/10.1080/17446651.2021.1863783>

Fischer, B., Chavatte-Palmer, P., Viebahn, C., Navarrete Santos, A., & Duranthon, V. (2012). Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction (Cambridge, England)*, 144(1), 1–10. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0091>

Forcada, F., Ait Amer-Meziane, M., Abecia, J. A., Maurel, M. C., Cebrián-Pérez, J. A., Muiño-Blanco, T., Asenjo, B., Vázquez, M. I., & Casao, A. (2011). Repeated superovulation using a simplified FSH/eCG treatment for in vivo embryo

production in sheep. *Theriogenology*, 75(4), 769–776.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.10.019>

Fournier T. (2016). Human chorionic gonadotropin: Different glycoforms and biological activity depending on its source of production. *Annales d'endocrinologie*, 77(2), 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2016.04.012>

Friedman, M. H. (1929). The mechanism of ovulation in the rabbit. *American Journal of Physiology*, 89, 438-442.
<https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1929.89.2.438>

Gadsby, J. E., & Keyes, P. L. (1984). Control of corpus luteum function in the pregnant rabbit: role of the placenta ("placental luteotropin") in regulating responsiveness of corpora lutea to estrogen. *Biology of reproduction*, 31(1), 16–24.

García, M. L. (2018). *New Insights into Theriogenology*. (1st ed.) Intech Open; London, UK. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.81089>

Garcia-Dominguez, X., Marco-Jimenez, F., Viudes-de-Castro, M. P., & Vicente, J. S. (2019). Minimally Invasive Embryo Transfer and Embryo Vitrification at the Optimal Embryo Stage in Rabbit Model. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (147), 10.3791/58055. <https://doi.org/10.3791/58055>

Garcia-Garcia, R. M., Arias-Alvarez, M., Rebollar, P. G., Revuelta, L., & Lorenzo, P. L. (2009). Influence of different reproductive rhythms on serum estradiol and testosterone levels, features of follicular population and atresia rate, and oocyte maturation in controlled suckling rabbits. *Animal reproduction science*, 114(4), 423–433. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.10.007>

Gardela, J., Jauregi-Miguel, A., Martinez, C. A., Rodriguez-Martinez, H., Lopez-Bejar, M., & Alvarez-Rodriguez, M. (2020). Semen Modulates the Expression of NGF, ABHD2, VCAN, and CTEN in the Reproductive Tract of Female Rabbits. *Genes*, 11(7), 758. <https://doi.org/10.3390/genes11070758>

Ge, H., Tollner, T. L., Hu, Z., Da, M., Li, X., Guan, H., Shan, D., Lu, J., Huang, C., & Dong, Q. (2012). Impaired mitochondrial function in murine oocytes is associated with controlled ovarian hyperstimulation and in vitro maturation.

Reproduction, fertility, and development, 24(7), 945–952.
<https://doi.org/10.1071/RD11212>

Gogol P. (2016). Reproductive Performance of Rabbit does Artificially Inseminated with Semen Supplemented with GnRH Analogue [des-Gly10, D-Ala6]-LH-RH Ethylamide. *Polish journal of veterinary sciences*, 19(3), 659–661.
<https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0084>

Gomes, D. S., Aragão, L. B., Lima Neto, M. F., Barroso, P. A. A., Paulino, L. R. F. M., Silva, B. R., Souza, A. L. P., Vasconcelos, G. L., Silva, A. W. B., & Silva, J. R. V. (2020). Supplementation of culture medium with knockout serum replacement improves the survival of bovine secondary follicles when compared with other protein sources during in vitro culture. *Zygote (Cambridge, England)*, 28(1), 32–36. <https://doi.org/10.1017/S0967199419000583>

Gong, H., Jarzynka, M. J., Cole, T. J., Lee, J. H., Wada, T., Zhang, B., Gao, J., Song, W. C., DeFranco, D. B., Cheng, S. Y., & Xie, W. (2008). Glucocorticoids antagonize estrogens by glucocorticoid receptor-mediated activation of estrogen sulfotransferase. *Cancer research*, 68(18), 7386–7393. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1545>

González-Mariscal, G., McNitt, J. I., & Lukefahr, S. D. (2007). Maternal care of rabbits in the lab and on the farm: endocrine regulation of behavior and productivity. *Hormones and behavior*, 52(1), 86–91.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.028>

Greenwald G. S. (1961). A study of the transport of ova through the rabbit oviduct. *Fertility and sterility*, 12, 80–95. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)34028-6](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)34028-6)

Griffin, J., Emery, B. R., Huang, I., Peterson, C. M., & Carrell, D. T. (2006). Comparative analysis of follicle morphology and oocyte diameter in four mammalian species (mouse, hamster, pig, and human). *Journal of experimental & clinical assisted reproduction*, 3, 2. <https://doi.org/10.1186/1743-1050-3-2>

Guido Macchiarelli (2000). The Microvasculature of the Ovary: A Review by SEM of Vascular Corrosion Casts. *Journal of Reproduction and Development*, 46, 207-225. <https://doi.org/10.1262/jrd.46.207>

Gurin, S., Bachman, C., & Wilson, D. W. (1940). The Gonadotropic Hormone of Urine of Pregnancy: II. Chemical Studies of Preparations Having High Biological Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 133(2), 467-476. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)73326-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)73326-7)

Han, L., Wang, H., Li, L., Li, X., Ge, J., Reiter, R. J., & Wang, Q. (2017). Melatonin protects against maternal obesity-associated oxidative stress and meiotic defects in oocytes via the SIRT3-SOD2-dependent pathway. *Journal of pineal research*, 63(3), 10.1111/jpi.12431. <https://doi.org/10.1111/jpi.12431>

Harlow, C. R., Jenkins, J. M., & Winston, R. M. (1997). Increased follicular fluid total and free cortisol levels during the luteinizing hormone surge. *Fertility and sterility*, 68(1), 48–53. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(97\)81474-4](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(97)81474-4)

Hashem, N. M. & Aboul-Ezz, Z. R. (2018). Effects of a single administration of different gonadotropins on day 7 post-insemination on pregnancy outcomes of rabbit does. *Theriogenology*, 105, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.09.006>

Hashem, N. M., & Gonzalez-Bulnes, A. (2020). State-of-the-Art and Prospective of Nanotechnologies for Smart Reproductive Management of Farm Animals. *Animals*, 10, 840. <https://doi.org/10.3390/ani10050840>

Hashem, N. M., & Gonzalez-Bulnes, A. (2021). Nanotechnology and Reproductive Management of Farm Animals: Challenges and Advances. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(7), 1932. <https://doi.org/10.3390/ani11071932>

Heidegger, H., & Jeschke, U. (2018). Human Chorionic Gonadotropin (hCG) – An Endocrine, Regulator of Gestation and Cancer. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1502. <https://doi.org/10.3390/ijms19051502>

Herkert, D., Meljen, V., Muasher, L., Price, T. M., Kuller, J. A., & Dotters-Katz, S. (2022). Human Chorionic Gonadotropin – A Review of the Literature.

