

На правах рукописи

ПУСТОТИН ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ВЕРИФИКАЦИЯ ДИАГНОЗА И ТЕРАПИЯ ДИСГОРМОНАЛЬНОЙ
МАСТОПАТИИ У СОБАК**

06.02.06 – ветеринарное акушерство и
биотехника репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Саратов 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Научный руководитель: **Рыхлов Андрей Сергеевич**
доктор ветеринарных наук

Официальные оппоненты: **Федотов Сергей Васильевич**
доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-МВА им. К.И. Скрябина», профессор кафедры диагностика болезней, терапии, акушерство и репродукции животных

Мартынов Александр Николаевич
кандидат ветеринарных наук, ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. Д.К. Д.К. Беляева» старший преподаватель кафедры терапии, акушерства и хирургии

Ведущая организация: ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук

Защита диссертации состоится «18» мая 2018 года в 11-00 часов на заседании диссертационного совета Д220.061.01 на базе Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, учебный комплекс № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ <http://www.sgau.ru>

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

Автореферат разослан « » _____ 2018 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Содержание плотоядных в домашних условиях городских квартир и возникновение в связи с этим социальных семейных взаимоотношений между проживающими, ставят перед ветеринарией этические вопросы, разрешение которых требует высокого уровня ветеринарного обслуживания, направленного на максимальное продление жизни домашних животных. Данное состояние особенно актуально для собак, содержащихся в городских квартирах на ограниченной территории, когда хозяин вынужден проводить вынужденный гормональный контроль половых циклов и беременности. В связи с этим в настоящее время резко возросли среди собак психосоматические заболевания, во многом копирующие заболевания у человека.

Ветеринарная статистика свидетельствует о том, что заболеваемость сук возросла в 2 – 5 раз за последние 15 – 20 лет, при этом на болезни молочных желез приходится от 10,6 до 45,4 % от обращаемости в ветеринарные клиники. Особое место среди этих болезней занимают мастопатии, которые снижают качество жизни, как домашних питомцев, так и их хозяина.

Мастопатия, возникает вследствие дисбаланса нейро – эндокринной системы организма и является пред раковым заболеванием. Абсолютная или относительная гиперэстрогемия и дефицит прогестерона, который возникает при искусственном гормональном контроле полового цикла и беременности приводит к неконтролируемому клеточному делению.

Существующие методы защиты здоровья молочной железы и их осложнений у сук неэффективны, поэтому важным является разработка дифференциальной диагностики, а также средств, способов и методов позволяющих провести восстановительную терапию. Проблема дифференциальной диагностики заболеваний молочной железы у собак в ветеринарии по мнению большинства практикующих ветеринарных врачей не достаточно и квалифицированно разработана.

Актуальность проблемы определяется также тем, что некоторые пролиферативные формы мастопатии с гиперплазией альвеолярного эпителия рассматриваются как факторы повышенного риска развития злокачественной опухоли молочной железы. Разработка и внедрение в ветеринарную практику ранней дифференциальной диагностики мастопатии и выбора рационального эффективного метода, как терапии, так и профилактики, позволит осуществить защиту здоровья молочной железы животного, что существенно снизит психосоматическую заболеваемость в среде обитания домашних животных.

Степень разработанности темы. Проблеме заболевания молочной железы у собак посвящены работы Л.Н. Сидоренко, М.Н. Якуниной, И.Ю. Бибиной, А.Н. Мартынова которые считают, что мастопатия у сук имеет полиорганный этиологию, а процессы пролиферации, секреции и регрессии протекают в молочной железе сук под непосредственным контролем и участием нейроэндокринной системы организма.

По наблюдениям С.Н. Мищенко, И.Ю. Бибиной, жизнедеятельность домашних животных подвергается воздействию однотипных факторов, поскольку они находятся рядом с человеком, поэтому эндокринный статус организма животного, а также рецепторная функция структурных элементов молочной железы постоянно изменяется, что может привести к патологии.

В практической ветеринарии (А.С. Рыхлов, Г.С. Терентюк, Е.П. Космачева) установили, что недооценка особенности течения патологических процессов в тканях молочной железы и рассмотрения новообразования без детальной морфологической и

функциональной оценки организма находящегося в конкретных условиях существования чревата последствиями. Так, проведенными ими гистологическими исследованиями операционного материала, рак молочной железы сочетается с фиброзно-кистозной болезнью в 50,0 % случаев. В их исследованиях установлено, что опухоли молочных желез по своей агрессивности и метастазированию приводят к летальному исходу даже после радикальной мастовариоэктомии.

Сочетание различных аспектов метаболических расстройств, дисгормональных взаимоотношений, нейрогуморальных изменений и факторов стресса у самок плотоядных при мастопатии - рассматривался не только онкологами, но и акушерами – гинекологами и терапевтами. Это обусловлено тем, что конституционально-типологические особенности центральной нервной системы и индивидуально - акцентуационные особенности у собак, находящихся в постоянном контакте с человеком, могут быть задействованы в нарушении интегративных церебральных систем над сегментарного уровня, прежде всего лимбико - ретикулярного комплекса, а следовательно в появлении гормональных и соматических расстройств.

К сожалению, данные работы не отражают проблему дифференциальной диагностики заболеваний молочной железы и эндокринологических механизмов развития мастопатии у сук. Во многих случаях мастопатию рассматривают как рак, несмотря на то, что термином «мастопатия» принято обозначать группу дисгормональных доброкачественных заболеваний молочных желез, характеризующихся гиперплазией ее железистой ткани.

В условиях антиоксидантной недостаточности реализуется роль свободно радикальных механизмов в индукции мутационных повреждений, что приводит к активации процессов перекисидации липидов. В то же время данные о состоянии различных звеньев антиоксидантной защиты и прогностической значимости исследования антиоксидантного статуса у больных с овариальными нарушениями и дисгормональной мастопатией отсутствуют.

Несмотря на довольно большое количество работ по изучению заболеваний молочной железы, проблема дифференциальной диагностики и лечения далека от разрешения, о чем свидетельствует большое число животных, поступающих в клиники с генерализованными формами опухолей молочных желез у собак.

Цель и задачи. Целью работы явилось разработка критериев дифференциальной диагностики мастопатии у собак и обоснование применения нестероидных антиэстрогенов в сочетании с комплексом антиоксидантов и современных компьютерных технологий.

