



АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК: 612.621.9-07:636.7

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВРЕМЕНИ ВЯЗКИ У СОБАК

К.В. Племяшов, член.-корр. РАН, д.в.н., проф., СПбГАВМ, Плахова А.И. - аспирант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной

Ключевые слова: овуляция, вязка, искусственное осеменение, собаки.

Key words: ovulation, dogmating, artificial insemination, dogs



РЕФЕРАТ. Рассмотрены принцип работы, достоинства и недостатки таких методов как вагинальная цитология, определение концентрации прогестерона, использование детектора течки, УЗИ яичников, вагинальная эндоскопия, исследование цервикального и влагалищного секретов, кристаллизации слюны. Вагинальная цитология является быстрым, безболезненным методом диагностики с высокой точностью основанным на

изучении отторгающихся клеток влагалищного эпителия и изменениях их состав в зависимости от изменений в яичниках. Для проведения исследования необходим микроскоп, ватный тампон, предметное стекло, набор красителей. Определение концентрации прогестерона в плазме крови проводят после первых признаков проэструса каждые 2-3 дня. Данная методика позволяет выявить стремительное нарастание концентрации перед овуляцией и спланировать возможную дату вязки. Использование детектора течки позволяет в домашних условиях определить наступление фертильного периода посредством. УЗИ яичников позволяет определить наступление овуляции у сук. К сожалению, у собак в период овуляции довольно сложно оценить ультразвуковую картину яичников, в отличие от животных других видов. Проведенные ранее исследования показали, что непосредственно перед овуляцией овариальные фолликулы и желтое тело в течение нескольких очень плохо различаются на УЗИ. Некоторые фолликулы остаются после завершения овуляции. Вагинальная эндоскопия это методика требующая дорогостоящего оборудования и часто применение седативных препаратов. При данном исследовании проводят оценку морфологических изменений слизистой влагалища под действием эстрогена и прогестерона и определяют стадию полового цикла и оптимальное время для осеменения. Методика исследования секретов основана на изменении характера рисунка при высыхании во время фертильного периода. Данный метод прост в использовании, но имеет низкую эффективность. В настоящее время вопрос определения фертильного периода актуален для владельцев сук и практикующих ветеринарных врачей.

ВВЕДЕНИЕ

Успешное оплодотворение и получение достаточного количества потомства в помете зависит от правильного выбора времени для спаривания, а также для осеменения. Особенно важно так как суки занимают промежуточное положение

между моноциклическими и полициклическими животными, предоставляют, как правило, от одного до двух репродуктивных циклов в год. [3,4] Несмотря на существующую взаимосвязь поведенческих, гормональных и физиологических проявлений у сук, также установлены

значительные индивидуальные различия. Сука обычно проявляет сравнительно длинную фолликулиновую фазу во время которой существуют значительные изменения поведения и реакции на кобеля в начале эструса, делая сложным определение начала овуляции у этого вида при использовании одного из методов. Кроме того, у сук, овуляция незрелых ооцитов является причиной для их созревания в дистальных отделах яйцеводов, которое может длиться 96-108 часов [7,10,14], для большинства сук, продолжительность жизни вторичных ооцитов составляет 24-48ч [13]. Эти особенности репродуктивной физиологии могут объяснить, почему основной причиной бесплодия у сук является неправильная организация разведения [12,15]. Следовательно, тщательное планирование времени вязки по определению овуляции является ключевым шагом в организации вязок и искусственного осеменения собак.

В настоящее время существуют различные методики для определения фертильного периода.

Вагинальная цитология

Определение ороговения клеток влагалища на цитологических образцах наиболее широко используемый метод. Данная оценка должна выполняться в определенной последовательности с интервалами в 2-3 дня у большинства сук, а у сук с короткой течкой ежедневно. Метод основан на существовании теснейшей связи между функциональными изменениями в яйчниках и слизистой оболочке матки и влагалища. Этот метод не только позволяет определить стадию полового цикла, но служит источником дополнительной информации о характере его течения: о длительности его периодов, степени готовности суки к вязке, наличии гормональных отклонений или активных воспалительных процессов, отсутствии или задержки феномена овуляции и др.

