

## РЕАКЦИЯ ЯИЧНИКОВ МЫШЕЙ НА СТИМУЛЯЦИЮ ПРЕПАРАТОМ ФСГ-СУПЕР

О.Б. Жукова, Е.М. Колоскова\*

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,  
биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ  
«Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»  
249013, Российская Федерация, Калужская обл., Боровск, п. Институт*

Гормональная подготовка самок — доноров яйцеклеток — один из первых этапов при получении генно-модифицированных животных методом трансплантации микроинъектированных зигот. Для получения большого количества синхронизированных в развитии эмбрионов применяют процедуру суперовуляции с использованием обработки самок животных гонадотропными гормонами. Как правило, препараты от разных производителей заметно отличаются по эффективности. Введение санкционных ограничений заставляет обратить пристальное внимание на гормональные препараты российского производства, что требует их объективной оценки. Было показано, что разные партии препарата ФСГ-СУПЕР, применяющегося в основном для гормональной обработки сельскохозяйственных животных, отличались по стимулирующему воздействию на суперовуляцию у самок мышей, тем не менее превосходя по эффективности Фоллимаг («Мосагроген», Россия).

**Ключевые слова:** ФСГ-СУПЕР, гонадотропин сыворотки жеребой кобылы, хорионический гонадотропин человека, суперовуляция, яичники, мыши

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Жукова О.Б., Колоскова Е.М. Реакция яичников мышей на стимуляцию препаратом ФСГ-СУПЕР. *Биомедицина*. 2023;19(3E):36–42. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-36-42>

Поступила 25.04.2023

Принята после доработки 19.07.2023

Опубликована 06.11.2023

## RESPONSE OF MOUSE OVARIES TO STIMULATION WITH THE FSH-SUPER DRUG

Olga B. Zhukova, Elena M. Koloskova\*

*All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals —  
Branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry — the All-Russian Institute  
of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst  
249013, Russian Federation, Kaluga Region, Borovsk, Institute Village*

Hormonal preparation of female egg donors is one of the first stages in obtaining genetically modified animals by microinjected zygote transplantation. A large number of embryos synchronized in development can be obtained by a superovulation procedure based on treating female animals with gonadotropins. As a rule, drugs from different manufacturers differ markedly in terms of their efficacy. In the context of sanctions imposed on the Russian Federation, attention should be paid to domestic hormonal drugs, thus substantiating their objective assessment. It was shown that different batches of the FSH-SUPER drug, used mainly for hormonal treatment of farm animals, differed in stimulating effect on superovulation in female mice. At the same time, the efficacy of this drug surpassed that of Follimag (Mosagrogen, Russia).

**Keywords:** FSH-SUPER, pregnant mare serum gonadotropin, human chorionic gonadotropin, superovulation, ovaries, mice

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Zhukova O.B., Koloskova E.M. Response of Mouse Ovaries to Stimulation with the FSH-SUPER Drug. *Journal Biomed.* 2023;19(3E):36–42. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-36-42>

Submitted 25.04.2023

Revised 19.07.2023

Published 06.11.2023

## Введение

Мышь — самая распространенная лабораторная модель, в т.ч. для отработки новых эмбриологических техник, протоколов и материалов. С целью получения трансгенных и нокаутных животных методом трансплантации микроинъектированных генно-инженерным материалом зигот необходимо проведение полного цикла работ, связанных с эмбриотрансфером. Гормональная подготовка самок — доноров яйцеклеток — один из самых первых и ответственных этапов. Для получения большого количества синхронизированных в развитии эмбрионов используется такая процедура, как **суперовуляция** — стимуляция роста и развития дополнительных фолликулов яичника в одном половом цикле при помощи экзогормонов. Число дополнительных овуляций за один цикл в этом случае варьирует в больших пределах и зависит от многих факторов.

