

На правах рукописи

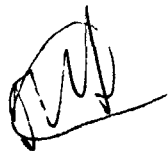
СЕЛИВАНОВ Геннадий Олегович

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
И МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ ПРИ ГИПОФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ**

Специальность: 16.00.07 – ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the bottom.

**Санкт-Петербург
2005**

Работа выполнена на кафедре внутренних незаразных болезней, акушерства и хирургии, факультета ветеринарной медицины в ФГОУ ВПО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина».

Научный руководитель –	кандидат ветеринарных наук, доцент Дуников Валентин Степанович
Официальные оппоненты:	доктор ветеринарных наук, профессор Андреев Геннадий Михайлович, доктор ветеринарных наук, профессор Турков Владимир Георгиевич
Ведущая организация –	Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия

Защита состоится 22 декабря 2005 года в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.02 при Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, улица Черниговская, 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины.

Автореферат разослан 19 ноября 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат ветеринарных наук



Сафронов Е.Н.

2006-4
29242

2260137

1. Общая характеристика работы

Актуальность темы

В последнее время сокращение валового производства продуктов животноводства объясняется именно выбраковкой коров по различным причинам. Так, в Вологодской области по причине нарушения воспроизводительной функции выбраковывают до 40% коров. Это самый крупный показатель среди других причин. Он включает в себя все нарушения репродуктивной системы, приводящие к бесплодию.

Первое место среди таких нарушений занимает гипофункция яичников, которая проявляется не только у первотелок, но и у коров вплоть до 3–5 лактации. В дальнейшем отмечается значительный спад гипофункциональных расстройств.

Согласно исследованиям этой проблемы, проводившимися многими авторами (Завадовский М.М., 1941; Студенцов А.П., 1953; Бочаров И.А., 1956; Шипилов В.С., 1960; Шаталов П.И., 1961; Зверева Г.В., 1969; Кононов Г.А. 1970; Черемисинов Г.А. 1972; Полянцев Н.И. 1974; Клинский Ю.Д. 1975; Прокофьев М.И. 1977; Нежданов А.Г. 1978; Буянов А.А. 1984; Турков В.Г., 1996; Давыдов В.У., Андреев Г.М. 2000; Дуников В.С. 2002; Чомаев А.М., Вареников М.В., 2003 и др.) было установлено, что первопричинами гипофункции яичников может быть как экзогенные, так и эндогенные факторы.

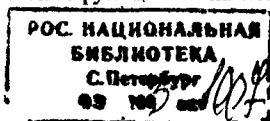
На сегодняшний день накоплен большой опыт применения различных методов лечения. Введение отдельных препаратов для восстановления функции репродуктивной системы недостаточно и малоэффективно. Только направленное применение схем включающих гормональные составляющие способствуют коррекции половой функции. Следовательно, изучение влияния таких схем является одним из важнейших условий для определения эффективных приемов воздействия на половую функцию и упрощения биотехнологии размножения.

Цели и задачи исследований

Целью исследований явилось изучение методов лечения гипофункции яичников у коров с выявлением наиболее эффективных схем.

В соответствии с этим были поставлены следующие задачи:

1. Изучить процент бесплодных коров с гипофункциональными расстройствами яичников.
2. Выявить отклонение биохимических показателей и гормонов в крови коров с гипофункцией яичников.
3. Предложить устройство для взятия биопсии яичников
4. Выявить гистологические изменения в яичниках коров с гипофункцией яичников.
5. Определить эффективную схему лечения гипофункции яичников у коров.



Научная новизна

Впервые в Вологодской области изучены гормональные отклонения у коров с гипофункцией яичников методом ИФА. Изучено и обосновано применение различных схем лечения при гипофункции. На основании проведенных гистологических исследований и данных оплодотворяемости сделано заключение об эффективности применения гормональных препаратов в схемах при лечении гипофункции у коров в условиях Вологодчины.

Практическая значимость проведенных исследований состоит в том, что подробно исследованы различные способы лечения гипофункции яичников. Отобрана и рекомендована к применению в производстве наиболее эффективная схема лечения с наивысшим прогнозируемым результатом. Установлены балансовые отклонения метаболитов крови у коров, способствующих возникновению гипофункции яичников.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены на: научной конференции ВИППКК АПК «Ресурсосберегающие технологии производства продукции животноводства» (2004), научной конференции молодых ученых и студентов ветеринарного факультета Вологодской Государственной Молочнохозяйственной Академии им. Н.В. Верещагина (2005).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 3 научные статьи

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 123 страницах, содержит 25 таблиц и 20 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследований, экономической эффективности, выводов, практических предложений, списка использованной литературы и приложения. Список литературы содержит 150 источников литературы, из них 50 иностранных.

На защиту выносятся:

1. Эффективность применения различных схем лечения при гипофункции яичников у коров.
2. Конструкция биотома для взятия биопсии с яичников у коров.
3. Гистологические изменения в яичниках у коров после применения схем лечения.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методика исследования

Исследования бесплодных коров проводили в Вологодской области в период с 2002 по 2003 гг. на базе ЗАО «Вологодский картофель» Сокольского района и ЗАО ПЗК «Аврора» Грязовецкого района, а в 2004 г. в СХА «Заря» Усть-Кубенского района. С 2003 по 2005 годы, кроме исследования коров на бесплодие, применяли экспериментальные схемы лечения на базе трех хозяйств: СХПК АПК «Надеево» Вологодского района, ЗАО племзавод «Союз» Сокольского района, СПК «Бережное» Усть-Кубенского района. Опыты проводились как в пастбищный, так и в стойловый период. Работа проводилась на поголовье коров черно-пестрой породы.

С целью изучения гипофункции яичников у коров, их диагностики и изыскания методов лечения с применением гормональных препаратов выполнен следующий объем исследований:

- Исследовано 1273 коровы с нарушением воспроизводительной функции, из них с гипофункцией яичников 298. Нормальный половой цикл изучали у 82 коров.
- Исследовано 176 проб крови на содержание каротина, кальция, фосфора, кальций фосфорного отношения, сахара, общего белка, альбуминов, глобулинов, белкового индекса, натрия, калия и резервной щелочности.
- Получены данные о содержании прогестерона у 153 коров и эстрадиола у 131 коровы.
- Разработана конструкция биотома и методика взятия биопсии яичника у коров. Взято 11 проб яичников для гистологического исследования.
- Были исследованы 6 схем лечения гипофункции яичников у коров.