Для получения образца используют ватный тампон, предпочтительно небольшой, который вводят в преддверие и нижнюю часть влагалища и берут экссудат. Полученные клетки помещают на пред-

метное стекло микроскопа, а затем окрашивают различными методами: Шорра, метиленовым синим, Diff-Quick и другими.

При исследовании влагалищной цитологии, обращают внимание на клетки эпителия влагалища, которые изменяют свою форму в ответ на насыщение эстрогеном, и переходят от мелких круглых клеток с четко видимой цитоплазмой в неэстрогенных стадиях, в более крупные, роговые, угловатой формы-клетки с малым пикнотическим ядром, почти на грани исчезновения.

Оптимальное время для естественной вязки или искусственного осеменения это стадия эструса, когда процент поверхностных и клеток плоского эпителия в вагинальных мазках свыше 80%. [2,11,15] У некоторых особей ороговение не превышает 60%. [1] Вязку или искусственное осеменение следует проводить за 2 или 3 дня до наступления стадии диэструса, которая распознается появлением парабазальных клеток, нейтрофилов и снижением количества поверхностных и роговых клеток как минимум на 20% [2,3,6]. Оплодотворение оценивают свыше 95% после однократного спаривания если вязка произошла за 3-10 дня до начала цитологического диэструса [3,13].

Данная методика не позволяет заранее спрогнозировать время наступления овуляции.

Определение концентрации прогестерона в крови

Определение концентрации прогестерона в крови одна из распространенных методик. Наиболее быстрый и доступный способ - при помощи полуколичественных иммуноферментных анализов (ELISA). Они дают концентрацию прогестерона согласно колориметрической шкале для значений, соответствующих: низкому уровню прогестерона (0-1 нг/мл), промежуточному уровню, соответствующему выбросу лютеинизирующего гормона (примерно 1-2.5 нг/мл), периоду овуляции (2.5 – 8 нг/мл) и высокому уровням прогестерона (более 8 или 10, в зависимости от комплекта).

Недавнее исследование показало, что у собак, полуколичественные методы определения прогестерона менее точны, чем количественные методы, в частности на средних плазменных концентраций прогестерона [19]. По данным Мохон R исследования, полуколичественный анализ оценивался более высокой концентрацией прогестерона, чем РИА (радиоиммунный анализ), что дает основания предположить, что период оплодотворения начался раньше, чем это было на самом деле.

Корреляция между двумя методами составляла от 9-47,1%. Наибольшая неточность приходится на значениях от 1,5-3,0 нг/мл до 5,0-10,0 нг/мл (4,7-9,3 до 15,5-31,0 нмоль/л), то есть ту концентрацию, которая важна для вязки. Набор ELISA на верхних пределах более точный (87,3-96,0%). [9,15] Так же возможны расхождения между радиоиммунным и иммуноферментными методами определения концентрации гормона в крови. Следует учитывать, что иммуноферментный метод дает завышенные результаты. [3]

Вязку или искусственное осеменение рекомендовано планировать на 5 день после того, как концентрация прогестерона превысит 2нг/мл (6,5 нмоль/л) или через день после превышения 8-10 нг/мл (25-32нмоль/л). [1]

УЗИ яичников

Ультразвуковое исследование яичников представляет собой надежный и точный метод определения овуляции у большинства самок домашних животных. Однако, накопление жира в яичниковой бурсе сук, может усложнить оценку. Кроме того, несколько исследований продемонстрировали, что УЗ изображения яичников во время овуляции сложны для анализа, в силу того, что фолликулы мало чем отличаются в пред - и пост-овуляторном периоде [9], так как не у всех собак фолликулы разрушаются при овуляции, а также потому, что неовулирующие фолликулы часто остаются в яичнике [5].

