

На правах рукописи

НИКИТИНА МАРГАРИТА АЛЕКСАНДРОВНА

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ОВАРИАЛЬНЫХ
ДИСФУНКЦИЙ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПЛОДОВИТОСТИ У
КОРОВ ПРИ ГИПОФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ**

06.02.06 – ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Саратов 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном общеобразовательном учреждении высшего профессионального образования «Волгоградский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: Кандидат биологических наук, доцент
Кочарян Валентина Даниловна

Официальные оппоненты: **Федотов Сергей Васильевич**
доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.Г. Скрябина» профессор кафедры «Диагностика, терапия, акушерство и репродукция животных»

Племяшов Кирилл Владимирович
доктор ветеринарных наук, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных», доцент

Ведущая организация -

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится «26» июня 2015 года в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу: г. Саратов, ул. Соколова, д.335, учебный комплекс № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» и на сайте sgau.ru

Отзывы направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 410012, г. Саратов, Театральная площадь, 1. E-mail: vetdust@mail.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2015 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Производство молока сельскохозяйственными предприятиями России поддается значительному влиянию тенденций развития мирового сельского хозяйства и мирового рынка. Разработка и совершенствование методов повышения плодовитости молочных коров на основе имеющихся технологий позволяет повысить их плодовитость на 25,0 % - 30,0 %, и равномерно распределить отелы в течение года, довести выход приплода до 80,0 % - 55,0 % телят на 100 коров, а также снизить в 2,5 раза выбраковку лактирующих коров из-за бесплодия и яловости.

Для молочного скотоводства актуальными являются исследования, направленные одновременно как на совершенствование технологии интенсификации воспроизводства маточного стада, которая тесно связана с современной системой заготовки кормов, их хранения, кормления, содержания и эксплуатации молочных коров. Кроме того, в настоящее время большое внимание уделяется исследованиям направленных на совершенствование методов коррекции у лактирующих бесплодных животных воспроизводительной способности биологически активными веществами и гормональными препаратами имеющих короткий период выведения из организма с пищевыми продуктами.

Коррекция воспроизводительной способности у молочного скота гормональными препаратами и биологически активными веществами в условиях практического молочного скотоводства приемлемого эффекта не дает, из-за широкого распространения у лактирующих коров ациклии, анафродизии, бесплодия и яловости.

Степень разработанности темы. Различные функциональные состояния яичников у лактирующих бесплодных коров завезенного из Европейских стран, на территорию России по программе лизинг, занимают в настоящее время ведущее положение в структуре пониженной плодовитости и бесплодия этих животных. Этой проблеме посвящены работы В.М. Ширяева, В.В. Землянкина, Е.А. Горпинченко, С.А. Семиволоса, Н.И. Гавриченко, Е.У. Байтлесова которые, к сожалению, не отражают проблему восстановления плодовитости и эндокринологических механизмов регуляции фолликулогенеза у импортного молочного скота.

Разработка и производство препаратов, для коррекции различных функциональных состояний яичников осуществляются ветеринарными фармацевтическими предприятиями России: ООО «Нита-фарм», ООО «Мосагроген», ООО «Агрофарм» и апробированы в производственных условиях Г.А. Черемисиновым, С.В. Советкиным, А.Г. Неждановым, В.С. Авдеенко. Дальнейшее усовершенствование существующих и разработка новых теоретических и практических подходов к решению проблемы восстановления плодовитости, рациональной интенсификации воспроизводства животных применением высокоэффективных биологически активных препаратов позволит достичь восстановления плодовитости маточного стада.

Цель и задачи. Выявление информативности способов дифференциальной диагностики овариальных дисфункций и обоснование методов восстановления плодовитости у коров при гипофункции яичников, а также оценка эффективности биологически активных и гормональных препаратов при интенсификации воспроизводства молочного скота.

В соответствии с целью исследования в данной работе были определены следующие **задачи**:

- определить причины отсутствия проявления полноценного полового цикла у лактирующих бесплодных коров и определить эффективность эхографии и морфометрии яичников в дифференциальной диагностике овариальных дисфункций;

- выявить состояние морфо - биохимических, гормональных параметров организма и изменения статуса лактирующих бесплодных молочных коров со сниженной функцией плодовитости;

- изучить эффективность применения препаратов «ПК», «ПДЭ» и «Фоллимаг» при гипофункции яичников.

Объект исследования. Лактирующие бесплодные коровы с различными овариальными дисфункциями.

Предмет исследования. Методы восстановления плодовитости при отсутствии проявления полноценного полового цикла лактирующих бесплодных коров и эффективность препаратов «ПК», «ПДЭ» и «Фоллимаг» при гипофункции яичников.

Научная новизна:

- определена степень распространения овариальных дисфункций у лактирующих коров в хозяйствах различных организационно–правовых форм собственности Волгоградской области, которая в 55,11 % случаев сопровождается отсутствием проявления полноценного полового цикла, снижением плодовитости и интенсификации воспроизводства маточного стада коров;

- выявлены информативные показатели овариальных дисфункций по результатам эхографических исследований лактирующих бесплодных коров, а также дана морфометрическая характеристика яичников при ациклии и неполноценных половых циклах;

- показано, что при овариальных дисфункциях (гипофункция, фолликулярная и лютеиновая кисты) в гомеостазе лактирующих бесплодных коров происходит дисбаланс системы гипоталамус – гипофиз - яичники;

- установлено, что применение биологически активного препарата «ПК» у лактирующих бесплодных коров при гипофункции яичников эффективно, что сопровождается повышением их плодовитости и создает условия производства экологически безопасных молочных продуктов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработаны пути восстановления плодовитости у лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла с использованием, УЗИ -, и гистологического исследования, а также выбора рационального метода коррекции фолликулогенеза у коров с нормализацией нейрогуморальной регуляции после применения биологически активного препарата «ПК» при производстве молока для пищевых целей.

