

Потапова Анна Юрьевна

**ДИАГНОСТИКА И КОРРЕКЦИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ
БЕРЕМЕННОСТИ НА ПОЗДНИХ СРОКАХ У КОБЫЛ**

**06.02.06 – ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

- Научный руководитель:** доктор ветеринарных наук, доцент
Племяшов Кирилл Владимирович
- Официальные оппоненты:** **Михалев Виталий Иванович**
доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией патологии воспроизводства ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии фармакологии и терапии Россельхозакадемии»
- Белобороденко Михаил Анатольевич**
доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВПО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья», профессор кафедры «Незаразные болезни»
- Ведущая организация:** ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

Защита состоится «8» октября 2015 г. в 11-00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 на базе ФГБОУ ВО «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 ВО «Саратовский ГАУ» и на сайте www.sgau.ru

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

Автореферат разослан «__» _____ 2015

Ученый секретарь
диссертационного
совета

Егунова Алла Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Развитие коневодства в России как отрасли напрямую зависит от выхода жеребят. В настоящее время в нашей стране насчитывается порядка 1,5 миллионов голов лошадей. По численности конского поголовья Россия по-прежнему входит в десятку ведущих коневодческих стран мира. Племенное поголовье по праву считается национальным достоянием. Более того, конное дело показывает степень развитости страны, доказательством чего выступает организация крупнейших выставок конной индустрии и спортивных состязаний. Конный спорт является олимпийским видом спорта, успешное выступление лошадей отечественного разведения в которых значительно поднимает престиж российского коннозаводства.

Степень разработанности темы. На современном этапе ветеринарная помощь определяется степенью профессионализма и обоснованности врачебного вмешательства в каждом конкретном случае (Филиппов О.С., 2009). Это отражается в проведении комплекса диагностических мероприятий с оценкой всех возможных рисков для кобылы и плода (Смоленская-Суворова О.О., 2009). При этом без внедрения инновационных диагностических и лечебных технологий достижение успеха будет сомнительным (Баженова Н.Б., 1995; Карпенко Л.Ю., 2009; Племяшов К.В., 2010; Стекольников А.А., 2010).

Плацентарная недостаточность остается главной причиной осложнений беременности, высокого уровня перинатальной заболеваемости и смертности жеребят (Авдеенко В.С., 1998; Santschi E.M., Vaala W.A., 2011). Плацентарная недостаточность рассматривается как симптомокомплекс, обусловленный ишемией плаценты ввиду недостаточного ангиогенеза в ворсинках хориона. Данные о патогенезе нарушений маточно-плацентарного кровотока и их влиянии на формирование трофобласта до сих пор противоречивы (Авдеенко В.С., 1998; Santschi E.M., Vaala W.A., 2011).

Большое практическое значение имеет изучение морфологических, физиологических и биохимических изменений, происходящих в организме кобыл, и сопутствующих нормальному и патологическому течению беременности (Племяшов К.В., 2007, 2010). Тем не менее, до сих пор отсутствуют сформулированные критерии оценки эффективности диагностики осложнений жеребости и, в частности, плацентарной недостаточности. Существующие методы не применяются в комплексе, что снижает их диагностическую эффективность.

Изучение взаимосвязи между активностью метаболических процессов в тканях плаценты и молочной железы и выживаемостью новорожденных жеребят, а также выбор оптимальных методов коррекции плацентарной недостаточности, является актуальной задачей ветеринарного акушерства.

Цель и задачи исследований. Целью исследования явилось совершенствование методов диагностики и коррекции осложнений беременности у кобыл на поздних сроках.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. определить клинико-морфологические особенности проявления плацентарной недостаточности у кобыл на поздних сроках беременности методами морфологического, биохимического и гормонального исследований;
2. разработать комплекс эффективных диагностических мероприятий для выявления плацентарной недостаточности;
3. обосновать терапевтическую и профилактическую эффективность применения препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» при плацентарной недостаточности у кобыл на поздних сроках беременности.

Объект исследований. Молодые (до 8-ми лет) жеребившиеся лошади отечественных породы (советский тяжеловоз, русская рысистая, русская верховая).

Предмет исследований. Морфологические, биохимические и гормональные показатели крови жеребых кобыл, иммунологические, биохимические показатели молозива, морфологические показатели плодной части плаценты и пуповины. Эффективность комплексной диагностики осложнений жеребости. Эффективность коррекции осложнений жеребости препаратами Гемобаланс и БФ-15 в комплексе.

Научная новизна. Впервые подтверждена эффективность диагностики плацентарной недостаточности у кобыл, методологический подход которой заключается в комплексе морфологических, биохимических и гормональных методов исследования крови, морфологических методов исследования плодной части плаценты, биохимических методов исследования состава молозива первых часов лактации. Впервые проведено и научно обосновано применение лекарственных препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» на 270 – 300 день жеребости в качестве метода коррекции плацентарной недостаточности.

Практическая значимость работы заключается в расширении возможностей применения препаратов Гемобаланс и БФ-15 с целью коррекции осложнений беременности на поздних сроках у кобыл. Коррекция плацентарной недостаточности препаратами Гемобаланс в дозе 1 мл на 45 кг массы тела внутримышечно через 48 часов трехкратно, а также БФ-15 дважды в день с кормом (овсом) в течение 10 суток по 40 мл в день (20 мл на один прием) улучшает метаболические процессы в организме матери, способствует нормализации стероидогенеза, ангиогенеза в тканях плаценты, и улучшает качественные показатели молозива. Практическую значимость имеют описанные общие принципы диагностики плацентарной недостаточности у кобыл в третьем триместре, особенности изменения свойств крови у кобыл на 270 – 330 день жеребости, морфологические данные строения плодной части плаценты

лошади на разных стадиях зрелости. Исследование состава молозива первых часов лактации позволяет улучшить кормовое обеспечение новорожденных жеребят

В работе получены материалы, которые используются:

- ветеринарными специалистами конных заводов, коневодческих ферм и других хозяйств различных организационно-правовых форм собственности при диагностике и коррекции осложнений беременности на поздних сроках у кобыл. частности, результаты исследований внедрены в производство в условиях ОАО «Агроплемконезавод Перевозский» и ЗАО «Старожиловский Конный Завод».