Следовательно, оценка фолликулярной динамики с помощью ультразвукового исследования у собак все еще является

экспериментальной, и должна проводиться по специальному протоколу, точность которого увеличивается при приведении частых осмотров.

В недавнем исследовании, А.Фонбон [10]сообщил, что УЗИ было наиболее эффективным методом определения наступления овуляции, а полученные даже однократно промеры соответствовали макроскопическим изменениям яичниковых структур, визуализированных при целеотомии.

Однако, этот автор считает, что наступление овуляции трудно визуализировать у крупных пород и при избыточной массе тела животного.

Преовуляторный фолликул может иметь различные конфигурации на УЗИ. Обычно они выглядят как круглые или слегка треугольной формы анэхогенные структуры, иногда слегка сплюснутый, давая ячеистый вид яичника. При овуляции, разной степени фолликулярный распад можно визуализировать на ультразвуковом изображениях, и, как правило, четкое изменение эхогенности яичников будет обнаружено у большинства сук, давая яичнику более однородный вид.

После овуляции возможно рассмотреть неовулирующие фолликулярные структуры. Кроме того, в течении 24 часов после овуляции на яичнике визуализируются гипозхогенные структуры. Эти конструкции могут быть очень похожи на преовуляторный фолликул, хотя немного меньше, и стремящиеся к увеличению эхогенности (от границы до внутренней структуры) со временем[10,11].

Влагалищная эндоскопия

Одним из новых методов определения фертильного периода является влагалищная эндоскопия. Данная методика не дает точного расчета времени наступления овуляции и требует дорогостоящего оборудования и подготовки специалиста. Тем не менее, вагиноскопия позволяет оценить состояние репродуктивных органов и диагностировать возможные патологии, нарушающие работу репродуктивной системы.

Колебания концентрации эстрогена и прогестерона в крови на последователь-

ных стадиях эстрального цикла сук приводит к конкретным морфологическим изменениям слизистой влагалища. Анализ этих изменений позволяет точно определить стадию эстрального цикла и определить оптимальное время для осеменения [12].

Вагиноскопическое исследование осуществляется с помощью жесткого эндоскопа 3-4 мм в диаметре, с диагностической оболочкой, и длиной 30-33 см или больше. Обследование должно проводиться на стоячем животном. Обычно нет необходимости в применении седативных средств. Кончик эндоскопа вводится под углом 45-60° кранио-дорсально. Когда кончик оптики достигает влагалища, он должен быть размещен на горизонтальную ось.

Во время проэструса увеличение концентрации эстрогена приводит к отеку слизистой оболочки влагалища. Вагиноскопия выявляет округлые складки во влагалище. Слизистая оболочка складок набухшая, розового цвета и с гладкой поверхностью. Кровянистые выделения также видны во влагалище. Когда эндоскоп продвигают краниально визуализируется сужение просвета влагалища. В последние дни проэструса и в начале эструса, отмечается снижение уровня концентрации эстрогенов и увеличение прогестерона. Это приводит к разглаживанию влагалищных складок. Ранее разбухшая и гладкая, слизистая, становится сморщенной и иссохшей. Влагалищные складки становятся меньше. Максимальная интенсивность сокращения влагалища наблюдается между 3 и 7-8 днями эстрального цикла. В это время происходит потеря жидкости из тканей влагалища, слизистой и подслизистой оболочек большая и форма складок влагалища становится угловатая с острыми углами в верхней части складок. В результате, просвет влагалища становится шире по сравнению с проэструсом.

Во время диэструса складки влагалища становятся плоскими и круглыми. Слизистая оболочка утончается и краснеет, в местах соприкосновения с кончиком

эндоскопа могут визуализироваться мелкие точечные кровоизлияния.

