

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГОЛУМБІЙОВСЬКА ТЕТЯНА ВАСИЛІВНА

УДК: 636.082.4:636.7:615:616-089.843

ДИСЕРТАЦІЯ

**ВІДНОВЛЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ У СУК ПРИ
ЗАСТОСУВАННІ СПЕЦИФІЧНОГО ІМПЛАНТА СУПРЕЛОРИН**

21 – Ветеринарія

211 – Ветеринарна медицина

Подається на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Т.В. Голумбійовська

Наукові керівники: **Стефаник Василь Юрійович** доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверевої Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Войцех Ніжанський доктор габілітований, професор, завідувач кафедри репродукції з клінікою дрібних тварин Вроцлавського Природничого Університету, Республіка Польща

Львів – 2023

АНОТАЦІЯ

Голумбійовська Т.В. Відновлення репродуктивної функції у сук при застосуванні специфічного імпланта Супрелорін – кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю, 211 «Ветеринарна медицина». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена вивченню дії імпланта Супрелорін, на відновлення репродуктивної функції та з метою індукції еструсу у сук.

Імплант Супрелорін – це синтетичний аналог гонадотропін-релізінг гормону (ГнРГ) з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг, який першочергово був зареєстрований як препарат для хімічної стерилізації статевозрілих самців собак та домашніх тхорів (фреток) і пригнічення статевої функції щонайменше на 6 місяців. До використання його поза інструкцією відносять: лікування доброякісної гіперплазії простати у псів, індукція тічки у сук, лікування хвороб наднирників у фреток. Дія імпланта полягає в забезпеченні стійкого, поступового і постійного вивільнення діючої речовини, що призводить до регуляції гіпофізарних рецепторів ГнРГ, їх інгібування та десенсибілізації. Специфічний вплив на рецептори гонадотропіном ГнРГ дає можливість виключити репродуктивну функцію на деякий час з подальшим її відновленням. Підвищена доступність екзогенного ГнРГ на початку дії імпланта призводить до секреції гонадотропінів, що викликає тічку. Цей феномен відомий як «ефект спалаху», що призводить до індукції еструсу майже у 100% дорослих сук при застосування імплантів деслорелін.

У представленій роботі вперше проведено порівняння різних схем застосування імпланта Супрелорін для індукції еструсу залежно від часу

його введення та моменту видалення для отримання тічки, овуляції та вагітності у подальшому. Вивчено вплив Супрелоріну на цитоморфологічні зміни клітин епітелію піхви, рівня статевих гормонів та ехоструктури яєчників з метою порівняння ефективності застосування різних схем з використанням імпланта Супрелорін. Для проведення досліджень було створено контрольну та чотири дослідні групи. Групи були сформовані на підставі введення імпланта у різні фази анеструсу: до контрольної групи увійшли суки зі спонтанною тічкою, ранній анеструс - 90-120-ту добу від останніх ознак тічки та в пізній анеструс - >160-тої доби. Іншим критерієм формування дослідних груп був термін видалення імпланта, а саме при рівні прогестерону (P_4) >3 нг/мл (на початку піку лютеїнізуючого гормону - ЛГ) та P_4 >5 нг/мл (Д4). В групі Д1 імплант Супрелорін вводили в ранній анеструс та видаляли його при рівні P_4 >3 нг/мл. В групі Д2 імплант Супрелорін вводили в пізній анеструс та видаляли його при рівні P_4 >3 нг/мл. В групі Д3 застосовували комбіновану схему з використанням імпланта Супрелорін та препарату Рецептал, видаляли імплант при рівні P_4 >3 нг/мл. В групі Д4 імплант Супрелорін вводили в пізній анеструс та видаляли його при рівні P_4 >5 нг/мл.

Фаза еструсу була індукована у всіх дослідних тварин (28/33), окрім контрольної групи, до якої увійшли суки зі спонтанною тічкою.

Встановлено, що після введення імпланта Супрелорін сукам дослідних груп (Д2, Д3, Д4) характерні ознаки тічки для стадії проеструс клінічно виявили вже на 3-тю добу від моменту введення імпланта, а у дослідній групі (Д1) лише на 5-ту та 7-му добу відповідно. Цитологічну картину епітеліальних клітин слизової оболонки піхви, характерну для початку стадії еструс, в групі Д1 спостерігали з 12-ї по 14-ту доби, в середньому $13,4 \pm 1,1$ добу від введення імпланта, в групах Д2 і Д3 з 9-ї по 12-ту доби – в середньому на $10,3 \pm 1,1$ добу, а у контрольній групі з 9-ї по

14-ту доби, в середньому на $11,3 \pm 1,6$ добу. В дослідній групі Д4, цитологічної картини, характерної для еструсу, не спостерігали.

При визначенні рівня 17- β естрадіолу було встановлено, що після введення імпланта в контрольній та у всіх дослідних групах його концентрація зростала з третьої доби. В групі Д1 рівень цього гормону збільшувався повільніше, порівняно з іншими групами. Так, на 8-му добу від введення імпланта рівень 17- β естрадіолу у сук групи Д1 був нижчим і відрізнявся від тварин групи Д2, Д3 і К ($p < 0,05$) і становив лише $27,6 \pm 4,8$ пг/мл, в той час у сук дослідних груп Д2 і Д3 складав $54,4 \pm 8,8$ і $58,1 \pm 22,3$ пг/мл, а у контрольній групі - $56,7 \pm 11,8$ пг/мл, відповідно, в групі Д4 – рівень цього гормону становив $35,5 \pm 6,1$ пг/мл. Збільшення рівня 17- β естрадіолу в групі Д1 було повільнішим та хвилеподібним, що не властиво для фізіологічного перебігу статевого циклу. В групах тварин Д2, Д3 ріст концентрації естрогенів був подібним між групами і співпадав з контрольною групою. Динаміка статевого циклу у сук в цих групах була дещо швидшою, ніж у тварин контрольної групи та на 16-ту добу рівень естрогенів досяг базального рівня та становив $9,4 \pm 0,7$ і $10,9 \pm 1,8$ пг/мл ($p < 0,01$), в контрольній групі він ще був вище базального - $25,3 \pm 11,8$ пг/мл. В той час, коли у всіх інших групах естрадіол вже поступово знижувався, у тварин групи Д1 він все ще збільшувався, досягнувши піку тільки на 11-ту добу, і становив $65,1 \pm 13,1$ пг/мл ($p < 0,01$). При цьому пік 17- β естрадіолу в групах тварин Д2, Д3 і Д4 був на референтних значеннях і припадав на $7 \pm 1,1$ (з 7-ї по 9-ту) добу від моменту введення імпланта та був дещо швидшим від контрольної групи - $8 \pm 1,1$ (з 7-ї по 10-ту) добу від початку тічки.

В групі сук Д4, в якій імплант видаляли на декілька діб пізніше від початку збільшення концентрації прогестерону, було встановлено збільшення концентрації 17- β естрадіолу, аналогічно як в групах Д2, Д3 і К, але після піку 17- β естрадіолу вона залишалася певний час на високому рівні. В групах тварин Д1 і Д4 спостерігали нехарактерну зміну рівня

естрадіолу протягом фази тічки при фізіологічному перебігу статевого циклу. У сук, яким застосовували імплант в пізній анеструс, майже у всіх спостерігали пік 17-β естрадіолу, як і в контрольній групі, проте динаміка зміни рівня естрогенів, тобто їх пік і зниження до базального рівня, проходило швидше. Також рівень естрогенів в групах, які отримували імплант Супрелорін були вищими, порівняно з контрольною.

Після введення імпланта Супрелорін в групі Д1 прогестерон тривалий час залишався на базальному рівні, а збільшення його рівня було затяжним і повільним порівняно з контрольною групою. На противагу цій групі, в групах Д2 і Д3 зміна рівня прогестерону була властивою для фізіологічного перебігу статевого циклу (група контрольна), але з дещо швидшою динамікою. Щодо групи Д4, в якій імплант вводили в пізній анеструс, але видаляли його пізніше, при рівні прогестерону більше 5 нг/мл встановили схожу тенденцію зміни концентрації прогестерону, як в Д2, Д3 і контрольній групах, лише до моменту піку ЛГ, а далі тільки незначне підвищення його рівня і подальшу затримку на низькому рівні.

В групах тварин, де імплант вводили безпосередньо в пізній анеструс (Д2, Д3, Д4), рівень прогестерону більше 3 нг/мл та, відповідно, пік ЛГ наступив однаково на $9 \pm 1,1$ (з 9-ї по 11-ту) доби, і це було швидше ніж у тварин з контрольної групи, у яких пік ЛГ наступив на $10 \pm 1,1$ (8-му-14-ту) доби. В групі Д1 у сукам, яким вводили імплант в ранній анеструс, пік ЛГ проявився пізніше в середньому на $12 \pm 1,1$ (з 11-ї по 14-ту) добу, і це статистично відрізнялось від трьох інших дослідних груп ($p < 0,05$).

На другу добу статевого циклу в групах Д2, Д3 та контрольній спостерігали підвищення концентрації прогестерону вище 7,0 нг/мл, що вказувало, що у сук цих трьох груп відбулась овуляція. В групі тварин Д1 показник рівня прогестерону залишився на рівні $4,9 \pm 1,5$ нг/мл ($p < 0,05$). Овуляція у сук цієї групи наступала на третю добу від піку ЛГ при $P_4 = 8,6 \pm 2,7$ нг/мл. У групі Д4 рівень прогестерону на третю добу підвищився

до $4,0 \pm 1,5$ нг/мл, але залишався вірогідно нижчим порівняно з іншими групами ($p < 0,05$). Овуляція в цій групі не наступала, а рівень прогестерону протягом усього дослідження становив максимальне значення $5,0 \pm 1,1$ нг/мл.

За отриманими результатами УЗД у всіх групах тварин, окрім групи Д1, ріст та розвиток фолікулів в яєчниках спостерігали вже з 3-ї доби, а в групі Д1 – з 5-ї доби досліджу. У всіх сук групи Д1 фолікули у яєчниках візуалізували лише на 7-му добу від часу введення імпланта. В цей час величина фолікулів в контрольній групі ($3,8 \pm 0,5$ мм) і групі Д2 ($5,2 \pm 0,5$ мм), в якій застосовували імплант Супрелорін в пізньому анеструсі, вже вірогідно відрізнялась ($p < 0,01$). У тварин з груп Д2 і Д3 на 10-ту добу встановлено вірогідно вищу різницю розмірів фолікулів ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою. Було також виявлено різницю ($p < 0,05$) між двома попередніми групами в пізньому анеструсі (Д2 і Д3) та групою Д1 (анеструс ранній). Найбільші розміри фолікулів спостерігали в групі Д3 ($6,9 \pm 1,1$ мм), дещо менші в групі Д2 ($5,9 \pm 0,5$ мм) і найменші в контрольній групі ($4,2 \pm 0,8$ мм) ($p < 0,05$). В групі тварин Д2 і Д3, порівняно з іншими групами, спостерігали швидший ріст фолікулів, збільшення їх розмірів і в подальшому їх швидку атрезію. Подібні зміни спостерігали в групі Д2 і контрольній, а саме з 3-ї по 16-ту доби, тоді як в дослідній групі Д3 – з 3-ї по 14-ту відповідно.

В дослідній групі тварин Д4 ріст фолікулів та збільшення їх розмірів до певної величини була подібною, як і в попередніх групах. Однак, починаючи з 10-ї доби, величина фолікулів поступово зменшувалась та залишилася на сталому рівні до кінця експерименту. Натомість, в групі Д1 було встановлено постійний ріст та розвиток фолікулів до 21-ї доби ($7,9 \pm 2,6$ мм ($p < 0,05$)).

У групі Д1 жодна з сук після злучки не завагітніла (0/3), в групі Д2 завагітніли всі суки (3/3), в групі Д3 – 2/3, та в контрольній групі – 4/6

відповідно. Усі вагітні собаки народили здоровий приплід. У групі Д4 жодна з сук не була спарована через відсутність у них овуляції.

Отже, імплант Супрелорін з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг на початку фармакодинаміки викликає появу тічки. Тому цей препарат можна успішно застосовувати для індукції еструсу у сук. За своїм механізмом дії він є найбільш гомологічним до природніх механізмів запуску статевого циклу, оскільки діє на рівні системи гіпоталамус-гіпофіз-гонади. Для потенціювання овуляції та вагітності рекомендовано вводити препарат сукам в пізній анеструс, не раніше 160-ї доби від останніх ознак тічки. Також важливим є своєчасне видалення імпланта (на початку піку ЛГ) задля попередження супресії статевого циклу.

Результати дисертаційної роботи використовуються в освітньому процесі та науково-дослідницькій роботі здобувачів вищої освіти спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» закладів вищої освіти України.

Ключові слова: суки, репродуктологія, індукція еструсу, неплідність, статевий цикл, препарати «Супрелорін», «Рецептал», статеві гормони, прогестерон, вагінальна цитологія, вагітність .

ANNOTATION

Holumbiiovska T.V. Remodelling the reproductive function in female dogs while using Suprelorin implant – qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the educational and scientific degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 "Veterinary Medicine" in the specialty 211 "Veterinary Medicine." - Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 2023.

The dissertation is devoted to studying the effect of the Suprelorin implant on the restoration of reproductive function and for estrus induction in female dogs.

Suprelorin implant is a synthetic analog of GnRH with the active substance deslorelin 4.7 mg, primarily registered as a drug for chemical sterilization of sexually mature male dogs and domestic ferrets and suppression of sexual function for at least six months. Its use outside the instructions includes the treatment of benign prostatic hyperplasia in dogs, induction of estrus in bitches, and treatment of adrenal diseases in ferrets. The effect of the implant is to ensure a stable, gradual, and constant release of the active substance, which leads to the regulation of pituitary GnRH receptors, their inhibition, and desensitization. Oversaturation of GnRH gonadotropin receptors makes it possible to exclude the reproductive function for a while with its subsequent restoration. The increased availability of exogenous GnRH at the beginning of the action of the implant leads to the secretion of gonadotropins, which causes the estrus phase. This phenomenon is known as the flash effect, which leads to the induction of estrus in almost 100% of adult bitches when Deslorelin implants are used.

In the presented work, for the first time, a comparison of different schemes for using the Suprelorin implant for estrus induction was made, depending on the time of its introduction and the moment of removal for obtaining estrus and ovulation and in the subsequent pregnancy. The effect of Suprelorin on the

cytomorphological changes of vaginal epithelial cells, the level of sex hormones, and the echostructure of the ovaries were studied to compare the effectiveness of various schemes using the Suprelorin implant. Four research groups and one control group were created to conduct research. The estrus phase was induced in all experimental animals (28/33) except for the control group, which included bitches with spontaneous heat. Groups of animals to which the implant was applied were formed based on the implant's introduction in different anestrus phases: early - 90-120 days from the last signs of estrus and late anestrus - >160 days. Another criterion for the formation of experimental groups was the term of implant removal, namely at the level of $P_4 > 3$ ng/ml (at the beginning of the LH peak) and $P_4 > 5$ ng/ml (R4). In group R1, the Suprelorin implant was introduced into early anestrus and removed at a P_4 level > 3 ng/ml. In group R2, the Suprelorin implant was introduced into late anestrus and removed at a P_4 level > 3 ng/ml. In group R3, a combined scheme using the implant Suprelorin and the drug Receptal was used, and the implant was removed at a level of $P_4 > 3$ ng/ml. In group R4, the Suprelorin implant was introduced into late anestrus and removed at a P_4 level > 5 ng/ml. Female dogs with spontaneous heat were included in the control group.