Протоколы, основанные на введении гонадотропных гормонов, стандартизованы для многих видов животных, в частности мыши [4, 6, 9]. Например, для получения максимального количества яйцеклеток у самок мышей в возрасте около 4-х недель суперовуляцию индуцируют введением внутривбрюшинно 7,5 МЕ гонадотропина сыворотки жеребой кобылы (ГСЖК) и, спустя 46–48 ч — 7,5 МЕ ХГЧ [9]. ГСЖК используется для стимуляции созревания ооцитов эндогенным фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ). Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) индуцирует овуляцию.

Основу гонадотропных препаратов составляет ФСГ. В качестве примеси к ФСГ все препараты содержат лютеинизирующий гормон (ЛГ). Это затрудняет стандартизацию препаратов и их точную дозировку. В СЖК количество ФСГ превышает ЛГ в 4–12 раз: при высоком содержании ЛГ происходит превращение фолликулов в желтые тела без предварительной овуляции. Частичная инактивация ЛГ в препарате способствует повышению оплодотворяемости и индуцированию охоты [5].

Гонадотропные препараты ветеринарного назначения получают в основном из **сыворотки крови жеребых кобыл**. Это СЖК, ГСЖК, изготовленные на их основе Фоллигон (Голландия), Фоллимаг (Россия), Синхростим 500 (Франция), Сергон (Чехия) и др. Высокие дозы этих препаратов часто являются причиной аллергических реакций, вызывают образование крупных фолликулов, множественных желтых тел, увеличение яичников в несколько раз с образованием кист. Побочные эффекты, нежелательные для длительно функционирующих сельскохозяйственных животных, приемлемы для вызывания суперовуляции у однократно используемых мышей — доноров яйцеклеток. Гипофизарные гормональные препараты не вызывают аллергических реакций. ФСГ-СУПЕР (РФ) содержит гонадотропные гормоны передней доли гипофиза свиней с соотношением 1000–1500 ед. ФСГ на 1 ед. ЛГ [5].

При использовании гипофизарных гормонов получают более стабильные и высокие результаты суперовуляции

и эмбриопродукции у коров — доноров эмбрионов по сравнению с сывороточными ФСГ. Однако из-за короткого периода полураспада (около 5 ч) препараты гипофизарного ФСГ приходится вводить многократно, тогда как период полураспада экзогенного СЖК в организме коров составляет около 6 дней, что позволяет обходиться его однократной инъекцией [2].

Ранее для процедуры суперовуляции у мышей была показана эффективность применения препаратов ГСЖК зарубежных производителей — Синхростим 500 (Франция) и Сергон (Чехия), позволяющих получить от одной мыши-донора около 25 эмбрионов, тогда как в случае Фоллимага (Россия) рабочая дозировка зачастую не определяется [6]. Наличие на рынке доступных гормональных препаратов подходящего качества — большая проблема. Партии производимых препаратов также отличаются друг от друга. Проверка качества гормонов — один из ключевых моментов процесса эмбриотрансфера. Особенно актуально это в связи с уходом зарубежных брендов и необходимостью обращаться к пока еще мало известным российским производителям биопрепаратов.

**Целью исследования** была оценка действия гормонального препарата ФСГ-СУПЕР (ООО «Агробиомед», Россия) на стимуляцию яичников мышей самок-доноров яйцеклеток, а также подбор его оптимальных концентраций.

## Материалы и методы

### *Реактивы и гормональные препараты*

ХГЧ — хорионический гонадотропин человека, ФГУП «Московский эндокринный завод»; Фоллимаг (ГСЖК — гонадотропин сыворотки крови жеребых кобыл), ЗАО «Мосагроген»; ФСГ-СУПЕР партии 1 и 2 (ФСГ, выделенный из передней доли гипофиза свиней), ООО «Агробиомед» (Россия, Боровск). ФР — стерильный физ. р-р.

### *Опытные животные*

В эксперименте использовали самок мышей-гибридов С57В1/6У×СВА/У массой 18–20 г в возрасте 10–15 недель, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животные содержались при световом режиме 12/12 ч, со свободным доступом к пище и воде. Было создано 8 групп мышей по 5 в каждой: 1 — интактные (ФР); 2 — отрицательный контроль (ХГЧ); 3 — ГСЖК; 4–6 — партия 1 и 7–9 — партия 2 ФСГ-СУПЕР в трех дозировках.