Пробы крови для биохимического исследования у коров брали путем пункции из яремной вены

Гистологическое исследование проб яичников проводили по общепринятым методикам. Толщина срезов 3–5 мкм, окраска гематоксилином и эозином. Пробы фиксировали 10% раствором формалина.

Лечебную эффективность схем лечения гипофункции яичников определяли по показателям оплодотворяемости, длине сервис-периода и индексу осеменения.

Достоверность показателей оценивали с применением таблиц критериев Стьюдента. Оформление диссертационной работы и математическую обработку результатов исследований проводили в текстовом и табличном редакторах Microsoft Word и Excel 2001.

В клинико-экспериментальных исследованиях применяли: эстрофан, фоллигон, фоллимаг, прогестерон, оксипрогестерона капронат, хорулон, СЖК, прозерин, тетравит.

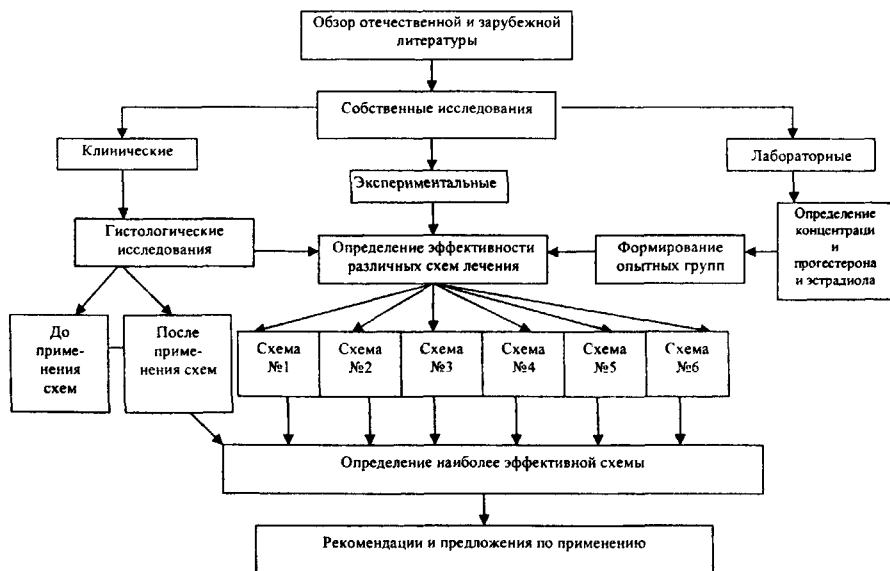


Рис. 1. Общая схема исследований

2.2. Определение прогестерона в сыворотке крови коров

В основе определения прогестерона в сыворотке крови коров заложен метод конкурентного варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Принцип метода основан на конкуренции между адсорбированным на поверхности лунок планшета прогестерона и свободным (в калибровочной пробе или анализируемом образце) прогестероном за активные центры связывания аффинных антител к прогестерону, меченных пероксидазой..

2.3. Определение эстрадиола в сыворотке крови коров

Принцип реакции, порядок применения и приготовления рабочих растворов для определения эстрадиола сходен с таковым для определения прогестерона.

Учет результатов реакции.

Расчет конечной концентрации гормона проводится с учетом степени концентрирования анализируемого образца в процессе пробоподготовки:

- для сыворотки плазмы самок результат (в нМ/л), полученный в ИФА является окончательным.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Комплексное применение схем лечения при гипофункции яичников у коров

Задачей наших исследований было изучение применения нескольких схем лечения гипофункции яичников с последующим сравнением установленных изменений от их использования.

В работе использовали шесть схем:

1 – включала прогестерон 2,5% по 5 мл на 1,3,5 день и через 48 часов после последнего введения прогестерона – фоллигон 2000 МЕ;

2 – 10 мл тетравита внутримышечно и двухкратное введение эстрофана (клопростенола) по 2 мл (500 мкг) на первый и одиннадцатый день;

3 – оксипрогестерон капронат 12,5% по 2 мл на 1, 3, 5 день и через 48 часов фоллимаг 1000 МЕ;

4 – оксипрогестерон капронат 12,5% по 2 мл на 1, 3, 5 день, через 24 часа эстрофан (клопростенол) 2 мл (500 мкг) и хорулон 1500 МЕ через 24 часа;

5 – прозерин 0,5% – 2 мл подкожно дважды с интервалом 24 часа, через 4 дня СЖК 1500 МЕ;

6 – сурфагон в дозе 20 мг активного вещества и через 48 часов эстрофан (клопростенол) 2 мл однократно.

Гипофункцию яичников устанавливали по клиническим признакам, результатам двойного (через три недели) ректального исследования, а также по содержанию гормонов в сыворотке крови.

Группы коров формировались из поголовья средней упитанности (500 кг) и одинаковой продуктивности в условиях одного хозяйства. Опытные животные были отобраны не одновременно, а в течение 1,5–2 месяцев.

В условиях одной фермы вместе с опытной группой, подбирали животных по принципу аналогов в качестве контрольных.

Группа контрольных животных не подвергалась никаким медикаментозным обработкам. В охоту данные животные приходили спонтанно.

3.2. Факторы, обуславливающие возникновение гипофункции яичников

В течение прихода коров в охоту проведено по 5 исследований в каждом хозяйстве с различным количеством проб материала.

Нами было установлено, что при гипофункции яичников у коров содержание каротина от $0,383 \pm 0,006$ до $0,433 \pm 0,002$ мг%, ($P < 0,05$), кальция от $9,45 \pm 0,002$ до $11,15 \pm 0,02$ мг%, ($P < 0,05$), фосфора от $4,96 \pm 0,01$ до $5,56 \pm 0,01$ мг%, ($P < 0,05$), кальций фосфорное отношение от $1,84 \pm 0,004$ до $2,04 \pm 0,03$ ($P < 0,05$), сахара от $32,6 \pm 0,02$ до $39,67 \pm 0,05$ мг%, , общего белка от $8,65 \pm 0,005$ до $9,53 \pm 0,02$ мг%, ($P < 0,05$), альбуминов от $40,09 \pm 0,03$ до $42,07 \pm 0,04$ %, ($P < 0,05$), глобулинов α от $17,44 \pm 0,01$ до $18,19 \pm 0,03$ %, ($P < 0,05$), глобулинов β от $14,12 \pm 0,03$ до $15,68 \pm 0,02$ %, ($P < 0,05$), глобулинов

γ от $25,44 \pm 0,08$ до $27,89 \pm 0,049$ %, ($P < 0,05$), белкового индекса от $0,655 \pm 0,001$, до $0,669 \pm 0,0001$, ($P \leq 0,001$), натрия от $143,1 \pm 0,023$ ммоль/л до $143,8 \pm 0,02$ ммоль/л, ($P < 0,05$), калия от $4,44 \pm 0,02$ до $4,51 \pm 0,015$ ммоль/л, ($P < 0,05$), резервной щелочности от $50,16 \pm 0,1$ до $53,63 \pm 0,04$ мг%, ($P < 0,05$) (см. табл. 1).