В соответствии с поставленной целью определены следующие **задачи**:

- выявление клинико – морфологических критериев на основе оценки чувствительности и специфичности гормональных и метаболических показателей;
- разработать алгоритм дифференциальной диагностики заболеваний молочной железы у собак с использованием современных компьютерных технологий, а именно детерминационного анализа;
- определение состояния морфо - биохимических, метаболических и гормональных параметров организма, а также изменения статуса системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» у собак больных дисгормональной мастопатией;
- изучение функционально обоснованной терапевтической эффективности применения нестероидных антиэстрогенных препаратов в сочетании с комплексом антиоксидантов при дисгормональной мастопатией у сук.

Объект исследования. Суки с нарушением функции молочной железы. Молочная железа. Препарат «Тамоксифен». Комплекс антиоксидантов. Рентген – аппарат. УЗИ –

прибор.

Предмет исследования. Состояние гомеостаза организма животного. Кровь и ткани молочной железы здоровых и больных животных. Клинические, морфологические, цитологические, гистологические, биохимические и гормональные исследования.

Научная новизна. Впервые:

- выявлены информативные маркеры по результатам рентгенологических и эхографических исследований больных животных, а также дана морфометрическая характеристика молочной железы при дисгормональной мастопатии с использованием детерминационного анализа;

- получены сведения о высокой диагностической значимости показателей системы «ПОЛ-АОЗ», которые во многих случаях имеют большую чувствительность и специфичность в сравнении с гормональными показателями, традиционно используемыми в диагностическом алгоритме у собак с овариальными нарушениями и дисгормональной мастопатией;

- показано, что развитие дисгормональной мастопатии в 46,6 % случаев сопровождается гиперэстрогенией и изменением активности процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты, а также нарушением автономной регуляции сердца с повышенной вариабельностью сердечного ритма, и усилением тонических влияний парасимпатического отдела нервной системы;

- разработаны критерии для назначения больным животным нестероидного антиэстрогенного препарата «Тамоксифен» в сочетании с комплексом антиоксидантов и доказано, что длительное применение комплексной гормональной и антиоксидантной терапии клинически и гистологически эффективно, что сопровождается снижением уровня эстрогенов, нормализации системы «ПОЛ-АОЗ», со снижением частоты вариабельности сердечного ритма.

Теоретическая и практическая значимость работы. В работе разработаны пути оптимизации дифференцированной диагностики у собак овариальных нарушений и дисгормональной мастопатии с использованием рентгенологических, эхографических, цитологических, и гистологических методов. Полученные результаты позволяют обосновать в практической деятельности ветеринарных клиник определение продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантов в качестве значимых диагностических маркеров метаболических нарушений при мастопатии у сук. Апробирован и предложен рациональный метод лечения различных форм мастопатии у собак с нормализацией гормонального статуса и системы «ПОЛ-АОЗ». Дана оценка эффективности и переносимости нестероидного антиэстрогенного препарата «Тамоксифен» в сочетании с комплексом антиоксидантов при различных формах мастопатии у сук.

В работе получены данные, которые использованы:

- практикующими ветеринарными специалистами ветеринарных клиник различных форм собственности г. Саратова при установлении дифференциального диагноза на мастопатию, профилактику и лечение данного заболевания у сук;

- в учебном процессе ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ и ФГБОУ ВО МВА при изучении дисциплины «Акушерство и гинекология», на курсах повышения квалификации практикующих ветеринарных врачей.

Методология и методы исследования. Экспериментальные и клинические исследования выполнены с использованием методологии планирования опытов путем формирования (по принципу аналогов) подопытных и контрольных групп собак с заболеванием молочной железы. Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования. При обработке экспериментальных и

клинических данных были использованы методы математической статистики с применением современных технических средств.

Степень достоверности, апробация результатов. Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а клинические, диагностические и экспериментальные исследования проведены на сертифицированном современном оборудовании. Достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Результаты диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ (Саратов, 2011-2014), на VIII, IX, X Международном симпозиуме «Состояние и перспективы развития практикующей ветеринарной медицины» (Москва, 2011, 2012, 2013); Международной научно-производственной и учебно-методической конференции «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2011); Всероссийской научно-практической конференции Северо-Западного региона РФ (Санкт-Петербург, 2012); Поволжской научно-практической конференции (Саратов, 2011, 2012, 2013).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, общим объемом 3,85 п.л. из которых 2,25 п.л. принадлежат лично соискателю, 3 из них опубликованы в рецензируемых научных изданиях рекомендованных перечнем ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертационное исследование изложено на 107 страницах машинописного текста компьютерного набора, состоит из введения, 5-ти глав, заключения, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована – 20 таблицами, – 15 рисунками. Список литературы содержит 134 источника, из них 26 на иностранных языках.

Положения, выносимые на защиту:

- дифференцированную диагностику мастопатии проводить с использованием рентген, - УЗИ, цито и гистологических методов. У собак больных мастопатией активация пролактинергической функции гипофиза и относительное увеличение уровня ФСГ коррелирует с накоплением первичных и промежуточных продуктов ПОЛ, а прогестероновая недостаточность ассоциирована со снижением активности супероксиддисмутазы;

- диагностическая значимость гормонально - метаболических показателей у сук больных мастопатией характеризуется большей специфичностью кетодиенов и сопряженных триенов в сравнении с прогестероном, большей чувствительностью диеновых конъюгатов и ретинола, чем эстрадиола, пролактина и ФСГ. Чувствительность показателей системы глутатиона, супероксиддисмутазы и эстрадиола сопоставимы, а снижение уровня аскорбата имеет большее диагностическое значение, чем повышение уровня пролактина и ФСГ;

- применение нестероидных антиэстрогенов в сочетании с комплексом антиоксидантов при различных формах мастопатии у сук клинически и гистологически эффективно, что сопровождается достоверным снижением эстрогенов крови, нормализацией системы «ПОЛ-АОЗ».

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ И ОПЫТОВ

Работа выполнена на кафедре «Болезни животных и ВСЭ» факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», а также учебно – научно – технологическом центре «Ветеринарный госпиталь» ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ в период 2010 – 2017гг. При изучении распространения различных форм мастопатий использовались отчетные материалы ветеринарных клиник различных организационно-правовых форм собственности г. Саратова. Материалом служили собаки различных пород и возрастов, содержащихся в домашних условиях. Для данной работы был проведен анализ историй болезни 127 животных с мастопатией. Предварительный диагноз ставился на основании клинических, рентгенографических и эхографических исследований. Подтверждение диагноза проводилось по результатам цито - гистологического исследования биопсийного материала.