Obstetrical & gynecological survey, 77(9), 539–546.
<https://doi.org/10.1097/OGX.0000000000001053>

Hervé, V., Roy, F., Bertin, J., Guillou, F., & Maurel, M. C. (2004). Antiequine chorionic gonadotropin (eCG) antibodies generated in goats treated with eCG for the induction of ovulation modulate the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone bioactivities of eCG differently. *Endocrinology*, 145(1), 294–303.
<https://doi.org/10.1210/en.2003-0595>

Hoffman, K. L., Martínez-Alvarez, E., & Rueda-Morales, R. I. (2009). The inhibition of female rabbit sexual behavior by progesterone: progesterone receptor-dependent and-independent effects. *Hormones and behavior*, 55(1), 84–92.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.08.011>

Hoppen H. O. (1994). The equine placenta and equine chorionic gonadotrophin – an overview. *Experimental and clinical endocrinology*, 102(3), 235–243. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1211287>

Horalsky L. P. (ed.). (2015). Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions. Zhytomyr: Polissya. 286 p.

Hughes, K., & Watson, C. J. (2018). The Mammary Microenvironment in Mastitis in Humans, Dairy Ruminants, Rabbits and Rodents: A One Health Focus. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 23(1-2), 27–41.
<https://doi.org/10.1007/s10911-018-9395-1>

Hutt, K. J., McLaughlin, E. A., & Holland, M. K. (2006). Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. *Cell and Tissue Research*, 326(3), 809-822. <https://doi.org/10.1007/s00441-006-0223-3>

Jolivet, G., Daniel-Carlier, N., Harscoët, E., Airaud, E., Dewaele, A., Pierson, C., Giton, F., Boulanger, L., Daniel, N., Mandon-Pépin, B., Pannetier, M., & Pailhoux, E. (2022). Fetal Estrogens are not Involved in Sex Determination But Critical for Early Ovarian Differentiation in Rabbits. *Endocrinology*, 163(1), bqab210. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqab210>

Kala, M., Shaikh, M. V., & Nivsarkar, M. (2016). Equilibrium between anti-oxidants and reactive oxygen species: a requisite for oocyte development and maturation. *Reproductive medicine and biology*, 16(1), 28–35. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12013>

Kara, E., Dupuy, L., Bouillon, C., Casteret, S., & Maurel, M. C. (2019). Modulation of Gonadotropins Activity by Antibodies. *Frontiers in endocrinology*, 10, 15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00015>

Karsch, F. J., Bowen, J. M., Caraty, A., Evans, N. P., & Moenter, S. M. (1997). Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biology of reproduction*, 56(2), 303–309. <https://doi.org/10.1095/biolreprod56.2.303>

Kolosova, I. I. (2016). Morfolohichna kharakterystyka yaiechnykh shchuriv na riznykh terminakh vahitnosti v normi ta za umov svyntsevoi intoksykatsii. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 1(1), 281-287.

Korniichuk, Y. V., Grushanska, N. H., & Kostenko, V. M. (2020). Prevention of mineral metabolism of disorders in lactating rabbits. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(97), 147–156.

Koshevoy, V. I., Vikulina, G. V., & Naumenko, S. V. (2023). Influence of use N-acetylcystein for the correction of antioxidant status in rabbits' on indicators of blood plasma lipid profile. *Veterinary biotechnology*, 43, 78–84. https://www.doi.org/10.31073/vet_biotech43-08

Koshevoy, V., & Naumenko, S. (2022). Dynamics of peroxidation processes in male rabbits under experimental LPS-induced oxidative stress. *Veterinary Biotechnology*, 41, 100–107. https://www.doi.org/10.31073/vet_biotech41-10

Koshevoy, V., Naumenko, S., & Kavok, N. (2019). Estimation of lipid peroxidation state by chemiluminescent method in male rabbits for gonadodystrophy. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 4, 90–94. <https://doi.org/10.31890/vttp.2019.04.18>

Koshevoy, V., Naumenko, S., Skliarov, P., Fedorenko, S., & Kostyshyn, L. (2021). Male infertility: Pathogenetic significance of oxidative stress and

antioxidant defence (review). *Scientific Horizons*, 24(6), 107–116.
[https://www.doi.org/10.48077/scihor.24\(6\).2021.107-116](https://www.doi.org/10.48077/scihor.24(6).2021.107-116)

Koshevoy, V., Naumenko, S., Skliarov, P., Syniahovska, K., Vikulina, G., Klochkov, V., & Yefimova, S. (2022). Effect of gadolinium orthovanadate nanoparticles on male rabbits' reproductive performance under oxidative stress. *World's Veterinary Journal*, 12(3), 296–303.
<https://www.doi.org/10.54203/scil.2022.wvj37>

Kowalewski, M. P., Pereira, M. T., Papa, P., & Gram, A. (2020). Progesterone receptor blockers: historical perspective, mode of function and insights into clinical and scientific applications. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/Heimtiere*, 48(6), 433–440. <https://doi.org/10.1055/a-1274-9290>

Laborde, N. P., Wolfsen, A. R., & Odell, W. D. (1981). Short loop feedback system for the control of follicle-stimulating hormone in the rabbit. *Endocrinology*, 108(1), 72–75. <https://doi.org/10.1210/endo-108-1-72>

Legardinier, S., Cahoreau, C., Klett, D., & Combarnous, Y. (2005). Involvement of equine chorionic gonadotropin (eCG) carbohydrate side chains in its bioactivity; lessons from recombinant hormone expressed in insect cells. *Reproduction, nutrition, development*, 45(3), 255–259.
<https://doi.org/10.1051/rnd:2005018>

Lesyk, Y. V., Dychok-Niedzielska, A. Z., Boiko, O. V., Honchar, O. F., Bashchenko, M. I., Kovalchuk, I. I., & Gutyj, B. V. (2022). Hematological and biochemical parameters and resistance of the organism of mother rabbits receiving sulfur compounds. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(1), 60–66.
<https://www.doi.org/10.15421/022208>

Lesyk, Y., Ivanytska, A., Kovalchuk, I., Monastyrskaya, S., Hoivanovych, N., Gutyj, B., Zhelavskiy, M., Hulai, O., Midyk, S., Yakubchak, O., Poltavchenko, T. (2020). Hematological parameters and content of lipids in tissues of the organism of rabbits according to the silicon connection. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 30–36. https://www.doi.org/10.15421/2020_5

Li, S., Zeng, W., Li, R., Hoffman, L. C., He, Z., Sun, Q., & Li, H. (2018). Rabbit meat production and processing in China. *Meat science*, 145, 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.037>

Li, Z., Jiang, J., Yi, X., Wang, G., Wang, S., & Sun, X. (2021). miR-18b regulates the function of rabbit ovary granulosa cells. *Reproduction, fertility, and development*, 33(5), 363–371. <https://doi.org/10.1071/RD20237>

Lin, E., Li, Z., Huang, Y., Ru, G., & He, P. (2021). High Dosages of Equine Chorionic Gonadotropin Exert Adverse Effects on the Developmental Competence of IVF-Derived Mouse Embryos and Cause Oxidative Stress-Induced Aneuploidy. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 609290. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.609290>

Lin, Z. L., Ni, H. M., Liu, Y. H., Sheng, X. H., Cui, X. S., Kim, N. H., & Guo, Y. (2015). Effect of anti-PMSG on distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor in mouse ovary, oviduct and uterus. *Zygote (Cambridge, England)*, 23(5), 695–703. <https://doi.org/10.1017/S0967199414000343>