Анализ результатов показал, что содержание каротина, сахара и белкового индекса не достигает границ нижней нормы во многих пробах, тогда как содержание общего белка крови выше верхнего предела нормы. Так в СПК «Бережное» у коров с гипофункцией яичников содержание каротина меньше нижней границы нормы на 4,25% (норма 0,4–2,8 мг%), сахара на 18,5% (норма 40–60 мг%). Белковый индекс ниже нормы на 1,61% (норма 0,680–0,76). Общий белок превышает верхнюю допустимую норму на 0,58% (норма 7,2–8,6 г%). В тоже время в СХПК АПК «Надеево» и ЗАО племзаводе «Союз» каротин в сыворотке крови содержится в пределах нормы, сахара в первом хозяйстве меньше нормы на 0,82%, во втором на 0,93% (норма 40–60 мг%), белковый индекс меньше на 3,67% и на 1,76% (норма 0,680–0,76) соответственно. Содержание общего белка в сыворотке крови коров «Надеево» выше нормы на 2,9%, племзаводе «Союз» – 10,81% (норма 7,2–8,6 г%).

Для получения сравнительной картины биохимических показателей не входящих в рамки нормы во всех трех хозяйствах были составлены диаграммы (рис. 2–5).

Таблица 1

Биохимические показатели крови крупного рогатого скота

Хозяйство	Каротин мг%	Са мг%	Р мг%	Са/Р	Сахар мг%	Общий белок г%	Альбумины %	Глобулины %	Глобулины %	Глобулины %	Белковый индекс	Натрий ммоль/л	Калий ммоль/л	Рез. щелочность мг%
СПК «Бережное»	$0,383 \pm 0,006^*$	$9,45 \pm 0,002^*$	$4,96 \pm 0,01^*$	$1,92 \pm 0,001^{**}$	$32,6 \pm 0,02^*$	$8,65 \pm 0,005^*$	$40,09 \pm 0,03^*$	$17,44 \pm 0,01^*$	$14,55 \pm 0,02^*$	$27,89 \pm 0,049^*$	$0,669 \pm 0,0001^{**}$	$143,1 \pm 0,023^*$	$4,51 \pm 0,015^*$	$50,16 \pm 0,1$
СХПК АПК «Надеево»	$0,423 \pm 0,001^{**}$	$10,15 \pm 0,001^{**}$	$5,56 \pm 0,01^*$	$1,84 \pm 0,004^*$	$39,67 \pm 0,05^*$	$8,85 \pm 0,02^*$	$40,83 \pm 0,05^*$	$17,46 \pm 0,02^*$	$14,12 \pm 0,03^*$	$27,57 \pm 0,07$	$0,655 \pm 0,001^{**}$	$143,5 \pm 0,01^*$	$4,44 \pm 0,02^*$	$52,99 \pm 0,04^*$
ЗАО племзавод «Союз»	$0,433 \pm 0,002^*$	$11,15 \pm 0,02^*$	$5,53 \pm 0,007^*$	$2,04 \pm 0,03^*$	$39,63 \pm 0,04^*$	$9,53 \pm 0,02^*$	$42,07 \pm 0,04^*$	$18,19 \pm 0,03^*$	$15,68 \pm 0,02^*$	$25,44 \pm 0,08$	$0,668 \pm 0,003^*$	$143,8 \pm 0,02^*$	$4,51 \pm 0,01^*$	$53,63 \pm 0,07$
Нормы содерж	0,4–2,8 мг%	9,5–13,1 мг%	4,5–6,5 мг%	1,48–2,33	40–60 мг%	7,2–8,6 г%	30–50%	12–20%	10–16%	25–40%	0,680–0,76	141,3–145,7	3,84–5,88 ммоль/л	46–66 мг%

Р ≤ 0,05

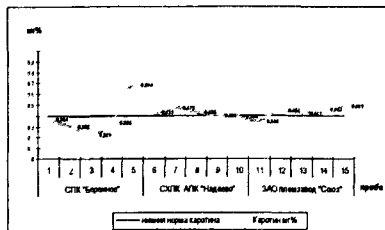


Рис. 2. Показатели каротина

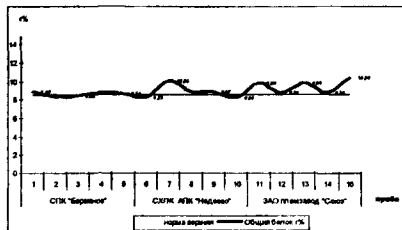


Рис. 3. Показатели общего белка

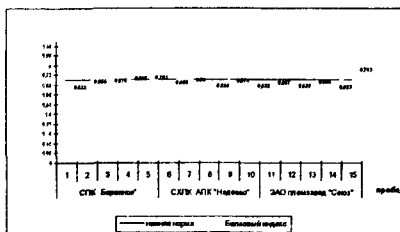


Рис. 4. Показатели белкового индекса

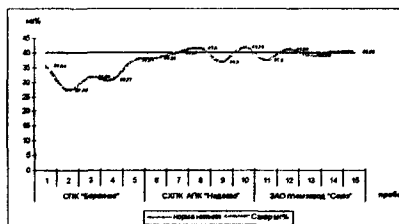


Рис. 5. Показатели сахара

3.3. Опытное применение схем стимуляции

Применение первой схемы способствовало стимуляции фолликулообразующей функции яичников. Причем, применение прогестерона в начальной стадии способствовало блокированию гонадотропной функции гипофиза. Поэтому животные начали проявлять признаки охоты уже после введения фоллигона, то есть на 8–9-е сутки с начала обработки.

Всего данному методу стимуляции подверглось 17 животных. Кроме того, за весь период в охоту пришло 11 коров, что составляет 64,7% (табл. 2). После проведенного осеменения были стельными 8 голов (72%), после повторного осеменения 1 корова (9,8%). При этом период от отела до осеменения был 91 день.