It was established that after the introduction of the Suprelorin implant in the bitches of the experimental groups (R2, R3, R4), characteristic signs of estrus for the proestrus stage were clinically detected already on the third day from the moment of the implant, and in the experimental group (R1) only on the 5th and 7th of the day, respectively. The cytological pattern of the epithelial cells of the vaginal mucosa, characteristic for the beginning of the estrus stage, in group R1 was observed from the 12th to the 14th day, on average 13.4 ± 1 days after the introduction of the implant, in groups R2 and R3 from the 9th to the 12th that day - on average 10.3 ± 1 days, and in the control group from the 9th to the 14th day, on average 11.3 ± 1.6 days. In experimental group R4, the cytological pattern characteristic of estrus was not observed.

When determining the level of estradiol 17- β , it was established that after the introduction of the implant in control and all experimental groups, its concentration increased from the third day. In group R1, the level of this hormone increased more slowly compared to other groups. Thus, on the eighth day after the introduction of the implant, the level of estradiol 17- β in bitches of the group R1 was lower. It differed from animals of groups R2, R3, and C (* $p < 0.05$) and was only 27.6 ± 4.8 pg/ml; at that time, in bitches of experimental groups R2 and R3, it was 54.4 ± 8.8 and 58.1 ± 22.3 pg/ml, and in the control group - 56.7 ± 11.8 pg/ml, respectively, in group R4 – its level was 35.5 ± 6 pg/ml. The increase in the level of estradiol 17- β in group R1 was slower and wave-like, which is not typical for the physiological course of the sexual cycle. In animal groups R2, and R3, the growth of estrogen concentration was similar between groups and coincided with the control group. The dynamics of the sexual cycle in bitches in these groups were somewhat faster than in animals of the control group. On the 16th day, the level of estrogens reached the basal level and was 9.4 ± 0.7 and 10.9 ± 1.8 pg/ml ($p < 0.01$); in the control group, it was still higher than the basal level - 25.3 ± 11.8 pg/ml. While estradiol was already gradually decreasing in animals of group R1 in all other groups, it still increased, reaching a peak only on the 11th day and was 65.1 ± 13 pg/ml (** $p < 0.01$). In addition, the peak of estradiol 17- β in groups of animals R2, R3, and R4 coincided and occurred on 7 ± 1 (from the 7th to the 9th) day from the moment of implant insertion and was somewhat faster than the control group - 8 ± 1 (from the 7th to 10th) day from the beginning of estrus.

In the group of bitches R4, in which the implant was removed a few days after the beginning of the increase in progesterone concentration, an increase in the concentration of estradiol 17- β was established, similar to that in groups R2, R3, and C, but after the peak of E2, it remained at a high level for some time. In animal groups R1 and R4, an uncharacteristic change in the estradiol level was observed during the estrus phase during the physiological course of the sexual cycle. In bitches from the groups to which the implant was applied in late anestrus,

almost all of them had an E2 peak, as in the control group, but the dynamics of changes in the level of estrogens, that is, their peak and decrease to the basal level, were faster. In addition, the level of estrogens in the groups that received the Suprelorin implant was higher compared to the control group.

After introducing the Suprelorin implant in the R1 group, progesterone remained at the basal level for a long time, and the increase in its level was prolonged compared to the control group. In contrast to this group, in groups R2 and R3, the change in the level of progesterone was typical for the physiological course of the sexual cycle (control group) but with somewhat faster dynamics. Regarding the R4 group, in which the implant was inserted into late anestrus, but it was removed later, at a progesterone level of more than 5 ng/ml, a similar trend of changes in progesterone concentration was established as in the R2, R3 and control groups, only up to the moment of the LH peak, and then only slightly increasing its level and further delay at a low level.

In the groups when the implant was introduced to bitches that were in late anestrus (R2, R3, R4), the progesterone level was more than 3 ng/ml and, accordingly, the LH peak occurred equally on 9 ± 1 (from 9 to 11) days. It was faster than in animals from the control group, in which the LH peak occurred on 10 ± 1 (8-14) days. In group R1, bitches that were implanted in early anestrus, the LH peak appeared later on average by 12 ± 1 (from the 11th to the 14th), and this was statistically different from the other three experimental groups ($p < 0.05$).

On the second day of the sexual cycle, in groups R2, R3, and the control group, an increase in progesterone concentration above 7 ng/ml was observed, which indicates that the females of these three groups ovulated. In the R1 group of animals, the progesterone level remained at 4.9 ± 1.5 ng/ml ($p < 0.05$). Ovulation in this group occurred on the third day from the LH peak at $P_4 = 8.6 \pm 2.7$ ng/ml. In group R4, the progesterone level on the third day increased to 4.0 ± 1.5 ng/ml and remained significantly lower compared to other groups ($p < 0.05$). Ovulation

in this group did not occur, and the maximum progesterone level during the entire study was 5.0 ± 1 ng/ml.

According to the obtained ultrasound results, in all groups of animals, except for group R1, the growth, and development of follicles were observed from the third day and in group R1 - from the fifth day. In all bitches from group R1, follicles in the ovaries were visualized only on the seventh day after the implant was inserted. At this time, the size of the follicles in the control group (3.8 ± 0.5 mm) and the R2 group (5.2 ± 0.5 mm), which received the Suprelorin implant in late anestrus, already differed significantly ($p < 0.01$). In animals from groups R2 and R3, on the 10th day, a significantly higher difference in the size of the follicles ($p < 0.05$) was established compared to the control group. A difference ($p < 0.05$) was also found between the two previous groups in late anestrus (R2 and R3) and group R1 (early anestrus). The largest size of follicles was observed in group R3 6.9 ± 1 mm, slightly smaller in group R2 5.9 ± 0.5 and the smallest in the control group 3.9 ± 0.7 ($p < 0.05$). In the group of animals R2 and R3, compared to other groups, faster growth of follicles, an increase in their size, and, subsequently, rapid atresia was observed. Similar changes were observed in the R2 and control groups, namely from the 3rd to the 16th day, while in the experimental R3 group - from the 3rd to the 14th, respectively.

In the experimental group of R4 animals, the growth of follicles and the increase in their size to a specific value were similar to that in the previous groups. However, starting from the 10th day, the size of the follicles decreased and remained at the same level until the end of the experiment. On the other hand, constant growth and development of follicles were established in group R1 until the 21st day (7.9 ± 2.6 mm, ($p < 0.05$)).

In group R1, none of the bitches became pregnant after mating (0/3); in group R2 - all bitches became pregnant (3/3); in group R3 - 2/3; and in the control group - 4/6, respectively. All pregnant dogs gave birth to healthy offspring. In group R4, none of the bitches were mated because they did not ovulate.

Therefore, the Suprelorin implant with the active substance deslorelin 4.7 mg, at the beginning of its action, causes the appearance of estrus and can be successfully used to induce estrus in bitches. In terms of its mechanism of action, it is the closest to the natural sexual cycle, as it acts at the hypothalamus-pituitary-gonadal level. To achieve the phenomenon of ovulation and pregnancy, it must be administered to bitches in late anestrus no earlier than 160 days after the last signs of estrus. Removing the implant in time (at the beginning of the LH peak) is also essential to prevent suppression of the sexual cycle.

Keywords: female dogs, reproduction, estrus induction, , infertility, oestrus cycle, drugs Suprelorin, Receptal, sexual hormones, progesterone, vaginal cytology, pregnancy.

Список публікацій здобувача

Статті у фахових наукових виданнях України:

1. **Голумбійовська, Т. В., & Стефаник, В. Ю.** (2018). Порухення відтворної функції у сук та методи діагностики. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 20(83), 385-395. (Здобувач збрала та опрацювала літературу за темою статті).

2. **Holumbiyovska, T. V., Stefanyk, V. Y., & Basarab, T. P.** (2021). Effects of implant Suprelorin on cytological changes of vaginal epithelial cells in female dogs (4.7 mg deslorelin). *Ukrainian journal of veterinary and agricultural sciences*, 4(3), 3-10. (Здобувач провела дослідження, брала участь в аналізі отриманих результатів та написанні статті).

3. **Holumbiiovska, T.** (2023). Dynamics of ovarian structures after application of Suprelorin® (4.7 mg de-slorelin acetate) implant for estrus induction in bitches. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(1), 51-57. (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до публікації).

4. **Голумбійовська, Т. В.** (2023). Зміни концентрації прогестерону та 17бета-естрадіолу (або 17-β естрадіолу), в сироватці крові після введення імпланту Супрелорін®(4, 7 мг деслореліну) для індукції еструсу у сук. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine & Biotechnologies Series: Veterinary Sciences*, 25(109). (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до публікації).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Тези наукових доповідей:

5. **Голумбійовська Т. В., Івахів М. А., Стефаник В. Ю.** (2021). Індукція еструсу у сук. *Матеріали II Конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині»*, 18-19 листопада 2021, м. Львів. (Здобувач брала участь у проведенні досліджень,

аналізі результатів, підготовці тез до друку та усній доповіді на конференції)

6. **Holumbiiowska T.**, Stefanyk V., Uchańska O., Nizański W., (2022). Zmiany w obrazie cytologicznym, ultrasonograficznym oraz stężeniu progesteronu w surowicy po podaniu implantu Suprelorin® (4,7 mg Deslorelin) u suk w okresie anoestrus. *XVI Kongresu "Problemy w rozrodzie małych zwierząt"*, 24-25 września 2022, Wrocław. Poland. *(Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі результатів та підготовці тез до друку та стендовій доповіді)*

7. **Holumbiiowska Tetiana**, Stefanyk Vasyl, Uchańska Oliwia, Nizański Wojciech (2022). Zmiany w cytologii pochwy, obrazie USG jajników i poziomie progesteronu u suk po podaniu desloreliny w okresie anoestrus. *XXX Międzynarodowy kongres Medycyny Weterynaryjnej małych zwierząt PSLWMZ*. 17-20 listopada 2022, Łódź. Poland. *(Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізі результатів та підготовці тез до друку та стендовій доповіді)*

ЗМІСТ

	стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП	19
РОЗДІЛ 1	
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	26
1.1 Особливості статевого циклу у суки	26
1.2 Нейро-ендокринна регуляція статевого циклу у сук	30
1.3 Діагностика статевого циклу у сук	34
1.3.1 Клінічний огляд	35
1.3.2 Цитологічне дослідження репродуктивної системи у сук	37
1.3.3 Дослідження гормонального статусу сук	39
1.3.4 Використання ультразвукового методу дослідження репродуктивної системи у сук	42
1.3.5 Вагінальна ендоскопія	44
1.4 Фармакологічна стимуляція статевого циклу у сук	46
1.5 Узагальнення огляду літератури	52
РОЗДІЛ 2	
ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ	
2.1 Вибір напрямів досліджень	54
2.2 Місце проведення досліджень та об'єкти дослідження	57
2.3 Схема проведення досліджень	60
2.4 Матеріали і методи	62
РОЗДІЛ 3	
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1 Моніторинг поширення порушення відтворної функції у сук у місті Львові	71

3.2 Результати другого етапу дослідження – доекспериментальні дослідження	73
3.3 Результати третього етапу досліджень – індукція тічки за застосування імпланта Супрелорін (4,7 мг деслорелін)	80
3.3.1 Прояв тічки та зміна клітинного складу слизової оболонки піхви сук після застосування імпланта Супрелорін	81
3.3.2 Зміна концентрації 17-β естрадіолу в крові сук після застосуванні імпланта Супрелорін	84
3.3.3 Зміна концентрації прогестерону в крові сук після застосуванні імпланта Супрелорін	87
3.3.4 Зміни структури яєчників сук після застосовуванні імпланта Супрелорін 4,7 мг у сук	91
3.3.6. Дослідження вагітності сук	99
3.3.7. Перебіг статевого циклу у сук при різних схемах застосування імпланта Супрелорін	100
Висновок до розділу 3	104

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	106
ВИСНОВКИ	125
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	128
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	129
ДОДАТКИ	154

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГнРГ – гонадотропін-релізінг гормон

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон

ЛГ – лютеїнізуючий гормон

УЗД – ультразвукова діагностика

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

АлАТ – аланін амінотрансфераза

АсАТ – аспартат амінотрансфераза

Са – Кальцій

Р - Фосфор

ЛФ – лужна фосфатаза

ЛДГ – лактат дегідрогеназа

ІФА – імуноферментний аналіз

РІА - радіоімунний аналіз

Нг/мл – нанограм/мілілітр

Пг/мл – пікограм/мілілітр

Нмоль/л – наномоль/літр

Фл – фемтолітр

Р₄ – прогестерон

Е₂ – 17-β естрадіол

BSAVA – British Small Animal Veterinary Association

eCG – хоріонічний гонадотропін коней

hCG – людський хоріонічний гонадотропін

PMSG – pregnant mare serum gonadotropin сироватковий гонадотропін вагітної кобили

Вступ

Актуальність теми. Собака (*Canis familiaris Linnaeus, 1758*) - це домашня тварина, яка є однією з найбільш поширених та улюблених домашніх вихованців у всьому світі. Собаки були одомашнені приблизно 15 тисяч років тому, і з того часу були розведені безліч різних порід, кожна з яких має свої особливості та характеристики. Собаки - дуже соціальні тварини, які мають велику прихильність до своїх власників та їх сім'ї. Вони можуть виконувати багато функцій для людини: охорона будинку, полювання, пошукові роботи, рятувальні операції, робота з людьми з обмеженими можливостями тощо. Собаки також можуть допомогти своїм власникам у боротьбі з тривожністю, депресією та іншими психічними проблемами. Однак вони також потребують правильного догляду, утримання, регулярних прогулянок, правильного харчування, соціалізації, навчання та медичного догляду.

На відміну від продуктивних тварин, розведенню собак в Україні до недавнього часу приділялась незначна увага. Сьогодні ж, підхід власників до утримання і догляду за тваринами суттєво змінився. Це стало можливим завдяки тісній співпраці лікарів ветеринарної медицини і власників тварин. В наш час собака нерідко вважається повноцінним членом родини, збільшується кількість розплідників, великого поширення набувають виставки собак, а разом з тим більшої популярності набувають собаки декоративних порід. Нині в Україні окреме місце займають службові собаки [1]. З популяризацією культури утримання домашніх та службових собак все частіше постає питання їх розведення, виведення нових порід та отримання здорового приплоду. Це в свою чергу веде до того, що власники тварин все більше зацікавлені в отриманні приплоду, а разом з тим і лікарі ветеринарної медицини частіше почали діагностувати порушення функції відтворення собак [2, 3].