В работе получены данные, которые могут быть использованы:

- практикующими ветеринарными специалистами при установлении причин отсутствия проявления полноценного полового цикла у лактирующих бесплодных коров;

- применение биологически активного препарата «ПК», для коррекции фолликулогенеза у лактирующих бесплодных коров при производстве молока;

- в учебном процессе ветеринарных учебных заведений, на курсах

повышения квалификации практикующих ветеринарных врачей, а также при написании учебников, учебных пособий и монографий;

– в научной и исследовательской работе организаций биологического, ветеринарного и медицинского профиля.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные положения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а физиологические, диагностические и экспериментальные исследования проведены на сертифицированном современном оборудовании. Достоверность полученных результатов подтверждена статистической обработкой. Результаты диссертации доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГБОУ ВПО «Волгоградский ГАУ» (Волгоград, 2011–2013), Международной научно-производственной и учебно-методической конференции «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2011); XI Поволжской научно-практической конференции (Саратов, 2012).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ общим объемом 4,85 печатных листов, из которых 4,0 печатных листа принадлежат лично соискателю, 3 из них опубликованы в рецензируемых научных изданиях.

Объем и структура диссертации. Диссертационное исследование изложено на 132 страницах машинописного текста компьютерного набора, состоит из общей характеристики работы, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа содержит 15 таблиц, 18 рисунков. Список литературы включает в себя 191 источник, из них 148 на русском и 43 на иностранных языках.

Методология и методы исследования. Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования. Экспериментальные и клинические исследования выполнены с использованием методики планирования экспериментов путем формирования (по принципу аналогов) подопытных и контрольных групп бесплодного молочного скота при гипофункции яичников. При обработке экспериментальных и клинических данных были использованы методы математической статистики с применением современных технических средств.

Положения, выносимые на защиту:

– пути оптимизации восстановления плодовитости у лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла с использованием современных диагностических технологий, а также выбора рационального метода коррекции фолликулогенеза у коров с нормализацией нейрогуморальной регуляции после применения биологически активных («ПК», «ПДЭ») и гормонального («Фоллимаг») препаратов;

– применение препаратов «ПК», «ПДЭ» и «Фоллимаг» бесплодным лактирующим коровам при гипофункции яичников сопровождается достоверным снижением эстрогенов крови, нормализацией фолликулогенеза и повышением плодовитости.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении описана проблема гипофункционального состояния яичников у лактирующих бесплодных коров, обоснована актуальность темы, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования.

В первой главе представлен анализ литературы и обоснованы выбранные направления исследований. Детально рассмотрены проблема нейрогуморальной регуляции процесса фолликулогенеза у бесплодных коров, эндокринные

механизмы регуляции овариальной функции, инновационные ветеринарные технологии восстановления плодовитости у коров при гипофункции яичников.

Во второй главе отражены методология и методы проведения исследований. Работа выполнена на кафедре «Акушерство и терапия» ФГБОУ ВПО «Волгоградский государственный аграрный университет» в 2009–2014 гг., а также в хозяйствах различных форм собственности Волгоградской области (ОАО «Семеновское» Камышинского района, ООО СП «Донское» Калачевского района, СПК имени «Кирова» Старополтавского района, ООО «Николаевское» Николаевского района).

Для проведения сравнительной оценки различных методов восстановления репродуктивной функции у коров при нарушении функции яичников (по принципу аналогов) были сформированы три подопытные и одна контрольная группы животных. Коровам первой подопытной группы ($n=26$) применяли биологически активный препарат «ПК» в дозе 20 мл подкожно, с трехдневным интервалом. Коровам второй подопытной группы ($n=23$) применяли препарат «ПДЭ» (плацента денатурированная эмульгированная) в дозе 20 мл, который вводили подкожно, с трехдневным интервалом. Коровам третьей подопытной группы ($n=20$) вводили гормональный препарат «Фоллимаг» в дозе 1000 ЕД подкожно, однократно. Коровам четвертой группы ($n=20$) для активизации половой функции препаратов не применяли, поэтому она служила контрольной группой.

Контроль за состоянием репродуктивных органов после применения препаратов осуществляли ректальным методом. Терапевтическую эффективность применяемых методов оценивали по продолжительности лечения, количеству выздоровевших животных, срокам проявления первой половой охоты после выздоровления, оплодотворяемости и продолжительности бесплодия. У лактирующих бесплодных коров оценивали клинические проявления гипофункции яичников, гормональный статус по содержанию в сыворотке крови эстрадиола, прогестерона, ЛГ, ФСГ.

Гематологические исследования осуществляли с помощью ветеринарного автоматического гематологического анализатора крови Абакус Джуниор Pse 90 Vet (Automatic Veterinary, Германия) и биохимического анализатора крови Chem Well combi Models 2902 and 2910 (USA, Florida). Для гистологического исследования кусочки яичников фиксировали в растворе 10,0%-го нейтрального формалина в соотношении 1:9, после соответствующей обработки заливали в парафин и окрашивали гематоксилином и эозином. Для гормонального скрининга состояния коров с гипофункцией яичников использовали набор реагентов для иммуноферментного определения ЛГ, ФСГ, прогестерона, эстрадиола, тестостерона (Алкор Био, РФ, Санкт-Петербург). Забор крови осуществляли из вены утром до и после курсового лечения. Ультразвуковое исследование осуществляли на аппарате DRAMINSKIi Scan Стандарт, Польша.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0».