Таблица 2

Осеменение	СХЕМА №1						+/- к показателю контрольной группы (%)
	Опытная группа			Контрольная группа			
	Кол-во живот- ных	пришло в охоту		Кол-во живот- ных	пришло в охоту		
		кол-во	%		кол-во	%	
Первое	17	3	17,6	13	4	30,7	-13,1
Второе	14	5	35,7	10	6	60,0	-24,3
Третье	9	3	33,3	6	3	50,0	-16,7
Голов в опыте	17	11	64,7	13	13	100	-35,3

В группе, где коровы приходили в охоту спонтанно пришли в охоту 13 животных (100%), осеменялись и были стельными 9 (69,2%). В результате, в контрольной группе сервис-период составил 107 дней, что на 16 дней больше, чем в опытной, а индекс осеменения в контрольной равнялся 2,8, тогда как в опытной – 2,5.

Животные, которых обрабатывали по схеме №2 всего было 16 голов в опытной группе и 10 в контрольной. Данная схема была направлена на реализацию пролиферативных процессов в половых органах и рассасывание лютеиновой ткани оставшейся в яичниках в результате плохой инволюции желтых тел и персистенции мелких фолликулов. В этой схеме тетравит выступает, как вспомогательный по направленности препарат, в отличие от эстрофана (клопростенола) – непосредственно действующего.

Пик охоты в опытной группе после обработки пришелся на 19 день, интервал между первым и последним осеменением составил 5 дней. За это время в охоту пришло 9 опытных животных, что составляет 56,2 % от общего числа. Контрольных пришло в охоту и искусственно осеменялось 7 голов, это составляет 70% от их общего числа. При исследовании на плодотворное осеменение у опытной группы, также как и у контрольной, были выявлены – 4 головы (44,4%) и (57,1%) соответственно. Сервис-период в опытной группе составил 99 дней, тогда как в контрольной 117 дней, а индекс осеменения в опытной – 2,3, в контрольной – 2,7 (табл. 3).

При применении третьей схемы, основной задачей было не столько получения реакции за счет фолликулостимулирующего воздействия, сколько более интенсивного противодействия (по М.М. Завадовскому) прогестероновому блоку на 8-ой день со времени обработки.

В этом случае концентрация и химическая активность прогестагена – оксипрогестерон капроната будут способствовать развитию зависимости между концентрацией гормона и реакцией обратного воздействия гипофиза на яичники по отношению к классическому 2,5%-ному прогестерону.

Таблица 3

Осемеение	СХЕМА №2						+/- к показателю контрольной группы (%)
	Опытная группа				Контрольная группа		
	Кол-во живот ных	пришло в охоту		Кол-во живот ных	пришло в охоту		
		кол-во	%		кол-во	%	
Первое	16	2	12,5	10	1	10	+2,5
Второе	14	4	28,5	9	4	44,4	-15,9
Третье	10	3	30,0	5	2	40	-10
Голов в опыте	16	9	56,2	10	7	70	-13,8

Для опытной группы было отобрано 15 коров, для контрольной – 14 коров. В результате воздействия оксипрогестерон капроната и фоллимага пришло в охоту 13 (86,6%) животных. Плодотворно осеменилось – 10

(76,9%) животных. При этом у них сервис-период составил 87 дней, а индекс осеменения 2,1 (табл. 4).

Таблица 4

Освещение	СХЕМА № 3						± к показателю контрольной группы (%)
	Опытная группа			Контрольная группа			
	Кол-во животных	пришло в охоту		Кол-во животных	пришло в охоту		
		кол-во	%		кол-во	%	
Первое	15	4	26,6	14	3	21,4	+5,2
Второе	12	6	50,0	11	6	54,5	-4,5
Третье	7	3	42,8	7	4	57,1	-14,3
Голов в опыте	15	13	86,6	14	13	92,8	-6,2

В контрольной группе в охоту пришло также 13 (92,8%) голов, из них плодотворно осеменилось 10, что составляет 76,9%. Индекс осеменения составил 2,2, а сервис период был на 18 дней больше, чем у опытных и был равен 105 дней.

Схема №4 включала в себя применение оксипрогестерон капроната, фоллигона, эстрофана (клопростенола) и хорулона (хорионический гонадотропин). В отличие от схемы №3, после оксипрогестерон капроната применяли эстрофан с тем, чтобы вызвалось рассасывание остатков лютеиновой ткани, как в схеме №2. Фоллигон способствовал росту фолликулов. Хорулон применялся, как лютеинизирующий гормон, для их овуляции. Применяя эту схему в опыте, для которого отобрали 21 корову, в охоту пришло 19 коров или (90,4%) (табл. 5). После чего этих коров осеменяли.

Таблица 5

Осеменение	СХЕМА №4						+/- к показателю контрольной группы (%)
	Опытная группа			Контрольная группа			
	Кол-во живот ных	пришло в охоту		Кол-во живот ных	пришло в охоту		
		кол-во	%		кол-во	%	
Первое	21	12	57,1	20	9	42,8	+14,3
Второе	9	7	77,7	11	5	45,4	+32,3
Третье	-	-	-	4	2	50,0	-
Голов в опыте	21	19	90,4	20	16	80,0	+10,4

Исследование на стельность показало, что из пришедших в охоту плодотворно осеменены были 16 животных, что составило (84,2%). Сервис период у опытных коров составил 83 дня, индекс осеменения – 1,9. В то же время из 20 контрольных животных в охоту пришло 16 коров и после осеменения стельных было 12 (75%). При этом период от отела до плодотворного осеменения составил 131 день, а индекс осеменения равен 2,9.

Стимуляцию парасимпатической ветви вегетативной нервной системы с последующей активизацией роста и развития фолликулов яичника применяли применяя 0,1% прозерин и ГСЖК в дозе 2000 МЕ (схема №5).

Всего этим методом простимулировали 15 голов. Из них в охоту пришло 12 животных (80%), а плодотворно осеменились 9 голов (75%), тогда как коров спонтанно приходивших в охоту было 17 голов, в охоту пришло 13 (76,4%) из них стельными после осеменения стали 12 коров (92,3%) (табл. 6).