Важливе значення у репродуктивному здоров'ї суки відіграє статевий цикл, який вчені інтенсивно вивчали впродовж минулого століття. Вперше його стадії були описані Хіпом (1900), який класифікував на 4 фази: проєструс, еструс, дієструс (метеструс) і анеструс [4]. Найбільш точно та детально статевий цикл у собак описав Concanon PW в 1989 р [3, 5]. Але все ж досі після багатьох досліджень та вивчення його перебігу залишається багато нез'ясованих питань, що в кінцевому результаті призводять до проблем у відтворенні собак, розбіжностей у термінології і класифікації статевого циклу сук, визначенні критеріїв тривалості різних стадій, оцінці та інтерпретації отриманих результатів [3].

Порушення відтворної функції та фертильності, статевий цикл і його корекцію у сук вивчали такі науковці в Україні, як Ковальов П. В. [6], Власенко С. А. [7], Давиденко Н.Г., [8, 9], Желавський М.М. [10, 11, 12]. Новим підходом в корекції статевої функції є застосування імпланту Супрелорін.

Суки – моноестральні тварини, і ця особливість статевого циклу призводить до певних труднощів з відтворенням у них. На відміну від поліциклічних самок, тічка у сук відбувається майже в 10 разів рідше, тому кожна «втрачена» тічка значно зменшує кількість приплоду, який можна отримати від даної самки. Це особливо важливо для заводчиків собак, суки яких мають племінну цінність, а також для репродуктологічних чи кінологічних центрів [13]. Деякі заводчики зацікавлені в плануванні вагітності, датах злучки в певний період чи сезон. Це може бути пов'язано з кращими умовами для утримання потомства в теплу пору року, наявністю племінних пса чи суки лише в обмежений час [14]. Крім того є також породи, у яких довгий період анеструсу (собаки великих порід), тому у таких випадках доцільно проводити скорочення цього періоду та індукцію тічки [15, 16]. Індукцію тічки у сук також застосовують з метою корекції статевої функції при аномаліях статевого циклу, а саме це має місце при

затяжному, первинному або вторинному анеструсі [17]. Часто власники не можуть вчасно пов'язати суку з псом та, відповідно, отримати приплід через відсутність тічки.

Тому розробка сучасних методів діагностики та лікування захворювань репродуктивної системи та корекції функції відтворення у собак на даний час є дуже актуальною [2, 18].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького за темою: «Розробка ефективних методів діагностики, лікування та профілактики акушерських, гінекологічних та андрологічних захворювань тварин з використанням новітніх технологій» № 0121U112819). Частина досліджень дисертаційної роботи виконувалась у рамках міжнародної Стипендії ім. Prof. Stanisława Tołpy (20.10 - 20.11.2018 р.; 1.10.-1.12.2019 р.) та Вишеградської стипендії (1.09.22–1.06.23 рр.) у Вроцлавському природничому університеті (Республіка Польща)

Мета і завдання досліджень. Мета досліджень полягала у з'ясуванні ефективності застосування специфічного імплантата Супрелорін (4.7 мг деслорелін) для відновлення репродуктивної функції, визначенні оптимальної схеми застосування імплантата Супрелорін для індукції еструсу та овуляції у сук.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні *завдання*:

- визначити оптимальну схему застосування імплантата Супрелорін для індукції еструсу та овуляції у сук та з'ясувати ефективність його застосування;
- провести аналіз даних клінік міста Львова щодо порушення відтворної здатності у сук та частоти прояву захворювань репродуктивної системи у них;

- вивчити цитоморфологічну картину змін клітин епітелію піхви після застосування імпланта Супрелорін;
- встановити динаміку експресії статевих гормонів у сук в залежності від схем застосування імпланта для індукції еструсу;
- встановити оптимальний час вилучення імпланта з організму сук для стимуляції овуляції за індукованої тічки;
- шляхом УЗД з'ясувати структурні зміни у яєчниках, зумовлені гормональним впливом імпланта;
- встановити ефективність застосування комбінованої терапії імпланта Супрелорін з препаратом Рецептал® (Бусерелін) та вплив її на феномен овуляції і заплідненості у сук;
- встановити особливості перебіг статевого циклу у сук при різних схемах застосування імпланта;
- на підставі отриманих даних запропонувати алгоритм використання імпланта для стимуляції еструсу у сук.

Об'єкти дослідження – суки з порушенням статевої циклічності на тлі затяжного анеструсу.

Предмет дослідження – загальний клінічний стан суки, гематологічні та біохімічні показники крові, цитологічна картина епітелію піхви, ультрасонографічне дослідження матки та яєчників, концентрації статевих гормонів в сироватці крові. Розробка та застосування ефективних способів індукції еструсу.

Методи дослідження: клінічні (анамнез, огляд, ультрасонографічне дослідження органів статевої системи), цитологічні (вагінальна цитологія), гематологічні (визначення вмісту гемоглобіну, лейкограма), біохімічні (визначення вмісту альбуміну, загального протеїну, загального білірубину, АлАТ, АсАТ, ЛДГ, лужної фосфатази, глюкози, холестеролу, сечовини, креатиніну, А-амілази, Са, Р), імуноферментні (рівень естрадіолу,

прогестерону в сироватці крові), мікробіологічні, статистичні (біометрична обробка результатів досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше теоретично і клініко-експериментально обґрунтовано, розроблено і впроваджено у клінічну практику схему індукції еструсу у сук з використанням препарату Супрелорін® 4,7 мг.

Вперше проведено порівняння різних схем його застосування, що дає можливість ефективно використовувати імплант Супрелорін® 4,7 мг для індукції еструсу у сук. Представлено ультразвукову характеристику матки та яєчників в залежності від стадії статевого циклу.

Встановлено динаміку плазмової концентрації естрадіолу та прогестерону у різні стадії статевого циклу у сук при застосуванні різних схем індукції еструсу за допомогою імпланта Супрелорін порівняно зі спонтанним статевим циклом.

Доповнено характеристики цитоморфологічної картини вагінального епітелію піхви, обумовлені впливом статевих гормонів у різні стадії статевого циклу при різних схемах застосування імпланта Супрелорін. Отримані результати порівняно між групами тварин з різними схемами застосування імпланта Супрелорін для індукції еструсу та порівняно з фізіологічним статевим циклом.

Вивчено та доведено, що застосування імпланта на основі діючої речовини деслорелін, який до цього застосовувався для фармакологічної кастрації псів та фреток, може бути використаний для індукції еструсу у сук та при своєчасному його видалення може призвести до настання феномену овуляції.

Практичне і теоретичне значення одержаних результатів. Обґрунтовано, запропоновано та впроваджено у клінічну практику спосіб індукції стадії збудження у сук, який за проявом та характером перебігу найбільш наближений до спонтанної тічки.

Розроблено та обґрунтовано доцільність застосування імпланта на основі діючої речовини деслорелін та встановлено можливість його використання для індукції еструсу та відновлення репродуктивної функції у сук.

Доведено, що імплант Супрелорін® 4,7 мг деслореліну діє на рівні гіпоталамус-гіпофіз-гонади, що дозволяє безпечно його застосовувати у порівнянні з іншими гормональними препаратами. Отримані дані доповнюють і розширюють відомості про способи індукції еструсу у сук та відновлення у них репродуктивної функції.

Результати досліджень, що викладені в дисертаційній роботі, використовують лікарі ветеринарної медицини у приватних і державних ветеринарних клініках, а саме: «Кінологічного навчального центру Державної прикордонної служби України військової частини 2418» м. Великі Мости, клініці для тварин „Ветіко”, ветеринарній клініці „Прайд”, „Загавет”, Львівській міській державній лікарні ветеринарної медицини клініка.

Отримані результати досліджень використовують під час наукових у освітньому процесі здобувачів факультетів ветеринарної медицини при викладанні дисципліни «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології» на факультеті ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Національного університету біоресурсів та природокористування України, Білоцерківського національного аграрного університету, Дніпровського державного аграрно-економічного університету, Сумського національного аграрного університету.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно провела аналіз першоджерел наукової літератури з напрямку досліджень та сформулювала положення наукової новизни. Під керівництвом наукових керівників

обґрунтувала тему дисертації, розробила етапи виконання експериментальної роботи, визначила схему та програму досліджень, методологію наукових експериментів. Організувала та виконала експериментальні дослідження, провела аналіз одержаних результатів, їх інтерпретацію, виконала статистичну обробку біометричних показників. Формулювання висновків, пропозиції виробництву проведено також за участю наукових керівників.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на науково-практичних конференціях професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (Львів, 2018-2021), II Конференція сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині, 18-19.11.2021, ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького, XVI Kongres Problemy w Rozrodzie Małych Zwierząt Płodność, Ciąża, Noworodek, 24.09.2022, Wrocław, Poland; XXX Jubileuszowy Międzynarodowy Kongres Medycyny Weterynaryjnej Małych Zwierząt PSLWMZ 17-20 listopada 2022 r. Łódź, Poland.

Обсяг публікацій автора за матеріалами дисертаційної роботи. За темою дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових праць, у тому числі: 4 статті у фахових наукових виданнях, внесених до переліку ДАК МОН України (з них 2 – одноосібні), 3 – тези доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел (225 найменувань, у тому числі 204 латиною). Робота викладена на 175 сторінках комп'ютерного тексту, містить 9 таблиць, 23 рисунки.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Особливості перебігу статевого циклу у сук.

Статевий цикл це послідовність взаємозалежних змін, що відбуваються в репродуктивних органах і в поведінці тварини [3]. У сук перебіг статевого циклу має багато відмінностей у порівнянні з іншими самками, зокрема його тривалість становить 5 місяців. Вагітність розвивається у період фізіологічного перебігу дієструсу, але не впливає на його тривалість. Між циклами незалежно від наявності чи відсутності вагітності настає фаза анєструсу, період відносного тривалого спокою яєчників. [4]

Суки відносяться до моноциклічних самок, у яких статевий цикл проявляється 1-2 рази протягом року [20, 21]. Невдала в'язка або штучне осіменіння не призведе до швидкої появи наступної тічки (єструсу) у тої ж суки [22]. Міжтічковий період у них становить в середньому шість місяців [19]. За даними Christie I Bell (1971), що вивчали статевий цикл у 449 сук, 20 різних порід не виявили породних особливостей щодо тривалості міжтічкового періоду [15]. Натомість вагітність має достовірний вплив на тривалість міжтічкового періоду, продовжує його і впливає на його періодичність. Проведені окремі дослідження Noakes (1980) вказують, що пора року не має впливу на тривалість вище згадуваного періоду, тоді як в літературних джерелах можна зустріти дані про часту появу тічки в період з лютого до травня[23].

Для характеристики статевого циклу у сук найпоширенішою є класифікація за В. Хіпом. В 1900 році він ввів термінологію і запропонував поділити його на чотири стадії: проєструс, єструс, метєструс та анєструс [3, 4, 24]. Цей поділ підтримали Маршал і Джолі (1906) [25], і таким чином він

набув широкого визнання. Згодом більшість авторів використали класифікацію, запропоновану Хіпом (1900), і також класифікували чотири стадії статевого циклу: проєструс, еструс, дієструс і анеструс [26, 27, 28, 29]. Стадії проєструс та еструс характеризуються змінами, які відбуваються у репродуктивній та ендокринній системі з характерною поведінкою у активну фазу статевого циклу, власне тічки. Дієструс - це період після овуляції, і анеструс – період відносного спокою зі сторони статевої системи суки.

Послідовність всіх фаз статевого циклу у сук подібна, як і в інших домашніх тварин. Особливістю у них є тривалість самих періодів, які є значно довшими, ніж у інших видів тварин, і мають суттєві відмінності [4, 30, 31]. Так стадія проєструс у сук триває від 3 до 25 діб (зазвичай 6 - 11 діб), еструс від 2 до 18 діб (зазвичай 5 – 9 діб), дієструс 56 – 58 діб у сук вагітних і 60 – 100 – у невагітних, а тривалість анеструсу є особливо довгою і складає від 4,5 до 7 місяців [28, 30, 32].

Проєструс - це так звана стадія “передтічки”, її ще прийнято вважати початковим періодом активної частини статевого циклу. За даними W. Nizanski вона може тривати від 3-х до 25 діб, в середньому 6 – 11 діб. A. Dubiel наводить дані, що його тривалість становить від 3-х до 15 діб, в середньому 9 – 10 [20, 30]. Характерною ознакою цієї стадії є поява зовнішніх ознак тічки, а саме: набряком і почервонінням вульви, виділенням кров’янистих виділень з піхви, які містять велику кількість феромонів, що приваблюють псів. Пси починають проявляти інтерес до сук, які в свою чергу ще не підпускають їх і не допускають в’язки. З перебігом цієї стадії змінюється характер виділень. На потачку проєструсу вони червоні, з великою кількістю еритроцитів і до наближення наступної стадії стають світлішими, схожими на слиз [17, 19, 28]. При проведенні цитологічного дослідження слизової оболонки піхви, клітини починають активно

збільшуватися та відшаровуватись, поступово переходячи з базальної в проміжну поверхню [30, 33].

Передтічкова стадія (проєструс) поступово переходить в еструс - власне тічку у кінці якої відбувається феномен овуляції. Ця стадія зазвичай триває 5-ти - 9-ти діб [30]. За даними Root Kustritz (2012) діапазон тривалості може становити від 3-х до 21-ї доби [33]. Під час еструсу вульва, яка набрякає під час проєструсу, одночасно розм'якшується, що дозволяє уникнути травмування під час в'язки з псом. Характер виділень теж змінюється, вони стають світлішими, їх кількість зменшується, відмічаються зміни в поведінці суки, а саме: вона відводить хвіст в бік, піднімає круп, проявляє толерацію в сторону пса, підпускає його до в'язки. Цей момент може свідчити про наближення овуляції. А W. Nizanski (2003) і Wildt (1979) зазначають, що за 3- 5-ть діб після того, як сука починає виявляти толерацію до пса відбувається передовуляторний викид ЛГ гіпофіза [20, 30, 34, 35]. День, коли рівень ЛГ в крові максимальний, прийнято вважати початком статевого циклу або нульовим днем статевого циклу [30, 36]. Пік ЛГ в крові є попередником овуляції. Wildt і співавтори стверджують, що овуляція настає через 24 – 72 години після передовуляторного викиду ЛГ [36]. Отримані результати досліджень інших авторів (Phemister і ін. 1973) вказують, що овуляція в сук настає через 48 годин після пікового рівня ЛГ в крові [34].

Овуляція – це вихід яйцеклітини з фолікула. Вона, як правило, триває 1–2 доби. Більшість фолікулів яєчників під дією гормонів дозрівають 2 – 3 доби перед овуляцією, але є дані, що вказують про ріст та розвиток фолікулів вже за 11 діб до овуляції [23]. За даними Dubiela D. (2000) 80 % їх піддаються атрезії через 48 годин від початку тічки (еструсу), але є також дані, що окремі фолікули можуть овулювати навіть на 14-ту добу від початку еструсу [20, 30]. Під кінець тічки на місці фолікулів, що овулювали,

утворюються жовті тіла (*corpus luteum*), хоча початок лютеїнізації фолікулів може відбуватись ще за 60 -70 годин до самої овуляції [37].