На первом этапе работы до лечения у всех больных оценивали клинические проявления мастопатии, гормональный статус по содержанию в сыворотке крови эстрадиола, прогестерона, ЛГ, ФСГ, пролактина. Для гематологических исследований применяли ветеринарный автоматический гематологический анализатор крови Абакус Джуниор Pse 90 Vet (Automatic Veterinary производство Германия) и биохимический анализатор крови ChemWellcombiModels 2902 and 2910 (производства USA, Florida). Для изучения вегетативной регуляции сердечного ритма, отражающей защитно-приспособительную деятельность организма, применяли метод автоматизированной компьютерной кардиоинтервалографии (Баевский Р.М. с сотр., 1984).

На втором этапе работы, больным животным провели полный курс лечения. Препараты применяли в терапевтической дозе согласно инструкции по их применению (таблица 1). Для проведения патогенетической терапии было выбрано 60 сук с дисгормональной мастопатией:

- 15 сукам (1 группа) назначали нестероидный антиэстрогенный препарат «Тамоксифен[®]» в терапевтической дозе 1 мл на 10 кг массы тела животных;
- во второй группе (n = 15) терапия больных животных включала «Тамоксифен[®]», витамин С (50 мг), L- глутатион (50 мг), а-липоевую кислоту (100 мг), L-цистеин (100 мг), лецитин (150 мг), селен (500 мкг) 1 раз в день;
- третьей группе (n = 15) животным назначали комплексное лечение: препарат «Тамоксифен[®]», 1% крем прожестожель по 2,5 гр. на каждую молочную железу два раза в сутки, а также жирорастворимые витамины - токоферол (витамин Е) по 1 капсуле (400 мг) в сутки, ретинол (витамин А) 33000 МЕ в сутки, витамин С (50 мг), L-глутатион (50 мг), а-липоевую кислоту (100 мг), L-цистеин (100 мг), лецитин (150 мг), селен (500 мкг) 1 раз в день и препарат «Тамоксифен» в терапевтической дозе.

На третьем этапе работы ретроспективно по данным клинического, гормонального и электрофизиологического исследования выявляли пределы, значимые для прогнозирования благоприятной переносимости каждого из препаратов, прогноза эффективности лечения и выделения группы высокого риска еще до или во время лечения.

Таблица 1 - Применение опытного препарата для лечения дисгормональной мастопатии у собак

№	Группа	Препарат	Доза	Способ применения
1	Опытная,	Нестероидный	1мл\10 кг веса	1.Орально

	собаки, ♀, 15 особей	антиэстрогенный препарат «Тамоксифен [®] »		
2	Опытная, собаки, ♀, 15 особей	Пищевая добавка (вит С, L- глутатион, а-липоевая к-та, L – цистеин, лецитин, селен)	1мл\10 кг веса	1.Орально 2.Орально
3	Опытная, собаки, ♀, 15 особей	«Тамоксифен [®] » + пищевая добавка (вит С, L- глутатион, а-липоевая к-та, L – цистеин, лецитин, селен)+ Прожестожель 1% крем	1мл\10 кг веса	1. Орально 2. Орально 3. Наружно
4	Опытная, собаки, ♀, 15 особей	Клинически здоровые	-	-

Определение концентраций пролактина, ЛГ, ФСГ, проводилось с использованием наборов «Диас» (Россия) и анализатора «Иммунотест-800». Определение концентраций тестостерона, эстрадиола и прогестерона иммуноферментным методом с использованием тест систем проводилось «АЛКОР-БИО» (Россия) и анализатора «EL 808 ultraMicroplateReader» фирмы Biotek Instruments, inc. (USA).

Первичные и промежуточные продукты пероксидации липидов оценивались по содержанию изолированных двойных связей, кетодиенов и сопряженных триенов (КДиСТ) и диеновых конъюгатов (ДК), вторичные — по содержанию манолового диальдегида (МДА). Полученные данные выражали в мкмоль/л, КДиСТ - в усл. ед. *Общая антиокислительная активность* оценивалась с использованием модельной системы. Антиокислительную активность выражали в усл.ед.

Определение а-токоферола проводили путем омыления проб в присутствии больших количеств аскорбиновой кислоты. В качестве внешнего стандарта использовали: D, L, а-токоферол фирмы «Serva». Содержание а-токоферола выражали в мкмоль/л.

Определение ретинола осуществляется одновременно с а-токоферолом. Содержание ретинола выражали в мкмоль/л. *Определение восстановленного глутатиона (GSII), окисленного глутатиона (GSSG)* флуориметрическим методом (Hissin, Hilf, 1976). Содержание GSII и GSSG выражали в мкмоль/л. *Определение активности супероксиддисмутазы (СОД)*. СОД выражали в усл.ед.

Ультразвуковое исследование проводили на аппарате MyLab 40 VetEsaote «производства, Италия». Для рентгенографии у плотоядных применяли цифровой рентгенологический комплекс ВАТЕЛ-1 (производства, Корея).

Статистическое сравнение долей с оценкой достоверности различий выполняли с учетом поправки Йетса на непрерывность. Все статистические процедуры проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МАСТОПАТИИ У СОБАК

Выявление факторов обуславливающих группу риска собак по мастопатии.
За период с 2010 по 2017 гг. клиническому осмотру подвергнуто 1205 животных,

поступивших в ветеринарные клиники, больных незаразными болезнями. Среди этих животных патология со стороны репродуктивной системы выявлена у 437 собак. Из них 127 сукам был поставлен диагноз мастопатия. Инцидентность заболеваний составила 42,69 % популяции этих животных, а инцидентность заболеваний молочной железы составила 24,28 %. Так дисгормональная дисплазия регистрируется у 52,9 %, диффузная фиброзно-кистозная мастопатия у 31,6 %, локализованный фибро-аденоматоз у 15,5 % сук.