В третьей главе представлены результаты собственных исследований в которой рассматриваются вопросы **Частота распространения и механизм возникновения овариальных дисфункций у бесплодных коров**. С 2010 по 2013 гг. исследованию было подвергнуто 1239 лактирующих бесплодных коров с отсутствием проявления полноценного полового цикла. Различное функциональное

состояние яичников выявлено у 523 лактирующих бесплодных коров и 126 телок случного возраста при ациклии и проявления неполноценных половых циклов.

Анализ полученных материалов и их биометрическая обработка свидетельствует о том, что коэффициент снижения плодовитости у импортного скота в обследованных хозяйствах различных организационно-правовых форм собственности Волгоградской области составила 40,74 % популяции этих животных. Если в 2010 г. ациклия и проявление неполноценных половых циклов была выявлена только у 36,22 % лактирующих бесплодных коров, в 2011 г. – у 39,37 %, в 2012 г. – у 43,3 %, то в 2013 г. – у 44,09 %.

Таким образом, инцидентность снижения плодовитости в зависимости от дисфункционального состояния яичников составила 29,7 % и за три последних года увеличилась в 1,22 раза. В среднем гипофункцию яичников регистрировали у $55,11 \pm 2,29$ % лактирующих бесплодных коров. У 11,36 % бесплодных коров с ациклией выявляли одиночные и множественные фолликулярные кисты, а лютеиновые кисты яичников от общего числа обследованных животных с ациклией не превышали 5,25 процентов.

В разделе **Эхографические данные исследования яичников у лактирующих бесплодных коров при овариальных дисфункциях** представлены исследованиями лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла. В результате было выявлено различное функциональное состояние яичников, фолликулярные кисты. В 72,73 % случаев регистрировали одиночные и в 27,27 % случаев множественные фолликулярные кисты.

При ректальной пальпации одиночные фолликулярные кисты яичников представляли собой тонкостенные образования флюктуирующей консистенции, имеющие диаметр на поверхности яичника от 1,5 до 3,0 см.

На эхограммах одиночные фолликулярные кисты были овально-округлой формы, тонкостенные, с достаточно однородным аэхогенным содержимым. Множественные фолликулярные кисты имели всегда овальную или даже неправильную форму, значительно меньший диаметр по сравнению с одиночными. Во всех случаях регистрировали фолликулярные кисты только в одном из яичников. Кроме того, при эхографическом обследовании наблюдали зоны усиления эхосигнала в области различных участков кист без специфической их локализации.

При ректальной пальпации яичники лактирующих бесплодных коров лютеиновые кисты были увеличены, отмечали упругую консистенцию в области центральной части яичников. На эхограммах яичников лактирующих бесплодных коров при ациклии лютеиновые кисты идентифицировались как полости с жидкостью округлой формы. Диаметр их колебался от 18 до 31 мм, составляя в среднем $20,67 \pm 5,62$ мм. В кистах желтого тела отчетливо наблюдали слой эхопозитивной ткани толщиной 3–7 мм. Ультразвуковое сканирование позволяет видеть в режиме реального времени полость в области выступающей части желтого тела на поверхности яичника. При гипофункции яичников у лактирующих бесплодных коров при ректальном исследовании, которое проводили двукратно с интервалом в 10–12 дней, яичники у большинства коров были небольших размеров, упруго-плотной консистенции. На поверхности яичников отсутствовали желтые тела и фолликулы.

Исследование данного функционального состояния яичников клиническими методами не вызывала затруднений. При эхографическом исследовании яичников лактирующих бесплодных коров нами установлено, что яичники при данном функциональном состоянии не представляли собой однородного экзогенного образования и не несут информативный материал.

В разделе **Изменение гематологических параметров у лактирующих бесплодных коров при овариальных дисфункциях и выявление информативных маркеров** представлены результаты исследования крови лактирующих коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла. Лейкограмма крови лактирующих бесплодных коров при гипофункции яичников не претерпевает существенных статистически достоверных отклонений. Как в случае гипофункции яичников, так и при фолликулярной и лютеиновой кистах по данным показателям не выявляли каких-либо особенностей лейкограммы, кроме показателей эозинофилов и моноцитов, которые были статистически достоверны к показателям крови у коров при гипофункции яичников. Количество эозинофилов увеличивается в 1,73 раза при фолликулярных кистах ($p < 0,01$) в сравнении с показателями эозинофилов при гипофункции яичников, в то время как содержание эозинофилов у коров с лютеиновой кистой ($p < 0,05$) в сравнении с показателями при гипофункции составило 1,45 раза. Содержание моноцитов возрастает в 1,66 и 1,55 раза соответственно.

Анализ полученных эритроцитограмм у лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла свидетельствует о том, что данные изменения отмечались при исследовании СОЭ, которая снижалась при фолликулярной кисте в 1,26 раза, а при лютеиновой кисте яичников в 1,25 раза при ($p < 0,05$) достоверной статистической разницы сравниваемых показателей. Количество эритроцитов снижалось в 1,15 раза у лактирующих бесплодных коров при лютеиновой кисте яичников, в то время как при фолликулярной кисте в 1,14 раза.

Насыщенность крови гемоглобином снижалась соответственно на 5,5 % ($p > 0,05$) при лютеиновой кисте и 8,6 % ($p > 0,01$) при фолликулярной кисте, в сравнении с гипофункцией яичников.

Содержание тромбоцитов у лактирующих бесплодных коров при ациклии вызванной лютеиновой кистой яичников снижалось на 17,79 %, а при фолликулярной кисте – на 36,14 % со значительным разбросом показателей в каждой исследованной группе, поэтому биометрическая обработка данных не выявила статистически достоверной разницы

Таким образом, исследования морфологического состава крови лактирующих бесплодных коров при овариальных дисфункциях: гипофункция яичников, лютеиновая киста, фолликулярная киста не позволяют в полной мере оценить функциональное состояние яичников.