### *Приготовление рабочих растворов*

Содержимое флаконов всех гормонов растворяли в ФР для получения растворов следующих концентраций: ФСГ-СУПЕР (ФСГ) — 10 ЕД/мл по Арморевскому стандарту (200 МЕ/мл): ХГЧ — 100 МЕ/мл; ГСЖК — 30 МЕ/мл. Из основных растворов готовили рабочие смеси гормонов следующего состава:

Смесь 0: ФСГ 0,5 АЕ/мл (или 10 МЕ/мл), ХГЧ 20 МЕ/мл;

Смесь 1: ФСГ 1 АЕ/мл (или 20 МЕ/мл), ХГЧ 20 МЕ/мл;

Смесь 2: ФСГ 2 АЕ/мл (или 40 МЕ/мл), ХГЧ 20 МЕ/мл.

### *Обработка животных*

Животным экспериментальных групп проводили гормональную стимуляцию яичников с использованием перечисленных гонадотропных гормонов независимо от стадии эстрального цикла. Мышей опытных и контрольных групп (кроме мышей 3-й группы — СЖК) обрабатывали 5 раз: каждой мыши внутрибрюшинно вводили по 0,2 мл соответствующих растворов через каждые 8 ч после первой инъекции. Мышам 1-й контрольной группы инъекцировали ФР, 2-й контрольной группы — р-р ХГЧ (4 МЕ/гол.), 3-й группы — ГСЖК (6 МЕ/гол.) (однократная инъекция). Мышам опытных групп вводили гормональные смеси 0–2 (соответственно — ФСГ в дозе 2, 4 и 8 МЕ/гол.).

Спустя двое суток после начала обработки у мышей всех исследуемых групп хирургически удаляли яичники. Яичники фотографировали, оценивали морфологически и взвешивали попарно. Статистическую обработку результатов выполняли с использованием пакета статистического анализа данных программы Microsoft Office Excel-2010. Достоверность различий оценивали по критерию t-Стюдента.

## Результаты и их обсуждение

### Характеристика ФСГ-СУПЕР

ФСГ-СУПЕР — препарат ветеринарного назначения. Лиофилизированный порошок серовато-белого или серовато-желтого цвета. Гормональная активность препарата во флаконе — 200 или 1000 МЕ. ФСГ-СУПЕР содержит ФСГ, полученный из передней части гипофиза свиней и имеющий оптимальное для животных соотношение ФСГ к ЛГ: 1000–1500 ед. ФСГ / 1 ед. ЛГ. Препарат используется для стимуляции функции яичников у самок животных и полиовуляции у доноров эмбрионов; для регулирования полового цикла, профилактики бесплодия, повышения плодовитости; лечения различных нарушений половой сферы (гипофункции, персистентные желтые тела, ановуляторный синдром и др.); для управления половым циклом сельскохозяйственных животных — преимущественно коров и свиноматок. Например, при стимуляции коров ФСГ-СУПЕР эффективность суперовуляции составляла 90%, количество эмбрионов на одного донора было в среднем 7,8 [7]. Препарат успешно использовали в гормональных схемах для созревания ооцитов крупного рогатого скота *in vitro* [8], для стимуляции суперовуляции у крольчих — доноров яйцеклеток при получении трансгенных кроликов [3]. Однако ранее считалось, что ФСГ не оказывает стимулирующего действия на яичники мышей.

Другие препараты из гипофизов с/х животных, применяемые (применявшиеся) в с/х

практике, — ФСГ-П (США), Фолликотропин (Чехия), Фоллитропин (Литва).