Кроме того было установлено, что 53,5 % собак с мастопатиями имели в анамнезе нарушения полового цикла, ложную щенность и псевдолактацию. Мастопатия у 11,2 % собак характеризовалась применением владельцами животных гормональных контрацептивов. У 35,3 % самок наблюдались нарушения полового цикла: нимфомания – 8,08 %, гипоэстральный синдром – 12,30 %, гиперэстральный синдром – 33,59 %, анэстральный синдром – 20,18, нерегулярность половых циклов – 25,85 %. При обследовании яичников, выявили, что 37,8 % из них имели кистозные изменения яичников. При этом чаще всего постдиэстральный синдром (26,4 %) и патологии яичников (35,8 %) наблюдали у самок с дисгормональной мастопатией молочных желез. При диффузной фибринозно-кистозной мастопатии данная патология встречалась у 15,1 % при псевдолактации, у 28,3 % с поликистозом яичников, у 30,0 % при фолликулярных кистах и у 26,6 % сук при лютеиновых кистах яичников.

Клиническая симптоматика, характера проявления и макроструктуры различных форм мастопатии у собак.

Для заболевания дисгормональной дисплазией молочной железы характерны следующие диагностические признаки: состояние животного, от удовлетворительного до средней тяжести, температура повышена на 1 -1,5°C, пульс в пределах нормы, тип дыхания грудобрюшной, симметричное, без посторонних шумов, часто отмечается одышка; функциональное состояние сердечнососудистой системы и работа сердца могут быть связаны с интоксикацией, при обнаружении шумов или иных нарушений проводятся дополнительные исследования ЭКГ, биохимический анализ крови; цитограмма непролиферативной формы мастопатии характеризуется образованием гроздевидных структур в пределах дольки, фиброзом соединительнотканной основы дольки.

Для заболевания собак диффузной фибринозно-кистозной мастопатии характерны следующие диагностические признаки: клинически проявляется в виде длительно существовавшей (от 12 мес. до 2-х лет) твердой однородной опухоли размером от 1 до 5 см, безболезненной, подвижной; из соска наблюдаются серозно-гнойные выделения, опухоль увеличивается равномерно, независимо от половых циклов самок; опухоль имеет тонкую капсулу, но имеет четкую границу, поверхность разреза серо-розовая и имеет дольчатое строение узла.

Для заболевания собак локализованным фиброаденоматозом характерны следующие диагностические признаки: клинически проявляется от 1 года до 4 лет, не вызывая настороженности у владельцев собак, опухоль расположена в 4 и 5 пакетах молочной железы, из-за местного воспалительного процесса и метастазирования наблюдаются изменения со стороны регионарных лимфоузлов; изъязвление опухоли возникает на фоне травмирования при движении, нарушении трофики в сдавленных опухолью тканях молочной железы, отмечается самотравматизация животных (разлизывания и разгрызания опухолей), что свидетельствует о зуде, болезненности аденокарциномы и дискомфорта; макроскопически хорошо видна капсула вокруг аденокарциномы серовато-желтого

или белого цвета и атрофия тканей молочной железы коричневатого цвета, в толще опухоли были видны очаги кровоизлияний и некрозов, абсцессы.

Проведенные нами клинические наблюдения и исследования позволили разработать алгоритм симптоматики различных форм мастопатии, данные представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Алгоритм клинических признаков различных форм мастопатии у сук

Характеристика пальпируемых участков	Выделения из сосков	Клиническое заключение	Ультразвуковые критерии тяжести
Не пальпируется	нет	Здоровы	Неизменная ткань
Уплотнения эластической консистенции	Редки	Дисгормональная мастопатия	Определяются железистые дольки с расширенными молочными протоками.
Определяются диффузные участки уплотнений от мелко до крупнозернистых	Возможны	Диффузная фиброзно-кистозная мастопатия с	Структура железистой ткани нарушена, отмечаются выраженные диффузные фиброзные изменения, молочные протоки кистозно расширены, определяются одна или несколько кист.
Определяются комкообразные уплотнения	Часто встречаются	Локализованный фибро-аденоматоз	Определяются гиперплазированные железистые дольки, кисты, окруженные зоной локального фиброза, кистозно расширенные молочные протоки.

Применение данного алгоритма в практической ветеринарии позволяет ветеринарному специалисту - кинологу на первом этапе клинического обследования животного обратить внимание на классические признаки мастопатии и назначить специальные и специфические исследования для постановки диагноза и назначения курса лечения.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ МАСТОПАТИИ У СОБАК

Цитологическая и гистологическая характеристика различных форм мастопатии у сук

В результате проведенных гистологических исследований на долю аденом молочных желез приходится 18,0 % случаев. Морфологически дисгормональная дисплазия характеризуется атрофическими дольками и расширенными протоками. Эпителий темный, наблюдается аденоз терминальных протоков, который характеризуется участками апокринной метаплазии эпителия с образованием сосочковых структур (рисунок 1).