Сравнительный анализ полученных данных показал снижение содержания альбуминовой фракции в крови лактирующих бесплодных коров с ациклией, вызванной кистами яичников. Так, при лютеиновой кисте в сравнении с гипофункцией яичников в 1,34 раза, а при фолликулярной кисте в 1,99 раза ниже при статистически достоверной разнице. Полученные данные свидетельствуют об ослаблении компенсаторных защитных сил организма, затратами запасных белков, вызванных лактацией и завершением инволюционных процессов в половых

органах.

Содержание глюкозы связано с падением глюколитической функции печени у лактирующих бесплодных коров с ациклией, вызванной лютеиновой кистой яичников в 1,27 и 1,86 раза при фолликулярной кисте в сравнении с показателями глюкозы у коров с ациклией при гипофункции яичников.

Уровень холестерина лактирующих бесплодных коров с ациклией при фолликулярной кисте оказался выше по сравнению с гипофункцией яичников на 53,78 %, а при лютеиновой кисте на 41,21 %. (таблица 1).

Таблица 1 – Биохимические показатели крови лактирующих бесплодных коров с овариальными дисфункциями.

Показатели	Гипофункция яичников	Лютеиновая киста	Фолликулярная киста
Альбумины, г/л	30,4±20,9	22,7±3,23*	15,3±2,27**
Глюкоза, ммоль/л	5,2±0,05	4,1±0,06*	2,8±0,09**
Холестерин, ммоль/л	3,13±0,23	4,42±0,14*	5,82±0,8*
Мочевина, ммоль/л	2,5±0,04	3,9±0,05*	4,7±0,06**
Креатинин, мкмоль/л	88,23±1,27	119,61±8,16**	131,1±1,06**
АлАТ, Ед/л	71,6±10,9	47,8±11,3	39,7±12,9*
АсАТ, Ед/л	93,96±11,2	95,9±10,4	93,5±12,2
ЛДГ, Ед/л	165,4±19,67	82,3±14,17*	88,3±12,74*

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (здесь и далее).

Содержание креатинина в сыворотке крови лактирующих бесплодных с ациклией коров составляло 88,23±1,27 мкмоль/л. При лютеиновой кисте яичников данный показатель оказался в 1,36 раза, а при фолликулярной кисте – в 1,49 раза выше. Отмечали увеличение креатинина у лактирующих бесплодных коров с ациклией, вызванной гипофункцией яичников в сравнении с клинически здоровыми животными, у которых регистрировали проявление полноценного полового цикла. Последовательность не проявления феноменов полноценного полового цикла и соответствующие изменения биохимических показателей крови у лактирующих бесплодных коров свидетельствует о преобладании на начальных этапах аллергического компонента. Содержание мочевины повышалось до 4,7±0,06 ммоль/л у бесплодных коров с ациклией, вызванной фолликулярными кистами яичников и до 3,9±0,05 с лютеиновыми кистами.

В результате при фолликулярной кисте развивался ситуация, обусловленная сенсбилизацией организма антигеном кистозного фолликула. Гипофункция яичников связана с развитием иммунокомплексного повреждения тканей, в первую очередь гормоностероидозависимых.

Были выявлены несущественные изменения по следующим показателям: щелочная фосфатаза – только у 1 животного (14,28 %). Существенные изменения наблюдали при исследовании концентрации ферментов аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Практически у всех животных с ациклией и проявлением неполноценного полового цикла (85,71 %) эти показатели были повышены в сравнении с клинически здоровыми коровами, у которых наблюдали полноценные половые циклы. АсАТ и АлАТ необходимо рассматривать совместно, так как они отвечают за функциональное состояние печени.

Таким образом, у лактирующих бесплодных коров с ациклией и проявлением неполноценного полового цикла отмечается переизбыток креатинина, холестерина, мочевины (при лютеиновой и фолликулярной кистах), снижения глюкозы (при фолликулярной кисте), АлАТ и ЛДГ, способствующий либорилизации функции эозинофилов; в результате развивается симптом, обусловленный сенсбилизацией организма и антигеном измененных яичников.

Изменение концентрации эстрадиола, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов оказывало влияние на процесс фолликулогенеза и развитие овариальных дисфункций у лактирующих бесплодных коров (таблица 2).

Таблица 2 – Изменения уровня гормонов в крови лактирующих бесплодных коров с овариальными дисфункциями.

Показатель	Гипофункция яичников	Лютеиновая киста	Фолликулярная киста
ФСГ, мЕд/мл	9,6±1,3	14,8±1,2	15,4±1,9
ЛГ, мЕд/мл	11,6±1,2	14,3±1,2	12,8±1,7
Прогестерон, нмоль/л	1,6±2,7	6,9±3,1*	1,9±2,4*
Эстрадиол, пмоль/л	135,5±23,4	278,9±34,7**	650,7±27,8*

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (здесь и далее).

По мере созревания фолликулов выработка ими эстрогенов повышалась, а при недостатке ФСГ фолликулы не достигали конечной фазы развития и эстрогены блокировали выработку ФСГ. В связи с этим гипоэстрогемия являлась причиной гипофункции яичников. Сравнительный анализ содержания гормонов в крови лактирующих бесплодных коров с ациклией, вызванной гипофункцией яичников, показал, что у животных с гиперпластическими процессами эндометрия содержание эстрадиола было выше на 34,5 %, ЛГ – на 25,5 %, а содержание прогестерона было снижено на 25,1 %.

Следует обратить внимание на тот факт, что эти изменения имеют место только в сравнении с данными группы без патологии эндометрия.

В разделе **Морфометрические изменения в яичниках у лактирующих бесплодных коров при овариальных дисфункциях** представлены результаты исследования яичников.