К основным недостаткам этого метода относят следующие моменты:

- иногда трудно сфокусироваться на стенке влагалища до тех пор, пока данный канал раздут воздухом или водой;
- нижняя граница дорсально-срединной складки может быть ошибочно принята за шейку матки;
- верхняя часть влагалища очень узкая, особенно если сука не находится в состоянии эструса, поэтому ее исследование затруднено;
- во многих случаях наружного отверстия канала шейки матки не видно. [1,3,12]

Детектор течки

Данный метод основан на серийном считывании электрического сопротивления влагалищной слизи во время течки, позволяющем определить фертильный период. Зонд с двумя электродами на конце вводят во влагалище и производят считывание результата. Измерения необходимо проводить не менее 2 раз сутки. Показания прибора, как правило, резко снижаются сразу же после овуляции, сигнализируя о завершении периода импрегнации эстрогенами и быстром обновлении клеток слизистой влагалища. [10] К сожалению, такой диагностический признак слишком запаздывает и, следовательно, с его помощью прогнозировать овуляцию нельзя. Данная методика в настоящее время пользуется успехом за рубежом и набирает популярность в питомниках России.

Исследование цервикального и влагалищного секретов

Для определения дня вязки у сук в домашних условиях в настоящее время многие владельцы сук используют метод оценки кристаллизации слизи из влагалища и шейки матки, открытый еще в 1946 году швейцарским ученым Папаниколу. Ученые Гарм и Skjerven в 1952 изучали кристаллизацию слизи из влагалища и шейки матки коров. В результате исследований было установлено, что кристаллы в форме ветвей образовывались во

время течки и исчезали во время лютеиновой фазы цикла. Зондек и Купер отметили, что кристаллизуется не только слизь шейки матки, но и все слизистые секреты и большинство жидкостей тела, в том числе слюна. Обнаружилось, что кристаллы представляют собой обычную соль, а их форма зависела от наличия муцина. Чувствительность и специфичность теста с кристаллизацией влажной слизи в научной литературе указывается как 53 так и 72%. [1,18]

Этот метод, состоит в том, что анализируя под микроскопом изменение характера кристаллизации высохшей слюны (или шеечной слизи) можно с высокой степенью достоверности судить о наступлении плодного или бесплодного периода и, соответственно, повысить вероятность беременности.

Забор пробы. Вагинальный секрет лучше всего забирать пипеткой или катетером. Также можно воспользоваться обычным ватным тампоном. Каплю экссудата помещают на предметное стекло и держат его вертикально, чтобы капля стекла вниз. Исследование не начинают до тех пор, пока препарат полностью не просохнет. Исследование проводят при 40-кратном увеличении с пониженным конденсором.

Интерпретация кристаллизации слизи. Кристаллизованный образец может быть пяти категорий – от наименьшей кристаллизации (с короткими стеблями и нерегулярным звездообразными образованиями) до рельефной (с длинными стеблями и отчетливыми жилками и поджилками). По охвату поверхности образца тоже выделяется пять категорий – от наименьшего (менее 1% поверхности) до наибольшего (свыше 20%). Для подсчета коэффициента кристаллизации нужно сложить две цифры (категория образца плюс категория поверхности, сумма должна составлять от 0 до 10). Кристаллизация наиболее интенсивна и охватывает наибольшую поверхность образца, если мазок был взят после подлинного пика ороговения эпителиальных клеток; таким образом, она помогает отличить фальшивый

пик ороговения от подлинного. У некоторых сук не всегда бывает пик ороговения, даже при коэффициенте кристаллизации равном 10. Промывание влажной слизистой причиной ошибочных результатов, так как мазок разбавлен водой. Однако этот метод позволяет наблюдать кристаллизацию в пробах, взятых во время метэструса. [1,6,18]

Кристаллизация слюны

Для получения достоверных результатов необходимо выполнять следующие правила: слюна не должна содержать примесей пищи или воды, поэтому слюну лучше брать до еды или через полчаса после питья.

Слюну необходимо отбирать пипеткой в уголке рта – между губой и нижней челюстью, затем нанести секрет на предметное стекло. Для лучшего выделения слюны можно показывать собаке что-нибудь вкусное. Для более точной диагностики необходимо брать сразу несколько контрольных образцов слюны.