- используются в учебном процессе ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины», ФГБОУ ВПО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия», ФГБОУ ВПО «Самарская государственная сельскохозяйственная академия», ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВПО «Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия», ФГБНУ «Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахский Национальный Аграрный Университет.

- в научной и исследовательской работе организаций ветеринарного профиля, а также при написании учебников, учебных пособий, методических рекомендаций и монографий.

Методология и методы исследований. Для изучения диагностической эффективности мероприятий использовались морфологические и биохимические методы исследования крови; иммунологические, биохимические методы исследования молозива, морфологические и морфометрические методы исследования тканей плаценты и пуповины. Эффективность диагностики и метода коррекции осложнений беременности с применением Гемобаланса и БФ-15 были проверены при проведении научно-производственного опыта. Исследования проводились на первом этапе на 30 кобылах с известным анамнезом, и столько же животных на втором этапе.

Положения, выносимые на защиту:

1. Особенности клинико-морфологического проявления плацентарной недостаточности у кобыл на поздних сроках беременности;
2. Достоверность комплексного метода диагностики плацентарной недостаточности у кобыл на поздних сроках беременности;
3. Эффективность применения комплексного лекарственного препарата «Гемобаланс» для лечения и профилактики осложнений жеребости в сочетании с пробиотическим комплексом «БФ-15» на 270 – 300 день жеребости.

Степень достоверности, апробация и реализация результатов. Все научные положения и выводы по результатам диссертационной работы обеспечены глубокой проработкой

литературного материала, согласованностью полученных теоретических и экспериментальных данных с результатами исследований. Выводы основаны на достоверных результатах, аргументированы и не вызывают сомнений. Работа выполнена на современном методическом уровне с использованием разнообразных клинико-диагностических, морфологических, терапевтических, физиолого-биохимических и статистических методов. Полученные результаты обработаны с помощью программы Microsoft Excel.

Научные положения, выводы и рекомендации доложены и обсуждены и одобрены на международной конференции по вопросам биологии лактации в Уппсале (Швеция, 2012 год); 67, 68 научных конференциях молодых ученых и студентов ФГБОУ ВПО СПбГАВМ (Санкт-Петербург, 2013, 2014); научных международных конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГБОУ ВПО СПбГАВМ (Санкт-Петербург, 2013, 2014 гг.); III международном конгрессе ветеринарных фармакологов и токсикологов «эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии» (Санкт-Петербург, 2014), международной ветеринарной конференции в Стамбуле (Турция, 2014 год), на всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России в номинации «Ветеринарные науки» (Санкт-Петербург, 2014 год), IV международной научно-практической конференции «Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях» (Москва, 2014 год), конференции «Актуальные проблемы генетики и репродуктивной биологии животных» (Санкт-Петербург, 2014), а также награждены медалью Всероссийского Выставочного Центра «За успехи в научно-техническом творчестве» (Москва, 2014 год).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, 7 из которых в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Две статьи опубликованы в иностранных изданиях. Изданы методические рекомендации (Изд. СПбГАВМ, 14 стр.)

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 153 страницах компьютерного текста. Список использованной литературы включает 101 источник, из них 40 - на иностранных языках. Диссертация содержит 19 таблиц, 36 рисунков, 6 формул.

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследований служили лошади отечественных пород (советский тяжеловоз, русская рысистая, русская верховая). ОАО «Агроплемконезавод Перевозский» (Нижегородская обл.) и ЗАО «Старожиловский конный завод» (Рязанская обл.).

Для подтверждения эффективности комплексного метода диагностики использовали методы гематологических исследований, биохимические и иммунологические методы

исследования молозива, морфологические и морфометрические методы исследования тканей плаценты и пуповины.

Для коррекции осложнений беременности применяли на 270 – 300 день жеребости препарат Гемобаланс в дозе 1 мл на 45 кг массы тела внутримышечно через 48 часов трехкратно, а также БФ-15 дважды в день с кормом (овсом) в течение 10 суток по 40 мл в день (20 мл на один прием).

Гемобаланс (Haemobalans) – лекарственное средство в форме раствора для инъекций, предназначенное для профилактики и лечения нарушений обмена веществ у животных. Гемобаланс содержит в качестве действующих веществ: L-лизин гидрохлорид – 20 мг/мл, DL-метионин - 20 мг/мл, глицин - 20 мг/мл, железа аммония цитрат - 15мг/мл, кобальта сульфат - 240 мкг/мл, меди сульфат - 70 мкг/мл, рибофлавин (витамин В2) - 10мг/мл, холина битартрат (витамин В4) - 10 мг/мл, пиридоксина гидрохлорид (витамин В6) - 10 мг/мл, инозитол (витамин В8) - 10 мг/мл, цианкобаламин (витамин В12) – 150 мкг/мл, никотинамид - 100 мг/мл, D-пантенол - 15 мг/мл, биотин - 10 мкг/мл.

БФ-15 (*Bifidobacterium bifidum*, BF-15) – пробиотическое средство в форме раствора для ветеринарного применения, предназначенное для поддержания и восстановления микрофлоры желудочно-кишечного тракта. «БФ-15» содержит живую биокультуру бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum* в количестве не менее 15 млн в 1 мл, органические кислоты, микро- и макроэлементы, витамины, которые участвуют в метаболических процессах *B. bifidum*.