Так яичники при гипофункции имели форму фасоли, гладкую поверхность, лишённую фолликулов и желтых тел. При этом длина яичников в среднем составляла $3,1 \pm 0,13$ см, а ширина $1,5 \pm 0,09$ см. Толщина яичников придавала бобовидную плоскую форму, плотную и однородную консистенцию. Проведенный анализ гистопрепаратов показал, что корковый слой яичников представлен однослойным плоским эпителием их ядра и цитоплазма размытая и не прозрачная. В поле зрения гистопрепарата видны разрыхления связи между клетками покровного эпителия, при этом наблюдается десквамация отдельных клеток, в которых наблюдается вакуольная и зернистая дистрофия. В поле зрения гистопрепарата просматриваются дистрофические изменения в корковом слое яичника, характеризующиеся скоплением в центральной части зернистой массы, не содержащих клеточных элементов, отсутствуют фолликулы и желтые тела. В корковом веществе яичника отмечали гипоплазию соединительнотканых элементов. Фолликулы подвергнуты атрезии по облитерационному типу (67,64 %).

Установлено, что облитерационная атрезия происходила преимущественно в фолликулах мелких и средних размеров.

Следовательно, анализ гистопрепаратов и их морфологические исследования свидетельствуют о том, что при гипофункции яичников у бесплодных коров с ациклией отмечается уменьшение общего количества фолликулов в яичниках с ясно выраженными в них дистрофическими изменениями и массовой атрезией. В связи с выявленными нами морфометрическими изменениями в яичниках у коров с ациклией достаточно затруднительно в организме самок сформировать необходимый гормональный фон для активации функции яичников и проявления полноценной стадии возбуждения полового цикла.

При лютеиновых кистах яичники имели эллипсоидную форму с мелкобугристой поверхностью, различного размера. В лютеиновых клетках отмечены кистозные изменения. Лютеоциты подвергнуты десквамации и жировой дистрофии, кровеносные сосуды сужены и запустевшие. В срезе некоторых гистопрепаратов яичников присутствуют мелкие желтые тела предыдущего полового цикла, которые возвышались над поверхностью яичников на 0,1 – 0,3 см и придавали им на этих участках не только бугристую поверхность, но и плотную консистенцию. На гистопрепарате с фолликулярной кистой наблюдается атрезия по облитерационному типу, которая характеризуется дистрофическим разрыхлением гранулезы с четко выраженной десквамацией фолликулярных клеток, заполняющих полость кистозного фолликула с последующим образованием фиброзного атретического тела. Между внутренней текой и гранулезой появляются щелевидные образования с процессами разрыхления и десквамации фолликулярных клеток, что характерно для кистозной атрезии. Кроме того, в поле зрения гистопрепарата устанавливали кистозные изменения фолликулов в корне отличные от облитерационной атрезии. В фолликулах атрезия происходила как по кистозному, так и по облитерационному типам.

В разделе **Разработка биологически активного плацентарного препарата (ПК) и его фармако-токсикологическая характеристика** рассматриваются вопросы приготовления препаративной формы биологически активного препарата из пупочного канатика. Сырьем для изготовления препарата служили пуповинная кровь, вартанов студень, амниотическая жидкость, взятая из матки коров 4-месячной стельности в условиях скотобойни. На предварительном этапе исследования токсичность препарата определяли путем изучения его местно раздражающего действия. Опыты проводили на кроликах (4 головы) 4-месячного возраста массой $2,25 \pm 0,25$ кг. Исследования показали, что биологически активный плацентарный препарат лишен местного раздражающего действия.

Острую токсичность определяли на белых крысах линии Вистар. При этом учитывали следующие показатели: внешний вид и поведение животных, отношение к корму, а также клинические показатели (температуру тела, частоту сердечных сокращений и дыхательных движений, величину зрачка). За время наблюдения изменений перечисленных выше тестов не обнаружили. Животные опытной группы ничем не отличались от таковых контрольной, все были живы на протяжении срока опыта.

Хроническую токсичность определяли на лабораторных и продуктивных животных, подобранных по принципу аналогов. Плацентарный препарат в ходе хронического опыта вводили с интервалом в одни сутки (доза – 1/3 дозы, испытанной в остром опыте), наблюдения вели в течение 21 дня. Плацентарный

препарат является практически безвредным. В испытанных дозах он не оказывает влияния на поведение животных, центральную нервную, сердечно-сосудистую, дыхательную, пищеварительную системы. Кроме того, препарат не изменяет гематологических и биохимических показателей у животных в ходе хронического опыта. Изучение аллергенности плацентарного препарата проводили на кроликах, используя метод эпикутанных аппликаций – на выстриженные участки кожи размером 2×3 см. На основании полученных данных можно сделать вывод, что испытываемый препарат не оказывает разрушающего действия на эпидермис кожи и не обладает аллергенными свойствами. Сенсибилизирующее действие препарата, полученного из пупочного канатика, определяли в течение 11 дней на равнозначный участок кожи, расположенного симметрично на другой поверхности туловища животного. При этом не обнаружили каких-либо изменений как в поведении животного, так и в проявлении местных реакций. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что плацентарный препарат не обладает раздражающим, сенсибилизирующим свойствами и аллергизирующим действием. Оценку мутагенного действия плацентарного препарата проводили на мышцах-самцах методом учета аномальных головок спермиев (АГС). При этом не отмечали увеличения частоты аномальных головок спермиев у мышцей опытной группы по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об отсутствии мутагенной активности препаративной формы препарата.