Таблица 6

Осеменение	СХЕМА №5						+/- к показателю контрольной группы (%)
	Опытная группа			Контрольная группа			
	Кол-во живот ных	пришло в охоту		Кол-во живот ных	пришло в охоту		
		кол-во	%		кол-во	%	
Первое	15	3	20,0	17	3	17,6	+2,4
Второе	13	7	53,8	14	3	21,4	+32,4
Третье	7	2	28,5	12	7	58,3	-29,8
Голов в опыте	15	12	80	17	13	76,4	+3,6

В последней схеме №6 приход в охоту и созревание фолликулов достигался путем стимуляции выделительной функции передней доли гипофиза с последующей сенсibilизацией нервных центров и в конечном итоге стимуляцией фолликулообразующей функции яичников (система гипофиз-яичники-матка). Кроме этого, под воздействием эстрофана происходит лизис задержавшихся с рассасыванием островков лютеиновой ткани.

Для реализации этой схемы было взято 16 опытных животных и 18 контрольных голов коров. При этом в опытной группе в охоту пришло 9 (56,2%) голов, а из них плодотворно осеменилось 6 (66,7%). Тогда как в контроле – 14 (77,8%). Длина сервис-периода у опытных коров была 97 дней, у контрольных 118 дней. Индекс осеменения у контрольных составил 2,4, у опытных – 2,2 (табл. 7).

Таблица 7

Осеменение	СХЕМА №6						± к показателю контрольной группы (%)
	Опытная группа			Контрольная группа			
	Кол-во живот- ных	пришло в охоту		Кол-во живот- ных	пришло в охоту		
		кол-во	%		кол-во	%	
Первое	16	3	18,7	18	10	55,5	-36,8
Второе	14	4	28,5	10	3	30	-1,5
Третье	11	2	18,1	7	1	14,2	+3,9
Голов в опыте	16	9	56,2	18	14	77,8	-21,6

3.4. Показатели оплодотворяемости коров после обработок

Под воздействием вышеописанных схем добивались прихода коров в охоту с 8–9 до 19 дня. При этом наименьший период от отела до плодотворного осеменения имели животные по схеме №4 – 83,

наибольший по схеме №2 – 99 дней. Самый высокий процент плодотворно осемененных из числа пришедших в охоту был по схеме №4 – 84,2% . В других схемах был ниже: схема №3 – 76,9%, схема №5 – 75%, схема №6 – 66,7%, схема №1 – 64,7%, схема №2 – 44,4% (табл. 8, 9, 13)

Кроме того, наименьший индекс осеменения получился у коров, которых до этого обрабатывали по схеме №5 – 1,8 и схеме №4 – 1,9. Во всех остальных опытных схемах индекс осеменения был от 2,2 до 2,5 (табл. 10, 11, 12).

Таблица 8

Показатели оплодотворяемости коров после применения схемы №1

Показатели	Опытная	Контрольная	+/- к контролю, %
Сервис-период, дней	91	107	-35,3
Оплодотворилось из числа пришедших в охоту, %	81,8	69,2	+12,6
Индекс осеменения	2,5	2,8	+10,7

Таблица 9

Показатели оплодотворяемости коров после применения схемы №2

Показатели	Опытная	Контрольная	+/- к контролю, %
Сервис-период, дней	99	117	-13,8
Оплодотворилось из числа пришедших в охоту, %	44,4	57,1	-12,7
Индекс осеменения	2,3	2,7	+14,8

Таблица 10

Показатели оплодотворяемости коров после применения схемы №3

Показатели	Опытная	Контрольная	+/- к контролю, %
Сервис-период, дней	87	105	-6,2
Оплодотворилось из числа пришедших в охоту, %	76,9	76,9	-
Индекс осеменения	2,1	2,2	+4,5

Таблица 11

Показатели оплодотворяемости коров после применения схемы №4

Показатели	Опытная	Контрольная	+/- к контролю, %
Сервис-период, дней	83	131	+10,4
Оплодотворилось из числа пришедших в охоту, %	84,2	75	+9,2
Индекс осеменения	1,9	2,9	+34,4

Таблица 12

Показатели оплодотворяемости коров после применения схемы №5

Показатели	Опытная	Контрольная	+/- к контролю, %
Сервис-период, дней	93	121	+3,6
Оплодотворилось из числа пришедших в охоту, %	75	92,3	-17,3
Индекс осеменения	1,8	2,7	+33,3

Таблица 13

Показатели оплодотворяемости коров после применения схемы №6

Показатели	Опытная	Контрольная	+/- к контролю, %
Сервис-период, дней	97	118	-43,8
Оплодотворилось из числа пришедших в охоту, %	66,7	77,8	-11,1
Индекс осеменения	2,2	2,4	+8,3

3.5. Уровни содержания прогестерона и эстрадиола до и после применения схем

Изучение содержания половых гормонов показало, что в период гипофункции яичников у коров в Вологодской области в среднем содержится от $0,16 \pm 0,03$ до $0,32 \pm 0,05$ прогестерона и от $0,07 \pm 0,03$ до $0,15 \pm 0,03$ эстрадиола. При этом все группы имели равное количество животных с разными формами поражения яичников. В контроле были отобраны коровы с нормальным половым циклом. Прогестерон у них был на уровне $2,67 \pm 0,029$, а эстрадиол – $1,35 \pm 0,05$, при $P \leq 0,05$.

Таблица 14

Уровень прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови

Схемы	Уровень прогестерона		В % к контролю после обработки	Уровень эстрадиола		В % к контролю после обработки
	До обработки 0 ч	После обработки 240 ч		До обработки 0 ч	После обработки 240 ч	
1 Прогестерон на 1,3,5 день, фоллигон 2000 МЕ	$0,19 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,04$	35,2	$0,13 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,12$	20,4
2 Тетравит, дважды эстрофан	$0,32 \pm 0,05$	$0,21 \pm 0,03$	29,5	$0,09 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,06$	13,6
3. Окипрогестерон капронат 1,3,5 день, фоллима г 1000 МЕ	$0,23 \pm 0,04$	$0,33 \pm 0,05$	46,4	$0,15 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,09$	17,2
4 Оксипрогестерон капронат на 1,3,5 день, эстрофан, хорулон 1500 МЕ	$0,16 \pm 0,03$	$0,27 \pm 0,05$	38,0	$0,11 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,06$	12,4
5 Прозерин, СЖК 1500 МЕ	$0,27 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,04$	42,2	$0,07 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,07$	19,6
6. Сурфагон, магэстрофан	$0,21 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,03$	30,9	$0,12 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,04$	18,0
Контроль без обработок	$2,67 \pm 0,29$	$0,71 \pm 0,14$	100	$1,35 \pm 0,05$	$2,5 \pm 0,24$	100

 $P \leq 0,05$

В результате применения схемы №1 повысился уровень прогестерона с $0,19 \pm 0,03$ нмоль/л до $0,25 \pm 0,04$, т.е. на 31,5%. По отношению к уровню контроля прогестерон в первой схеме составил 35,2%. В то же время содержание эстрадиола также повысилось с $0,13 \pm 0,03$ до $0,51 \pm 0,12$, т.е. в 3,92 раза. В сравнении с контролем эстрадиол крови опытных коров составил 20,4%.