Работа выполнялась в два этапа. **На первом этапе** определяли достоверность комплексной диагностики плацентарной недостаточности на 30 молодых до 8 лет жеребившихся кобылах русской верховой породы. Кобылы были отобраны слепым методом, в диагностический комплекс входило определение маркеров плацентарной функции в крови на 270, 300 и 330 день жеребости, биохимический и морфологический анализ крови, а также определение состава молозива и морфологической структуры последа.

Для проведения второго этапа было сформировано 4 равные группы животных:

- 15 кобыл (по 5 голов каждой породы) на 270 – 300 день жеребости, в возрасте 5 - 8 лет, у которых уже было 2 беременности, закончившихся благополучно, жеребята физически полноценные – подопытная группа. Животным применялся комплексный лекарственный препарат «Гемобаланс» согласно инструкции: 1 мл на 45 кг массы тела внутримышечно через 48 часов трехкратно. А также назначался лекарственный препарат БФ-15 дважды в день с кормом (овсом) в течение 10 суток по 40 мл в день (20 мл на один прием).

- 15 кобыл (по 5 голов каждой породы) на 270 – 300 день жеребости, в возрасте 5 - 8 лет, у которых уже было 2 беременности, закончившихся благополучно, жеребята физически полноценные – группа сравнения №1. Животным применялся комплексный лекарственный

препарат «Гемобаланс» согласно инструкции: 1 мл на 45 кг массы тела внутримышечно через 48 часов трехкратно.

- 15 кобыл (по 5 голов каждой породы) на 270 – 300 день жеребости, в возрасте 5 - 8 лет, у которых уже было 2 беременности, закончившихся благополучно, жеребята физически полноценные – группа сравнения №2. Животным применялся лекарственный препарат БФ-15 дважды в день с кормом (овсом) в течение 10 суток по 40 мл в день (20 мл на один прием).

- 15 кобыл, подобранных по принципу аналогов – контрольная группа.

У кобыл всех групп брали образцы крови из яремной вены до начала терапии и через 2 недели после последней инъекции «Гемобаланса». Исследовали молозиво при первом кормлении, проводили исследование последа.

Кобылы были допущены до эксперимента после определения их клинического здоровья и с письменного подтверждения главного ветеринарного врача хозяйства об отсутствии случаев возникновения в хозяйстве инфекционных заболеваний в течение последних 3 лет.

Методы гематологических исследований. Пробы крови брали из яремной вены утром до кормления в вакуумные пробирки Vacuette™ (Австрия).

Концентрацию общего белка, глюкозы, мочевины, холестерина, билирубина, гемоглобина и железа в сыворотке крови определяли колориметрическим методом с использованием промышленных наборов НПФ «Абрис+» (Россия), концентрацию креатинина, цианкобаламина в сыворотке крови определяли фотоколориметрическим методом с пикриновой кислотой с использованием промышленных наборов НПЦ «ЭкоСервис» (Россия). Морфологические исследования крови проводили на автоматической системе Vision Hema™ (Австрия).

Концентрацию эстрадиола E2, прогестерона, кортизола оценивали на автоматическом иммунохимическом анализаторе Architect i1000™ (США); и щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе Olympus™ AU 400 (США). Данные показатели (эстрадиол E2, прогестерон, кортизол, щелочная фосфатаза) являются показателями метаболической активности плаценты. Они расценивались как маркеры плацентарной функции.

Методы изучения состава молозива. Пробы молозива собирали в течение первых 2-х часов после выжеребки в разные стерильные пробирки Jet Biofit™-50 мл (США) отдельно для биохимического и иммунологического анализа.

Показатели молозива определяли на биохимическом анализаторе «А-25» (Испания) с использованием реагентов фирмы BioSystems™ (Испания). Концентрацию иммуноглобулинов определяли турбидиметрическим методом цинк сульфата. Калибровку строили по 7 точкам.

Общий белок определялся биуретовым методом. Альбумин – методом с использованием бромкрезолового зеленого реактива. Количество глобулинов в сыворотке молозива считалось как разница между количеством общего белка и альбумина.

Методы изучения морфологии плаценты и пуповины. Образцы тканей плодной части плаценты и пуповины брали непосредственно после выжеребки или ятрогенного аборта на 9-11 месяц жеребости, фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, обезжизивали в спиртах и заливали в парафин через хлороформ. Вырезали кусочки тканей через всю толщину плаценты у места прикрепления пуповины и рога-плодовместилища. Захватывали либо участки здоровой поверхности плаценты, либо нормальный участок с прилегающим патологическим очагом, при его наличии. Толщина серийных парафиновых срезов составляла 5-7 мкм.

Для микроскопического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином, ШИК-реакцией, по Ван-Гизону и Суданом-III.

Морфометрические исследования проводили с учетом методики Автандилова Г.Г. (1990). Степень ангиогенеза определялась как удельная площадь просвета сосудов на определенной площади ткани (в поле зрения микроскопа). Определялись так называемые горячие точки, то есть участки ткани с максимальной васкуляризацией, в которых под увеличением 200х подсчитывался показатель удельной площади просвета сосудов по внутреннему контуру эпителия (%) по отношению к стромальной ткани. Для этого просматривали срезы при помощи вмонтированной в окуляр морфометрической сетки. Было изучено 40 полей зрения (увеличение 200) для каждой плаценты. Фотографии гистологических препаратов обрабатывались с использованием программы «ВидеоТест-Морфология 5.2».

Определение степени достоверности клиничко-лабораторных показателей. Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel.