Liu, X., Dai, Q., Hart, E. J., Barrett, D. M., Rawlings, N. C., Pierson, R. A., & Bartlewski, P. M. (2007). Ultrasonographic characteristics of ovulatory follicles and associated endocrine changes in cyclic ewes treated with medroxyprogesterone acetate (MAP)-releasing intravaginal sponges and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 42(4), 393–401. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00798.x>

Lucia, T., Jr, Corrêa, M. N., Deschamps, J. C., Peruzzo, I. A., Matheus, J. E., & Aleixo, J. A. (1999). Influence of equine chorionic gonadotropin on weaning-to-estrus interval and estrus duration in early-weaned, primiparous, female swine. *Journal of animal science*, 77(12), 3163–3167. <https://doi.org/10.2527/1999.77123163x>

Lunenfeld, B. (2004). Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Human reproduction update*, 10(6), 453–467. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmh044>

Lunenfeld, B., Bilger, W., Longobardi, S., Alam, V., D'Hooghe, T., & Sunkara, S. K. (2019). The Development of Gonadotropins for Clinical Use in the Treatment of Infertility. *Frontiers in endocrinology*, *10*, 429. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00429>

Makrigiannakis, A., Vrekoussis, T., Zoumakis, E., Kalantaridou, S. N., & Jeschke, U. (2017). The Role of HCG in Implantation: A Mini-Review of Molecular and Clinical Evidence. *International journal of molecular sciences*, *18*(6), 1305. <https://doi.org/10.3390/ijms18061305>

Martinuk, S. D., Manning, A. W., Black, W. D., & Murphy, B. D. (1991). Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotropin in vivo. *Biology of reproduction*, *45*(4), 598–604. <https://doi.org/10.1095/biolreprod45.4.598>

Mebes, I., Graf, M., Kellner, M., Keck, C., & Segerer, S. E. (2015). High Estradiol Levels During Postmenopause – Pitfalls in Laboratory Analysis. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, *75*(9), 941–944. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1557815>

Miller, A. L., & Leach, M. C. (2023). Pain Recognition in Rabbits. The veterinary clinics of North America. *Exotic animal practice*, *26*(1), 187–199. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2022.07.007>

Miyabayashi, K., Tokunaga, K., Otake, H., Baba, T., Shima, Y., & Morohashi, K. (2015). Heterogeneity of ovarian theca and interstitial gland cells in mice. *PLoS one*, *10*(6), e0128352. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128352>

Moore, S. G., & Hasler, J. F. (2017). A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science. *Journal of dairy science*, *100*(12), 10314–10331. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13138>

Mori, H., Matsumoto, K. (1973). Development of the secondary interstitial gland in the rabbit ovary. *Journal of anatomy*, *116*(3), 417-430.

Morton, D. B., & Glover, T. D. (1974). Sperm transport in the female rabbit: the rôle of the cervix. *Journal of reproduction and fertility*, *38*(1), 131–138. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0380131>

Munari, C., Ponzio, P., Alkhawagah, A. R., Schiavone, A., & Mugnai, C. (2019). Effects of an intravaginal GnRH analogue administration on rabbit reproductive parameters and welfare. *Theriogenology*, *125*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.024>

Murphy, B. D. (2012). Equine chorionic gonadotropin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction*, *9*(n3), 223–230.

Naumenko, S., & Koshevoy, V. (2017). Method of gonadodistropia therapy in rabbits. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, *19*(82), 132–136. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8227>

Naumenko, S., Koshevoy, V., Matsenko, O., Miroshnikova, O., Zhukova, I., & Bespalova, I. (2023). Antioxidant properties and toxic risks of using metal nanoparticles on health and productivity in poultry. *Journal of World's Poultry Research*, *13*(3), 292–306. <https://www.doi.org/10.36380/jwpr.2023.32>

Oakberg, E. F. (1979). Follicular growth and atresia in the mouse. *In vitro*, *15*(1), 41–49. <https://doi.org/10.1007/BF02627078>

Ozturk, S., Yaba-Ucar, A., Sozen, B., Mutlu, D., & Demir, N. (2016). Superovulation alters embryonic poly(A)-binding protein (Epub) and poly(A)-binding protein, cytoplasmic 1 (Pabpc1) gene expression in mouse oocytes and early embryos. *Reproduction, fertility, and development*, *28*(3), 375–383. <https://doi.org/10.1071/RD14106>

Pan, B., & Li, J. (2019). The art of oocyte meiotic arrest regulation. *Reprod Biol Endocrinol*, *17*(8). <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0445-8>

Parada-Bustamante, A., Oróstica, M. L., Reuquen, P., Zuñiga, L. M., Cardenas, H., & Orihuela, P. A. (2016). The role of mating in oviduct biology. *Molecular reproduction and development*, *83*(10), 875–883. <https://doi.org/10.1002/mrd.22674>

Parillo, F., Zerani, M., Maranesi, M., Dall'Aglio, C., Galeati, G., Brecchia, G., Boiti, C., & González-Mariscal, G. (2014). Ovarian hormones and fasting differentially regulate pituitary receptors for estrogen and gonadotropin-releasing

hormone in rabbit female. *Microscopy research and technique*, 77(3), 201–210.
<https://doi.org/10.1002/jemt.22328>

Pedersen, T., & Peters, H. (1968). Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *Reproduction*, 17(3), 555–557.
<https://doi.org/10.1530/jrf.0.0170555>

Peiró, R., Herrler, A., Santacreu, M. A., Merchán, M., Argente, M. J., García, M. L., Folch, J. M., & Blasco, A. (2010). Expression of progesterone receptor related to the polymorphism in the PGR gene in the rabbit reproductive tract. *Journal of animal science*, 88(2), 421–427. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-1955>

Pelican, K. M., Wildt, D. E., Pukazhenthil, B., & Howard, J. (2006). Ovarian control for assisted reproduction in the domestic cat and wild felids. *Theriogenology*, 66(1), 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.013>

Perrier d'Hauterive, S., Berndt, S., Tsampalás, M., Charlet-Renard, C., Dubois, M., Bourgain, C., Hazout, A., Foidart, J. M., & Geenen, V. (2007). Dialogue between blastocyst hCG and endometrial LH/hCG receptor: which role in implantation?. *Gynecologic and obstetric investigation*, 64(3), 156–160.
<https://doi.org/10.1159/000101740>

Petracci, M., & Cavani, C. (2013). Rabbit meat processing: historical perspective to future directions. *World Rabbit Science*, 21(4), 217–226.
<https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1329>

Petracci, M., Soglia, F., & Leroy, F. (2018). Rabbit meat in need of a hat-trick: from tradition to innovation (and back). *Meat science*, 146, 93–100.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.003>

Pierce, J. G., & Parsons, T. F. (1981). Glycoprotein hormones: structure and function. *Annual review of biochemistry*, 50, 465–495.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bi.50.070181.002341>

Piles, M., Tusell, L., Lavara García, R., & Baselga Izquierdo, M. (2013). Breeding programmes to improve male reproductive performance and efficiency of insemination dose production in paternal lines: feasibility and limitations. *World Rabbit Science*, 21(2), 61–75. <https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1240>

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, Alabama (2008). Gonadotropin preparations: past, present, and future perspectives. *Fertility and sterility*, 90(5 Suppl), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.031>

Püschel, B., Daniel, N., Bitzer, E., Blum, M., Renard, J. P., & Viebahn, C. (2010). The rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): a model for mammalian reproduction and early embryology. *Cold Spring Harbor protocols*, 2010(1), pdb.emo139. <https://doi.org/10.1101/pdb.emo139>