В схеме №2 было отмечено снижение уровня прогестерона по отношению к начальному на 34%, к контрольному прогестерону опытное составляло 29,5%, в то же время содержание эстрадиола находилось в пределах 13,6% от контроля и повысилось по сравнению с начальным уровнем в 3,7 раз.

В схеме №3 наблюдали повышение уровня прогестерона в сравнении с начальным с $0,23 \pm 0,04$ до $0,33 \pm 0,05$ (43%), средний уровень после обработки составлял 46,5% от содержания прогестерона в контроле. Значительно изменилось количество эстрадиола с начала обработки – $0,15 \pm 0,03$ и после 240 часов – $0,43 \pm 0,09$, тогда как от контроля уровень составлял 17,2%.

В схеме №4 существенно повысился уровень прогестерона после обработки на 0,11 нмоль/л (68%), по уровню к контролю он составлял 38%, эстрадиол же составлял всего 12,4% от контрольного и повысился он по сравнению с начальным в 2,8 раза – с $0,11 \pm 0,04$ до $0,31 \pm 0,06$.

При применении прозерина и СЖК, по схеме №5, содержание прогестерона поднялось незначительно – 0,03 или 11,1%, а по отношению к контролю составило 42,2%. В 7 раз увеличилось содержание эстрадиола с $0,07 \pm 0,03$ до $0,49 \pm 0,07$. От уровня контроля содержание эстрадиола после обработок составило 19,6%.

Наименьшие изменения прогестерона отмечены по схеме №6. До обработок содержалось $0,21 \pm 0,03$, после обработок $0,22 \pm 0,03$, т.е. всего на 4,7%, хотя от содержания в контроле уровень гормона после обработки составлял 30,9%. Содержание эстрадиола изменилось с $0,12 \pm 0,02$ до $0,45 \pm 0,04$, т.е. в 3,7 раза и к уровню контроля это составляло 18%.

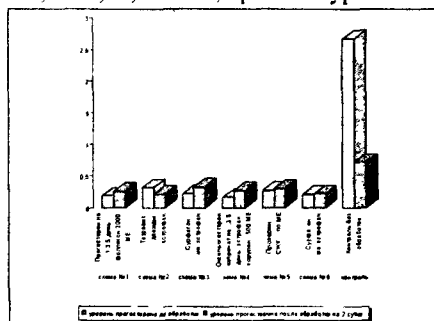


Рис. 6. Уровень прогестерона в крови

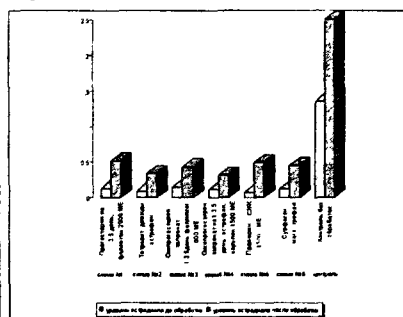


Рис. 7. Уровень эстрадиола в крови

3.6. Результаты гистологических исследований

3.6.1. Конструкция биотома для биопсии яичников

Биотом является одним из основных инструментов для получения кусочков тканей органа расположенного в полости. Поэтому конструкция его представлена как устройство, имеющее длинную трубку, ручку, и режущую часть в виде различной формы ножей.

Целью нашего изобретения является создание эффективного устройства для взятия ткани яичников у коров.

Устройство представляет собой вытянутую трубку длиной – 500 мм и диаметром $\varnothing$ – 12 мм. На одном конце трубки расположен режущий аппарат, минимум на 3 лепестка (ножа) с загнутыми кончиками во внутрь (см. № 3,4,5), на другой стороне кнопка толкатель приводящая режущий аппарат в положение открыто – закрыто (рис. 8).

Внутри полой трубки 1 находится шток 2 с резьбой на обеих сторонах, заглушкой 3 и пружиной 4. Резьба предназначена для опоры толкателя. Заглушка с пружиной составляют обычный механизм для всего штока. Шток исполняется длиной – 450 мм, диаметром $\varnothing$ – 4 мм. Нож в виде конуса с заостренными и загнутыми концами длиной – 125 мм, основанием длиной – 20 мм и диаметром режущего участка $\varnothing$ – 7 мм (Рис.8).

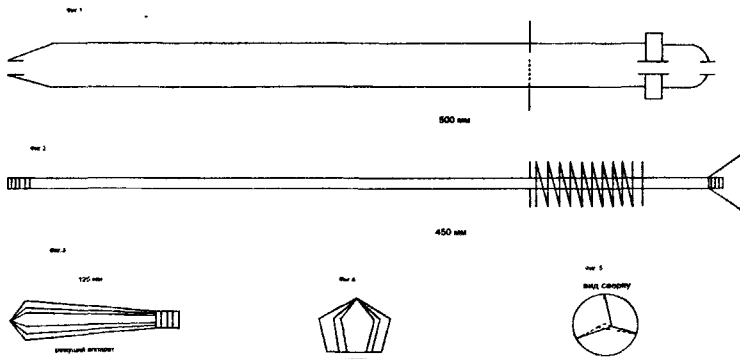


Рис. 8. Схема биотома

3.6.2. Методика проведения биопсии

Для проведения биопсии яичника необходимо:

- зафиксировать животное стоя;
- подготовить операционное поле в области голодной ямки;
- провести местное обезболивание или обезболивание брюшной стенки по методу Б.А. Башкирову;
- привести биотом в рабочее состояние.

Биотом вводится в закрытом состоянии через разрез длиной не более 20 мм по направлению к уже зафиксированному в руке яичнику помощником через прямую кишку

После соприкосновения биотома с яичником (это чувствуется через прямую кишку), режущий аппарат приводится в открытое состояние и к нему подтягивается яичник. Отщип производят со стороны верхушки условного конуса яичника. Такое условие позволит исследовать

одинаковые части всех яичников, для получения более достоверных результатов.

Кусочек полученной ткани (не менее чем 5 на 5мм) помещают в специально приготовленный 10% раствор формалина на 15-20 дней для окончательной экспозиции.