Для всех полученных в ходе исследования данных была применена описательная статистика: данные проверены на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Достоверность межгрупповых различий оценивали для подопытной группы и групп сравнения по отношению к контролю методом t-критерия Стьюдента, а также подопытной группы и каждой группе сравнения. В случае достоверного изменения показателей во всех трех случаях, говорили о достоверном результате исследования. Различия были определены при 0,05 и 0,01 уровне значимости.

Для оценки значимости категориальных данных использовался метод хи-квадрата.

Оценивали точность диагностики, прогнозирование количества положительных исследований, прогнозирование количества отрицательных исследований.

В главе **Результаты собственных исследований** рассматриваются вопросы диагностики и коррекции осложнений беременности на поздних сроках у кобыл. На основании проведенных комплексных диагностических мероприятий были установлены критерии проявления

осложнений беременности, что подтверждалось морфологическими и биохимическими исследованиями крови, биохимическими и иммунологическими исследованиями молозива, морфологическими исследованиями тканей плаценты и пуповины. Доказана эффективность коррекции осложнений беременности с применением препаратов Гемобаланс и БФ-15.

В разделе **Результаты комплексной диагностики плацентарной недостаточности** выявлены характерные особенности проявления осложнений беременности на поздних сроках у кобыл.

Показатели маркеров плацентарной функции установили отдельно для матерей нормотрофиков и для матерей гипотрофиков. Концентрация прогестерона (ПГ), эстрадиола E2 (Э) и кортизола (К), попадала в референтные значения и изменялась в зависимости от развития плода в норме ($p \leq 0,05$) у матерей жеребят с массой более 45 кг. Концентрация щелочной фосфатазы (ЩФ) также согласовывалась с принятыми нормами ($p \geq 0,05$). Однако показатели концентрации прогестерона ($p \leq 0,05$), эстрадиола E2 ($p \leq 0,05$) и щелочной фосфатазы ($p \geq 0,05$) у кобыл, жеребята которых имели массу тела ниже 45 кг, резко отличалась от референтных значений. На 280 день жеребости: ПГ – выше на 34,4 % ($p \leq 0,05$), Э – выше на 55,6 % ($p \leq 0,05$), ЩФ – выше 51,7 % ($p \geq 0,05$) у матерей жеребят-гипотрофиков, на 300 день: ПГ – выше на 34,5 % ($p \leq 0,05$), Э – выше на 27,4 % ($p \leq 0,05$), ЩФ – выше 40,3 % ($p \geq 0,05$); на 320 день: ПГ – ниже на 56,8 %, Э – выше на 24,2 %. Значение концентрации кортизола не достоверно ($p \geq 0,05$) и не имеет закономерных изменений.

Согласно классификации Филиппова О.С. (2010), в исследовании были выявлены кобылы с нормальным типом реакции и напряжением гормональной функции. Кобылы с напряжением гормональной функции имели приплод с массой ниже 45 кг.

Состав молозива установили отдельно для матерей нормотрофиков и для матерей гипотрофиков. Достоверных различий в содержании общего белка, глобулинов и альбуминов у кобыл двух групп не наблюдалось, однако есть тенденция к диспропорции содержания глобулинов и альбуминов в сторону увеличения последних.

Достоверные изменения выявлены в содержании иммуноглобулинов А и G, концентрация которых больше в молозиве матерей жеребят-нормотрофиков на 35,0 % и 41,9 % соответственно ($p \leq 0,05$). Достоверных различий в содержании фракций иммуноглобулинов M, G1 и G2 не выявлено.

Результатами макроскопической оценки последа являлось определение среднего веса, который у всех кобыл попадал в референтные значения и составил $4,9 \pm 0,8$ кг. Видимых нарушений целостности и патологических зон в тканях последа при макрооценке не обнаружили.

В ходе исследования были выявлены и описаны различия в гистологическом строении зрелой и незрелой плаценты последнего триместра, полученные от кобыл после выжеребки.

Определены характерные особенности строения незрелой структуры плаценты: соединительнотканый слой ворсин хориона представлен большим количеством разнонаправленных коллагеновых волокон. Рыхлая соединительная ткань хорошо развита. Кровеносные сосуды располагаются в ворсинах центрально, кровенаполнены. Среди клеточных элементов преобладают фиброциты. Эпителиальный синцитий однорядный, не содержит ядер, располагается только на концевых участках ворсин. Клетки трофобласта мелкие, квадратной и округлой формы, располагаются большими скоплениями у базальной пластинки ворсин вблизи кровеносных сосудов. Ядра расположены центрально и занимают большее пространство цитоплазмы. По всей площади тканей хориона диффузно расположены базофильные гранулы вещества.

Определены характерные особенности строения зрелой структуры плаценты: ворсины хориона имеют большой диаметр, с нарастанием числа капилляров по сравнению с незрелой структурой плаценты. Количество капилляров увеличивается в 5 – 7 раз (в поле зрения микроскопа), они занимают периферическое положение в ворсинах, расширяются. Иногда наблюдаются фибринолиз сосудов. Наблюдается скопление синцитиотрофобласта с уменьшением величины ядер трофобласта и ослаблением базофилии цитоплазмы в межворсинчатом пространстве. Синцитий становится многорядным и скапливается над клетками трофобласта в 1 – 2 ряда. Распределение ядер в синцитии неравномерное. Клетки трофобласта крупные, собраны в узлы, в которых размещаются по 3 - 4 слоя. Отмечается незначительная базофилия эпителиальных компонентов.

Определены характерные особенности строения структуры плаценты, где регистрируются инволютивно-дистрофические изменения, проявляющиеся расширением просвета сосудов, дистрофическими включениями в клетках синцитиотрофобласта, тромбозом сосудов. Микроскопически обнаруживается некроз ворсин.