Quintela, L. A., Peña, A. I., Vega, M. D., Gullón, J., Prieto, C., Barrio, M., Becerra, J. J., & Herradón, P. G. (2009). Reproductive performance of rabbit does artificially inseminated via intravaginal administration of [des-Gly 10, D-Ala6]-LHRH ethylamide as ovulation inductor. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 44(5), 829–833. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01095.x>

Quintela, L. A., Peña, A. I., Vega, M. D., Gullón, J., Prieto, M. C., Barrio, M., Becerra, J. J., Maseda, F., & Herradón, P. G. (2004). Ovulation induction in rabbit does submitted to artificial insemination by adding buserelin to the seminal dose. *Reproduction, nutrition, development*, 44(1), 79–88. <https://doi.org/10.1051/rnd:2004015>

Quintela, L., Peña, A., Barrio, M., Vega, M. D., Diaz, R., Maseda, F., & Garcia, P. (2001). Reproductive performance of multiparous rabbit lactating does: effect of lighting programs and PMSG use. *Reproduction, nutrition, development*, 41(3), 247–257. <https://doi.org/10.1051/rnd:2001104>

Ratto, M. H., Berland, M., Silva, M. E., & Adams, G. P. (2019). New insights of the role of β -NGF in the ovulation mechanism of induced ovulating species. *Reproduction (Cambridge, England)*, 157(5), 199–207. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0305>

Rebollar, P. G., Bonanno, A., Di Grigoli, A., Tornambè, G., & Lorenzo, P. L. (2008). Endocrine and ovarian response after a 2-day controlled suckling and eCG treatment in lactating rabbit does. *Animal reproduction science*, 104(2-4), 316–328. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.018>

Rebollar, P. G., Dal Bosco, A., Millán, P., Cardinali, R., Brecchia, G., Sylla, L., Lorenzo, P. L., & Castellini, C. (2012). Ovulating induction methods in rabbit does: the pituitary and ovarian responses. *Theriogenology*, *77*(2), 292–298. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.041>

Rebollar, P. G., Milanés, A., Pereda, N., Millán, P., Cano, P., Esquifino, A. I., Villarroel, M., Silván, G., & Lorenzo, P. L. (2006). Oestrus synchronisation of rabbit does at early post-partum by doe-litter separation or ECG injection: Reproductive parameters and endocrine profiles. *Animal reproduction science*, *93*(3-4), 218–230. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.032>

Rebollar, P. G., Millán, P., Cocci, P., Vullo, C., Parillo, F., Moura, A., Mariscal, G. G., Boiti, C., & Zerani, M. (2018). New insights on a NGF-mediated pathway to induce ovulation in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Biology of reproduction*, *98*(5), 634-643. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioy041>

Rhen, T., & Cidlowski, J. A. (2006). Estrogens and glucocorticoids have opposing effects on the amount and latent activity of complement proteins in the rat uterus. *Biology of reproduction*, *74*(2), 265–274. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.045336>

Rhen, T., Grissom, S., Afshari, C., & Cidlowski, J. A. (2003). Dexamethasone blocks the rapid biological effects of 17beta-estradiol in the rat uterus without antagonizing its global genomic actions. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *17*(13), 1849–1870. <https://doi.org/10.1096/fj.02-1099com>

Richards, J. S., Liu, Z., & Shimada, M. (2008). Immune-like mechanisms in ovulation. *Trends in endocrinology and metabolism*, *19*(6), 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.03.001>

Rigoglio, N. N., Fátima, L. A., Hanassaka, J. Y., Pinto, G. L., Machado, A. S., Gimenes, L. U., Baruselli, P. S., Rennó, F. P., Moura, C. E., Watanabe, I. S., & Papa, P. C. (2013). Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. *Theriogenology*, *79*(4), 673–679. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.023>

Robertson S. A. (2005). Seminal plasma and male factor signalling in the female reproductive tract. *Cell and tissue research*, 322(1), 43–52. <https://doi.org/10.1007/s00441-005-1127-3>

Roca, J., Martínez, S., Orengo, J., Parrilla, I., Vázquez, J. M., & Martínez, E. A. (2005). Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. *Livestock Production Science*, 94(3), 169-177. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.10.011>

Rodríguez-De Lara, R., López-Fallas, M., Rangel-Santos, R., & Mariscal-Aguayo, V. (2003). Influence of short-term relocation and male exposure on sexual receptivity and reproduction in artificially inseminated lactating doe rabbits. *Animal reproduction science*, 78(1-2), 111–121. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(03\)00064-2](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(03)00064-2)

Roy, F., Maurel, M. C., Combes, B., Vaiman, D., Crihiu, E. P., Lantier, I., Pobel, T., Delétang, F., Combarnous, Y., & Guillou, F. (1999). The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. *Biology of reproduction*, 60(4), 805–813. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.4.805>

Ruiz-Conca, M., Gardela, J., Jauregi-Miguel, A., Martinez, C. A., Rodríguez-Martinez, H., López-Béjar, M., & Alvarez-Rodriguez, M. (2020). Seminal Plasma Triggers the Differential Expression of the Glucocorticoid Receptor (NR3C1/GR) in the Rabbit Reproductive Tract. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(11), 2158. <https://doi.org/10.3390/ani10112158>

Ryu, J. S., Majeska, R. J., Ma, Y., LaChapelle, L., & Guller, S. (1999). Steroid regulation of human placental integrins: suppression of alpha2 integrin expression in cytotrophoblasts by glucocorticoids. *Endocrinology*, 140(9), 3904–3908. <https://doi.org/10.1210/endo.140.9.6999>

Sakurai, T., Tamura, K., Okamoto, S., Hara, T., & Kogo, H. (2003). Possible Role of Cyclooxygenase II in the Acquisition of Ovarian Luteal Function in Rodents.

Biology of Reproduction, 69, 835-842.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.010710>

Salem, A. A., El-Shahawy, N. A., Shabaan, H. M., & Kobeisy, M. (2020). Effect of punicalagin and human chorionic gonadotropin on body weight and reproductive traits in maiden rabbit does. *Veterinary and animal science*, 10, article number 100140. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100140>

Sanchez-Rodriguez, A., Arias-Álvarez, M., Millán, P., Lorenzo, P. L., García-García, R. M., & Rebollar, P. G. (2020). Physiological effects on rabbit sperm and reproductive response to recombinant rabbit beta nerve growth factor administered by intravaginal route in rabbit does. *Theriogenology*, 157, 327–334. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.003>

Sherman, G. B., Wolfe, M. W., Farmerie, T. A., Clay, C. M., Threadgill, D. S., Sharp, D. C., & Nilson, J. H. (1992). A single gene encodes the beta-subunits of equine luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 6(6), 951–959. <https://doi.org/10.1210/mend.6.6.1379674>

Sirotkin, A. V., Chrenek, P., Kolesarová, A., Parillo, F., Zerani, M., & Boiti, C. (2014). Novel regulators of rabbit reproductive functions. *Animal reproduction science*, 148(3-4), 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.06.001>

Sirotkin, A. V., Kadasi, A., Stochmalova, A., Balazi, A., Földesiová, M., Makovicky, P., Chrenek, P., & Harrath, A. H. (2018). Effect of turmeric on the viability, ovarian folliculogenesis, fecundity, ovarian hormones and response to luteinizing hormone of rabbits. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 12(6), 1242–1249. <https://doi.org/10.1017/S175173111700235X>