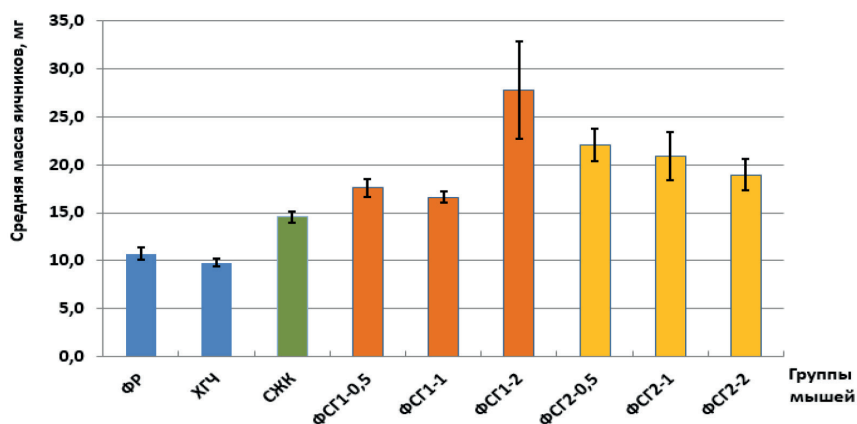
### Оценка действия ФСГ-СУПЕР на яичники мышей

Стимуляция роста фолликулов препаратами ГСЖК сопровождается, как правило, увеличением массы яичников. Гиперстимуляция мышей ГСЖК и ХГЧ в высоких дозах по 20 МЕ уже в 1-е сут приводила к отеку и увеличению объема яичников, появлению геморрагических фолликулов [1].

В нашем эксперименте по сравнению со значениями контрольных 1-й и 2-й групп (10,7±0,6 и 9,8±0,4 мг соответственно) средняя масса яичников мышей 3-й группы (К+, СЖК) была выше на 40% (14,6±0,6), а массы яичников групп 4–9 (ФСГ-СУПЕР, партии 1 и 2 в трех дозировках) — на 55–150% в зависимости от партии и дозировки препарата, достигая максимального среднего значения 21,8±5,1 в группе ФСГ1–2 (рис. 1). Как видно из представленных фотографий (рис. 2), визуально в большинстве пар яичников мышей контрольных групп (1 и 2) наблюдали асимметрию развития левого и правого органов. В результате гормональной стимуляции суперовуляции с ростом общего объема яичников уровень асимметрии в парах снижался. На органах, находящихся в поздней фолликулярной фазе, визуально хорошо заметна развитая капиллярная система кровоснабжения, множественные зрелые фолликулы, в ряде случаев — появление геморрагических фолликулов.

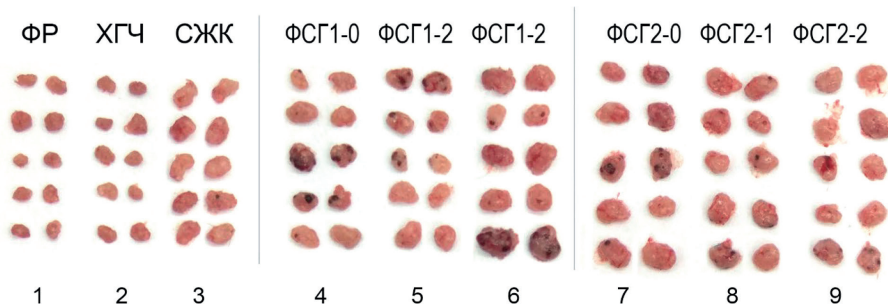
Исходя из результатов, представленных на рис. 1 и 2, ФСГ-СУПЕР второй партии, несмотря на «всплеск» активности ФСГ1–2, обладает лучшей эффективностью, что подтверждается как лучшим состоянием яичников в целом, так и их большей массой при дозировках 2 и 4 МЕ/гол. по сравнению с таковыми для ФСГ1.

Препараты ГСЖК обладают комплексной фолликулостимулирующей и лютеинизирующей активностью. Поскольку соотношение ФСГ и ЛГ в различных партиях



**Рис. 1.** Средняя масса пар яичников мышей, обработанных ФСГ-СУПЕР, разных партий в разных дозах. Различия между контрольными (ФР и СЖК) и всеми опытными группами (включая СЖК) значимы при  $p < 0,01$ . Различия между группой СЖК и всеми ФСГ-опытными группами значимы при  $p < 0,05$ .