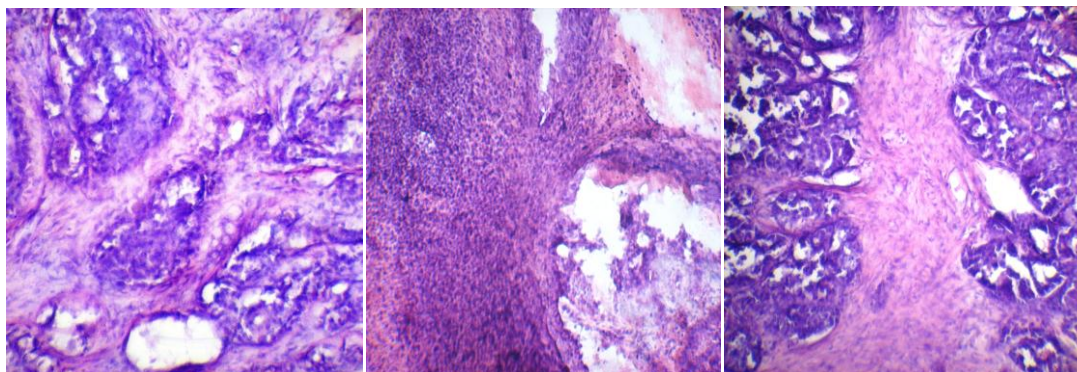


Рисунок 1

Дисгормональная
дисплазия молочной
железы у сук

Рисунок 2

Диффузная
фиброзно-кистозная
мастопатия

Рисунок 3

Локализованный
фиброаденоматоз

Диффузная фиброзно-кистозная мастопатия (рисунок 2) характеризуется атрофированным эпителием, крупные клетки с эозинофильной цитоплазмой лежат в один слой или образуют мелкие сосочки. Для диффузной фиброзно-кистозной мастопатии характерно внутриэпителиальное расположение в пределах долек при сохраненной архитектонике долек, при этом структуры, образующие дольки, были представлены полиморфным эпителием. В расширенных протоках встречаются группы однотипных клеток с обильной эозинофильной цитоплазмой. Просветы, очерченные округлыми клетками с митозами. При этом отмечается перидукулярная лимфоидная инфильтрация, которая сопровождается различной степенью выраженности – от слабой до ярко выраженной. Для локализованного фиброаденоматоза характерно внутриэпителиальное расположение в пределах долек, при сохраненной архитектонике долек. Морфологически локализованный фиброаденоматоз (рисунок 3) представлен разнообразными структурами: трабекулярными, альвеолярными, железисто-сосочковыми и солидными участками. Среди скоплений слизи обнаруживаются железисто подобные формирования мноморфных клеток, содержащие в цитоплазме слизь. В поле зрения микроскопа локализованный фибро-аденоматоз представлен полями из крупных клеток с пузырьковидным ядром, которые содержат заметные полиморфные, но слабо гиперхромные ядрышки. Часто встречаются атипические фигуры митоза. Строма диффузно инфильтрирована лимфоидными и плазматическими клетками.

Рентгенологические и эхографические данные дифференциальной диагностики различных форм мастопатии

Проведенными исследованиями установлено, что критерием постановки диагноза на мастопатию были наличие симптомов поражения молочной железы, которые устанавливали рентгенографическими и сонографическими исследованиями (рисунок 4,5,6).

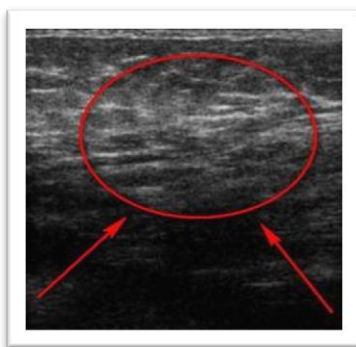


Рисунок 4
УЗИ, дисплазия
молочной железы

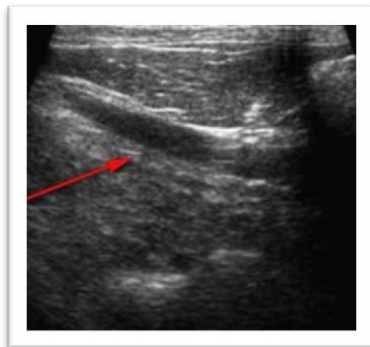


Рисунок 5
УЗИ, фиброзно-
кистозная мастопатия

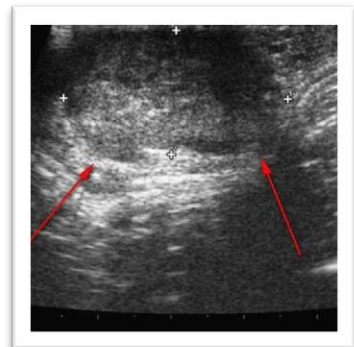


Рисунок 6
УЗИ, локализованный
фиброаденоматоз

Анализ эхографических УЗИ-диаграмм мастопатий свидетельствует о том, что дифференциальный диагноз на мастопатию необходимо осуществлять в связи с нарушением общего состояния и увеличением матки, устанавливаемое эхографией через брюшную стенку.

Особенности вегетативной регуляции сердечного ритма у больных собак мастопатией

Представленные электрокардиограммы у сук при дисплазиях нервной системы, на что указывали повышенные показатели RMSSD (на 28,1%) при NN50 (на 24,8 %). Выявлялись и постепенно нарастали признаки гипоксии миокарда, зубец Т становится уплощенным, двухфазным или отрицательным с заостренной вершиной. Характерно увеличение амплитуды зубца Т в основных отведениях и отведении rV_5 .

Среднее артериальное давление, у сук с дисплазиями молочной железы, было несколько выше, чем у клинически здоровых животных, и достигало $120 \pm 11,2$ мм рт.ст. У животных больных дисгормональной мастопатией центральное венозное давление практически не отличалось от показателей клинически здоровых животных, но при диффузной фибринозно-кистозной мастопатии снижалось на 26,8 %, при локализованном фиброаденоматозе на 73,2 %.

Таким образом, при измерении артериального давления с помощью реографа-полианализатора нами отмечена тенденция к повышению артериального давления у животных, больных дисплазией на 13,4 %, при доброкачественных опухолях в среднем на 27,8 %, а злокачественных на 38,8 %, от показателей клинически здоровых животных.

ИЗМЕНЕНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У СОБАК БОЛЬНЫХ МАСТОПАТИЕЙ И ВЫЯВЛЕНИЯ ИНФОРМАТИВНЫХ МАРКЕРОВ

При анализе результатов, полученных у собак с диагнозом мастопатия, был выявлен слабовыраженный лейкоцитоз. Количество эритроцитов у собак с дисгормональной мастопатией соответствующие норме составляет 39,4 %, а у сук с пониженным содержанием эритроцитов - 63,5 %. Содержание креатинина в сыворотке крови клинически здоровых собак составляет $88,23 \pm 1,27$ мкмоль/л. В то же время у сук с диффузной фибринозно-кистозной мастопатией, данный показатель оказался в 1,4 раза, а с локализованным фиброаденоматозе в 1,5 раза выше ($p < 0,01$).

Отмечается увеличение общего билирубина ($p < 0,05$) у сук с мастопатиями при абсолютном увеличении прямого билирубина в 1,37 раза ($p < 0,05$) и 1,41 раза ($p < 0,05$),

в то время как соотношение общего билирубина возрастает в 1,9 раза ($p < 0,05$) и 2,5 раза ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с клинически здоровыми животными. Практически все животные (82,54 %) имели повышенные значения АсАТ и АлАТ.

У больных сук с гиперпластическими процессами молочной железы содержание эстрадиола было выше на 33,7 % ($p < 0,05$), ЛГ - на 27,2 % ($p < 0,05$), а содержание пролактина — снижено на 23,8% ($p < 0,05$). У 47,2 % собак с мастопатией содержание эстрадиола превышало верхнюю границу нормы в 115 пг/мл.