Skibina, Y., Naumenko, S., & Zhigalova, O. (2021). Histological study of ovaries in pregnant rabbits. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 7, 126–132. <https://doi.org/10.31890/vttp.2021.07.19>

Spencer, T. E., & Bazer, F. W. (1996). Ovine interferon tau suppresses transcription of the estrogen receptor and oxytocin receptor genes in the ovine endometrium. *Endocrinology*, 137(3), 1144–1147. <https://doi.org/10.1210/endo.137.3.8603586>

Stevenson, J. S., Portaluppi, M. A., Tenhouse, D. E., Lloyd, A., Eborn, D. R., Kacuba, S., & DeJarnette, J. M. (2007). Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *Journal of dairy science*, *90*(1), 331–340. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72634-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72634-6)

Štochmal'ová, A., Földešiová, M., Baláži, A., Kádasi, A., Grossmann, R., Alexa, R., Chrenek, P., & Sirotkin, A. V. (2015). Yucca schidigera extract can promote rabbit fecundity and ovarian progesterone release. *Theriogenology*, *84*(4), 634–638. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.04.024>

Suarez S. S. (2016). Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. *Cell and tissue research*, *363*(1), 185–194. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2244-2>

Sun, L., Wu, Z., Li, F., Liu, L., Li, J., Zhang, D., & Sun, C. (2017). Effect of light intensity on ovarian gene expression, reproductive performance and body weight of rabbit does. *Animal reproduction science*, *183*, 118–125. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.05.009>

Taya, K., Saidapur, S. K., & Greenwald, G. S. (1980). Interstitium: site of steroid synthesis in the ovary of the long term hypophysectomized hamster. *Biology of reproduction*, *22*(2), 307-318. <https://doi.org/10.1095/biolreprod22.2.307>

Thompson, R. E., Meyers, M. A., Palmer, J., Veeramachaneni, D. N. R., Magee, C., de Mestre, A. M., Antczak, D. F., & Hollinshead, F. K. (2023). Production of Mare Chorionic Girdle Organoids That Secrete Equine Chorionic Gonadotropin. *International journal of molecular sciences*, *24*(11), 9538. <https://doi.org/10.3390/ijms24119538>

Thurston, L. M., Abayasekara, D. R., & Michael, A. E. (2007). 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase expression and activities in bovine granulosa cells and corpora lutea implicate corticosteroids in bovine ovarian physiology. *The Journal of endocrinology*, *193*(2), 299–310. <https://doi.org/10.1677/joe.1.07025>

Tverdokhlib Yu., Naumenko S., Koshevoy V., Miroshnikova O., Syniahovska K., Kovalova L., Hryshchuk H. (2024). Effect of Different Methods of

Ovulation Induction on Sex Hormones in Serum, and Meat of Rabbit Does. *World's Veterinary Journal*, 14(1), 117–128. <https://doi.org/10.54203/scil.2024.wvj15>

Tverdoklib Yu. V., Naumenko S. V., Koshevoy V. I., Miroshnikova O. S., Zhigalova O. Ye. (2024). Histomorphology of the ovaries of rabbits does during ovulation induced by the combined use of gonadotropins. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 46–52. <https://doi.org/10.32718/ujvas7-1.08>

Ubilla, E., Rebollar, P. G., Pazo, D., Esquifino, A., & Alvariño, J. M. (2001). Endocrine profiles during doe-litter separation and the subsequent pregnancy in rabbits. *Journal of physiology and biochemistry*, 57(2), 23–29.

Uysal, F., Ozturk, S., & Akkoyunlu, G. (2018). Superovulation alters DNA methyltransferase protein expression in mouse oocytes and early embryos. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 35(3), 503–513. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1087-z>

Vicente, J. S., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., & Viudes-de-Castro, M. P. (2011). Detrimental effect on availability of buserelin acetate administered in seminal doses in rabbits. *Theriogenology*, 76(6), 1120–1125. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.05.020>

Vicente, J. S., Llobat, L., Viudes-de-Castro, M. P., Lavara, R., Baselga, M. & Marco-Jiménez, F. (2012). Gestational losses in a rabbit line selected for growth rate. *Theriogenology*, 77(1), 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.019>

Vikulina, G.V., Koshevoy, V.I., Naumenko, S.V., & Radzikhovskiy, M.L. (2024). Plasma lipid profile and sex hormone levels in rabbits under paracetamol-induced oxidative stress. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 53–59. <https://www.doi.org/10.32718/ujvas7-1.09>

Vilanova, X., De Briyne, N., Beaver, B., & Turner, P. V. (2019). Horse Welfare During Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) Production. *Animals: an open access journal from MDPI*, 9(12), 1053. <https://doi.org/10.3390/ani9121053>

Viudes-de-Castro, M. P., Marco Jimenez, F., & Vicente, J. S. (2023). Reproductive Performance of Female Rabbits Inseminated with Extenders Supplemented with GnRH Analogue Entrapped in Chitosan-Based Nanoparticles. *Animals: an open access journal from MDPI*, *13*(10), 1628. <https://doi.org/10.3390/ani13101628>

Viudes-de-Castro, M. P., Marco-Jiménez, F., Cedano-Castro, J. I., & Vicente, J. S. (2017). Effect of corifollitropin alfa supplemented with or without LH on ovarian stimulation and embryo viability in rabbit. *Theriogenology*, *98*, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.05.005>

Viudes-de-Castro, M. P., Marco-Jiménez, F., Más Pellicer, A., García-Domínguez, X., Talaván, A. M., & Vicente, J. S. (2019). A single injection of corifollitropin alfa supplemented with human chorionic gonadotropin increases follicular recruitment and transferable embryos in the rabbit. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, *54*(4), 696–701. <https://doi.org/10.1111/rda.13411>

Viudes-de-Castro, M. P., Mocé, E., Lavara, R., Marco-Jiménez, F., & Vicente, J. S. (2014). Aminopeptidase activity in seminal plasma and effect of dilution rate on rabbit reproductive performance after insemination with an extender supplemented with buserelin acetate. *Theriogenology*, *81*(9), 1223–1228. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.02.003>

Wallach, E. E., & Noriega, C. (1970). Effects of local steroids on follicular development and atresia in the rabbit. *Fertility and sterility*, *21*(3), 253–267. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)37393-9](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)37393-9)

Witorsch R. J. (2016). Effects of elevated glucocorticoids on reproduction and development: relevance to endocrine disruptor screening. *Critical reviews in toxicology*, *46*(5), 420–436. <https://doi.org/10.3109/10408444.2016.1140718>

Wu, B. J., Xue, H. Y., Chen, L. P., Dai, Y. F., Guo, J. T., & Li, X. H. (2013). Effect of PMSG/hCG superovulation on mouse embryonic development. *Journal of Integrative Agriculture*, *12*(6), 1066–1072. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60485-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60485-2)

Wu, Q., Li, H., Zhu, Y., Jiang, W., Lu, J., Wei, D., Yan, J., & Chen, Z. J. (2018). Dosage of exogenous gonadotropins is not associated with blastocyst aneuploidy or live-birth rates in PGS cycles in Chinese women. *Human reproduction (Oxford, England)*, *33*(10), 1875–1882. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey270>