Рану орошают раствором пенициллина в 0,25–0,5%-ном растворе новокаина. Края раны мышцы, фасции и кожу соединяют узловатым швом и накладывают клеевую повязку на всю область раны после хирургической обработки.

3.7. Сравнительная характеристика гистологических срезов при разных схемах лечения гипофункции

В результате применения схем лечения гипофункции яичников нами были определены три схемы с наивысшими показателями оплодотворяемости – это схема №1 (81,8%), схема №3 (76,9%), схема №4 (84,2%). По истечении 131 дня, остались коровы, которые не пришли в охоту, причем часть коров оставались не осемененные и в контроле. Для наглядности пожизненных изменений решили взять с помощью вышеописанного биотома кусочек яичника у 4 коров с гипофункцией на 61 день после отела (далее контроль).

3.7.1. Гистологические изменения в яичниках у коровы в контроле

В корковом слое встречаются единичные первичные фолликулы (рис. 9). Некоторые из них представляют собой округлые образования, размером чуть больше примордиальных фолликулов, с кубическим или цилиндрическим фолликулярным эпителием, расположенным в один ряд. Другие выглядят как округлые образования разных размеров, с многослойным фолликулярным эпителием.

Часть обнаруженных вторичных фолликулов не имеют кумулуса. В других фолликулах имеется широкий яйценосный бугорок, содержащий овоцит. Тека вторичных фолликулов более широкая и дифференцированная на внутреннюю и наружную части. Её наружный слой образован клетками (фибробlastами) и пучками соединительнотканых волокон. Внутренний слой богат капиллярами и клетками, содержит меньше волокон (рис. 11).



Рис 9. Гипофункция яичника (контроль) x 100
1 Первичный фолликул
2 Инволюционирующее желтое тело
окраска гематоксилин-эозином

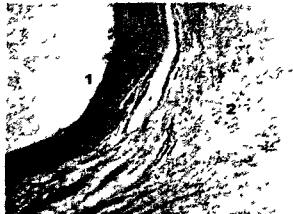


Рис 10. Гипофункция яичника (контроль) x 100
1 Третичный фолликул
2 Разрывление теки третичного фолликула
окраска гематоксилин-эозином



Рис 11 Гипофункция яичника (контроль) x 100

1 Вторичный фолликул

2 Разросшаяся сосудистая ткань в корковой зоне яичника окраска гематоксилин-эозином



Рис 12 Гипофункция яичника (контроль) x 160

Скопление лимфоцитов в строме коркового вещества

окраска гематоксилин-эозином

Ни в одном третичном фолликуле, попавшем в срезы, не обнаружено овоцита с лучистым венцом. Капилляры внутренней и наружной теки кровенаполнены. В препаратах первого среза имеются два очень крупных третичных фолликула. В их полостях нет никакого содержимого, один из них даже не имеет эпителиальной выстилки. Тека вокруг этих фолликулов отечна, соединительная ткань разволокнена (рис 10).

В область среза гистопрепаратов попало несколько (1–3) желтых тел на разных стадиях инволюции. Наиболее крупное инволюционирующее желтое тело имеется на рис. 9. Мозговое вещество занимает около 40–50% гистосрезов. В нем видны срезы нескольких крупных кровеносных сосудов: артерии, с толстыми стенками, с хорошо выраженным мышечным слоем, и вен, имеющих толщину сосудистой стенки в несколько раз меньшую.

Таким образом, о снижении функций яичников могут свидетельствовать следующие морфологические особенности:

1. Снижение абсолютного количества фолликулов в корковом веществе яичников (рис. 9–11).

2. Гиперплазия соединительной ткани стромы яичников (рис. 12).

3. Отсутствия как полноценных третичных фолликулов и признаков овуляции, так и образующихся и функционирующих желтых тел (рис. 9, 10).

Очаговая и диффузная пролиферация стромы коркового вещества лимфоцитами, что совместно с разросом соединительной ткани свидетельствует воспалительном процессе, который приводит к изменениям в строении фолликула (рис. 12).

3.7.2. Изменения в гистоструктуре яичников в результате применения схемы №1

В области среза наблюдается три вторичных фолликула. Они имеют довольно крупный размер, фолликулярную полость, заполненную жидкостью, многослойный фолликулярный эпителий.

В срезах есть несколько желтых тел на разных стадиях инволюции (рис 14). Лютеоциты сильно уменьшены в размерах, частично разрушены. В центре этого желтого тела располагается рыхлое очаговое скопление лимфоцитов.



Рис 13 Схема № 1 (x 100)

- 1 Лютеиновая киста
- 2 Активно функционирующее желтое тело



Рис 14 Схема № 1 (x 100)

- Корковое вещество с малым содержанием фолликулов
- 1 Инволюционирующее желтое тело

Среди волокон соединительной ткани стромы яичника в области среза видны атретические фолликулы, преимущественно старые, представленные собранной в складки блестящей оболочкой.

Гистологическая картина яичников коровы после обработки прогестероном и фоллигоном характеризуется:

1. Вполне развитыми вторичными фолликулами.
2. Кровеносные сосуды мозгового и коркового вещества, как артериальные, так и венозные, умеренно кровенаполнены, сильнее, чем в контроле.
3. В области среза встречаются атретические фолликулы, небольшие кисты (рис. 13).

3.7.3. Гистологические изменения структуры яичников в результате применения схемы №3

В наружном слое коркового вещества располагаются примордиальные фолликулы. Они представляют собой округлые образования, состоящие из овоцита 1 порядка, окруженного одним слоем плоских клеток фолликулярного эпителия. Примордиальных фолликулов находится 1–3 штуки в нескольких полях зрения микроскопа при увеличении на 160.

Один-два первичных фолликулов встречается в нескольких полях зрения микроскопа при увеличении на 160. Некоторые из них представляют собой округлые образования.



Рис 15 Схема № 3 (x 100)

Фолликулярная киста

окраска гематоксилин-эозином



Рис 16 Схема № 3 (x 100)

Два расположенных рядом третичных фолликула

Вторичные фолликулы имеют довольно крупные размеры фолликулярную полость, заполненную жидкостью, многослойный фолликулярный эпителий (очень много фолликулярных клеток, расположенных в несколько рядов).

В срез попало 5 фолликулов довольно крупного размера, которые можно отнести к третичным из-за строения фолликулярного эпителия (Рис. 16). В одном третичном фолликуле, попавшем в срез, обнаружен овоцит с лучистым венцом. Капилляры внутренней и наружной теки кровенаполнены. Тека вокруг этих фолликулов отечна, соединительная ткань разволокнена.