При сравнении концентраций двойных связей в крови можно отметить, что у собак с дисгормональной мастопатией наблюдается их повышение на 20,46 % при диффузной фибринозно-кистозной мастопатии и на 34,13 % локализованном фиброаденоматозе (таблица 3).

Уровень диеновых конъюгатов в крови собак с дисгормональной мастопатией в сравнении с диффузной фибринозно-кистозной мастопатией был статистически значимо повышен ($p < 0,05$), а с локализованным фиброаденоматозе в 1,87 раза ($p < 0,01$). Содержание малонового диальдегида при дисгормональной мастопатии составляет $1,125 \pm 0,34$ мкмоль/л, а при фибринозно-кистозной мастопатии повышается в 1,11 раза, а в сравнении с локализованным фиброаденоматозе в 1,35 раза ($p < 0,05$).

Таблица 3 - Колебания первичных, промежуточных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в крови больных собак мастопатией

Показатели	Дисгормональ ные дисплазии	Диффузная фиброзно- кистозная	Локализованный фиброаденоматоз
Изолированные двойные связи (усл. ед.)	$1,386 \pm 0,4$	$1,644 \pm 0,41^*$	$1,859 \pm 0,3^{**}$
Диеновые конъюгаты (мкмоль/л)	$0,372 \pm 0,07$	$0,509 \pm 0,19^*$	$0,695 \pm 0,32^{**}$
Кетодиены и сопряженные триены (усл. ед.)	$0,106 \pm 0,07$	$0,186 \pm 0,05^*$	$0,375 \pm 0,12^{**}$
Малоновый диальдегид (мкмоль/л)	$1,125 \pm 0,34$	$1,251 \pm 0,26$	$1,519 \pm 0,54^*$
А-токоферол (мкмоль/л)	$8,16 \pm 0,38$	$7,57 \pm 0,41$	$6,98 \pm 0,59$
Ретинол (мкмоль/л)	$2,523 \pm 0,52$	$1,785 \pm 0,39$	$1,543 \pm 0,61$
Глутатион восстановленный (мкмоль/л)	$1,546 \pm 0,16$	$1,756 \pm 0,34$	$2,054 \pm 0,44$
Глутатион окисленный (мкмоль/л)	$2,879 \pm 0,32$	$2,146 \pm 0,56$	$1,747 \pm 0,26$
Супероксиддисмутаза (усл. ед.)	$1,736 \pm 0,37$	$1,323 \pm 0,29$	$1,087 \pm 0,34$

Из полученных данных следует, что показатели системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» обладают достаточно высокой диагностической ценностью. Например, при снижении супероксиддисмутаза менее 1,55 усл. ед. можно выявить 82,0 % сук с диффузной дисгормональной мастопатией и только у 25,0 % пациентов этот показатель будет неинформативен. Среди изученных показателей наименьшей чувствительностью - 26,0 % и специфичностью - 43,0 % является восстановленный глутатион.

Чувствительность у показателей диеновых конъюгатов и ретинола выше, чем у эстрадиола и пролактина, а у системы глутатиона окисленного и супероксиддисмутаза сравнима с таковой для эстрадиола. Диагностическая значимость исследования уровня

аскорбата у собак с дисфункцией яичников и дисгормональной мастопатией, хотя и уступает «золотому стандарту» - определению концентрации прогестерона, превышает такую для пролактина.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕСТЕРОИДНОГО АНТИЭСТРОГЕННОГО ПРЕПАРАТА «ТАМОКСИФЕН®» В СОЧЕТАНИИ С КОМПЛЕКСОМ АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ МАСТОПАТИИ У СОБАК

Для проведения патогенетической терапии было выбрано 60 сук с дисгормональной мастопатией.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что ультразвуковое исследование через две недели от начала применения препаратов показывает существенное статистически достоверное восстановление эхограмм молочной железы, а также яичников и толщины эндометрия до показателей клинически здоровых животных.

Следует отметить, что применение нестероидного антиэстрогенного препарата «Тамоксифен®» в сочетании с комплексом антиоксидантов при мастопатии у сук оказывает на коррекцию состояний срединного эха пакетов молочной железы, объема яичников и толщины эндометрия более мягкое постепенное воздействие. Через 2 месяца от начала лечения и после окончания терапии размеры М-эхо были в пределах нормы в обеих группах. Терапевтическая эффективность применения препарат «Тамоксифен®» в сочетании с комплексом антиоксидантов при мастопатии у сук представлена в данных таблицы 4.

Таблица 4- Клинико-морфологическая эффективность терапии больных сук дисгормональной мастопатией

Период после окончания лечения	Полный терапевтический эффект, %	Клиническое рецидивирование, %	Морфологическое рецидивирование, %
I группа больных нестероидный антиэстрогенный препарат «Тамоксифен®» (n=15)			
Через 2 недели.	90,00	-	10,00
Через 2 месяца	85,00	5,00	10,00
Через 3 месяца	80,00	10,00	20,00
II группа больных «Тамоксифен®», «Витамин С, L- глутатион, 1% крем прожестожель, а-липоевая кислота, L-цистеин, лецитин, ретинол, селенолин» (n=15)			
Через 2 недели	95,65	-	4,35
Через 2 месяца	85,65	4,35	10,00
Через 3 месяца	86,6	6,00	7,4
III группа больных «Тамоксифен®», 1% крем прожестожель, токоферол, ретинол, витамин С, L- глутатион, а-липоевую кислота, L-цистеин, лецитин, селенолин (n=15)			
Через 2 недели	96,15	-	3,85
Через 2 месяца	91,30	4,5	4,20
Через 3 месяца	93,31	3,5	3,1

Анализ представленных материалов свидетельствует о том, что в результате

применения нестероидного антиэстрогенного препарата «Тамоксифен®» стойкий клинический эффект наблюдается у 90,0 % больных собак. Морфологическое рецидивирование установленное эхографическими исследованиями отмечается у 10,0 % сук. При наблюдении животных через два месяца от начала лечения полный клинический эффект наблюдается у 85,0 % животных, при этом у 5,0 % животных отмечено клиническое рецидивирование, а 10,0 % сук морфологическое рецидивирование. Исследования проведенные через 3 месяца от начала лечения наблюдается у 10,0 % сук клиническое, а у 20,0 % животных гистологическое рецидивирование мастопатии.