За положительный результат диагностики плацентарной недостаточности принималось наличие структурных изменений плаценты у матерей жеребят-гипотрофиков; за отрицательный результат принималось отсутствие структурных изменений плаценты у матерей жеребят-нормотрофиков. Ложноположительный результат – нарушение структуры плаценты у матерей жеребят-нормотрофиков; ложноотрицательный результат – отсутствие изменений плаценты у матерей жеребят-гипотрофиков.

Точность исследований (Acc) составила 73,3%, прогнозирование количество положительных исследований (Pd+) – 60%, прогнозирование количество отрицательных исследований (Pd-) – 86,6%.

Заключительным этапом исследований было определение диагностической значимости проведенных исследований. Подсчитывали уровень совпадений (положительный результат диагностики / отрицательный результат диагностики) между методами исследований. Между данными исследований маркеров плацентарной функции и гистоструктуры имеется наибольший процент совпадений – 81,8 % совпадений положительных диагнозов и 93,3 % совпадений отрицательных диагнозов.

В разделе **Обоснование применения лекарственных препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» при плацентарной недостаточности** показана степень влияния препаратов Гемобаланс и БФ-15 на течение беременности при применении в комплексе и отдельно.

Концентрация глюкозы, общего белка, креатинина, гемоглобина, цианокобаламина, а также СОЭ, количество лимфоцитов и показатель средней концентрации гемоглобина в эритроците (МСНС) в крови кобыл подопытной группы оказались достоверно выше на 16,4 %; 10,78%; 17,8 %; 11,7 %; 9,5 %; 14,7 %; 22,2 % и 10,5 % соответственно ($p \leq 0,05$). Концентрация общего билирубина в крови кобыл подопытной группы на 62,7 % ниже, чем в крови кобыл контрольной группы ($p \leq 0,01$); концентрация прямого билирубина - на 12,8 % ($p \leq 0,05$).

Достоверных различий в содержании мочевины, сывороточного железа, холестерина, эритроцитов, лейкоцитов и в показателях гематокрита не выявлено ($p > 0,05$).

При анализе результатов биохимического и морфологических исследования крови в группах сравнения выявлены следующие отличия от контрольной группы: концентрация глюкозы в сыворотки крови кобыл групп сравнения №1 и №2 оказалась достоверно выше на 15,23 % и 4,90 % соответственно ($p \leq 0,05$); концентрация общего белка выше на 7,51 % и 6,40 % ($p \leq 0,05$); концентрация креатинина выше на 23,5 % ($p \leq 0,01$) и 14,02 % ($p \leq 0,05$), концентрация общего билирубина ниже на 56,15 % ($p \leq 0,01$) и 17,8 % ($p \leq 0,05$); концентрация прямого билирубина ниже на 23,64 % ($p \leq 0,01$) и 16,19 % ($p \leq 0,05$); концентрация цианокобаламина выше на 8,4 % и 3,39 % ($p \leq 0,05$); концентрация гемоглобина выше на 8,2 % и 2,1% ($p \leq 0,05$); СОЭ выше на 16,3 % и 9,6 % ($p \leq 0,05$); количество лимфоцитов выше на 15,5 % и 17,1 % ($p \leq 0,05$); показатель средней концентрации гемоглобина в эритроците (МСНС) выше на 10,05% ($p \leq 0,05$) и 1,04 % ($p > 0,05$).

Наибольшего увеличения концентрации глюкозы в крови добились в подопытной группе ($5,99 \pm 0,4$ ммоль/л; $p \leq 0,05$). С другой стороны, наименьшее увеличение наблюдается в группе сравнения №2, в которой применялся только пробиотический препарат «БФ-15» ($5,27 \pm 0,83$ ммоль/л в группе сравнения №2 при $5,01 \pm 0,5$ ммоль/л в контрольной группе; $p \leq 0,05$). Наибольшего увеличения концентрации общего белка в крови добились в подопытной группе ($77,13 \pm 15,2$ г/л; $p \leq 0,05$). Существенное увеличение наблюдается также и в группах сравнения №1 и №2 ($74,40 \pm 12$ г/л и $73,57 \pm 12,6$ г/л соответственно при $68,81 \pm 12,4$ г/л в контрольной

группе; $p \leq 0,05$). Увеличение концентрации креатинина в сыворотке крови произошло во всех группах, где применялось лечение. Однако наибольшее увеличение наблюдается в группе сравнения № 1, где применялся только препарат «Гемобаланс» ($157,11 \pm 29,5$ мкмоль/л при $120,14 \pm 21,2$ мкмоль/л в контрольной группе; $p \leq 0,05$). Наибольшего увеличения концентрации витамина В12 в крови добились в подопытной группе ($3942,39 \pm 107$ пг/мл при $3567,27 \pm 93$ пг/мл в контрольной группе; $p \leq 0,05$). Однако увеличение концентрации витамина В12 наблюдается во всех группах, где применялись лекарственные препараты. Наибольшего улучшения состояния красной крови удалось достичь при применении лекарственного препарат «Гемобаланс» (МСНС - $311,52 \pm 13,2$ г/л в подопытной группе; $281,75 \pm 13,5$ г/л в группе сравнения №1; $278,80 \pm 12,7$ г/л в группе сравнения №2 и $310,02 \pm 13,5$ г/л в контрольной группе; $p \leq 0,05$). Наибольшего улучшения состояния белой крови удалось достичь при применении лекарственного препарат «БФ-15» ($24,18 \pm 1,6$ тыс/мкл лимфоцитов в подопытной группе; $18,99 \pm 1,7$ тыс/мкл в группе сравнения №1; $22,25 \pm 0,8$ тыс/мкл в группе сравнения №2; $18,80 \pm 2,1$ тыс/мкл в контрольной группе; $p \leq 0,05$).