Если на стекле будет много пузырьков, то их необходимо убрать, наклоняя стекло со слюной в одну сторону и сдвигая пузырьки с поверхности плоской стороной иголки в другую сторону. Отобранная слюна на стеклышке должна высохнуть естественным образом. Нельзя класть стекло на батарею или под лампу, запрещено обдувать феном. Высыхает она приблизительно за 30-40 минут. Этот метод в медицине получил название «арборизация» (от латинского «arbor» – дерево). С появлением, изобретенного украинскими учеными, тест-микроскопа АРБОР, метод арборизации стал доступен в домашних условиях.

Высохшую слюну рассматривают при помощи микроскопа или аппарата «Арбор». По мере увеличения эстрогена в организме увеличивается и количество кристаллов в слюне, причем, в дни овуляции кристаллы приобретают форму, напоминающую папоротник. [1,6,18]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время существует много методов определения оптимального времени осеменения у собак, каждый из ко-

торых не позволяет прогнозировать время наступления овуляции и не дает 100% гарантии получения беременности. Проблема совершенствования метода определения время вязки актуальна на сегодняшний день.

METHODS FOR DETERMINING THE TIMING OF BREEDING IN DOGS.

K.V. Plemyshev - Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, DVM, St. Petersburg, Head of the Department of obstetrics and operative surgery St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, A.I.Plakhova post-graduate student of obstetrics and operative surgery department St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine

ABSTRACT

This review presents various techniques of definitions optimum time of insemination. We have considered the principle of work, pluses and minuses of such methods as vaginal cytology, definition of concentration of progesterone, use the Dog detector ovulation, ultrasonography of ovaries, vaginal endoscopy, a research of cervical and vaginal secrets, saliva crystallization. The vaginal cytology is a fast method of diagnostics with high precision based on studying of the tearing-away cages of a vaginal epithelium and changes of its structure depending on changes in ovaries. The microscope, a wadded tampon, subject glass, a set of dyes is necessary for carrying out a research. Definition of concentration of progesterone in blood is carried out after the first signs of a proestrus each 2-3 days. This method allows to reveal the increase of concentration before an ovulation and to plan the date of insemination. The Dog Detector Ovulation can be used at home, it allows to define the fertile period. Ultrasonography of ovaries allows to define the dog ovulation. In addition, several studies demonstrated that ultrasound images of the ovaries around ovulation are more difficult to analyze, due to the fact that ovarian follicles do not differ much in the immediate pre- and post-ovulatory period. Vaginal endoscopy demands the expensive equipment and fre-

quent usage of sedative medicines. This research estimates the morphological changes in the vaginal mucosa under the influence of estrogen and progesterone and defines a stage of a sexual cycle and optimum time for insemination. The technique of a research of secrets is based on change of the picture when drying during the fertile period. This method is simple in use, but has low efficiency. The definition of dog fertile period is relevant for owners and for practicing veterinarians

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Инглэнд, Г. Акушерство и гинекология собак/ Г. Инглэнд. 2-е изд-е, перераб. И доп./Пер. с англ. О.Суворова. - М.: Аквариум - Принт, 2012. - 320с.
- 2.Летуновская, А.В. Эксфолиативная цитология влагалища. Мазок на овуляцию/ А.В. Летуновская // Тезисы докладов научно - практической ветеринарной конференции 2014г. – С.20.
3. Симпсон, Дж. Руководство по репродукции и неонатологии собак и кошек / Дж.Симпсон, Г.Ингланда, М.Харви, И.Джеффкоут - М.: Софион, 2005. - 280 с., ил.
- 4.Скопичев, В.Г. Физиология репродуктивной системы млекопитающих/ В.Г.Скопичев, И.О. Боголюбова. – СПб: Лань, 2007. - 512 с.:ил.
- 5.Федотов С. В., Борунова С. М. Совершенствование диагностики состояния яичников у сук при различных стадиях полового цикла/ Федотов Сергей Васильевич, БоруноваСендфатимаМировна// Вестник Алтайского государственного аграрного университета 2014. - № 5 (115). - С.130-135. 11.
- 6.Фелдмен, Э. Эндокринология и репродукция собак и кошек / Эдвард Фелдмен, Ричард Нелсон пер. с англ. 3-го изд. д-ра мед. наук В. И. Кандрора [и др.] ; под ред. канд. вет. наук А. В. Ткачева-Кузьмина [и др.]. - М.:Софион, 2008. -1242 с. : ил.
- 7.Concannon P.W. Canine Breeding Management and Artificial Insemination: Techniques and Caveats, Proceedings of the 29th World Congress of WSAVA, Rhodes, Greece, 8-9 Oct. 2004.
- 8.Concannon P.W. Reproductive cycles of the domestic bitch. AnimReprodSci.-2010.Oct8.