Yoo, S. K., Mehdi, S. F., Pusapati, S., Mathur, N., Anipindi, M., Lunenfeld, B., Lowell, B., Yang, H., Metz, C. N., Khan, S. A., Leroith, D., & Roth, J. (2021). Human Chorionic Gonadotropin and Related Peptides: Candidate Anti-Inflammatory Therapy in Early Stages of Sepsis. *Frontiers in immunology*, *12*, 714177. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.714177>

Yun, Y. W., Yu, F. H., Yuen, B. H., & Moon, Y. S. (1989). Effects of a superovulatory dose of pregnant mare serum gonadotropin on follicular steroid contents and oocyte maturation in rats. *Gamete research*, *23*(3), 289–298. <https://doi.org/10.1002/mrd.1120230306>

Zanagnolo, V., Dharmarajan, A. M., Hesla, J., & Wallach, E. E. (1996). Effects of a gonadotropin-releasing hormone analog on rabbit ovarian function. *Endocrinology*, *137*(12), 5400–5406. <https://doi.org/10.1210/endo.137.12.8940363>

Zapletal, D., & Pavlik, A. (2008). The effect of lecorelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. *Animal reproduction science*, *104*(2-4), 306–315. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.02.008>

Zhang, Y., Chen, F., Li, T. C., Duan, H., & Wu, Y. H. (2017). Effects of Estradiol at Different Levels on Rabbit Endometrial Repair After Curettage. *The Journal of reproductive medicine*, *62*(3-4), 138–146.

Zhao, Q., Tao, C., Pan, J., Wei, Q., Zhu, Z., Wang, L., Liu, M., Huang, J., Yu, F., Chen, X., Zhang, L., & Li, J. (2021). Equine chorionic gonadotropin pretreatment 15 days before fixed-time artificial insemination improves the reproductive performance of replacement gilts. *Animal: an international journal of animal bioscience*, *15*(12), 100406. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100406>

ДОДАТКИ

Додаток А. Список опублікованих праць за темою дисертації

Додаток Б. Відомості про апробацію результатів дисертаційної роботи

Додаток В. Акти впровадження результатів дисертації в навчальний процес та науково-дослідну роботу

Додаток Г. Довідка про участь дисертантки у дослідженнях, що виконувалися у відділі біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва НААН України

Додаток Д. Методичні рекомендації

Додаток Е. Висновок біоетичної експертизи

Список опублікованих праць за темою дисертації

Наукові праці, які відображають основні наукові результати дисертації:

**Стаття у періодичному науковому виданні,
включеному до наукометричної бази даних Scopus:**

1. Tverdokhlib Yu., Naumenko S., Koshevoy V., Miroshnikova O., Syniahovska K., Kovalova L., Hryshchuk H. (2024). Effect of Different Methods of Ovulation Induction on Sex Hormones in Serum, and Meat of Rabbit Does. *World's Veterinary Journal*, 14(1), 117–128. <https://doi.org/10.54203/scil.2024.wvj15>

**Статті у наукових фахових виданнях України,
включених до міжнародних наукометричних баз даних:**

2. Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В. (2019). Аналіз ефективності застосування гормонального препарату «Фоллімаг» для стимуляції відтворної здатності кролиць. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 3, 11–15. <https://doi.org/10.31890/vttp.2019.03.02>
3. Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. (2021). Гістологічне дослідження яєчників сукрольних кролиць. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 7, 126–132. <https://doi.org/10.31890/vttp.2021.07.19>
4. Твердохліб Ю. В. (2023). Морфологічна оцінка яєчників за стимуляції овуляції у кролиць гонадотропіном сироватки жеребих кобил у різних дозах. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25(112), 160–167. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11226>
5. Tverdokhlib Yu. V., Naumenko S. V., Koshevoy V. I., Miroshnikova O. S., Zhigalova O. Ye. (2024). Histomorphology of the ovaries of rabbits does during ovulation induced by the combined use of gonadotropins. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 46–52. <https://doi.org/10.32718/ujvas7-1.08>

Науково-методичні рекомендації:

6. Науменко С. В., Твердохліб Ю. В., Кошевой В. І., Жигалова О. Є. Застосування гормональних препаратів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць (науково-методичні рекомендації, затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 6 від 31 травня 2024 р.). Харків, 2024. 32 с.

Наукові праці, які відображають апробацію результатів дисертації:

7. Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. Вплив гонадотропних гормонів на гістоструктуру яєчників кролиць. *Priority directions of science and technology development*: матеріали VI міжн. наук.-практ. конф. (м. Київ, 20-21 лютого 2021 р.). Київ, 2021. С. 54–55.

8. Стрижак Т. А., Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Сушко О. Б. Сучасні породи кролів у системі гібридизації. *Аграрна галузь сучасної України: проблеми та перспективи розвитку*: матеріали I міжн. наук.-практ. конф. (м. Слов'янськ, 14 травня 2021 р.). Слов'янськ, 2021. С. 190–193.

9. Твердохліб Ю. В., Науменко С. В., Кошевой В. І. Морфологічні особливості яєчників за комбінованого застосування гонадотропінів для стимуляції овуляції у кролиць. *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині*: матеріали IX всеукр. наук.-практ. конф. (м. Полтава, 15-16 лютого 2024 р.). Полтава, 2024. С. 66–68.

10. Твердохліб Ю. В., Науменко С. В., Кошевой В. І. Гістологічні зміни яєчників кролиць за гормональної стимуляції овуляції. *Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин*: матеріали IV наук.-практ. міжн. дист. конф. (м. Харків, 28 березня 2024 р.). Харків, 2024. С. 136–138.

Відомості про апробацію результатів дисертаційної роботи

Основні результати досліджень дисертації доповідались і схвалені на звітних науково-практичних конференціях за підсумками науково-дослідної роботи науковців, науково-педагогічних працівників, аспірантів та студентів Харківської державної зооветеринарної академії (м. Харків, 2019-2021 р.), а також на:

1. Науково-практичному семінарі «Сучасне кролівництво: методики годування, лікування та імунопрофілактики» (с. Іваньки, Маньківського району, Черкаської області, 2019 р.).

2. Міжнародній науково-практичній конференції «Репродуктивна патологія тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики», присвяченої 80-річчю від дня народження проф. Кошевого В. П. (м. Харків, 2019 р.).

3. Науково-практичній конференції «Vet Winter Days – 2019» (м. Харків, 2019 р.).

4. VI Міжнародній науково-практичній конференції «Priority directions of science and technology development» (м. Київ, 2021 р.).

5. Міжнародній науково-практичній конференції «Аграрна галузь сучасної України: проблеми та перспективи розвитку» (м. Слов'янськ, 2021 р.).

6. Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти біологічної безпеки за емерджентних інфекційних хвороб тварин у контексті стратегії ООН «Єдине здоров'я», присвяченій 100-річчю заснування ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН (м. Харків, 2023 р.)

7. IX Всеукраїнській науково-практичній конференції «Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині» (м. Полтава, 2024 р.).

8. IV науково-практичній міжнародній дистанційній конференції «Сучасні досягнення та перспективи клінічної лабораторної медицини у діагностиці хвороб людини та тварин» (м. Харків, 2024 р.).