В срезе обнаружены две округлые полости, вместе занимающие практически 60–70% всей площади препарата. Стенки полости представляют собой довольно тонкие перегородки, состоящие из истонченной теки и белочной оболочки. В просвете полостей содержится небольшое количество гомогенного ацидофильного материала (жидкости), по периферии которого наблюдается небольшое количество клеток фолликулярного эпителия. По морфологическим признакам это фолликулярные кисты (рис. 15).

После применения схемы №3 гистологическая картина яичников характеризуется:

1. Хорошо сформированными вторичными фолликулами, третичные фолликулы, располагаются в глубине коркового вещества.
2. Имеются две очень большие фолликулярные кисты.

3.7.4. Изменение в структуре яичников в результате применения схемы №4

Корковое вещество занимает не менее половины гистопрепарата и располагается на периферии яичника.

В наружном слое коркового вещества располагаются примордиальные фолликулы. Их находится до 5 штук в нескольких полях зрения микроскопа при увеличении на 160.

В более глубоких слоях коркового вещества располагаются фолликулы более поздних стадий развития (рис. 17).

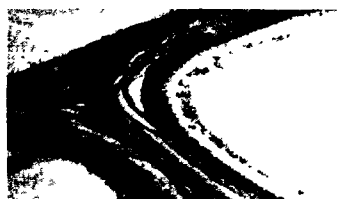


Рис 17 Схема № 4 (x 100)
Часть крупного третичного фолликула



Рис 18 Схема № 4 (x 100)
1 Часть третичного фолликула
2 Отек теки фолликула
3 Гиперемия сосудов коркового вещества яичника

Тека вторичного фолликула широкая и дифференцирована на внутреннюю и наружную части. Внутренний слой богат капиллярами и клетками, содержит меньше волокон (рис. 19).



Рис 19- Схема № 4 (x 100)

- 1 Часть вторичного фолликула с яйцесодержащим бугорком (кумулюсом)
 - 2 Активное желтое тело
- окраска гематоксилин-эозином

Среди волокон соединительной ткани стромы яичника в области среза видны атретические фолликулы, преимущественно старые. Имеется в поле зрения довольно крупный атретический фолликул, в виде округлого образования из рыхло расположенных видоизмененных клеток фолликулярного эпителия (рис. 18).

Следовательно, гистологическая картина характеризуется:

1. увеличением количества третичных фолликулов, по сравнению с контролем. Один из третичных фолликулов имеет признаки скорой овуляции
2. кровеносные сосуды мозгового и коркового вещества, как артериальные, так и венозные, умеренно кровенаполнены, сильнее, чем в контроле, что является косвенным признаком усиления функционирования органа.

ВЫВОДЫ

1. В различных хозяйствах Вологодской области у коров в послеотельный период гипофункция яичников регистрируется от 16,5 до 29,9% случаев.

2. Недостаточное содержание сахара – $32,6 \pm 0,02$ – $0,433 \pm 0,002$ мг% ($P \leq 0,05$), с повышенным содержанием общего белка крови от $8,65 \pm 0,005$ до $9,53 \pm 0,02$ ($P \leq 0,05$) на фоне низкого содержания каротина $0,383 \pm 0,006$ – $0,433 \pm 0,002$ ($P \leq 0,01$) является следствием нарушения обмена веществ и причиной возникновения гипофункции яичников.

3. Применение различных схем лечения гипофункции яичников у коров позволяет привести в охоту от 56,2% до 90,4%. В результате применения 2,5% прогестерона и 2000 МЕ фоллигона в охоту пришло – 64,7%, тетрагеста совместно с эстрофаном (500 мкг) – 56,2%, 12,5% оксипрогестерон капроата с 1000 МЕ фоллимага – 86,6%, 12,5% оксипрогестерон капроата, эстрофана (500 мкг) и 1500 МЕ хорулона – 90,4%, 0,5% прозерина и 1500 МЕ СЖК – 80%, 20 мг сурфагона и эстрофана (500 мкг) – 56,2%.

4. Обработка вышеописанными схемами лечения гипофункции приводит к повышению уровня прогестерона после 240 часов на 4,7–68%, кроме схемы №2 и эстрадиола 2,8–7 раз ($P \leq 0,05$).

5. Применение прогестагенов в повышенных концентрациях (12,5%) без последующей обработки лютеолитиками приводит к множественной атрезии фолликулов и образованию кист.

6. Оптимальным для получения биопсии с яичника коровы *in vivo* будет использование конструкции биотома для паренхиматозных органов, со смыкающимся устройством режущего аппарата.

7. Комплексное применение оксипрогестерон капроната, эстрофана и хорулона увеличивает выход телят на 100 коров за счет сокращения дней бесплодия и повышает экономический эффект за счет сокращения бесплодия в среднем до 2126,7 рублей, а экономическую эффективность до 9 руб. на 1 руб. затрат.

Практические предложения

1. Результаты исследований позволяют применять для получения достоверных данных *in vivo* о влиянии экзо- и эндогенных факторов на микроструктуру яичников биотом для полостной биопсии паренхиматозных органов.

2. Для повышения результативности прихода в охоту и осеменения коров, больных гипофункцией яичников применять оксипрогестерон капронат 12,5% по 2 мл на 1, 3, 5 день, через 24 часа эстрофан – 2 мл (500 мкг) и через следующие 24 часа хорулон (ХГЧ) 1500 МЕ.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Селиванов Г.О., Дуников В.С. Распространение функциональных расстройств яичников у коров// Ресурсосберегающие технологии производства продукции животноводства: Сб. науч.-практ. конф. ВИППКК АПК. – Вологда-Молочное, 2004. – С. 37–38.
2. Селиванов Г.О., Дуников В.С., Маренков А.И. Методика определения экономического ущерба от бесплодия коров//Ресурсосберегающие технологии производства продукции животноводства: Сб. науч.-практ. конф. ВИППКК АПК. – Вологда-Молочное, 2004. – С. 35–36.
3. Селиванов Г.О., Дуников В.С. Методы лечения функциональных расстройств репродуктивной системы у коров// Сборник науч.-произ. конф. преподавателей и аспирантов факультета ветеринарной медицины ФГОУ ВГМХА. – Вологда-Молочное, 2005. – С. 61–64.

2

№ 25 175

РНБ Русский фонд

2006-4

29272

1007