Після закінчення стадії еструс розпочинається післятічковий період - дієструс (метеструс) [28]. В цій стадії більше не відмічають характерного набряку вульви, хоча спочатку ще можна спостерігати незначні виділення [33]. W. Nizanski (2003) зазначає, що дієструс може тривати 56 - 58 діб у вагітних сук і 60 - 100 - у невагітних [30]. В свою чергу V. Root Kustritz (2012) [33] повідомляє, що дієструс у вагітних сук триває від 62 до 64 діб, а у невагітних від - 49 до 79 діб. Дієструс є лютеальною фазою статевого циклу і характеризується високим рівнем прогестерону в крові, що продукується жовтими тілами [38].

Існує взаємозв'язок між тривалістю цього періоду статевого циклу і регенерацією ендометрію після некрозу і відшарування. Деякі автори розділяють цей період на дві стадії: стадія максимального розвитку і ендокринної секреції жовтих тіл і стадія їх регресії. Зниження рівня прогестерону в крові можна спостерігати на 60-ту добу від початку стадії проеструс і біля 50-ї доби від того, моменту коли пес вперше зацікавився сукою [20, 30]. Concannon (1975), Hadley (1975) та інші автори розділяють тривалість розвитку і ендокринної секреції жовтих тіл на 3 стадії: формування жовтого тіла (0 – 21 доба), пік розвитку (22 – 43 доби) та регресія (44 – 63 доби). За даними цих авторів, різке зниження рівня концентрації прогестерону відбувається на 30 добу від початку тічки, а зниження рівня прогестерону, який підтримував вагітність, відмічають на 60 – 80 добу [39, 40]. Потрібно відмітити, що за клінічними ознаками встановити закінчення цієї стадії складно. Було запропоновано вважати закінчення цієї стадії, тоді коли рівень прогестерону в крові знижується нижче 1 нг/мл [41]. Цей показник дає змогу оцінити функціональну та секреторну активність жовтого тіла.

Анеструс – це наступна і остання стадія статевого циклу сук, стадія відносного спокою. Анеструсом прийнято вважати період від дня настання родів, якщо сука була вагітна, або від моменту зниження рівня прогестерону в крові нижче 1 нг/мл у невагітних сук, і до часу настання стадії проєструсу. [27, 42. 43]. Тривалість цієї стадії є різною, від чотирьох до десяти - дванадцяти місяців. Клінічно цей період характеризується відсутністю виділень та блідістю слизових оболонок статевих органів, шийка матки закрыта [44]. Відбувається зниження гормональної активності статевих залоз [27]. Мінімізується ріст та розвиток фолікулів, жовте тіло можна ідентифікувати, хоча воно піддається лізису та знижує свою функціональну активність [20].

1.2. Нейроендокринна регуляція статевого циклу у сук.

Статевий цикл – це складний нейрогуморальний процес, що характеризується комплексом морфологічних і функціональних змін у статевих органах і у всьому організмі самки, який спрямований на створення сприятливих умов для відтворення, в період від однієї до іншої фази збудження. В основі статевого циклу лежать періодично повторювані циклічні зміни у функціонуванні системи епіфіз-гіпоталамус-гіпофіз-яєчники-матка [45, 46].

Репродуктивна функція суки регулюється синтезом мелатоніну в епіфізі головного мозку. Він забезпечує регуляцію секреції гіпоталамусом гонадотропін-релізінг-гормону (ГнРГ), а гіпорфізом лютеїнізуючого (ЛГ) і фолікулостимулюючого (ФСГ) гормонів. Гіпоталамус забезпечує зв'язок між центральною нервовою системою і ендокринною. В нейросекреторних клітинах гіпоталамуса під дією зовнішніх подразників (світло, температура, інших сук в тічці) і внутрішніх факторів (гормони) виробляється гонадотропін-релізінг-гормон (ГнРГ), який переміщується в ніжку гіпофіза,

де по вазоневральних синапсах з кров'ю потрапляє у передню долю гіпофіза. Він надходить у вигляді ритмічних пульсуючих імпульсів, які забезпечують постійні поступові вивільнення гонадотропінів (ЛГ і ФСГ). Кожен викид ГнРГ дорівнює рівнозначному вивільненню ЛГ і ФСГ. Гонадотропіни керують функцією статевих залоз (гонад), при чому обидва гормони виконують багаточисленні функції. ЛГ забезпечує біосинтез прогестерону, андрогенів, овуляцію і дозрівання клітин яєчників. ФСГ стимулює ріст фолікулів яєчника і біосинтез естрогенів [3, 19, 37, 47]

Гонадотропін-релізінг-гормон (ГнРГ) може виступати у ролі ліберину і статину. Якщо сума подразнень гіпоталамуса призводить до утворення ліберинів, то під їх впливом у передній долі гіпофіза збільшується синтез фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), який з током крові потрапляє у яєчники, викликаючи проліферацію клітин *stratum granulosum* фолікулів, сприяючи їх розвитку, активує біосинтез естрогенів та індукує утворення рецепторів до ЛГ на поверхні фолікулярних клітин.

Під впливом високої концентрації естрогенів в крові до та на початку статевої охоти гіпоталамус починає виробляти статини, які стимулюють синтез ЛГ, а концентрація ФСГ зменшується. Ріст продовжують лише декілька домінантних фолікули, які мають достатню кількість рецепторів до ЛГ. Інші фолікули піддаються атрезії [45, 48, 49, 50].

Отже в ранній фолікулярній фазі спостерігають пульсуючий викид ГнРГ, який в свою чергу є пусковим фактором для синтезу ЛГ і ФСГ. Під впливом стимуляції гонадотропінів відповідно збільшуються фолікули яєчників, які в свою чергу синтезують естрадіол та інгібін. Збільшення концентрації естрадіолу в крові корелює амплітуду виділення ЛГ, а інгібін призводить до редукції ФСГ. Якщо рівень естрадіолу перевищує пороговий рівень, гальмуючий вплив цього гормону перейде в стимулюючий, і це призведе до передовуляційного викиду ЛГ. Надалі рівень естрадіолу знижується, що призводить до овуляції 24-36 год. Після цього відбувається

лютеїнізація зернистих клітин фолікула, який овулював, та формування жовтого тіла. Зростаючий рівень прогестерону призводить до зменшення частоти пульсуючих викидів ГнРГ без впливу на її амплітуду [48, 51, 52].

У сук статевий цикл зв'язаний з розвитком фолікулів яєчників, овуляцією, утворенням жовтих тіл, які відбуваються під впливом гормональних змін [53]. Всі послідовні фази статевого циклу (проєструс, еструс, дієструс, анеструс) залежить від нейрогуморальної регуляції [5, 51].

Так у ранній проєструс у яєчниках сук виявляють численні фолікули, розмір яких становить 1-2 мм. Під кінець цієї фази їх розміри сягають до 4 мм. З ростом і розвитком цих фолікулів спостерігається підвищення концентрації стероїдних гормонів в крові. Основною формою естрогену у сук є 17- β естрадіол, його базальний рівень дорівнює 8-15 пг/мл і може підвищуватись до 50-100 пг/мл під час проєструсу [28, 30]. Під його впливом проходять морфологічні зміни у статевому апараті самки. Естрогени формують нові капіляри, розширюють кровоносні судини слизових оболонок статевих шляхів, збільшують їх кровонаповнення. Внаслідок чого стимулюються процеси обміну і клітинного ділення, що збільшує кількість шарів епітелію піхви. Відбувається продукція і вивільнення феромонів. Овуляторні фолікули дозрівають з вторинних до передовуляторних під час стадії проєструсу. Коли їх діаметр досягає 4 мм в них утворюються гранульозні клітини, що посилюють синтез естрогену. В подальшому в стадії еструс відбувається передовуляторна лютеїнізація фолікулів (атрезія), що зумовлює початок синтезу прогестерону (P4). Разом з цим відбувається зниження синтезу естрогенів. Це є одним з механізмів, що зумовлює зростання концентрації ЛГ гіпофіза. Лютеїнізуючий гормон є ключовим моментом в овуляції. Вивільнення ЛГ має пульсуючий характер, і його викид припадає від 1 до 7 год від початку статевого циклу [24, 30, 54].

Під час анеструсу рівень ЛГ дорівнює 2-25 нг/мл (в середньому 8 нг/мл). За 1-2 тижні до початку проеструсу рівень цього гормону підвищується до 3 нг/мл.

17-β естрадіол в період анеструсу є низьким і коливається між 5 до 20 пг/мл. Підвищення його до 20-40 пг/мл спостерігають на 3-тю 5-ту добу до початку фази проеструсу. Під час власне стадії проеструсу рівень 17-β естрадіол може дорівнювати 10-30 пг/мл і доходити до 50-110 пг/мл та зберігатися на цьому рівні у фазу пізнього проеструсу або на початку стадії еструсу до 3-х діб до передовуляторного викиду ЛГ. Доба, коли рівень концентрації ЛГ в крові максимальний, прийнято вважати початком статевого циклу – нульовим днем статевого циклу у сук [30, 36, 55].

Одночасно з початком проеструсу відбувається зниження концентрації ФСГ до рівня 130-200 нг/мл. Чергове збільшення рівня ФСГ відбувається одночасно з передовуляційним викидом ЛГ до значення 300 нг/мл. Таке хвилеподібне зниження рівня концентрації ФСГ одночасно з початком проеструсу зв'язане з дією інгібінів фолікулярного походження [49, 56]

Рівень прогестерону (P₄) в крові в період анеструсу дорівнює 0,2-0,5 нг/мл. На відміну від інших домашніх тварин, у сук секреція прогестерону відбувається вже в передовуляторних фолікулах. Значне підвищення концентрації прогестерону 1-3 нг/мл відбувається одночасно з передовуляційним викидом ЛГ, а наступне через 2 доби пізніше, вже в період овуляції (2-8 нг/мл). Пікове значення прогестерону спостерігають між 12-ю 30-ю добою після викиду ЛГ, становить 15-80 нг/мл, після чого на 60-ту 110-ту добу поступово знижується до 1 нг/мл. Секреція прогестерону у невагітних і вагітних сук залежить від секреції ЛГ та пролактину. До 55-ї 60-ї доби статевого циклу гормональний профіль вагітних і невагітних сук не відрізняється між собою [30, 49, 50, 57].

Andrzej Dubiel (2000) стверджує, що близько 96 год після пікового викиду ЛГ овулює до 93,5% фолікулів. Овуляція має спонтанний характер. Після чого формуються жовті тіла. Процес лютеїнізації фолікулів починається вже на стадії передовуляторних фолікулів, розмір яких становить 3-4 мм. Разом зі зниженням концентрації прогестерону в дієструсі проходить зростання рівня концентрації пролактину з базального 2-4 нг/мл до близько 9 нг/мл. Цей ріст є характерним для вагітних сук в перинатальний період. Пролактин у них не виконує лютеотропної функції, але, натомість, впливає на формування пакетів молочної залози і підтримує лактацію як до родів, так і після них [30,51].

1.3. Діагностика статевого циклу у сук.

Фізіологічний статевий цикл у сук може зазнавати різних варіацій і при цьому не вважатись патологічним. Лікар ветеринар повинен диференціювати фізіологічні прояви статевого циклу від патологічних. Розуміння фізіології статевого циклу у сук дає можливість якісно визначити фертильний період, оптимальний час злучки та штучного осіменіння, а також різного роду патології зі сторони органів репродуктивної системи. [58,59,60].

Враховуючи тривалість статевого циклу у сук та його особливості, поділом на фази, включаючи овуляцію і період дозрівання гамет, фертильним вважають інтервал між 4-ю та 7-ю добою після пікової концентрації ЛГ. Проте, потрібно не виключати, що з наближенням закінчення фертильного періоду здатність до запліднення знижується, але в окремих випадках необхідно особливо точно встановити період статевого циклу, зокрема оптимальний час для осіменіння. Наприклад, у випадку штучного осіменіння замороженою спермою. Існують різні методи для визначення періоду статевого циклу, фертильного періоду чи оптимальних

термінів в'язки [19, 61]. Найпоширенішими і найдоступнішими є цитологічне дослідження слизової оболонки піхви (вагінальна цитологія), УЗД органів репродуктивної системи, дослідження рівня концентрації гормонів в сироватці крові, а також вагінальна ендоскопія. Отримані результати при дослідженні тварини перерахованими вище методами слід поєднувати разом з клінічним оглядом, анамнестичними даними та аналізом сечі і крові [62, 63, 64].

1.3.1. Клінічний огляд

Одним з найперших і найпростіших методів діагностики в практиці ветеринарного лікаря є клінічний огляд, а разом з тим збір анамнезу. Під час кожного клінічного огляду проводиться збір анамнезу та розмова з власником, який як правило, володіє великою кількістю інформації.

Під час клінічного огляду та збору анамнезу необхідно зібрати якомога більше інформації про тварину. Анамнез повинен включати не лише дані, які стосуються репродуктивного статусу суки і її осіменінь, але і дані, що дозволять скласти точну картину про стан її здоров'я впродовж усього життя, методи її утримання та годівлю [65]. При розмові з власником під час огляду та консультації можна встановити, як протікали статеві цикли раніше, чи не було будь-яких порушень чи відхилень, час появи кров'янистих виділень, що збігається з початком проєструсу, отримати інформацію про поведінку самки, а також, чи цікавляться нею пси, коли вона почала толерувати їх та підпускати до садки. З анамнезу можна отримати інформацію про злучку, дату першої відмови суки від неї, вік тварини, чи були вагітності раніше, інформацію та характер про попередні роди, чи були псевдовагітності, наявність захворювань репродуктивної системи та чи застосовувалась гормональна терапія для регуляції статевого циклу раніше [66, 67, 68]. Проведення ретельного загального огляду суки

необхідно завершити до того, як доведеться перейти до оцінки стану репродуктивних органів тварини. Мінімальна база даних, необхідна для виключення системних захворювань, повинна включати результати загального аналізу крові, біохімічного дослідження сироватки крові, аналізу сечі, а також скринінг на інфекцію *Brucella canis*. Також уточнюють дані про проведення вакцинацій, дегельмінтизації та обробки від дирофіляріозу [65, 69, 70].

При огляді суки у стадії збудження статевого циклу виявляють зміни у її поведінці, морфологічному складі крові, відмічають підвищення кров'яного тиску, відбуваються зміни у статевому апараті, викликані процесами, що відбуваються з нейрогуморальним статусом організму. Феномен статевого збудження у сук співпадає з феноменом тічки. Тварина може виявляти занепокоєння, зміну настрою, агресію, грайливість, а також можна спостерігати послаблення нюху у мисливських і службових собак, відмову від корму. Також спостерігається збільшення молочних залоз, гіперемія переддвір'я піхви, набряк вульви, виділення з піхви зі специфічним запахом – феромонами, які приваблюють самців. Набряк вульви і слизової оболонки піхви з часом зменшуються, а згодом взагалі зникає [58, 69].

В період проєструсу (передтічки) при огляді так само спостерігають збільшення і почервоніння вульви, також зміну кольору слизових оболонок піхви, відмічають появу кров'янистих виділень, часте сечовипускання, облизування зовнішніх статевих органів, зміну поведінки, загравання з псами, але відсутність толерації до пса. Під дією естрогенів виділяються феромони, завдяки яким суки стають привабливими для псів, які в свою чергу проявляють активний інтерес до сук. Ця стадія триває в середньому 6-ть 11-ть діб [30, 65], тож власники часто рахують дні від появи кров'янистих виділень.