9. XX міжнародному форуму молоді «Молодь і індустрія 4.0 в XXI столітті» (м. Харків, 2024 р.).






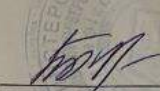


**Акти впровадження результатів дисертації
в навчальний процес та науково-дослідну роботу**

Погоджено
Проректор з науково-педагогічної роботи та
розвитку, д. екон. н., професор, академік
НААН України


Сергій КВАША
« » 2024 р.

Затверджую
Проректор з науково-педагогічної роботи, д.
с.-г. н., професор


Оксана ТОНХА
« » 2024 р.


А К Т

**про впровадження / використання результатів
дисертаційної роботи у навчальний процес**

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Морфологічне та гормональне обґрунтування застосування гонадотропнів за стимуляції овуляції у кролиць», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – Ветеринарна медицина, виконаної Твердохліб Юлією Валеріївною, впроваджено у навчальну програму при викладанні дисципліни: «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології».

Результати дисертаційної роботи Твердохліб Юлії Валеріївни щодо протоколів овуляторної стимуляції кролиць із застосуванням гонадотропних засобів використовуються при читанні лекцій та веденні лабораторних занять на кафедрі акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України, у підготовці фахівців ОС «Магістр» (галузь знань 21 – Ветеринарія, спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).


Декан факультету ветеринарної
медицини, д.б.н., професор,
академік НААН України


Микола ЦВІЛХОВСЬКИЙ

Директор НДІ здоров'я тварин
д.вет.н., професор


Сергій ГОЛОПУРА

Завідувач кафедри акушерства,
гінекології та біотехнології
відтворення тварин, к.вет.н., доцент


Олександр ВАЛЬЧУК

УЗГОДЖЕНО
Проректор з наукової роботи
Державного біотехнологічного університету
Валерій МИХАЙЛОВ
«___» _____ 2024 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної роботи
Державного біотехнологічного університету
Шолов Максим СЕРІК
«___» _____ 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ результатів дисертаційної роботи у навчальний процес і науково-дослідну роботу

Дійсним актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи Твердохліб Юлії Валеріївни на тему: «*Морфологічне та гормональне обґрунтування застосування гонадотропінів за стимуляції овуляції у кролиць*», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина в галузі знань 21 – Ветеринарія впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрі ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету.

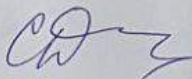
1. **Вид впроваджених результатів:** експериментальні дані застосування сироваткового і хоріонічного гонадотропінів у порівнянні з аналогом гонадотропін-релізінг гормону за стимуляції овуляції у кролиць на основі визначення репродуктивних, морфологічних та гормональних показників протягом п'яти послідовних репродуктивних циклів. Створено удосконалені протоколи гормонально-індукованого фолікулогенезу у кролиць з урахуванням параметрів функціонального стану компартментів яєчників та залишкового вмісту стероїдних гормонів у продукції кролівництва. Отримані результати впроваджені у навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедри.

2. **Форма впровадження:** статті у наукових виданнях: Твердохліб (Скібіна) Ю. В., Науменко С. В., Жигалова О. Є. (2021). Гістологічне дослідження яєчників сукрольних кролиць. *Ветеринарія, технологія тваринництва та природокористування*, 7, 126–132. <https://doi.org/10.31890/vtrp.2021.07.19>; Твердохліб Ю. В. (2023). Морфологічна оцінка яєчників за стимуляції овуляції у кролиць гонадотропіном сироватки жеребих кобил у різних дозах. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*, 25(112), 160–167. <https://doi.org/10.32718/nvlvet11226>; Tverdoklib Yu. V., Naumenko S. V., Koshevoy V. I., Miroshnikova O. S., Zhigalova O. Ye. (2024). *Histomorphology of the ovaries of rabbits does during ovulation induced by the combined use of gonadotropins. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 46–52. <https://doi.org/10.32718/ujvas7-1.08>.


3. **Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких впроваджено результати дисертації:** дисципліна «Ветеринарна репродуктологія» та дисципліна «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин» (спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

4. **Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри:** протокол № 7 від 18 квітня 2024 року.

Завідувач кафедри ветеринарної хірургії
та репродуктології, д-р вет. наук, професор

 Дмитро СЛЮСАРЕНКО

Відповідальна за впровадження,
аспірант

 Юлія ТВЕРДОХЛІБ

Додаток Г.

**Довідка про участь дисертантки у дослідженнях, що виконувалися у
відділі біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин
Інституту тваринництва НААН України**



**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА**

Institute of Animal Science of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

61026, м. Харків,
Тел. (057) 7403181
Факс (057) 7403994



61026 Kharkiv
tel. (057) 7403181
fax (057) 7403994

E-mail: itanimalnaan@gmail.com

61026, м. Харків, вул. Тваринників, 1-А

№ 34-01/а

«31» січня 2020р.

Д О В І Д К А

Видана **СКІБІНІЙ ЮЛІЇ ВАЛЕРІЇВНІ** в тому, що вона в період з 01.01.2018 року по 31.12.2019 року дійсно була співвиконавцем ПНД НААН №28 «Нано- і біотехнології у тваринництві» з виконання науково-дослідних робіт 28.00.02.12.ПШ «Визначити вплив різних схем гормональної стимуляції фолікулогенезу на репродуктивну систему кролиць» (номер держреєстрації 0118U000223) та 28.00.02.14.ПШ «Визначити вплив тривалої періодичної дії гонадотропних препаратів різного складу на репродуктивну систему кролиць» (номер держреєстрації 0119U001242), що виконувалися у відділі біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва НААН.

Довідка видана за місцем вимоги.

Директор

Є.В. Руденко

Науково-методичні рекомендації

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ЗАСТОСУВАННЯ ГОРМОНАЛЬНИХ ЗАСОБІВ
У ПРОТОКОЛАХ СТИМУЛЯЦІЇ ОВУЛЯЦІЇ
У КРОЛИЦЬ**

Науково-методичні рекомендації

Харків – 2024

Продовження додатку Д.

УДК 636.92.082.453.5:612.621.9:577.175.5

Науменко С. В. Застосування гормональних засобів у протоколах стимуляції овуляції у кроличь (науково-методичні рекомендації) / С. В. Науменко, Ю. В. Твердохліб, В. І. Кошевой, О. Є. Жигалова. – Харків, 2024. – 32 с.

Науково-методичні рекомендації «Застосування гормональних засобів у протоколах стимуляції овуляції у кроличь» розглянуто і схвалено Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету МОН України (протокол № 6 від 31 травня 2024 р.).

Автори:

- Науменко С. В., доктор ветеринарних наук, професор, професор кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України;
 - Твердохліб Ю. В., аспірантка кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України;
 - Кошевой В. І., доктор філософії з ветеринарної медицини, асистент кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України;
 - Жигалова О. Є., кандидат ветеринарних наук, доцент, доцент кафедри нормальної та патологічної морфології Державного біотехнологічного університету МОН України.

Рецензенти:

- Куш М. М., доктор ветеринарних наук, професор, професор кафедри нормальної та патологічної морфології Державного біотехнологічного університету МОН України;
 - Ващук С. В., доктор ветеринарних наук, доцент, доцент кафедри біологічної хімії та ветеринарної медицини Національного фармацевтичного університету МОЗ України.