Анализ клинического материала свидетельствует о правильности выбранного пути лечения и профилактики плацентарной недостаточности. Комплексное применение лекарственных препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» корректирует метаболизм жеребых кобыл, стимулирует гемопоэз и клеточные факторы иммунитета.

В молозиве у кобыл подопытной группы концентрация общего белка, глобулинов, альбуминов, иммуноглобулина А, G1, G2 и фракции G достоверно выше на 13,7 %; 10,0 %; 36,04 %; 28,03 %; 9,02%; 75,09 % и 18,9 % соответственно ($p \leq 0,05$). Достоверных различий в содержании иммуноглобулина М ($p > 0,05$) не выявлено.

При анализе результатов в группах сравнения выявлены следующие отличия от контрольной группы: концентрация общего белка больше в группе сравнения №1 – на 14,07 % - это самый лучший результат по группам. ($p \leq 0,05$). В группе сравнения №2 концентрация общего белка увеличилась на 8,17 % по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Концентрация глобулинов в группе сравнения №1 на 10,17 % выше, чем в контрольной группе ($p \leq 0,05$). Этот результат равен результату в подопытной группе. Концентрация глобулинов в группе сравнения №2 на 4,5 % выше, чем в контрольной группе ($p \leq 0,05$). Концентрация альбуминов в группе сравнения №1 и №2 на 25,3 % и 22,09 % соответственно выше, чем в контрольной группе ($p \leq 0,05$). Концентрация иммуноглобулина А в группе сравнения №1 и №2 на 28,7 % ($p > 0,05$) и 21,49 % ($p \leq 0,05$) соответственно выше, чем в контрольной группе. Концентрация иммуноглобулина G1 в группе сравнения №1 и №2 на 5,3 % и 5,7 % соответственно выше, чем в контрольной группе ($p \leq 0,05$). Концентрация иммуноглобулина G2 в группе сравнения №1 и №2 на 29,4 % и 46,5 % соответственно выше, чем в контрольной

группе ($p \leq 0,05$). Концентрация иммуноглобулинов G в группе сравнения №1 и №2 на 14,4 % и 26,3 % соответственно выше, чем в контрольной группе ($p \leq 0,05$).

Достоверных различий в концентрации иммуноглобулина M в группах сравнения №1 и №2 ($p > 0,05$) не выявлено.

Несмотря на различие в содержании белка и его фракций, соотношение глобулинов и альбуминов во всех группах животных не отличается.

Соотношение количества иммуноглобулинов к общему количеству белка в подопытной группе, групп сравнения №1 и №2 и в контрольной группе составили – 0,361; 0,302; 0,307 и 0,296 соответственно, что говорит об объективном увеличении фракции иммуноглобулинов в группах, где применялись лекарственные препараты. Наилучший результаты в подопытной и группе сравнения №2.

Оценивали степень васкуляризации тканей плаценты кобыл, получавших препарат «Гемобаланс», и кобыл из контрольной группы.

Средний вес плацент всех групп соответствовал референтным значениям. Достоверных отличий не выявлено. У полученных во время исследования плодных частей плацент не наблюдалось внешних изменений состояния аллантаоиса, хориона, пуповины.

В изученных гистологических срезах тканей плаценты и пуповины лошадей, получавших препарат «Гемобаланс», имеет место пролиферация и полнокровие сосудов ворсин хориона, что связано с ангиогенным действием препарата «Гемобаланс».

При гистологическом исследовании плодной части плаценты кобыл из контрольной группы, явилась картина выраженных компенсаторно-приспособительных реакций. Характерными гистологическими изменениями плаценты стали гиперемия и диапедез ворсинок хориона, белковая и жировая дистрофии клеток синцитиотрофобласта. Ворсинки укорочены, имеются участки некроза. Слой трофобласта истончен, сами клетки трофобласта располагаются малыми группами и не собраны в функциональные узлы. Продуцирует небольшое количество синцития. Соединительнотканная строма отечная с разволокнением коллагеновых структур, содержит расширенные сосуды.

Результаты исследований последов кобыл, получавших препарат «Гемобаланс», свидетельствуют об увеличении интенсивности ангиогенеза в тканях плодной части плаценты. Ворсины хорошо развитые, удлиненные. Отсутствуют явления некроза и фибризации кровеносных сосудов. Клетки трофобласта округлые, собраны в узлы, продуцируют большое количество эпителиального синцития. Синцитий представлен высокопризматическими клетками. Все кровеносные сосуды заполнены клеточными элементами крови без признаков тромбоза. Участков воспаления и онкологических изменений не найдено, что свидетельствует

об отсутствии эмбриотоксического и тератогенного эффектов лекарственного препарата «Гемобаланс».

В разделе **Жизнеспособность жеребят в ранний постнатальный период как показатель зрелости структуры плаценты** представлены данные по смертности и заболеваемости новорожденных жеребят от кобыл из разных опытных групп.

Заболеваемость жеребят первого месяца жизни подопытной группы снизилась на 18,3 % ($p > 0,05$), по сравнению с контрольной группой. Смертность жеребят подопытной группы равна 0,0, как и в группе сравнения №2 ($p > 0,05$).

Основные причины заболеваемости жеребят первого месяца жизни, участвующих в исследовании: задержка мекония (2), бактериальные гастроэнтериты (5), стафилококковые артриты (4), заболевания верхних дыхательных путей (1).

Основные причины смертности жеребят первого месяца жизни, участвующих в исследовании: бактериальные гастроэнтериты (2), пневмонии (1), гипотрофия с задержкой адаптации (1).

В разделе **Экономическая эффективность** приведены данные, подтверждающие экономическую и производственную эффективность применения схем диагностики и коррекции осложнений беременности на поздних сроках у кобыл.