Еструс (власне тічка) в середньому триває 5-9 діб [30]. Під час цієї стадії знову відмічають зміни статевих органів та поведінки суки. Змінюються виділення з піхви, вони зменшуються і стають світлішими, світло-рожевими або безколірними. Коли сука толерує пса, відводить хвіст у бік, піднімає круп, стає нерухомо, підпускає пса до садки, що свідчить про настання або наближення овуляції [20, 30, 34, 35, 71, 72].

1.3.2. Цитологічне дослідження репродуктивної системи у сук

Вагінальна цитологія – це простий та доступний метод визначення стадії статевого циклу. Суть його полягає у встановленні змін клітинного складу епітелію слизової оболонки піхви. Його застосовують для визначення оптимального часу в'язки, впливу естрогенів на репродуктивні органи та для виявлення деяких патологічних станів у репродуктивній системі суки [30].

Відбір матеріалу проводять вагіальною паличкою з піхви, попередньо змоченою 0,9% розчином натрію хлориду. Отриманий матеріал наносять на предметне скельце коловими рухами вагіальної палички так, щоб епітеліальні клітини рівним шаром лягали на предметне скельце, і фарбують контрастними речовинами (трихромом) або неконтрастними (наприклад, препарат Diff-Quik) речовинами. При такому фарбуванні мертві кератинізовані клітини зафарбовуються в оранжевий колір, а активні ядерні клітини, а також базальні і парабазальні епітеліальні клітини стають різних відтінків від голубо-фіолетового до зеленого [73, 74]. Отримані результати оцінюють методом світлової мікроскопії.

В залежності від стадії статевого циклу і гормонального фону, який характерний для певного періоду статевого циклу у нормі, у мазку з вагінальних виділень можна виявити клітини покривного багат шарового плоского епітелію піхви і піхвової частини шийки матки. Серед них розрізняють базальні, проміжні, поверхневі з ядром і поверхневі без'ядерні

клітини, які належать до поверхневих й проміжних шарів епітелію піхви. Встановлюють їхнє відсоткове співвідношення між собою, і таким чином визначають стадію статевого циклу, а в деяких випадках і час в'язки. Також, як додатковий метод діагностики, вагінальна цитологія дозволяє в деяких випадках виявити такі патологічні стани органів репродуктивної системи, як ендометрит чи піометра [58, 62, 75, 76, 77].

Підвищений рівень естрогенів в сироватці крові під час проєструсу стимулює поділ клітин в базальних шарах епітелію піхви. Тому на початку статевого циклу спостерігають багато парабазальних та проміжних клітин, які активно діляться і містять ядро. Зі зменшенням концентрації естрогенів і відповідно ендокринної підтримки проходить зниження формування нового багат шарового епітелію, тому в мазках виявляють більше мертвих ороговілих клітин. Поступово зі збільшенням терміну статевого циклу у вагінальних мазках зменшується кількість епітеліальних клітин, що містять ядро [19, 30, 78].

Від початку стадії проєструсу у вагінальних мазках присутні еритроцити. Згодом можуть з'являтися і поодинокі лейкоцити. Клітини епітелію піхви в основному парабазальні і проміжні. До середини проєструсу продовжує зростати кількість кератинізованих проміжних клітин, ядра яких вже піддаються каріорексису, каріолізису і каріопікнозу [30]. У кінці стадії проєструсу зменшується кількість проміжних клітин і спостерігається збільшення поверхневих, характерна поява клітин, які не мають ядер. Зі стадією еструсу та збільшення в крові концентрації естрогенів відбувається кератинізація клітин епітелію. Пік ороговіння співпадає з підвищенням концентрації прогестерону. Хоча на початку еструсу дослідження не вказують про наявність особливостей, які б характеризували початок фертильного періоду. Як правило цей період настає декілька діб пізніше, при 60-90 % без'ядерних клітин. Наявність поверхневих епітеліальних клітин у вагінальному мазку вважається

оптимальним часом для в'язки [20, 30, 79 80]. Ближче до закінчення еструсу епітеліальні клітини у вагінальних мазках знову зазнають змін. Виявляють молоді базальні і парабазальні клітини з ядром, з'являються лейкоцити. Таку картину можна спостерігати на 7-9 –ту добу після піку ЛГ і вона характерна для стадії статевого циклу метеструс (діеструс) [81, 82, 83] Зміна характеру виділень і збільшення кількості активних клітин вказують на кінець фертильного періоду і еструсу.

Методика вагінальної цитології є досить інформативною для визначення стадії статевого циклу, однак значні розбіжності в цитологічній картині і концентрації прогестерону в крові обмежують застосування даного методу. Не зовсім правильним є опиратись лише на результати вагінальної цитології для встановлення фертильного періоду. Цей метод рекомендовано поєднувати з кількісним визначенням рівня концентрації прогестерону в сироватці крові. Та все ж вагінальна цитологія широко використовується для визначення репродуктивного статусу сук через свою простоту, доступність і незначні витрати [19, 71, 76, 81].

1.3.3. Дослідження гормонального статусу сук

Протягом усього періоду статевого циклу у організмі суки відбуваються значні гормональні зміни. Рівень гормонів в основному визначають радіоімунним (RIA) або імуноферментним (ІФА) методами [19, 50]. Так на початку активної фази (проеструс) спочатку відбувається підвищення рівня естрогенів, в той час як ЛГ і прогестерон залишаються на базальному рівні. Далі з настанням еструсу рівень естрогенів поступово знижується, а рівень прогестерону збільшується [58]. Відомості про концентрацію прогестерону і естрогенів в крові можуть служити орієнтиром для визначення стадії статевого циклу або фертильності у сук. Максимальну концентрацію естрогенів спостерігають в період проеструс. Протягом

анеструсу концентрація естрадіолу підтримується на базальному рівні і поступово зростає в проєструсі, досягаючи максимального рівня в період приблизно за три доби до початку стадії еструс [30, 84, 85, 86]. Як зазначає D. W. Christie and E.T. Bell (1971), концентрація естрогенів в плазмі крові зростає під час проєструсу, досягаючи пікового значення протягом останньої доби проєструсу або в перший добу еструсу [57]. У сук після піку концентрації естрадіолу (приблизно через добу) настає пік концентрації ЛГ [87]. Естрогени, що циркулюють в плазмі крові, в пізній проєструс досягають максимального або майже максимального рівня за 24-48 год до початку піку ЛГ, а потім швидко знижуються [87, 88, 89]. Існує зворотній зв'язок між концентрацією естрогенів і прогестероном в плазмі крові. Зі зменшенням концентрації естрогенів в плазмі крові спостерігають збільшення прогестерону.

Прогестерон вважають індикатором фертильного періоду у сук. В кінці анеструсу концентрація прогестерону в сироватці крові знаходиться на базальному рівні та його рівень важко визначати. В період проєструсу рівень його незначно підвищується до певного значення. До кінця проєструсу рівень прогестерону може незначно підвищуватись з базального рівня (до 3 нг/мл [19, 90] та продовжує підвищуватись, досягаючи рівня 3-6 нмоль/л (1-2 нг/мл) до моменту передовуляторного піку ЛГ. Через 2-і доби (день овуляції) концентрація прогестерону сягає 2-4 нг/мл (6-12 нмоль/л), а на 4 добу (фертильний період) - 6-10 нг/мл (18-30 нмоль/л) [19, 21, 37]. За даними Бордюгова К. С. (2013) овуляція настає, коли показник прогестерону перевищує рівень 5-8 нг/мл. В той же час A. Dubiel і W. Nizanski (2003) стверджують, що рівень Р4 починає рости і збільшується з 1-го до 2 нг/мл до моменту передовуляційного викиду ЛГ, а наступні 2-і доби після цього (в момент овуляції) він дорівнює 2-8 нг/мл [30, 51]. Відмінності в числових значеннях прогестерону можуть залежати від

суб'єктивних чинників, таких як обладнання, специфіка реактивів, методи дослідження.

Фертильним періодом вважають 2-5-ту добу після овуляції, так як лише на 2-3-тю добу після овуляції відбувається повне дозрівання яйцеклітин [58]. Найвищий рівень концентрації прогестерону спостерігають між 12 і 30-ю добою після піку ЛГ, що становить 15-80 нг/мл, після чого на 60-110 добу поступово знижується до 1 нг/мл. Секреція прогестерону до 55-60-ту доби у невагітних і вагітних сук практично не відрізняється і залежить від секреції ЛГ і пролактину [5, 51].

Концентрація прогестерону в сироватці крові найбільш широко використовується і вважається найбільш інформативним методом у поєднанні з вагінальною цитологією, оскільки дослідження інших рідин (слини, сечі) не дає достовірних результатів. G. England (1998) рекомендує проводити дослідження після появи перших ознак проєструсу і повторювати щонайменше кожні 2-3 доби до закінчення цієї стадії і початку характерних змін поведінки при еструсі [19]. Інші автори пропонують схему використання комплекту тесту Target, починаючи з 3-5-ї доби після початку проєструсу і продовжуючи до досягнення рівня середніх концентрацій прогестерону (більше ніж 1 нг/мл, менше ніж 5 нг/мл) періодичністю через добу [37, 58, 64, 72]. Ці дослідження дозволяють встановити різке підвищення концентрації Р4 (до 5 нг/мл і більше) для встановлення дня овуляції і відповідно імовірної дати в'язки [5, 19, 37, 58]. У випадку дуже короткого проєструсу дослідження рекомендовано починати раніше.

Залежно від методики дослідження можуть спостерігатись деякі розбіжності в показниках концентрації Р4. Так при імуноферментному аналізі отримують дещо вищі показники рівня гормону, але їх теж можна вважати надійними [71]. Для визначення рівня статевих гормонів найчастіше використовують метод РІА [19, 71].

В діагностиці статевого циклу визначення рівня прогестерону у сироватці крові використовується найчастіше. Його застосовують як орієнтир для визначення фертильного періоду. Хоч ЛГ і естрадіол є більш інформативними в даному питанні, визначення естрадіолу практикується рідко, а ЛГ практично не визначається через свою видоспецифічність [19, 50].

1.3.4. Використання ультразвукового методу дослідження репродуктивної системи у сук

Метод візуальної діагностики широко використовується у ветеринарній практиці, особливо при обстеженні пацієнтів акушерського профілю. Сонографічне дослідження є простим, швидким та зручним методом діагностики органів репродуктивної системи. Цей метод є доступним та малозатратним. Він дає можливість оцінити структурні зміни в органах статеві системи та визначити такі параметри, як розмір рогів матки, товщину стінки матки, ехогенність матки по відношенню до оточуючих тканин, структуру ендометрію, наявність плодів та їх ехогенність, наявність новоутворень та стан структур яєчника [91, 92, 93, 94].

УЗД діагностика в акушерстві дрібних тварин широко застосовується для діагностики піометри, кістозної гіперплазії ендометрію, пухлин матки, затримки посліду, резорбцію ембріонів, розривів матки, визначення розмірів яєчників та наявності на них фолікулів, жовтих тіл, кіст [95, 96, 97, 98].

Для того, щоб провести ультразвукове дослідження необхідна наявність апарату з високочастотним датчиком 7,5-15,0 МГц. Рекомендовано проводити дослідження високочастотними лінійними датчиками, хоча більшість зображень яєчників (навіть у малих порід собак)

можна отримати і за допомогою променів з частотою 7,5 МГц. Також автори рекомендують підтверджувати наявність слабовиражених структур високочастотними датчиками 8-10 МГц [99, 100,].

В період анеструсу матка у фізіологічному стані не візуалізується, і тільки поява ехогенної рідини дає можливість отримати зображення. Також потрібно відмітити, що яєчники в анеструс не завжди вдається візуалізувати. Вони мають незначні розміри і гетерогенну структуру, особливо у статевозрілих сук, в яєчниках яких не повинно бути жовтих тіл [19, 101, 102].

Під час проєструсу та еструсу, а також після родів структура матки змінюється, та ехогенне середовище, яке утворюється в органах репродуктивного тракту, забезпечує більш чітке зображення [103].

В фазу проєструсу та еструсу товщина рогів зазвичай збільшується на 1-3 мм, може візуалізуватися незначна кількість рідини. Яєчники у фізіологічній нормі мають округлу чи овальну форму гіпоєхогенної структури, під час еструсу – бугристі, з множинними міхурцями, округлої анехогенної структури [104, 105, 106, 107]. В проєструсі яєчники збільшуються, і це дає змогу їх краще візуалізувати. На них з'являються маленькі округлої форми анехогенні фолікули з тоненькою стінкою товщиною до 1 мм. Ближче до еструсу вони перетворюються в домінантні фолікули, які в невеликій кількості секретують прогестерон. Залежно від величини породи максимальний діаметр домінантного (передовуляторного) фолікула може коливатись від 6 до 9 мм [108, 109, 110, 111].

За допомогою ультразвукової діагностики можна підтвердити овуляцію у суки. Попередня діагностика може бути невдалою, через незначні розміри яєчників і схожість з навколишніми структурами. Тому яєчники донедавна було важко візуалізувати за допомогою апарату УЗД. Проте з появою удосконаленої апаратури в опублікованій літературі повідомляється про те, що з допомогою аналізу серійних (отримуваних

тричі на день) зображень УЗД вдалось виявити значне зниження числа гіпоехогенних фолікулів [112] При цьому був підтверджений тісний взаємозв'язок та кореляція часу овуляції, визначеного на основі визначення активності ЛГ і прогестерону [71, 113, 114].

Під час овуляції за допомогою УЗД діагностики яєчників можна спостерігати зникнення порожнини фолікулів. В проведених дослідженнях А. Fontbonne і Е. Malanden (2007) у 37,5% (18 з 48) сук спостерігали повне зникнення фолікулів яєчників після овуляції. Проте, у деяких сук в яєчниках може зберігатись невелика кількість гіпоехогенних структур – фолікулів, що не овулювали [115, 116, 117, 118].

З наближенням овуляції УЗД слід проводити щоденно, щоб не переплутати передовуляторний фолікул з початком розвитку жовтого тіла, яке заповнене кров'ю. Так як через добу після овуляції кров накопичується в жовтих тілах на ранніх стадіях, які за своєю ехоструктурою нагадують передовуляторні фолікули [115, 119, 120].

Як зазначає BSAVA (2011), овуляцію можна встановити за допомогою УЗД яєчників у сук [94, 121], але даний метод є лише на 10% інформативніший, ніж моніторинг концентрації прогестерону в крові. Тому для визначення овуляції паралельно з моніторингом концентрації прогестерону в крові проводять УЗД яєчників. Для більш точного підтвердження дня овуляції.

Цей метод також використовують для підтвердження, чи відбулась овуляція та охарактеризувати її в кількісному аспекті у сук з підозрою на неплідність [122].

1.3.5. Вагінальна ендоскопія

Вагінальна ендоскопія – це метод візуальної діагностики, що дає змогу дослідити вульву, піхву і шийку матки та провести трансцервікальну

катетеризацію [19, 68, 91]. Вагіноскопію у сук проводять за допомогою штивного ендоскопу [19]. Інші автори, зокрема Margaret Root Kustritz (2010), описують проведення цієї процедури за допомогою утероскопу або артроскопу з атравматичним дистальним кінцем і кутом огляду 30°, довжина робочого каналу якого має становити не менше 18 см [68, 91].