**Fig. 1.** Average a pair of ovaries mass of mice treated with FSH-SUPER in different batches at different doses. The differences between the control groups (PS and PMSG) and all experimental groups (including PMSG) are significant at  $p < 0.01$ . The differences between the PMSG group and all FSH experimental groups are significant at  $p < 0.05$ .



**Рис. 2.** Результаты воздействия гонадотропных гормонов на яичники мышей. На фото представлены пары яичников мышей всех девяти групп (по 5 мышей в каждой группе). Пояснения приведены в тексте.

**Fig. 2.** The results of the effects of gonadotropins on the ovaries of mice. The photo shows pairs of ovaries of mice from all nine groups (5 mice in each group). Explanations are given in the text.

различается, результативность суперовуляции тоже оказывается разной. То же самое можно предположить относительно гипофизарного ФСГ, препараты которого, полученные из партий сырья разного качества, даже при строгом соблюдении технологии выделения могут существенно варьировать по эффективности биологического действия.

## Закключение

От гормональной подготовки самок-доноров яйцеклеток во многом зависит эффективность получения генно-модифицированных животных методом трансплантации микроинъектированных зигот. Качество используемых гонадотропных гормонов имеет ключевое значение на этом важном этапе.



По активности биологического действия отличаются препараты не только от разных производителей, но и партии от одного и того же поставщика. По результатам наших экспериментов для стимуляции суперовуляции мышей-доноров можно рекомендовать гипофизарный препарат ФСГ-СУПЕР от россий-

ского производителя «ООО Агробιοмед», по возможности проводя предварительную экспериментальную оценку образцов разных партий: эффективность ФСГ-СУПЕР в испытанных нами дозировках (2–8 МЕ на мышь) была достоверно выше, чем у СЖК в дозе, близкой к классической.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Айзятуллова Э.М. Экспериментальное обоснование применения терлипессина для предотвращения развития осложнений стимуляции яичников в программе вспомогательных репродуктивных технологий. *Проблемы репродукции*. 2014;(1):47–52. [Aiziatulova E.M. Eksperimental'noe obosnovanie primeneniya terlipessina dlya predotvrashcheniya razvitiya oslozhnenij stimulyatsii yaichnikov v programme vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologij [Terlipressin use for ovarian hyperstimulation syndrome prevention in a rodent model]. *Problemy reprodukcii* [Russian J. of Human Reproduction]. 2014;(1):47–52. (In Russian)].
2. Барышева Л.С., Стрилец О.П., Стрельников Л.С. Проблемы вызывания суперовуляции в трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. *Современные достижения фармацевтической технологии и биотехнологии. Мат-лы IV науч.-практ. конф. НФаУ*. 2014:37. [Barysheva L.S., Strilec O.P., Strel'nikov L.S. Problemy vyzyvaniya superovulyatsii v transplantatsii embriionov krupnogo rogatogo skota [The problem of superovulation survival in embryonic cattle transplantation]. *Sovremennye dostizheniya farmacevticheskoy tekhnologii i biotekhnologii. Mat-ly IV nauch.-prakt. konf. NFAU* [Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology. Materials of the IV scientific and practical conference. NPhU]. 2014:37. (In Russian)].
3. Езерский В.А., Шишиморова М.С., Тёвкин С.И., Трубицина Т.П., Колоскова Е.М., Безбородова О.А., Якубовская Р.И., Максименко С.В., Рябых В.П. Интеграция и тканеспецифическая экспрессия гена лактоферрина человека в молочной железе трансгенных кроликов. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2013;4:33–52. [Ezersky V.A., Shishimorova M.S., Tevkin S.I., Trubitsina T.P., Koloskova E.M., Bezborodova O. A., Yakubovskaya R.I., Maksimenko S.V., Ryabykh V.P. Integratsiya i tkanespecificheskaya ekspressiya gena laktoferrina cheloveka v molochnoj zheleze transgenykh krolikov [Integration and tissue-specific expression of the human lactoferrin gene in the mammary gland of transgenic rabbits]. *Problemy biologii pro-*
4. Каркищенко В.Н., Рябых В.П., Болотских Л.А., Семенов Х.Х., Капанадзе Г.Д., Петрова Н.В., Езерский В.А., Жукова О.Б., Колоскова Е.М., Максименко С.В., Столярова В.Н., Трубицина Т.П. Физиолого-эмбриологические аспекты создания трансгенных мышей с интегрированными генами NAT1 и NAT2 человека. *Биомедицина*. 2016;1:52–65. [Karkishchenko V.N., Ryabykh V.P., Bolotskikh L.A., Semenov K.K., Kapanadze G.D., Petrova N.V., Ezerskiy V., Zhukova O.B., Koloskova E.M., Maksimenko S.V., Stolyarova V.N., Trubitsina T.P. Fiziologo-embriologicheskie aspekty sozdaniya transgenykh myshey s integrirovannymi genami NAT1 i NAT2 cheloveka [Physiological and embryological aspects of generation transgenic mice with integrated human NAT1 and NAT2 genes]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2016;1:52–65. (In Russian)].
5. Мосин В.А., Дурманов Н.Д., Пустовой В.В. *Препарат для управления половым циклом животных*. Патент РФ № 2 076732. 1995. [Mosin V.A., Durmanov N.D., Pustovoy V.V. *Preparat dlya upravleniya polovym tsiklom zhivotnykh*. Патент РФ № 2 076732. 1995. (In Russian)].
6. Савченко Е.С., Огнева Н.С., Максименко С.В., Скрипкина М.М., Петрова Н.В. Оптимизация протокола гормональной обработки мышей с целью вызывания суперовуляции. *Биомедицина*. 2020;16(3):48–53. [Savchenko E.S., Ogneva N.S., Maksimenko S.V., Skripkina M.M., Petrova N.V. Optimizatsiya protokola gormonal'noy obrabotki myshey s cel'yu vyzyvaniya superovulyatsii [Optimizing the Hormonal Mice Treatment Protocol to Induce Superovulation]. *Biomedicina* [Journal Biomed]. 2020;16(3):48–53. (In Russian)].
7. Сеин О.Б., Сеин Д.О., Дураков В.А., Оленина Н.В. *Способ получения препарата фолликулостимулирующего гормона из гипофизов животных*. Патент РФ № 2 657 765С1. 2016. [Sein O.B., Sein D.O., Churakov V.A., Olenina N.V. *Sposob polucheniya preparata follikulostimuliruyushchego gormona*