Для определения критерия экономической эффективности сравнивали затраты на выращивание молодняка. Подсчитывали затраты на получение молодняка традиционным методом и уровень заболеваемости/смертности при использовании такой технологии (результаты контрольной группы). А также подсчитываются затраты на получение молодняка с использованием профилактических мероприятий, уровень заболеваемости/смертности при этом (результаты подопытной группы). В случае рождения приплода со сниженной жизнеспособностью, его стоимость оценивается по мясной цене – 90 руб/кг. Реализуют в годовалом возрасте при живой массе в 350 кг. Выручка составляет 31 500 руб. за голову. Племенной годовалый молодняк в среднем по породам стоит 100 000 руб. за голову. В двухлетнем возрасте цена молодняка, переболевшего в неонатальном возрасте составит 54000 руб. при живой массе 600 кг. Цена племенного молодняка в среднем увеличивается на 20% в год – $(100\ 000\ \text{руб.}/100\ \% * 20\%) + 100\ 000\ \text{руб.} = 120\ 000\ (\text{руб.})$.

Таким образом, экономический анализ мероприятий заключается в оперировании следующими данными:

- затраты на мероприятие и полученный эффект (формула 1):

$$\text{Эф} = \frac{\text{прибыль} \times 100}{\text{себестоимость}} = \% \quad (1)$$

где прибыль равна разнице выручки и затрат на мероприятие. Себестоимость жеребенка при рождении оценивается затратами за два последних месяца содержания кобылы – 60000 руб за период. В себестоимость жеребенка подопытной группы также входит стоимостью ветеринарных мероприятий – 2460 руб. Складывается из стоимости лекарственных препаратов (1415 руб.), расходного материала и работы (45 руб.) специалиста (1000 руб.).

$$\text{Эф традиционной технологии} = \frac{3150000 \text{ руб.} \cdot 100\%}{60000 \text{ руб}} = 52,5\% ,$$

$$\text{Эф внедренной технологии} = \frac{(100000 \text{ руб.} - 2460 \text{ руб.}) \cdot 100\%}{60000 \text{ руб.} + 2460 \text{ руб.}} = 156,2\%$$

- определения величины предотвращенного экономического ущерба (формула 2):

$$P_y = (\text{снижение заболеваемости и смертности}) * \text{стоимость для группы} \quad (2)$$

P_y традиционной технологии в расчете на 10 гол. = 4 гол. * 31500 руб. (заболевшие) + 3,3 гол * 100000 руб. (здоровые) + 2,6 гол. * 0 руб. (погибшие) = 459,3 тыс. руб.

P_y внедренной технологии в расчете на 10 гол. = 1,3 гол * 31500 руб. (заболевшие) + 8,6 гол * 100000 руб. (здоровые) + 0,0 гол. * 0 руб (погибшие) = 908,6 тыс. руб.

- определения критерия экономической эффективности (формула 3):

$$K_{\text{Эф}} = \frac{P_y}{\text{затраченные средства}}, \quad (3)$$

$$K_{\text{Эф традиционной технологии}} = \frac{459333 \text{ руб}}{60000 \text{ руб} \cdot 10 \text{ гол}} = 0,76 ,$$

$$K_{\text{Эф внедренной технологии}} = \frac{908666 \text{ руб}}{62460 \text{ руб} \cdot 10 \text{ гол}} = 1,45$$

Коэффициент экономической эффективности внедренного метода превышает таковой у традиционного метода в 1,8 раз. Можно сделать вывод, что прибыль от реализации здорового молодняка покрывает затраты на лечение осложнений беременности у племенных кобыл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Плацентарная недостаточность у кобыл на поздних сроках беременности характеризуется напряжением гормональной функции с увеличением концентраций прогестерона более чем на 34,4 % и эстрадиола E2 на 24,2 % ($p \leq 0,05$), что объясняется активацией адаптационно-компенсаторных резервов, повышением продукции стероидных гормонов и их метаболитов.

2. Изменение белкового состава молозива в связи с наличием плацентарной недостаточности характеризуется достоверным снижением концентрации иммуноглобулинов А и G в молозиве на 35,0 % и 41,9 % соответственно ($p \leq 0,05$).

3. Зрелость структуры плаценты лошади определяется по соотношению сосудисто-стромальных элементов. К 300-му дню жеребости число сосудов и их просвет увеличивается. Основным критерием оценки зрелости плаценты служит образование трофобластных узлов – скоплений клеток трофобласта, равномерно покрытых синцитием.

4. Диагностическое значение при плацентарной недостаточности у кобыл имеют: изменение концентрации прогестерона и эстрадиола E2, белковый состав молозива и степень зрелости плаценты. Наибольший уровень совпадений установлен между изменением концентрации прогестерона / эстрадиола E2, и гистроструктуры плаценты - 81,8 % совпадений положительных диагнозов и 93,3 % совпадений отрицательных диагнозов.

5. Применение препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» по предложенной схеме позволило улучшить показатели метаболизма в организме беременных кобыл. Концентрация глюкозы, общего белка, креатинина, цианокобаламина, гемоглобина, СОЭ, лимфоцитов и МСНС в сыворотки крови кобыл подопытной группы оказалась достоверно выше, чем в контрольной группе (на 16,4 %; 10,78%; 17,8 %; 9,5 %; 11,7 %; 14,7 %; 22,2 % и 10,5 % соответственно; $p \leq 0,05$). Концентрация общего и прямого билирубина достоверно ниже контрольной группы (на 62,7 % и 12,8 % соответственно; $p \leq 0,05$). Концентрация общего белка, глобулинов, альбуминов, иммуноглобулина А, иммуноглобулина G1, иммуноглобулина G2, иммуноглобулина G, в молозиве кобыл подопытной группы оказалась достоверно выше, чем в контрольной группе (на 13,7 %; 10,0 %; 36,04 %; 28,03 %; 9,02 %; 75,09 % и 18,9 % соответственно; $p \leq 0,05$).