Дослідження шийки матки і краніальної частини піхви у сук є досить складним, через її анатомічну особливість будови – вузька краніальна частина піхви і вентральний напрям шийки. Слід також пам'ятати про наявність поперечної постцервікальної складки, яка розташована на дорсальній стінці піхви на 2 см каудальніше шийки. Це також звужує прохід по репродуктивному тракту суки. Тому досліджувати шийку матки слід за допомогою ендоскопу невеликого діаметру [19, 68, 91, 123].

При проведенні дослідження звертають увагу на зміни, що відбуваються в репродуктивних органах під час статевого циклу, оцінюють стан та колір слизової оболонки піхви та її складок, наявність запальних процесів, структурних змін та їх локалізацій. Можна також виявити наявність перетинок, перегородок, додаткових отворів, спайок просвіту піхви, неоплазій, наявність сторонніх тіл тощо. Вагіноскопія дає можливість оцінити колір виділень, відібрати матеріал для біопсії та дослідити виділення, що залишаються на ендоскопі після того, як його виводять. Потрібно відмітити, що за допомогою штивного ендоскопа можна провести штучне осіменіння суки [124, 125].

Метод вагінальної ендоскопії дозволяє оцінити структурні зміни, що відбуваються в репродуктивних органах під час статевого циклу. Під час проєструсу під дією естрогенів спостерігають набряк складок піхви, їх збільшення, зміну просвіту піхви, кольору слизових оболонок та появу рідини. Під час еструсу з наближенням овуляції під дією прогестерону спостерігають зменшення набряку та появу складок стінки піхви [126,127].

В стадію дієструсу і анєструсу в порівнянні з іншими фазами статевого циклу технічно складніше провести вагіноскопю, так як стінки вульви вже розслаблені і проходять свою інволюцію [19].

Проведення цієї маніпуляції є досить складним методом і потребує певних вмінь від ветеринарного спеціаліста, а також слід взяти до уваги високу вартість самих приладів для ендоскопії. Також неспокій тварин при вагіноскопії потребує застосування седативних препаратів та фіксації її. Виділення з піхви також можуть перешкоджати отриманню зображення під час процедури [91].

1.4. Фармакологічна стимуляція статевого циклу у сук

Фармакологічна стимуляція статевого циклу у сук, а саме індукція еструсу, на даний момент досить широко застосовується, але ще не до кінця вивчена. Для індукції еструсу пропонувалося застосування синтетичних естрогенів (діетилстилбестролу) [128], екзогенних гонадотропінів (фолікулостимулюючого гормону ФСГ, хоріонічного гормону людини hCG, сироваткового гонадотропіну вагітної кобили eCG та менопаузального гонадотропіну людини) [129-132], агоністів дофаміну (бромкрептин та каберголін) [133-138], агоністів ГнРГ (лютерелін, бусерелін, фертирелін, деслорелін та леопролід) [139-143].

Застосування синтетичних естрогенів.

Естрогени у сук синтезуються клітинами фолікулів яєчників. Ендогенні естрогени забезпечують розвиток статевих ознак у самок, фізіологічне функціонування маткових труб, а зміна концентрації естрогенів регулює викид гонадотропіну - ЛГ, який контролює овуляцію. Підвищення рівня естрогенів в кінці вагітності є сигналом для початку родів. Естрогени широко використовуються клініцистами для стимуляції тічки у поєднанні з гонадотропінами (хоріонічний гонадотропін коней (eCG) разом з людським хоріонічним гормоном (hCG) або антагоністами

пролактину (бромкриптин і каберголін) [144, 145]. Низькі дози естрогенів посилюють дію ФСГ, який сприяє розвитку рецепторів ЛГ в клітинах зернистого шару яєчників і тим самим стимулює клітинну відповідь на базальну концентрацію ЛГ. Внаслідок цього відбувається розвиток фолікулів і синтез ними естрогенів, а концентрація гонадотропінів (ФСГ та ЛГ) при цьому залишається низькою. Зміна співвідношення естрогенів і прогестерону забезпечує пік ЛГ та овуляцію [128].

Найпопулярнішим серед синтетичних естрогенів для стимуляції овуляції у сук є діетилстилбестрол [128], а також препарати естрадіолу бензоату, етил естрадіолу, стилбестролу, дієстролу. Слід пам'ятати, що застосування цих препаратів має ряд небажаних наслідків та часто може зашкодити здоров'ю тварини, тому застосування їх у ветеринарній практиці не знайшло практичного значення і застосовувати їх слід вкрай обережно.

Застосування гонадотропінів.

Гонадотропіни - це гормони передньої долі гіпофіза (ФСГ та ЛГ). ФСГ забезпечує розвиток фолікулів, а ЛГ підтримує їх ріст і відіграє основну роль в настанні овуляції. ЛГ є основним лютеотропним агентом і забезпечує функціонування жовтого тіла в лютеїнову фазу у вагітних і невагітних сук [146].

В ветеринарній практиці використовуються лише екзогенні гонадотропіни, що містять хоріонічний гонадотропін коней (eCG), людський хоріонічний гонадотропін (hCG) та сироватковий гонадотропін (PMSG) [147]. Призначення eCG наприкінці стадії анеструсу в дозі 20 МЕ/кг протягом 5 діб стимулює фолікулогенез та секрецію естрогенів [146]. Овуляція відбувається мимовільно після піку ЛГ або може бути індукована додавання hCG в дозі 25 МЕ/кг на 5 добу терапії [146]. Слід бути обережними при комбінації цих двох препаратів, так як є ризик появи гіперестрогенізації, яка перешкоджає імплантації та може призвести до пригнічення активності кісткового мозку і навіть летальності. Секрецію

естрогенів на фізіологічному рівні можуть забезпечити низькі дози гонадотропінів [148]. Еструс, індукований гонадотропінами, характеризується відносно низьким рівнем прогестерону і короткою лютеїновою фазою через високу концентрацію естрогенів ендogenous чи екзогенного походження, що пригнічують синтез ЛГ [13,132].

У ветеринарній практиці для індукції еструсу застосовують також сироваткові гонатропіни, а саме: *PMSG Intervet (Intervet UK Ltd)*, Фолігон (*Intervet UK Ltd*); хоріонічного гонадотропіну – Хорулон (*Intervet UK Ltd*).

Хоріонічний гонадотропін коней був препаратом, вплив якого на фолікули суки досліджувався найбільше [149, 150]. Найпоширенішими проблемами при застосуванні PMSG може бути реакція самої суки на препарат або надмірний ріст фолікулів, які розвинулись внаслідок застосування препаратів. Крім того низька доступність обмежує їх застосування [151, 152].

Застосування агоністів дофаміну

Агоністи дофаміну ще називають антагоністами пролактину. До препаратів цієї групи відносять каберголін та бромкриптин. Пролактин - це гормон, який бере участь в підтримці та функціонуванні жовтих тіл яєчника під час лютеїнової фази як вагітних, так і невагітних сук. Використання антагоністів пролактину призводить до зменшення його концентрації, як наслідок регресії жовтого тіла та зниження концентрації прогестерону. Постійне введення антагоністів пролактину в період анеструсу веде до його скорочення і появи тічки [143]. Існує взаємозв'язок між тривалістю анеструсу та часом введення антагоністів пролактину. Кращі результати та швидша індукція еструсу відмічається, якщо лікування проводити наприкінці анеструсу [153, 154, 155, 156]. Механізм індукції еструсу маловідомий. Поява тічки у сук не завжди пов'язана зі зниженням рівня пролактину, але виявлено, що агоністи дофаміну мають також прямий вплив на стимуляцію вироблення ГнРГ на рівні гіпоталамусу [157]. Хоча

пригнічення пролактину є ключовим в дії дофаміну, це не є обов'язковим фактором в індукції еструсу, оскільки при дослідженні виявлено випадки, коли спостерігалась поява проеструсу без зниження рівня пролактину в плазмі крові [158] .

Препарати каберголін та бромкриптин пригнічують синтез пролактину через стимуляцію дофамінергічних рецепторів клітин передньої долі гіпофізу, що продукують пролактин. Індукцію фертильного еструсу можна отримати, застосовуючи безперервне введення в період анеструсу бромкриптину (0,1 мг/кг/добу) або каберголіну (5,0 мкг/кг/добу) до появи клінічних ознак тічки. Застосування менших доз каберголіну (0,6 мкг/кг/добу) теж виявилось ефективним [153, 154].

На ринку ветеринарних препаратів існують: препарати каберголіну – *Galastop (Boehringer Ingelheim Ltd)*, *Достінекс (Pharmacia)*; препарати бромкрептину – *парлодел (Novartis Pharmaceuticals UK)*.

Тривалість процедури різна: від 8 до 40 діб, проте ефективність індукції еструсу суттєво залежить від періоду анеструсу, коли почали вводити препарати [143, 159, 160]. Стимуляція еструсу, почата в лютеїнову фазу, теж дає позитивні результати, але тривалість курсу застосування препаратів при цьому збільшується. Є окремі експериментальні дослідження, які показали, що введення синтетичних естрогенів, у яких встановлено численні побічні ефекти, за тиждень до початку застосування каберголіну скорочує час прояву проеструсу та дозволяє отримати синхронізацію тічки та овуляції [161].

При застосуванні агоністів дофаміну побічна дія їх проявлялася не так часто. Встановлено, що бромкриптин може викликати блювоту [159], а каберголін - зміни кольору шерсті з другого тижня застосування та в окремих випадках призводити до появи алопецій, якщо термін лікування становить більше 14 діб [162]. Окремі дослідники отримали дані, що

застосування каберголіну (5,0 мкг/кг/день) є ефективнішим та володіє більш пролонгованим ефектом та не викликає побічної дії [19].

Застосування агоністів ГнРГ

Гонадотропін-релізінг гормон (ГнРГ) забезпечує та контролює вироблення гонадотропінів (ФСГ та ЛГ) за допомогою нейроендокринних механізмів. ГнРГ синтезується гіпоталамусом, а звідти через порталні вени потрапляє в передню долю гіпофіза. Дія агоністів ГнРГ полягає в підвищенні ГнРГ, і тим самим забезпечується стимуляція секреції гонадотропінів. Ці препарати є доступними у формах підшкірних імплантів або в розчинах для ін'єкції [13]. До аналогів ГнРГ у формі розчинів належать препарати бусереліну – Рецептал (*Hoechst Roussel Vet Ltd*), Супрефакт (*Hoechst UK Ltd*), фертиреліну – Оваліс (*Pharmacia & upjohn Ltd*), гонадореліну – Фертигіл (*Intervet UK Ltd*), гозереліну – Золадекс (*Zeneca Pharmaceuticals*), лютереліну [33]. Ці препарати зареєстровані в Європі, але не застосовуються для лікування собак в ній та в США. Препарати у вигляді підшкірних імплантів, які найчастіше застосовують у сук, це препарати на основі деслореліну - Ovuplant 2,1 mg (*Fort Dodge Animal Health, Overland Park, KS, USA*) та Suprelorin 4,7 mg (*Virbac, Carros, France*) [13, 163].

Kutzler (2005) повідомляє, що пульсаційне внутрішньовенне введення ГнРГ наприкінці анеструсу у дозах 0,2–0,4 мкг/кг з інтервалом 90 хв, подібно до ендогенних імпульсивних викидів, є достатнім для отримання підвищення рівня ЛГ, необхідного для початку стадії еструс [16, 164]. Однак протоколи індукції тічки з використанням природного ГнРГ або агоністів ГнРГ короткої дії не знайшли широкого клінічного застосування через високу вартість пульсаційних інфузійних насосів та в окремих випадках через необхідність госпіталізації тварини під час тривалого внутрішньовенного введення препарату [164]. Тому як альтернатива набули широкого застосування імпланти з довготривалою дією, які згідно настанови по застосуванню використовуються для пригнічення статевої

активності у собак та домашніх тхорів, а віднедавна і котів [165, 166, 167]. Постійне вивільнення ГнРГ (деслорелін, лютерелін) через підшкірні осмотичні міні-помпи або імпланти довготривалої дії призводить до індукції фертильної тічки при умові, що терапія буде припинена на початку овуляції [16] або на початку еструсу [163, 164, 168].

Клінічне застосування деслореліну для індукції еструсу у ветеринарній практиці вперше описав Trigg та ін. в 2000 р. при вивченні застосування нового контрацептиву Супрелорін 4,7 мг деслорелін (*Virbac, Carros, France*), який на той час був доступний лише в Австралії та є зареєстрованим для хімічної стерилізації псів та тхорів [169]. Отримані результати досліджень показали, що при застосування імпланту для фармакологічної стерилізації, спостерігали появу тічки у всіх сук в анеструсі [170 -174].

Імплант Овуплант 2,1 мг деслорелін (*Fort Dodge Animal Health, Overland Park, KS, USA*) є також біологічним імплантом уповільненої дії, що розсмоктується та застосовується у коней. Відповідно до інструкції Овуплант індукує овуляцію у кобил через 48 годин. Попередні дослідження цього препарату на собаках показали високу ефективність індукції еструсу у сук [163, 164, 168, 175]. Проте згодом ця форма імпланту деслорелін стала важкодоступною на ринку [164,176].

Існує багато протоколів для фармакологічної стимуляції статевого циклу у сук. Проте успіх у досягненні фертильної тічки та вагітності є неоднаковим. Крім того деякі методи занадто дорогі або трудомісткі, щоб бути придатним для клінічної ветеринарної практики. Деякі із перелічених тут препаратів та протоколів не є схваленими для лікування неплідності та індукції тічки у сук у Сполучених Штатах та Європі. Однак препарат каберголін (*Galastop*) ліцензований для індукції тічки у сук у Європі [164].

Перед початком роботи власників слід попередити, що багато з цих методів лікування все ще є експериментальними.

З успіхом можуть застосовуватися гонадотропіни (ФСГ, РMSG) у собак і котів, тоді як агоністи дофаміну ефективні лише у сук. Препарати тривалої дії (плацентарні гонадотропіни, імпланти аналогів ГнРГ) зручні для власника і менш стресові для пацієнта, але пов'язані з передчасною лютеїновою недостатністю і подальшим зниженням народжуваності. Знання сильних і слабких сторін кожного з протоколів допоможе ветеринару у прийнятті відповідний вибір.