У науково-методичних рекомендаціях узагальнено результати дослідження і практичні особливості застосування гормональних засобів (гонадотропіну сироватки жеребих кобил, хоріонічного гонадотропіну людини, аналогу гонадотропін-релізінг гормону) за стимуляції овуляції у кроличь. Рекомендації розраховані на магістрантів факультету ветеринарної медицини, слухачів ПЮ (інститутів післядипломної освіти), аспірантів і науковців, практичних лікарів ветеринарної медицини, технологів виробництва і переробки продуктів тваринництва.

ЗМІСТ

| | |
|--|----|
| Вступ..... | 4 |
| 1. Гонадотропіни: характеристика, особливості хімічної будови, синтезу й сфера використання..... | 5 |
| 2. Дозування гормональних засобів для стимуляції фолікулогенезу у кроличь та ефективність штучного осіменіння..... | 7 |
| 3. Морфологічна характеристика статевих залоз кроличь за тривалого застосування гормональних засобів..... | 12 |
| 3.1. Аналог гонадотропін-релізінг гормону..... | 12 |
| 3.2. Гонадотропін сироватки жеребих кобил..... | 15 |
| 3.3. Комбіноване введення гонадотропінів..... | 20 |
| 3.4. Порівняльний аналіз кількісного складу фолікулів яєчників кроличь за застосування різних гормональних засобів..... | 23 |
| 4. Оцінка безпечності розроблених протоколів овуляторної стимуляції за показниками вмісту стероїдних гормонів у м'ясі кроличь..... | 25 |
| Висновки та практичні рекомендації..... | 26 |
| Додаток А (довідковий). Порівняльна характеристика сироваткового і хоріонічного гонадотропінів..... | 27 |
| Додаток Б (довідковий). Наукові праці та методичні матеріали, використані при складанні рекомендацій..... | 28 |

Висновок біоетичної експертизи

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Декан факультету
 ветеринарної медицини ДБТУ
 О. О. Цимерман
 2024 рік

ВИСНОВОК КОМІСІЇ З БІОЕТИЧНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ

щодо досліджень дисертаційної роботи аспіранта Твердохліб Ю.В. на тему:
 «Морфологічне та гормональне обґрунтування застосування гонадотропінів
 за стимуляції овуляції у кролиць», що подана на здобуття освітньо-наукового
 ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»

Комісія з біоетичної експертизи факультету ветеринарної медицини
 Державного біотехнологічного університету у складі голови комісії –
 Слюсаренка Д.В., д.вет.н., професора, завідувача кафедри ветеринарної хірургії
 та репродуктології, заступника голови – Яценка І.В., д.вет.н., професора,
 професора кафедри нормальної та патологічної морфології, члена комісії
 Жукової І.О., д.вет.н., професора, професора кафедри фізіології та біохімії
 тварин та секретаря комісії Куш Л.Л., к.с/г.н., доцента, доцента кафедри
 санітарії, гігієни та судової ветеринарної медицини вивчила матеріали
 експериментальних досліджень проведених автором на тваринах і встановила
 наступне:

- експерименти виконані упродовж 2018-2023 рр. на клінічно
 здорових кролицях, що належали приватному господарству; тварин утримували
 в стандартних умовах, вони отримували корми згідно раціону, мали вільний
 доступ до води; кількість тварин у групах була мінімальною для проведення
 дослідів, під час проведення яких дотримувалися основних принципів біоетики,
 зокрема не допускали спраги, недоїдання, голоду, дискомфорту і стресу;

- проведені експериментальні дослідження відповідали вимогам
 «Загальних принципів експериментів на тваринах», які ухвалені на Першому
 національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), що є узгодженими з
 положеннями Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які
 використовуються для експериментальних та інших наукових цілей»
 (Страсбург, 1987) і відповідають Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р.
 «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Заключення: при виконанні експериментальних досліджень на кролицях
 аспіранткою Твердохліб Ю.В. порушень морально-етичних норм при
 проведенні науково-дослідної роботи не виявлено. Проведені дослідження
 відповідали чинному законодавству України щодо загальних принципів
 проведення експериментів на тваринах, а також виключали жорстоке
 поводження з експериментальними тваринами.

Голова комісії

Д. В. Слюсаренко

Секретар комісії

Л. Л. Куш

Акт впровадження у господарстві

АКТ впровадження результатів дисертаційної роботи

Ми, нижчепідписані, Твердохліб Ю.В., аспірантка кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України, Науменко С.В., професор вищевказаної кафедри та Яровий В.О., ветеринарний лікар ТОВ «ФЕРМА КРОЛІКОФФ» Уманського району Черкаської обл., склали цей акт щодо впровадження у даному господарстві результатів дисертаційної роботи **Твердохліб Юлії Валеріївни** на тему: «**Морфологічне та гормональне обґрунтування застосування гонадотропінів за стимуляції овуляції у кролиць**».

Назва пропозиції для впровадження: удосконалений протокол стимуляції овуляції у кролиць із застосуванням гормональних засобів – гонадотропіну сироватки жеребих кобил та аналогу гонадотропін-релізінг гормону ().

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Державний біотехнологічний університет, 61002, м. Харків, вул. Алчевських, 44, кафедра ветеринарної хірургії та репродуктології, аспірантка Твердохліб Ю.В., професор Науменко С.В.

Джерела інформації: науково-медичні рекомендації «Застосування гормональних препаратів у протоколах стимуляції овуляції у кролиць» та наукові статті – «Аналіз ефективності застосування гормонального препарату «Фоллімаг» для стимуляції відтворної здатності кролиць» (*Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 3, 11–15. <https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.03.02>); «Гістологічне дослідження яєчників сукрольних кролиць» (*Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*, 7, 126–132. <https://doi.org/10.31890/vtpp.2021.07.19>); «Effect of Different Methods of Ovulation Induction on Sex Hormones in Serum, and Meat of Rabbit Does» (*World's Veterinary Journal*, 14(1), 117–128. <https://doi.org/10.54203/scil.2024.wvj15>).

Де впроваджено: ТОВ «ФЕРМА КРОЛІКОФФ» Уманського району Черкаської обл.

Терміни впровадження: 2021-2024 рр.

Результати впровадження: застосування розробленого авторами удосконаленого протоколу стимуляції овуляції у кролиць сприяє покращенню показників їх відтворної здатності, в тому числі коефіцієнту фертильності, багатоплідності.

Зуваження та пропозиції: не висловлено.

Від ТОВ «ФЕРМА КРОЛІКОФФ»
Уманського району Черкаської обл.
Ветеринарний лікар
Яровий В.О.

Підпис засвідчую:
Директор

Шестак А.В.



Від Державного біотехнологічного
університету МОН України

Аспірантка

Твердохліб Ю.В.

Науковий керівник, професор

Науменко С.В.

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 14:52:45 03.07.2024

Назва файлу з підписом: Дисертація PhD ТВЕРДОХЛІБ Юлія.docx.p7s
Розмір файлу з підписом: 16.8 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація PhD ТВЕРДОХЛІБ Юлія.docx
Розмір файлу без підпису: 16.8 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ТВЕРДОХЛІБ ЮЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА

П.І.Б.: ТВЕРДОХЛІБ ЮЛІЯ ВАЛЕРІЇВНА

Країна: Україна

РНОКПП: 3405007842

Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 14:52:43
03.07.2024

Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"

Серійний номер: 5E984D526F82F38F0400000095BF6E01E6B53505

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Удосконалений

Тип контейнера: Підпис та дані в одному файлі (CAAdES enveloped)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2024.04.15 13:00