Оценку эмбриотоксической и тератогенной активности плацентарного препарата проводили на половозрелых крысах-самках. Началом беременности считали день обнаружения спермиев во влагалищном мазке. После лапаротомии, проведенной на 20 день беременности, подсчитывали количество желтых тел, живых и мертвых эмбрионов. Всего было поставлено 2 серии опытов на 110 крысах. В 1-й – изучали токсичность препарата, полученного из пупочного канатика для эмбрионов крыс. Для этой цели испытываемый препарат, полученный из пупочного канатика, вводили внутривенно в дозе 0,05 мл/кг, т.е. 1/20 дозы, на 11 день беременности. Во 2-й серии опыта испытываемый препарат, полученный из пупочного канатика, вводили однократно в дозе 0,5 мл/кг на 14-й день беременности. Из полученных данных следует, что плацентарный препарат не обладает эмбриотоксическим действием.

В разделе Эффективность применения препаратов «ПК», «ПДЭ» и «Фоллимаг» у лактирующих бесплодных коров при гипофункции яичников для восстановления плодовитости представлены экспериментальные данные коррекции овариальных дисфункций у молочного скота. Ультразвуковое исследование половых органов лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла через две недели от начала применения препаратов показало существенное статистически достоверное восстановление эхограмм матки, яичников и толщины эндометрия. Следует отметить, что применение препарата «ПК» оказывает на коррекцию состояний срединного маточного эха, объема яичников и толщины эндометрия более «мягкое» постепенное воздействие, чем применяемые аналогичные препараты «ПДЭ» и «Фоллимаг». Отмечали снижение срединного маточного эха, объема яичников и толщины эндометрия во второй опытной группе (коровам применяли препарат «ПДЭ»). Данное снижение относительно исходных значений проходило в большей мере, чем в третьей опытной группе (коровам применяли препарат «Фоллимаг»). Так, объем яичников во второй опытной группе по сравнению с третьей группой

животных после введения препаратов был меньше на 14,6 %; толщина эндометрия во все сроки наблюдения имела также меньшие значения – на 66,7 и 55,4 % соответственно применяемым препаратам.

Следовательно, применение препаратов «ПК» и «ПДЭ» по сравнению с препаратом «Фоллимаг» сопровождалось большей выраженностью сокращения срединного маточного эха, объема яичников и регрессии разросшегося эндометрия. Критерием эффективности восстановления плодovitости животных с гипофункцией яичников служило восстановление регулярности полового цикла. Наблюдения показали, что через две недели от начала применения препаратов полное восстановление половой цикличности, осеменение которых сопровождалось у 84,62 % животных беременностью. Через три недели от начала применения препаратов у 7,61 % коров отмечали клиническое, а у 15,38 % морфологическое рецидивирование ациклии. Контроль над применением биологически активных препаратов осуществляли исследованием в крови биохимического и гормонального статуса. Динамика содержания биохимических показателей в крови лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла, отражена в таблице 3.

Таблица 3 – Биохимические показатели крови лактирующих бесплодных коров при гипофункции яичников после применения биологически активных препаратов

Показатели	«ПК» (n = 26)		«ПДЭ» (n = 23)		«Фоллимаг» (n = 20)	
	До	После	До	После	До	После
Общий белок, г/л	85,5±2,3	85,6±3,4	82,4±4,4	83,4±3,9	82,7±2,4	85,4±2,0
Глюкоза, ммоль/л	2,65±0,1	3,02±0,1	3,09±0,1	3,00±0,1	2,69±0,1	3,01±0,3
Альбумины, %	40,2±1,5	33,1±1,1	42,5±2,3	40,2±5,6	40,5±1,3	38,2±2,6
α- глобулины, %	13,0±0,3	15,2±1,7	10,9±0,5	9,7±3,4	12,9±0,2	10,7±2,4
β- глобулины, %	16,2±0,7	18,2±2,2	15,9±0,8	17,4±2,2	16,9±0,3	18,4±1,2
γ- глобулины, %	29,2±1,7	36,0±1,1	27,7±1,8	22,7±3,9	28,7±1,5	32,7±2,4
Бактерицидная активность, %	48,2±1,1	92,8±3,9	36,9±4,7	84,0±5,0	46,8±2,3	74,0±3,0
Процент фагоцитоза	92,9±0,3	98,5±1,2	93,7±0,2	88,0±1,5	90,2±0,2	94,0±0,1

Результаты исследований крови лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла до и после применения биологически активных препаратов для восстановления половой цикличности свидетельствуют о достаточно высокой биологической активности применяемых препаратов у коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла.

Гормональные показатели крови лактирующих бесплодных коров с гипофункцией яичников при применении препарата «ПК» представлены в данных таблицы 4.

Таблица 4 – Динамика содержания гормонов в крови лактирующих бесплодных импортных коров при гипофункции яичников после применения препарата «ПК»

Показатель	До применения препарата	Через три дня от начала приема препарата
ЛГ, мЕд/мл	6,22±0,33	10,45±0,02*

ФСГ, мЕд/мл	8,46±0,23	21,06±0,03*
Эстрадиол, пмоль/л	139,1±1,8	228,1±2,0*
Прогестерон, нмоль/л	1,1±1,0	5,2±1,8

Исследования гормонального статуса лактирующих бесплодных коров при отсутствии проявления полноценного полового цикла через три дня от начала применения препарата «ПК» показали, что содержание гонадотропных гормонов повысилось: ЛГ в 1,68 раза ($p<0,05$), ФСГ – в 2,49 раза ($p<0,05$). Уровень эстрадиола повысился в 1,64 раза ($p<0,05$).

После применения препаратов феномены стадии возбуждения полового цикла проявились у 70 – 75,0 % подопытных животных. Максимальная ответная реакция после курса инъекций препарата «ПК» выявлена у 75,0 %, что выше на 5,0 %, чем в группе животных, которым применяли препарата «ПДЭ», и на 5,0 % в сравнении с препаратом «Фоллимаг», и на 65,0 % животных по сравнению с группой контроля.