Применение комплекса препаратов «Тамоксифен®», «Витамин С, L- глутатион, а-липоевая кислота, L-цистеин, лецитин, селенолин» 23 больным сукам мастопатией отмечается через две недели от начала лечения морфологическое рецидивирование у 4,35 % животных. Наблюдения, проведенные через два месяца от начала лечения показали клиническое рецидивирование у 4,35 % сук, а морфологическое у 10,0 % животных. Проведенные исследования больных сук с дисгормональной мастопатией через три месяца от начала лечения выявили клиническое рецидивирование у 6,0 % сук, морфологическое у 7,4 % животных.

Применение нестероидных антиэстрогенных препаратов «Тамоксифен®», 1% крем прожестожель, антиоксидантного комплекса (токоферол, ретинол, витамин С, L-глутатион, а-липоевую кислоту, L-цистеин, лецитин, селенолин) 23 больной суки дисгормональной мастопатией отмечается через две недели от начала лечения морфологическое рецидивирование у 3,85 % животных. Полный клинический эффект наблюдается у 96,15 % больных сук. Наблюдения, проведенные через два месяца от начала лечения показывает, что у 8,7 % сук регистрируется клинико – морфологическое рецидивирование. Исследование животных через три месяца после окончания лечения у 93,31 % сук после применения комплекса нестероидного антиэстрогенного препарата «Тамоксифен®» и комплекса антиоксидантных препаратов: 1% крем прожестожель, токоферол, ретинол, витамин С, L- глутатион, а-липоевую кислоту, L-цистеин, лецитин, селенолин отмечено полное выздоровление.

Таким образом, для самок плотоядных, длительно принимающих нестероидный антиэстрогенный препарат «Тамоксифен®» в сочетании с комплексом антиоксидантов, важен контроль над показателями сердечно - сосудистой системы для предупреждения неблагоприятных последствий терапии

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Дисгормональная дисплазия регистрируется у 52,9 %, диффузная фиброзно-кистозная мастопатия у 31,6 %, локализованный фиброаденоматоз у 15,5 % сук. У 53,5 % собак с мастопатиями имели в анамнезе нарушения полового цикла, ложную щенность и псевдолактацию. Мастопатия у 11,2 % собак характеризовалась применением владельцами животных гормональных контрацептивов. У 35,3 % самок наблюдались нарушения полового цикла: нимфомания – 8,08 %, гипоэстральный синдром – 12,30 %, гиперэстральный синдром – 33,59 %, анэстральный синдром – 20,18, нерегулярность половых циклов – 25,85 %. При обследовании яичников, выявили, что 37,8 % из них имели кистозные изменения яичников.

2. Для заболевания собак дисгормональной дисплазией молочной железы характерны следующие диагностические признаки: гиперплазия и отечность молочной железы, из сосков может выделяться молозиво, молоко или воспалительный экссудат. Диффузная фибринозно-кистозная мастопатия проявляется в виде длительно существовавшей (от 12 мес. до 2-х лет) твердой однородной опухоли размером от 1 до

5 см, безболезненной, подвижной; из соска наблюдаются серозно-гнойные выделения. Локализованный фиброаденоматоз характеризуется проявлением от 1 года до 4 лет, опухоль расположена в 4 и 5 пакетах молочной железы, макроскопически хорошо видна капсула вокруг аденокарциномы серовато-желтого или белого цвета и атрофия тканей молочной железы коричневатого цвета.

3. Морфологически дисгормональная дисплазия характеризуется атрофическими дольками и расширенными протоками. Эпителий темный, наблюдается аденоз терминальных протоков, который характеризуется участками апокринной метаплазии эпителия с образованием сосочковых структур. Для диффузной фиброзно-кистозной мастопатии характерна перидукулярная лимфоидная инфильтрация, которая сопровождается различной степенью выраженности – от слабой до ярко выраженной. Для локализованного фиброаденоматоза характерно внутри эпителиальное расположение в пределах долек, при сохраненной архитектоники долек. В поле зрения микроскопа наблюдаются поля из крупных клеток с пузырьковидным ядром, которые содержат заметные полиморфные, но слабо гиперхромные ядрышки. Часто встречаются атипические фигуры митоза. Строма диффузно инфильтрирована лимфоидными и плазматическими клетками.

4. Концентрация промежуточных продуктов кетодиенов и сопряженных триенов в крови собак с дисгормональной мастопатией статистически значимо повышена в 1,75 раза в сравнении с диффузной фибринозно-кистозной мастопатией и в 3,54 раза с локализованным фиброаденоматозом. Содержание малонового диальдегида при дисгормональной мастопатии составляет $1,125 \pm 0,34$ мкмоль/л, а при диффузной фибринозно-кистозной мастопатии повышается в 1,11 раза, а в сравнении с локализованным фиброаденоматозом в 1,35 раза. Показатели системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» имеют высокую диагностическую ценность. При снижении супероксиддисмутазы менее 1,55 усл. ед. можно выявить до 85,0 % сук с мастопатией. Среди изученных показателей, наименьшей статистически достоверной чувствительностью (22,8 %) и специфичностью (44,6 %) является восстановленный глутатион.

5. Чувствительность у показателей диеновых конъюгативиретинола выше, чем у пролактина, а у системы глутатиона окисленного и супероксиддисмутазы сравнима с таковой для эстрадиола. Диагностическая значимость исследования уровня аскорбата у собак с дисфункцией яичников и мастопатией, хотя и уступает «золотому стандарту» - определению концентрации прогестерона, но превышает таковую для пролактина.

6. В результате применения нестероидного антиэстрогенного препарата «Тамоксифен[®]» стойкий клинический эффект наблюдается у 90,0 % больных собак. Морфологическое рецидивирование установленное эхографическими исследованиями отмечается у 10,0 % сук. При наблюдении животных через два месяца от начала лечения полный клинический эффект наблюдается у 85,0 % животных, при этом у 5,0 % животных отмечено клиническое рецидивирование, а 10,0 % сук морфологическое рецидивирование.

7. Применение комплекса антиоксидантных препаратов: «Витамин С, L-глутатион, а-липовая кислота, L-цистеин, лецитин, селенолин» 15 больным сукам мастопатией отмечается через две недели от начала лечения морфологическое рецидивирование у 4,35 % животных. Наблюдения, проведенные через два месяца от начала лечения показали клиническое рецидивирование у 4,35 % сук, а морфологическое у 10,0 % животных. Проведенные исследования больных сук с дисгормональной мастопатией через три месяца от начала лечения выявили клиническое рецидивирование у 6,0 % сук, морфологическое у 7,4 % животных.