6. Применение препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» по предложенной схеме позволили улучшить ангиогенез в тканях плодной части плаценты лошадей. Морфометрический анализ показал увеличение показателя удельной площади просвета сосудов по отношению к стромальной ткани в ворсинах хориона в подопытной группе на 8,3 % по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$).

7. Применение препарата «Гемобаланс» курсом три внутримышечные инъекции каждые 48 часов в дозе 1 мл на 45 кг в сочетании с препаратом «БФ-15» в течение 10 суток в дозе 40 мл/сут на 270 – 300 день жеребости является наиболее эффективной схемой коррекции и профилактики осложнений беременности у кобыл.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1. В целях профилактики нарушений обменных процессов в тканях плаценты, задержке внутриутробного развития и гипоксии плода, тщательно следить за

выполнением зоогигиенических предписаний содержания и кормления беременных животных.

2. Для ранней диагностики плацентарной недостаточности использовать определение маркеров плацентарной функции – концентрации прогестерона, эстрадиола E2, кортизола, щелочной фосфатазы. В качестве ретроспективного анализа плацентарной недостаточности определять белковые фракции молозива первых часов лактации и проводить гистологический анализ структуры плодной части плаценты.

3. Положительные результаты, полученные при комплексном использовании препаратов «Гемобаланс» и «БФ-15» на 270 – 300 день жеребости, позволяют рекомендовать их для коррекции плацентарной недостаточности. Препарат «Гемобаланс» следует применять внутримышечно трехкратно через каждые 48 часов в дозе 1 мл на 45 кг массы; препарат «БФ-15» применяют дважды в день в течение 10 суток с овсом по 40 мл/сут.

Результаты исследований отражены в следующих публикациях:

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых журналах, рекомендуемых Перечнем ВАК Минобрнауки РФ

1. **Потапова, А.Ю.** Маркеры плацентарной функции при диагностике абортов у кобыл / А.Ю. Потапова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. – № 1. - С. 30 – 32.
2. **Потапова, А.Ю.** Морфологические критерии эффективности ангиогенного действия препарата «Гемобаланс» на плаценту кобыл / А.Ю. Потапова, Н.Б. Баженова, К.В. Племяшов // Ветеринария. – 2014. – №3. – С. 18 – 21.
3. **Потапова, А.Ю.** Прогнозирование группы риска у жеребых кобыл / А.Ю. Потапова // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – №1. – С. 29 – 33.
4. **Потапова, А.Ю.** Белковый состав молозива кобыл первых часов лактации / А.Ю. Потапова, Н.Б. Баженова, К.В. Племяшов // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 1. - С. 33 – 37.
5. **Потапова, А.Ю.** Неонатальная заболеваемость жеребят и пути ее снижения / А.Ю. Потапова // Коневодство и конный спорт. – 2014. – № 2. - С. 27 – 29.
6. **Потапова, А.Ю.** Эффективность применения пробиотиков жеребым кобылам / А.Ю. Потапова, Н.Б. Баженова, К.В. Племяшов // Российский ветеринарный журнал. – 2014. – № 2. - С. 38 – 40.

7. **Потапова, А.Ю.** Морфологическая оценка зрелости плаценты кобыл в сравнительном аспекте / А.Ю. Потапова, А.А. Мужикян, Н.Б. Баженова, К.В. Племяшов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 92 – 95.

Публикации в журналах, сборниках трудов и материалы конференций

8. **Потапова, А.Ю.** Оценка групп риска новорожденных жеребят / А.Ю. Потапова // Иппология и ветеринария. – 2013. – № 4. – С. 13 – 16.

9. **Потапова, А.Ю.** Комплексная профилактика абортос у кобыл / А.Ю. Потапова // Иппология и ветеринария. – 2014. – №1. – С. 30 – 31.

10. **Потапова, А.Ю.** Оценка адаптогенного действия препарата «Гемобаланс» у кобыл на поздних сроках жеребости / А.Ю. Потапова // Технология животноводства. – 2014. – № 1. – С. 29 – 31.

11. **Потапова, А.Ю.** Морфологическая характеристика клеток трофобласта плаценты лошади / А.Ю. Потапова // Иппология и ветеринария. – 2014. - № 2. – С. 30 - 34.

12. **Потапова, А.Ю.** Рациональное использование лекарственных средств для профилактики абортос у кобыл / А.Ю. Потапова // Матер. конф: «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии»: III-й Международной конгресс ветеринарных фармакологов и токсикологов – СПб: Изд-во СПбГАВМ, 2014. – С. 211 - 213.

13. **Потапова, А.Ю.** Характеристика обсеждения последов у кобыл / А.Ю. Потапова // Матер. конф: Международная научная конференция профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ - СПб: Изд-во СПбГАВМ, 2014. - С. 234 - 235.

Публикации в иностранных журналах, сборниках трудов и материалы конференций

14. **Potapova, A. Yu.** Histological analysis of Equine Placenta / A. Yu. Potapova // Vetistanbul Group Congress: book of abstract. - Istanbul, 2014, - С 29.

15. **Potapova, A. Yu.** Decrease of stillbirth risk by integrated treatment in mares / A. Yu. Potapova // Reproduction in domestic animals. – 2014. – Vol. 49. – № 3. – P. 101.

Методические рекомендации по теме диссертации

16. **Потапова, А.Ю.** Диагностика и коррекция патологии беременности поздних сроков у кобыл/ А.Ю. Потапова//методические рекомендации – СПб: Изд-во СПбГАВМ, 2014. - 14 с.