Индекс осеменения у животных при применении препарата «ПК» составил 1,9, а в группах сравнения («ПДЭ» и «Фоллимаг») –2,6 и 2,0. Продолжительность периода бесплодия у лактирующих коров при использовании препарата «ПК» оказалась короче на 4,8 дней по сравнению с животными, которым применяли препарат «ПДЭ».

Результаты исследований, отраженных в таблице 5 позволяют прийти к следующему заключению, что испытуемый препарат обладает выраженным стимулирующим эффектом при гипофункции яичников у коров.

Таблица 5 – Влияние препарата «ПК» на восстановление половой цикличности и ее полноценность в сравнительном аспекте при гипофункции яичников у коров ($n=80$)

Группа животных	Пришло в охоту, %	Индекс осеменения	Количество дней бесплодия
1-я опытная («ПК»)	96,15	1,9±0,25*	86,5±1,30*
2-я опытная («ПДЭ»)	83,33	2,6±0,12*	91,3±1,09*
3-я опытная («Фоллимаг»)	90,00	2,0±0,15*	89,5±2,10*
4-я контрольная (препараты не применялись)	15,00	2,9±0,30	135,2±2,20

Высоко достоверными ($p<0,05$) оказались различия между опытной и контрольной группами как по приходу животных в охоту, так и по индексу осеменения и количеству дней бесплодия.

Анализ полученных данных, свидетельствует о том, что препарат «ПК» восстанавливает плодовитость при ациклическом состоянии яичников у коров с последующим высоким процентом оплодотворяемости после осеменения.

В опытной группе в сравнении с показателем группы контроля восстановление плодовитости оказалась выше в 6,41 раза, оплодотворяемость после первых двух осеменений выше в 1,43 раза, индекс осеменения и количество дней бесплодия ниже соответственно на 1,0±0,05 и 48,7±0,70 при высокой достоверности полученных результатов, $p<0,05$.

Кроме того, препарат «ПК» превосходит аналог по эффективности восстановления половой цикличности в 1,2 раза, оплодотворяемости за соответствующий период на 14,9 % и количеству дней бесплодия на 4,8 дня.

Препарат «ПК» при коррекции функции яичников у коров позволит сократить продолжительность бесплодия в сравнении с препаратом «ПДЭ» на 4,8 дня, что приведет к получению дополнительной продукции на сумму 1465,23 руб.

Затраты на приобретение препарата «ПДЭ» составили 560,00 руб., на искусственное осеменение 350,32 руб.

$$\text{Э} = 1465,23 - 560,00 - 350,32 = 554,91 \text{ руб.}$$

Экономическая эффективность применения препарата «ПК» в сравнении с препаратом «Фоллимаг»: сократится продолжительность бесплодия на 3 дня, дополнительной продукции можно получить на сумму 1098,99 руб. Затраты на приобретение препарата составят 350 руб., а на искусственное осеменение – 225,00 руб.

$$\text{Э} = 1098,99 - 350 - 225,00 = 523,99 \text{ руб.}$$

Следовательно, экономический эффект от применения препарата «ПК», используемого для восстановления плодovitости у лактирующих бесплодных коров в сравнении с препаратом «ПДЭ» составит 554,91 руб., а по сравнению с препаратом «Фоллимаг» - 523,99 руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Инцидентность снижения плодovitости в обследованных хозяйствах различных организационно-правовых форм собственности Волгоградской области составила 29,74 % популяции этих животных. Гипофункция яичников выявлена у 55,11±2,29 % лактирующих бесплодных коров с овариальными дисфункциями. У бесплодных коров с неполноценными половыми циклами установлены в 11,36 % случаев одиночные (72,73 %), и множественные (27,27 %) фолликулярные кисты яичников, а лютеиновые кисты в 5,25 процентов случаев, у остальных 28,28 % животных выявлены другие виды дисфункции яичников.

2. При ректальной пальпации фолликулярные кисты яичников представляют флюктуирующей консистенции тонкостенные полости, диаметр которых составлял от 1,5 до 3,0 см. После повторного исследования животных диагноз не подтвердился у 11,11 % животных. На эхограммах фолликулярные кисты были овально-округлой формы, тонкостенные, с достаточно однородным эхогенным содержимым. Отмечено, что круглая или овальная формы более характерны для одиночных фолликулярных кист. При ректальной пальпации лютеиновых кист отмечали упругую консистенцию в области центральной части яичника. На эхограммах лютеиновые кисты идентифицировались как полости с жидкостью округлой формы. Диаметр их колебался от 18 до 31 мм, составляя в среднем 20,67±5,62 мм. В кистах желтого тела отчетливо наблюдали слой эхопозитивной ткани толщиной 3–7 мм. Эхографическими исследованиями яичников при гипофункции не представляется возможным дифференцировать их состояние. При ректальном исследовании яичники небольших размеров, упруго-плотной консистенции, на поверхности яичников отсутствуют желтые тела и фолликулы.

3. Сравнительный анализ показал информативное снижение содержания альбуминовой фракции в крови лактирующих бесплодных коров с овариальными дисфункциями вызванной гипофункцией и фолликулярными и лютеиновыми кистами яичников. Уровень холестерина при фолликулярной кисте оказался выше по сравнению с гипофункцией яичников на 53,78 %, а при лютеиновой кисте на 41,21 %. Содержание креатинина в сыворотке крови составляло 88,23±1,27

мкмоль/л. При лютеиновой кисте яичников данный показатель оказался в 1,36 раза, а при фолликулярной кисте – в 1,49 раза выше, чем у коров при гипофункции яичников. При лютеиновой кисте концентрация ФСГ в крови составила $14,8 \pm 1,2$ мЕд/мл и в 1,54 раза превышала показатель ФСГ у коров с ациклической при гипофункции яичников. У коров с неполноценным половым циклом при фолликулярной кисте содержание в крови ФСГ превышало этот показатель при гипофункции яичников в 1,6 раза. Содержание эстрадиола в крови при гипофункции яичников снижено на 34,5 %, ЛГ – на 25,5 %.