*iz gipofizov zhivotnyh* [A method for obtaining a follicle-stimulating hormone preparation from the pituitary glands of animals]. Patent RF No. 2 657 76. 2016. (In Russian)].

8. Сметанина И.Г., Кривохарченко А.С. Исследования по разработке культуральных систем для созревания ооцитов крупного рогатого скота в условиях *in vitro*: состояние и перспективы. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2017;1:28–53. [Smetanina I.G., Krivokharchenko A.S. Issledovaniya

po razrabotke kul'tural'nyh sistem dlya sozrevaniya oocitov krupnogo rogatogo skota v usloviyah *in vitro*: sostoyanie i perspektivy [Research on the development of culture systems for the maturation of cattle oocytes in *in vitro* conditions: state and prospects]. *Problemy biologii produktivnyh zhivotnyh* [Problems of Productive Animal Biology]. 2017;1:28–53. (In Russian)].

9. Хедерингтон К. Разведение мышей. В кн.: *Биология развития млекопитающих. Методы*. Пер.

---

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Жукова Ольга Борисовна**, Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;

**e-mail:** [olgazhukova19801031@gmail.ru](mailto:olgazhukova19801031@gmail.ru)

**Колоскова Елена Михайловна\***, к.б.н., Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста»;

**e-mail:** [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)

**Olga B. Zhukova**, All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals — Branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry — the All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;

**e-mail:** [olgazhukova19801031@gmail.com](mailto:olgazhukova19801031@gmail.com)

**Elena M. Koloskova\***, Cand. Sci. (Biol.), All-Russian Research Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals — Branch of the Federal Science Center for Animal Husbandry — the All-Russian Institute of Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst;

**e-mail:** [heleko3@yandex.ru](mailto:heleko3@yandex.ru)

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author