1.5. Узагальнення огляду літератури

Протягом останнього десятиріччя ветеринарна репродуктологія стала стрімко розвиватися, і перед ветеринарними лікарями з'являються нові виклики та питання. Значну частину захворювань незаразної патології займають захворювання системи відтворення, особливо у високоцінних племінних собаки. Це особливо актуально для заводчиків тварин, які бажають отримати приплід від своєї тварини. Статевий цикл у сук відрізняється від інших домашніх тварин і має ряд певних особливостей. Він характеризується чотирма стадіями: проєструс, еструс, дієструс і анєструс, які за рахунок дії гормонів змінюють одна одну. Так як суки - моноєстральні тварини, статевий цикл у них триває досить довго - в середньому шість місяців - і має сезонність [3, 20]. Це означає, що овуляція в них відбувається набагато рідше в порівнянні з поліциклічними тваринами, які овулюють щомісяця або мають індуковану тічку, наприклад коти [19]. Крім того, собаки мають спонтанну овуляцію та, як наслідок, спонтанну лютеїнову фазу. Така фізіологія статевого циклу у сук призводить до певних труднощів з відтворенням у них. Часто власники не можуть вчасно пов'язати суку з псом та відповідно отримати приплід через відсутність тічки або затяжний анєструс [9]. Статевий цикл і його стадії ще багато років тому були описані Хіпом (1900р) і розділені на 4 фази: проєструс, еструс, дієструс (метєструс)

і анеструс. В основі статевого циклу лежать періодично повторювані циклічні зміни у функціонуванні системи епіфіз-гіпоталамус-гіпофіз-яєчники-матка. Розуміння фізіології статевого циклу у сук дає можливість якісно визначити фертильний період, оптимальний час злучки та штучного осіменіння, а також різного роду патології зі сторони органів репродуктивної системи. До методів діагностики статевого циклу у сук відносять такі, як клінічний огляд, вагінальну цитологію епітелію піхви, дослідження рівня статевих гормонів в сироватці крові, УЗД органів репродуктивної системи та вагінальну ендоскопію.

Для фармакологічної стимуляції статевого циклу у сук вже раніше застосовували такі препарати, як: синтетичні естрогени (діетилстилбестрол) [128], екзогенні гонадотропіни [129-132], агоністи дофаміну [133-138] та агоністи ГнРГ. Хоча методів індукції тічки існує багато як для собак, так і для котятих, ефективність їх (індукція тічки, овуляція, вагітність і народження потомства) відрізняються в різних протоколах.

РОЗДІЛ 2

ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Вибір напрямів досліджень

Серед домашніх тварин собаки чи не найближчі тварини до людей та є одними з найбільш популярних домашніх тварин. У багатьох країнах світу вони є частиною культури та традицій, а також мають важливе значення як тварини-помічники (наприклад, для сліпих чи інших осіб з обмеженими можливостями).

Ознайомившись із результатами досліджень, що представлені у зарубіжній та вітчизняній літературі та зробивши аналіз попередніх даних в галузі репродуктології щодо проблем з відтворенням у сук, ми спрямували наші дослідження для вивчення методів відновлення репродуктивної функції у сук, а саме індукцію еструсу при використанні різних схем застосування імпланта Супрелорін® (4,7 мг деслорелін).

Розведення собак і виведення нових порід набуло великої популярності, зросло число розплідників, кількість племінних сук і псів. Це в свою чергу призвело до того, що власники тварин все частіше зацікавлені в отриманні приплоду від своєї сук, а лікарі ветеринарної медицини все частіше почали зустрічатися з порушенням функції відтворення собак. Також це пов'язано з фізіологією статевого циклу у сук. Так як вони моноестральні тварини, на відміну від поліциклічних самок, тічка у них відбувається майже в 10 разів рідше. Тому кожна «втрачена» чи пропущена тічка значно зменшує кількість потомства, яке може дати конкретна самка. Це особливо важливо для заводчиків собак, суки яких мають племінну цінність, а також для центрів репродуктології чи кінологічних центрів. Деякі заводчики зацікавлені в плануванні вагітності, конкретних датах спаровування або вагітністю на певний період чи сезон. Крім того, є також

породи, які мають довгий період анеструсу (собаки великих порід). Індукція тічки у сук також є формою лікування аномалій статевого циклу, таких як затяжний анеструс, первинний або вторинний анеструс [70]. Часто власники не можуть вчасно злучити суку з псом та, відповідно, отримати приплід через відсутність тічки або затяжний анеструс.

Для вирішення поставлених завдань дисертаційної роботи було проведено декілька етапів досліджень (рис 2.1).

Перший етап - включав моніторинг та вивчення поширення порушень відтворення сук у місті Львові (n=300). За даними звітності прийому пацієнтів на кафедрі акушерства ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького та приватної ветеринарної клініки м. Львова „Ветіко” встановлювали поширеність порушення відтворної функції у сук та її причини і встановлювали відсоток сук, у яких можна було б відновити відтворну функцію за допомогою стимуляції статевого циклу. Для виконання завдання були вивчені статистичні дані, записи журналів реєстрації тварин і комп'ютерні бази даних «Jetvet» і «KlinikaXP».

Другий етап – діагностичний або доекспериментальний. Включав відбір тварин з порушенням статевого циклу та проведення діагностичних процедур для виключення супутніх патологій репродуктивної системи, які б перешкоджали появі овуляції та вагітності. Для цього проводився збір анамнезу, клінічний огляд тварин, вагінальна цитологія епітелію піхви, визначення концентрації статевих гормонів (прогестерону та 17-β естрадіолу), УЗД органів статевої системи (матка, яєчники), загальний та біохімічний аналіз крові, бактеріологічне дослідження секрету з піхви.

Третій етап - індукція еструсу. Метою дослідження було застосування імпланту Супрелорін (4,7 мг деслорелін) для стимуляції тічки у сук та порівняння різних схем його застосування з метою визначення найефективнішої з них. Для експерименту було відібрано 33 тварини та поділено їх на 4 дослідні групи, залежно від періоду анеструсу, коли

застосовувався імплант, та часу його вилучення, також була сформована контрольна група, до якої увійшли тварини зі спонтанною тічкою. У всіх тварин проводили вагінальну цитологію епітелію піхви, визначення концентрації прогестерону та естрадіолу і УЗД яєчників.

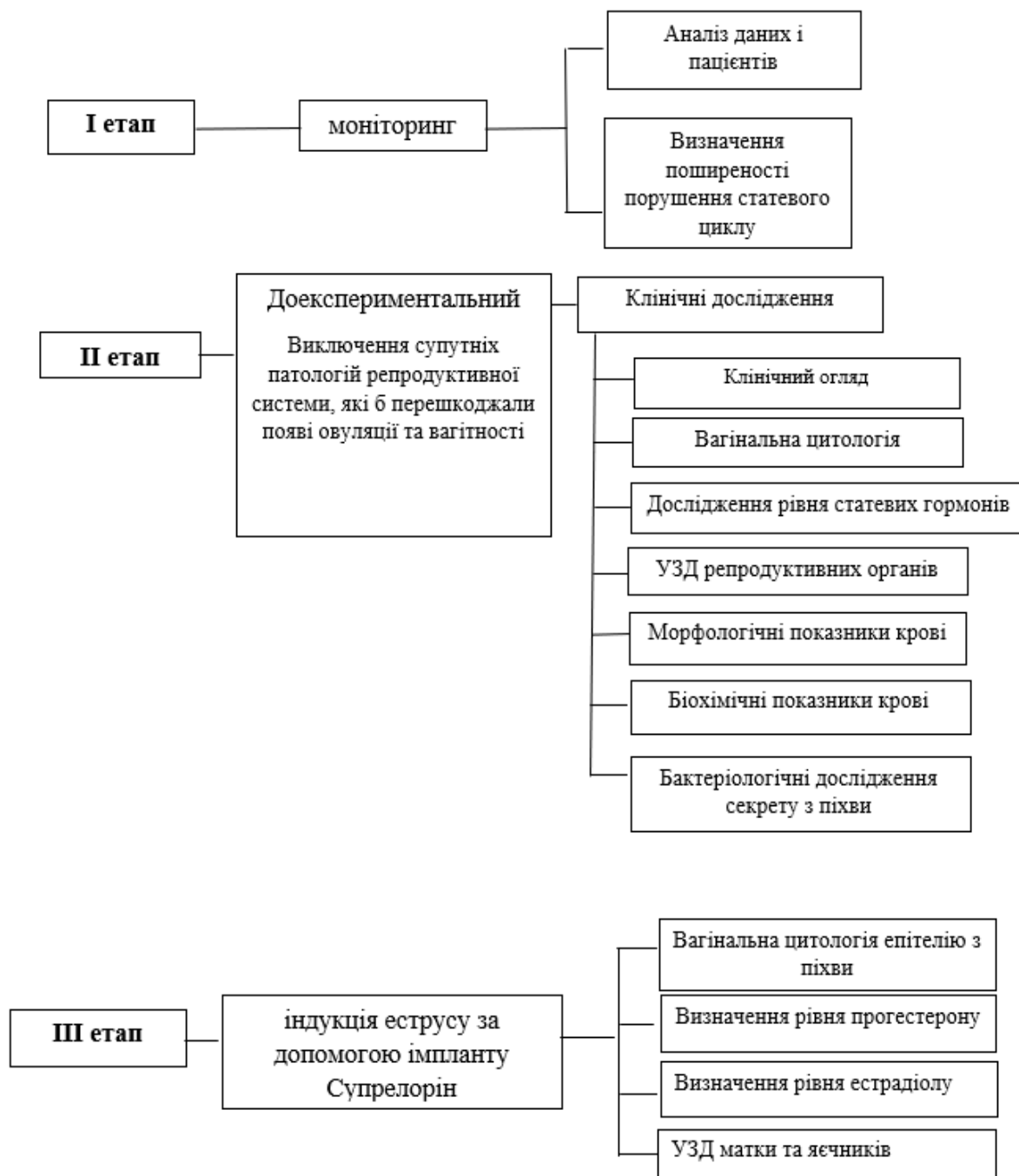


Рис 2.1. Етапи досліджень

Дослідження та забір матеріалу проводили кожні дві доби від дня введення імпланта Супрелорін (4,7 мг деслорелін) до 30 доби включно, а в контрольній групі від доби, коли власники помітили ознаки тічки. Таким чином дослідження продовились на 0, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 21, 30-ту доби від дня введення імпланту.

2.2. Місце проведення досліджень та об'єкти дослідження

Дисертаційна робота виконувалась протягом 2017-2021 років на базі кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького і на кафедрі репродукції з клінікою дрібних тварин Вроцлавського Природничого Університету, Республіка Польща, а також на базі «Кінологічного навчального центру Державної прикордонної служби України військової частини 2418» м. Великі Мости Сокальського району Львівської області та в клініці для дрібних тварин «Ветіко» м. Львів.

Об'єктом дослідження були суки з порушенням статевого циклу або ті, у яких пропустили овуляцію і не відбулась вагітність з причин, які не пов'язані з гінекологічними захворюваннями суки.

Для виконання поставленої мети на підставі збору анамнезу, вагінальної цитології, визначення рівня статевих гормонів (прогестерону та естрадіолу) та УЗД органів статевої системи сук було відібрано тварин для проведення дослідів. Перед його початком самки проходили загальний та гінекологічний огляд для оцінки стану здоров'я та встановлення фази циклу тічки. Також проводили збір анамнезу, морфологічні та біохімічні дослідження крові, огляд вульви, цитологічне дослідження мазків відбитків епітелію з піхви та бактеріологічне дослідження секрету з піхви, УЗД матки та яєчників у В-режимі за допомогою датчиків лінійного L742 (2–6 мГц) та мікроконвексного C613 (4–9 мГц), визначали рівень прогестерону та

естрадіолу в сироватці крові. Критерії відбору дослідних сук наведені в (табл 2.1).

Таблиця 2.1

Критерії відбору сук для досліджень

Параметри	Величини/ознаки.	
Період анеструсу	ранній 90-120 днів	пізній > 160 днів
Вагінальний мазок	Клітини епітелію без ознак естрогенізації	Без ознак запального процесу
Прогестерон	< 2 нг/мл	
17-β естрадіол	< 19 пг/мл	
УЗД	Яєчники: контури рівні, структура однорідна гіпоехогенна, без ознак анехогенних включень Матка: структура без змін, просвіт не дилатований	

Для досліду було відібрано 33 статевозрілих суки, віком від 2 до 7 років, різної маси тіла та породи, а також в різний період анеструсу (ранній та пізній), які поділили на 5 основних груп (4 з них дослідні і одна контрольна). З метою індукції тічки вводили імплант «Супрелорін» з діючою речовиною Деслорелін 4,7 мг для собак фірми VIRBAC® Франція. Тварин було поділено на групи залежно від періоду анеструсу, коли вводили імплант для індукції еструсу та моменту його видалення. Також в одній з груп застосували комбіновану схему з додаванням препарату Рецептал після видалення імпланта Супрелорін (табл. 2.2).

Дослідна група 1 (Д1) (анеструс ранній, Супрелорін, $\uparrow P4 > 3$ нг/мл): суки в ранньому анеструсі, 90-120 діб після закінчення тічки (тобто від припинення ознак тічки), введення лише імпланта Супрелорін (4,7 мг деслореліну), видалення імпланта при $P4 > 3$ нг/мл.

До групи увійшли сім статевозрілих сук різних порід (дві німецькі вівчарки, дві шиба-іну і по одній московська сторожова, померанський шпіц і бігль) віком від 2 до 7 років (в середньому 4 ± 2 роки), вагою від 3 до 50 кг (в середньому 22 ± 15 кг), які перебували в ранньому періоді анеструс (99 ± 9 діб).

Дослідна група 2 (Д2) (*анеструс пізній, Супрелорін, $\uparrow P4 > 3$ нг/мл*): суки в пізньому анеструсі, > 160 діб після закінчення тічки (від припинення симптомів тічки), яким вводили імплант Супрелорін і видаляли його при $P4 > 3$ нг/мл.

До групи увійшли сім статевозрілих сук різних порід (дві породи бернський зененхунд, дві німецькі вівчарки та по одній ньюфаундленд, бігль і той-пудель) віком від 2 до 6,5 років (в середньому $4 \pm 2,1$ року), вагою від 3 до 51 кг (в середньому $29,6 \pm 16$ кг) в пізньому періоді анеструс (174 ± 21 доба).

Дослідна група 3 (Д3) (*анеструс пізній, Супрелорін+Рецептал, $\uparrow P4 > 3$ нг/мл*): суки в пізньому анеструсі, > 160 діб після закінчення тічки (від припинення симптомів тічки), які отримували імплант Супрелорін з додаванням препарату Рецептал (бусерелін) одразу після видалення імпланта в дозі 0,5 мл/кг 2р/д 2 дні. Видаляли імплант при $P4 > 3$ нг/мл.

До групи увійшли шість статевозрілих сук різних порід (дві німецькі вівчарки, по одній – бігль, московська сторожова, лабрадор та йоркширський тер'єр) віком від 3 до 6,5 років (в середньому $4,4 \pm 1,5$ року), вагою від 3,5 до 48 кг (в середньому $24,3 \pm 15,5$ кг) в пізньому періоді анеструс (196 ± 57 діб).

Дослідна група 4 (Д4) (*анеструс пізній, Супрелорін, $\uparrow P4 > 5$ нг/мл*): суки в пізньому анеструсі, понад 160 діб після закінчення тічки (від припинення симптомів тічки), яким вводили імплант Супрелорін (4,7 мг деслореліну) та видаляли його при $P4 > 5$ нг/мл.

До групи увійшли п'ять статевозрілих сук різних порід (дві німецькі вівчарки, одна лабрадор-ретривер, одна ньюфаундленд і одна той-пудель) віком від 2 до 6 років (в середньому $3,8 \pm 1,5$ року), вагою від 3 до 50 кг (в середньому $28,4 \pm 16,7$ кг) в пізньому періоді анеструсу (177 ± 37 діб).