8. Применение нестероидных антиэстрогенных препаратов «Тамоксифен®» комплекса антиоксидантных препаратов: 1% крем прожестожель, токоферол, ретинол, витамин С, L- глутатион, а-липоевую кислоту, L-цистеин, лецитин, селенолин) 15 больной суки дисгормональной мастопатией отмечается через две недели от начала лечения морфологическое рецидивирование у 3,85 % животных. Полный клинический эффект наблюдается у 96,15 % больных сук. Наблюдения, проведенные через два месяца от начала лечения показывает, что у 8,7 % сук регистрируется клинико – морфологическое рецидивирование. Исследование животных через три месяца после окончания лечения у 93,31 % сук отмечено полное выздоровление.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

- практикующим ветеринарным врачам рекомендуется алгоритм клинических признаков для дифференциальной диагностики различных форм мастопатии у сук

Характеристика пальпируемых участков	Выделения из сосков	Клиническое заключение	Ультразвуковые критерии тяжести
Не пальпируется	нет	Здоровы	Неизменная ткань
Уплотнения эластической консистенции	Редки	Дисгормональная мастопатия	Определяются железистые дольки с расширенными молочными протоками.
Определяются диффузные участки уплотнений от мелко до крупнозернистых	Возможны	Диффузная фиброзно-кистозная мастопатия с	Структура железистой ткани нарушена, отмечаются выраженные диффузные фиброзные изменения, молочные протоки кистозно расширены, определяются одна или несколько кист.
Определяются комкообразные уплотнения	Часто встречаются	Локализованный фиброаденоматоз	Определяются гиперплазированные железистые дольки, кисты, окруженные зоной локального фиброза, кистозно расширенные молочные протоки.

- больным дисгормональной мастопатией сукам показано лечение: препарат «Тамоксифен®» в терапевтической дозе 1 мл на 10 кг массы тела животного, 1,0 % крем прожестожель по 2,5 гр. на каждую молочную железу два раза в сутки, а также жирорастворимые витамины - токоферол (витамин Е) по 1 капсуле (400 мг) в сутки, ретинол (витамин А) 33000 МЕ в сутки, витамин С (50 мг), L - глутатион (50 мг), а - липоевую кислоту (100 мг), L - цистеин (100 мг), лецитин (150 мг), селен (500 мкг);

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

-при разработке системы диагностических технологий заболеваний молочной железы у плотоядных руководствоваться алгоритмом клинических признаков мастопатии индикаторам и ответственными за специфичность и чувствительность данной патологии у собак;

- при заболеваниях мочеполовой системы у домашних животных необходимо применение нестероидных антиэстрогенных препаратов в сочетании с антиоксидантными препаратами;

- для терапии болезней молочной железы у плотоядных фармакологическими

компаниями при производстве ветеринарных препаратов для лечения заболеваний молочной железы, использовать материалы, полученные в ходе диссертационного исследования.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

1. Пустотин Д.А. Клинико-морфологические критерии мастопатии у собак / В.С. Авдеенко, Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2012. – Т.49. – № 4 – 4. – с. 190 – 194.
2. Пустотин Д.А. Клинико-морфологическое обоснование применения препарата тамоксифен при мастопатии собак / Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов, В.С. Авдеенко, Д. Абдессамед // Аграрный научный журнал. – 2013. – № 01. – С. 23–26.
3. Пустотин Д.А. Диагностика и терапия мастопатии у собак / Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов, В.С. Авдеенко, Д.В. Кривенко // Аграрный научный журнал. – 2014. – № 08. – С.35–38.

Публикации в журналах, сборниках научных трудов и материалах конференций

1. Пустотин Д.А. Распространение и особенности проявления мастита у собак / Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов // Материалы междунаучно-практической конференции «Ветеринарная медицина. Современные проблемы перспективы развития». – Саратов. – 2010. – С.64 – 66.
2. Пустотин Д.А. Гематологические показатели у сук при мастопатии / Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов // Материалы междунаучно-практической конференции «Ветеринарная медицина. Современные проблемы перспективы развития». – Саратов. – 2010. – С.66 – 67.
3. Пустотин Д.А. Механизм возникновения и лечения мастопатии у сук / В.С. Авдеенко, Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов // Международная научно-практическая конференция «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» сборник работ молодых ученых. – Владикавказ. – 2011. – С.123–125.
4. Пустотин Д.А. Диагностика мастопатии у собак и применение препарата «Тамоксифен» для терапии данного заболевания / В.С. Авдеенко, Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов, Д. Абдессамед // Материалы междунаучно-практической конференции «Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизводства животных». – Воронеж. – 2012. – С.64 – 66.
5. Пустотин Д.А. Дифференциальная диагностика заболеваний молочной железы мастопатией у плотоядных. / Д. Абдессамед, В.С. Авдеенко, Д.А. Пустотин, А.С. Рыхлов // Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных: Материалы междунаучно-практической конференции // Горки. Белорусская ГСХА. – 2013. – С. 90 – 94.
6. Пустотин Д.А. Методы дифференциальной диагностики заболеваний молочной железы у собак / Д. Абдессамед, В.С. Авдеенко, Д.А. Пустотин, В.Н. Чучин // Актуальные вопросы ветеринарной медицины Сибири: Материалы международной.

научно-практической конференции (27-29 июня 2013 г, Улан-Удэ), Улан-Удэ. – 2013. – С. 8 – 10.

7. Пустотин Д.А. Рентгенологическое и эхографическое обоснование диагноза на мастопатию животных / Д. Абдессемед, Д.А. Пустотин, В.С. Авдеенко, А.С. Рыхлов // Современные проблемы ветеринарии, зоотехнии и биотехнологии: материалы Междунар. научно - практ. конф.; 13–14 марта 2013. – Саратов, 2013. – С. 226 – 229.

8. Верификация диагноза и терапия мастопатии у собак. / Д.А. Пустотин, В.С. Авдеенко, А.С. Рыхлов //Аграрная наука в XXI веке: проблемы и перспективы: Сборник статей VIII Всероссийской научно-практической конференции. / Под ред. И.Л. Воротникова. – Саратов, 2014. – С. 142–145.