9. England G and DW Concannon. Determination of the optimal breeding time in the bitch-basic considerations. In: Recent advances in Small Animal Reproduction IVIS, Ithaca, New York, USA. 2002.
10. Fontbonne A. In vivo ovulation, oocyte maturation and fertilisation in the bitch. Agro Paris Tech, Paris University, France, PhD Thesis. 2008.
11. Fontbonne A & Malandain E. Ovarian ultrasonography and follow-up of estrus in the bitch and queen. WALTHAM Focus .- 2006.-v.16(2).- pp.22-29.
12. Goodman M. Ovulation timing. Concepts and controversies. Vet. Clin. North. Am. (Small Anim. Pract.) 2001.-v.31.-p.219-235.
13. Johnston, S. D., Root-Kustritz, M. V., and Olson, P. N. S. Canine and Feline Theriogenology. W. B. Saunders, Philadelphia, 2001. 592p.
14. Linde-Forsberg C. Fertility data from 2041 controlled artificial inseminations in dogs. Advances in dog, Cat and Exotic Carnivore Reproduction – Book of Abstracts. Oslo, Norway.-2000.p.120
15. Lévy X. & Fontbonne A. Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. Rev Bras Reprod Anim.-2007.-v.31.-p.128-134.
16. Moxon R., Copley D. & England G.C. Technical and financial evaluation of assays for progesterone in canine practice in the UK. Vet Rec.- 2010.-v. 67.-p.528-31.
18. PardoCarmonaB, Кристаллизация люны как способ определения оптимального времени вязки сук / В. PardoCarmona, M.R. Moyano, R. Fernándezpalacios, C.C. Pérez-MarínK// Journal of small animal practice «JSAP»; сентябрь, Т 1, №3 – 2010. – С.31-34.
19. Tsutsui T.L. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs// J.Reprod.Fertil.-1989.-v.39.-p.269-275
20. Tsutsui T, Hori T, Endo S, Hayama A, Kawakami E. Intrauterine transfer of early canine embryos. Theriogenology.-2006.-v.66.- pp.6–7

УДК 619.618.2/.7

УРОВЕНЬ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ И ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИТОМ КОРОВ

Григорьева Т.Е., д-р ветеринар. наук, профессор, Захаровский Г.В., аспирант
ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА, г. Чебоксары, Россия

Ключевые слова: воспроизводительная функция, факторы защиты, коровы, клинически здоровые, больные эндометритом. **Key words:** reproductive function, factors of protection, cow, clinically healthy sick with an endometritis



РЕФЕРАТ. Бесплодие возникает вследствие различных болезней половых органов, которые появляются чаще всего во время родов и в послеродовой период. Новые технологии содержания животных, повышение их продуктивности изменили уровень обмена веществ у животных. Результаты гинекологической диспансеризации 350 коров ряда хозяйств Чувашской Республики свидетельствуют, что наиболее распространенными формами бесплодия являются алиментарное и симптоматическое. Из числа исследованных коров бесплодие регистрировалось у 32-54%, у 12-40% из них отмечались акушерско-гинекологические болезни. При этом задержание последа зарегистрировано у 12-36% коров, эндометриты – 12-34,7%, субинво-