4. Яичники при гипофункции имели форму фасоли, гладкую поверхность, лишённую фолликулов и желтых тел, длина в среднем составляла $3,1 \pm 0,13$ см, а ширина $1,5 \pm 0,09$ см. Толщина яичников придавала бобовидную плоскую форму, плотную и однородную консистенцию. Корковый слой яичников представлен однослойным плоским эпителием их ядра и цитоплазма размыта и не прозрачна, видны разрыхления связи между клетками покровного эпителия, наблюдается десквамация отдельных клеток, в которых наблюдается вакуольная и зернистая дистрофия. Кисты желтого тела характеризовались кистозными изменениями в лютеиновых клетках, лютеоциты подвергнуты десквамации и жировой дистрофии, кровеносные сосуды сужены и запустевшие. Фолликулярные кисты характеризовались дистрофическим разрыхлением гранулезы с сильно выраженной десквамацией клеток, которые заполняют полость фолликула с последующим образованием фиброзного атретического тела. Между внутренней текой и гранулезой появляются щелевидные образования с процессами разрыхления и десквамации фолликулярных клеток, что характерно для кистозной атрезии.

5. Препарат «ПК», конструируемый по оригинальной прописи (Патент РФ на изобретение №2400241 «Способ получения плацентарного лечебного препарата») безвреден для организма животных не оказывает отрицательного и побочного действий, стимулирует функцию яичников. Его терапевтическая эффективность при гипофункции яичников у лактирующих бесплодных коров равняется 96,15 %, при этом оплодотворяемость после первых двух осеменений составляет 85,7 %, индекс осеменения $1,9 \pm 0,25$; количество дней бесплодия $86,5 \pm 1,30$.

6. Экономический эффект от применения препарата «ПК», используемого для восстановления плодовитости у лактирующих бесплодных коров, в сравнении с препаратом «ПДЭ» составит 554,91 руб., а в сравнении с препаратом «Фоллимаг» - 523,99 руб.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для восстановления плодовитости у лактирующих бесплодных коров при ациклие использовать биологически активный препарат «ПК», созданный по оригинальной прописи (Патент на изобретение №2400241 «Способ получения плацентарного лечебного препарата») в дозе 20 мл подкожно в предлопаточную складку, с трехдневным интервалом.

2. Научные положения и практические рекомендации, вытекающие из материалов диссертационной работы, использовать в учебном процессе по дисциплинам физиологии, фармакологии, клинической диагностике, ветеринарному акушерству и гинекологии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОТРАЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ

**Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах,
рекомендованных Перечнем ВАК Минобрнауки РФ**

1. **Никитина, М.А.** Этиопатогенез, профилактика и лечение гипофункции яичников у коров / В.Д. Кочарян, Г.С. Чижова, М.А. Никитина // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2012. – Вып. 3 (27). – С. 132–136.

2. **Никитина, М. А.** Восстановление плодовитости у коров при гипофункции яичников препаратом «ПК» / В.Д. Кочарян, М.А. Никитина // Вестник Саратовского госагроуниверситета имени Н.И. Вавилова. – 2013. – № 6. – С. 34–36.

3. **Никитина, М.А.** Применение препарата «ПК» у коров при оворальных дисфункциях / В.Д. Кочарян, М.А. Никитина // Известия Горского госагроуниверситета. – 2013. – Т. 53. – № 4. – С. 190–194.

Публикации в журналах, сборниках научных трудов и материалах конференций

4. Никитина, М.А. Стимулирующее действие тканевого препарата при гипофункции яичников у коров / В.Д. Кочарян, Г.С. Чижова, **М.А. Никитина** // Интеграционные процессы в науке, образовании и аграрном производстве – залог успешного развития АПК: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград: Волгоградская ГСХА, 2011. – Т. 2. – С. 194–197.

5. Никитина, М.А. Гипофункция яичников и ее этиологические факторы / В.Д. Кочарян, Г.С. Чижова, **М.А. Никитина** // Интеграционные процессы в науке, образовании и аграрном производстве – залог успешного развития АПК: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград: Волгоградская ГСХА, 2011. – Т. 2. – С. 197–201.

6. Никитина, М.А. Комплексная терапия гипофункции яичников у коров / В.Д. Кочарян, **М.А. Никитина** // XV Регион. конф. молодых исследователей Волгоградской области. – Волгоград: Волгоградская ГСХА, 2011. – С. 45–47.

7. Никитина, М. А. Клинико-гематологические и биохимические показатели при поражениях яичников у коров / **М.А. Никитина**, В.Д. Кочарян // XVI Регион. конф. молодых исследователей Волгоградской области. – Волгоград: Волгоградский ГАУ, ИПК «Нива», 2012. – С. 41–43.

8. Никитина, М.А. Гипофункция яичников у коров / В.Д. Кочарян, **М.А. Никитина** // Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных: материалы Междунар. конф., 10–12 октября 2013. – Горки: Белорусская ГСХА, 2013. – С. 197–201.

9. Никитина, М.А. Применение препарата «ПК» для восстановления гипофункции яичников у коров / М.А. Никитина, В.Д. Кочарян // Материалы Междунар. конф., посвящ. 100-летию Саратовского ГАУ. – Саратов, 2014. – С. 57–62.

10. Никитина, М.А. Восстановление гипофункционального состояния яичников у коров применением препарата «ПК» / **М.А. Никитина**, В.Д. Кочарян // Ветеринарная медицина. Современное состояние и перспективы: материалы Междунар. конф., посвящ. 100-летию Саратовского ГАУ. – Саратов, 2014. – С. 76–78.