Контрольна група (К): суки зі спонтанною тічкою.

Вісім сук зі спонтанною тічкою, яких приводили у клініку для моніторингу тічки з метою визначення оптимального терміну в'язки, віком від 2 до 5 років (в середньому 3 ± 1 р.), вагою тіла від 3 до 35 кг ($19,7 \pm 9,2$ кг).

До цієї групи увійшли чотири суки породи шиб-іну і по одній породи французький бульдог, лабрадор-ретривер, німецька вівчарка і метис німецької вівчарки.

Таблиця 2.2

Групи тварин (n=33)

Групи	Період анеструсу, коли вводили імплант	Препарати, які застосовували для індукції тічки	Час видалення імпланта
К (n=8)		Спонтанна тічка	
Д1 (n=7)	Анеструс ранній (90-120 діб)	Імплант Супрелорін (4,7 мг деслорелін)	P4 > 3 нг/мл
Д2 (n=7)	Анеструс пізній (> 160 діб)	Імплант Супрелорін (4,7 мг деслорелін)	P4 > 3 нг/мл
Д3 (n=6)	Анеструс пізній (> 160 діб)	Імплант Супрелорін (4,7 мг деслорелін) + Рецептал (бусерелін)	P4 > 3 нг/мл
Д4 (n=5)	Анеструс пізній (> 160 діб)	Імплант Супрелорін (4,7 мг деслорелін)	P4 > 5 нг/мл

Примітка. Поділ тварин на групи залежно від схеми застосування імпланта Супрелорін.

2.3. Схема проведення досліджень

День введення імпланта вважали 0 добою, і від цього дня фіксували початок тічки у дослідних тварин. Забір матеріалу для дослідження проводили на 0, 3, 5, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 21 і 30 добу від імплантації. В

контрольній групі нульовою добою вважали день початку тічки, коли власники зауважили кров'янисті виділення.

У встановлені дні досліджень всім сукам проводили вагінальну цитологію, УЗД матки та яєчників та відбирали кров для дослідження рівня прогестерону та естрадіолу в сироватці крові тварин. Схема досліду представлена на рисунку 2.2.

Введення ліків. На початку експерименту (доба 0) всім чотирьом дослідним групам вводили імплант Супрелорін (4,7 мг деслореліну ацетат, VIRBAC®, Carros, Франція). Імплант вводили підшкірно з правої сторони від пупка. Відповідно до рекомендацій виробника, кожній пацієнтці застосовували один імплантат, незалежно від маси тіла.

В групі 1 (Д1) імплант вводили в ранньому анеструсі (90-110 діб від останніх ознак тічки). У всіх інших групах імплант вводили в пізній анеструс (> 160 діб від останніх ознак тічки) – групи Д2, Д3, Д3.

В групі 3 (Д3) (*анеструс пізній, Супрелорін+Рецептал, $\uparrow P4 > 3$ нг/мл*) тваринам після видалення імпланта, застосовували препарат Бусерелін (Рецептал®, MSD Animals Heals) в дозі 0,5 мл/10 кг маси тіла двічі на день два дні підряд згідно з рекомендаціями виробника.

Видалення імпланта. Імплант видаляли без седації тварин, у деяких випадках лише застосовували місцеве знеболення розчином 2% лідокаїну у вигляді спрею, після розрізу скальпелем. Місце його локалізації можна було легко виявити.

В трьох групах Д1, Д2, Д3 імплант видаляли, коли рівень прогестерону був більше 3 нг/мл.

В групі Д4 (*анеструс пізній, Супрелорін, $P4 \uparrow 5$ нг/мл*) імплант видаляли, коли рівень прогестерону був вище 5 нг/мл, в середньому два дні пізніше після росту прогестерону у всіх інших дослідних групах.

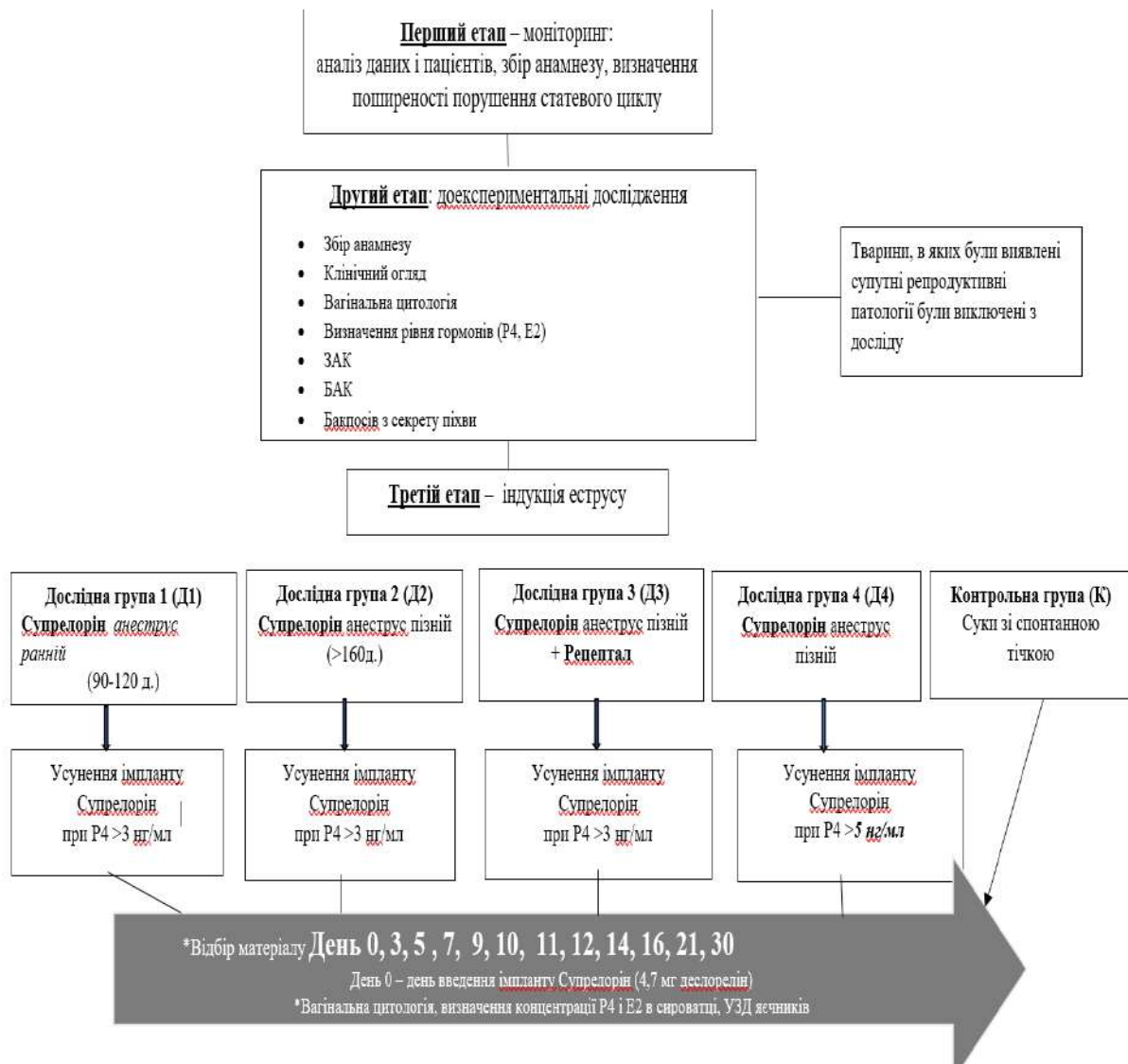


Рис 2.2. Схема досліджу

2.4. Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були суки, які втратили відтворювальну функцію або пропустили овуляцію і з певних причин не завагітніли. На першому етапі було досліджено 300 собак, які звернулись з порушеннями репродуктивної системи в клініки «Ветіко» та «Прайд» міста Львова та на кафедру акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин ім. Г.В. Звереві ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького. Для проведення стимуляції овуляції у сук потрібно було виключити інфекції репродуктологічного профілю, наявність супутніх патологій та патологічних процесів в органах статеві

системи самки, а також виключити загальні захворювання організму. Для цього на другому етапі досліджень ми застосовували метод вагінальної цитології для визначення стадії статевого циклу у сук, відбирали кров для морфологічного та біохімічного дослідження, проводили бактеріологічні дослідження, визначення рівня статевих гормонів та УЗД органів статевої системи.

Для проведення третього етапу дослідження - індукції тічки, відбирали 28 собак, які не мали вагомих відхилень в морфологічних та біохімічних показниках крові, було виключено інфекції репродуктологічного профілю та відсутність великої кількості патогенних штамів бактерій після бактеріологічного дослідження посіву з секрету з піхви, а також виключено наявність патологічних процесів та структур під час УЗД дослідження. До контрольної групи увійшли суки, які мали спонтанну тічку і були пацієнтками клініки (n=8).

Імплант Деслорелін зареєстрований під торговою назвою Супрелорін (4,7 мг, *VIRBAC, Carros*, Франція) – підшкірний імплант довготривалої дії, який відноситься до агоністів ГнРГ (рис 2.3). Це синтетичний аналог ГнРГ, який відрізняється від природного лише в амінокислотній послідовності. В положенні 6 знаходиться D-триптофан, а не гліцин, і закінчується в положенні 9 з простиламідом, а не з гліцинамідом [164, 167, 177, 178]. Імплант Супрелорін першочергово призначений для хімічної стерилізації статевозрілих самців собак та домашніх тхорів (фреток) і придушення статевої функції щонайменше на 6 місяців. До використання поза інструкцією відносять: лікування доброякісної гіперплазії простати у собак [14, 165, 179, 180], індукцію тічки у сук [181] та лікування хвороб наднирників у фреток [178].

Дія імпланта полягає в забезпеченні стійкого, поступового і постійного вивільнення діючої речовини, що призводить до регуляції гіпофізарних рецепторів ГнРГ та, як наслідок, їх інгібування та

десенсибілізації [181, 183]. Перенасичення рецепторів ГнРГ гонадотропіном і, як наслідок, їх десенсибілізація дозволяє виключити статеву функцію на деякий час з подальшим її відновленням. Але, зазвичай, підвищена доступність ГнРГ на початку дії імпланта призводить до секреції гонадотропінів, що запускають тічку [172]. Цей ефект відомий як «ефект спалаху», що призводить до індукції еструсу майже у 100% дорослих сук при застосування імплантів деслорелін [172,173,184].



Рис. 2.3. Підшкірне введення імпланта Супрелорін 4,7 мг деслорелін.

Другим препаратом, який було застосовано з метою покращення результату при отриманні індукції тічки, був препарат Рецептал з діючою речовиною бусереліну ацетат, який було давано сукам з дослідної групи ДЗ відразу після видалення імпланта. Препарат Рецептал є також агоністом ГнРГ. Його механізм дії передбачає пряму стимуляцію гіпофізу, що викликає вивільнення ФСГ та ЛГ, що в свою чергу мають вплив на яєчники та утворення в них фолікулів [185,186].

Відбір зразків крові для досліджень проводили з поверхневої вени передпліччя v. palmaris superficialis або з яремної вени v.jugularis externa

вранці до годівлі. Для забору крові для загального аналізу крові використовували пробірки з наповнювачем K2 EDTA Venosafe (Бельгія) об'ємом 2 мл для запобігання згортанню крові. У стабілізованій антикоагулянт крові визначали кількість лейкоцитів, лімфоцитів, моноцитів, нейтрофілів, еозинофілів, базофілів, еритроцитів, вміст гемоглобіну, тромбоцитів, середнього об'єму еритроцита, середнього вмісту гемоглобіну та середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора *IDEXX ProCyte Dx* (Producent *IDEXX*, USA) з використанням реагентів фірми *IDEXX ProCyte Dx Reagent Kit* (USA).

Біохімічні дослідження крові виконувались за допомогою біохімічного аналізатора *IDEXX Catalyst One* (Producent *IDEXX*, USA) з використанням реагентів фірми *Catalyst Chem 10 CLIP* (USA) (рис 2.4).



Рис 2.4. Морфологічний та біохімічний аналізатори фірми Idex.

Кров у собак відбирали з поверхневої вени передпліччя у пробірки для центрифугування і поміщали у термостат для відстоювання на 15 хвилин.

Перед центрифугуванням по стінках пробірки проводили скляною паличкою. Зразки центрифугували для отримання сироватки протягом 10 хв при 2500 обертах на хвилину. Визначення параметрів: альбуміну, глобуліну, загального білку, загального білірубіну, АсАТ, АсАТ, ЛФ, холестеролу, креатиніну, сечовини, Фосфору, Кальцію, Калію та А-амілази - здійснювалось автоматично.

Бактеріологічне дослідження. Мазок з піхви відбирався за допомогою стерильної полочки (*HAGMAD S.C., Rawa Mazowiecka*), яку вводили через стерильний піхове дзеркало або стерильну металеву трубку для бактеріології піхви. Після цього поміщали її в середовище для транспортування і направляли для мікробіологічного дослідження за загальноприйнятою методикою. Для виявлення аеробних мікроорганізмів матеріал з пробірок висівали на бульйон, агар-агар, кров'яний агар, середовище *Levina, Chapmana i Sabourauda*. Середовища інкубували при температурі 37°C протягом 24 годин (середовище Шармана протягом 48 годин, *Sabourouda* протягом 5 днів), після чого робили мазки і зафарбовували їх методом Грама. Грам-негативні палички ідентифікували за допомогою біохімічного ряду і фірмових тестів ID 32 E і ID 32 GN (*Bio-Merieux*). Для виявлення анаеробної мікрофлори посіви здійснювали на середовища *Shedlera i Wrzoska*, які інкубували в атмосфері CO₂ (*system Genbo-anaer, Bio-Merieux*) при температурі 37°C протягом 48 годин. Чисельність штамів визначали наступним чином: 30 колоній – поодинокі, 30-100 колоній – середні, >100 колоній – чисельні [187-190].

Відбір матеріалу для мікроскопічної оцінки епітелію піхви методом *вагінальної цитології* проводили вагінальною паличкою з піхви, попередньо змоченою 0.9% розчином натрію хлориду. Отриманий матеріал наносили на предметне скельце коловими рухами вагінальної палички так, щоб епітеліальні клітини рівним шаром лягали на предметне скельце. Фарбування проводили за допомогою набору барвників «*Leukodif 200*» (*Erba*

Lachema s.r.o, Brno, Czech Republic) (рис 2.5). Для отримання фотореєстрації препаратів проводили методом світлової мікроскопії, використовували мікроскоп *Leica DM-2500 (Heerbrugg, Switzerland)* та фотокамеру *Leica DFC 450C* і програмне забезпечення *Leica Application Suite Version 4.4*. При мікроскопічній оцінці вагінальних мазків проводили підрахунок базальних та парабазальних клітин, проміжних, поверхневих клітин, а також еритроцитів та нейтрофілію. Визначали стадію статевого циклу. Диференціацію клітин здійснювали відповідно до зміни морфологічної структури клітини, а саме співвідношення цитоплазми до ядра самих клітин, а також за наявності кератинізації. Підрахунок клітин проводили за допомогою програмного забезпечення *ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)*.

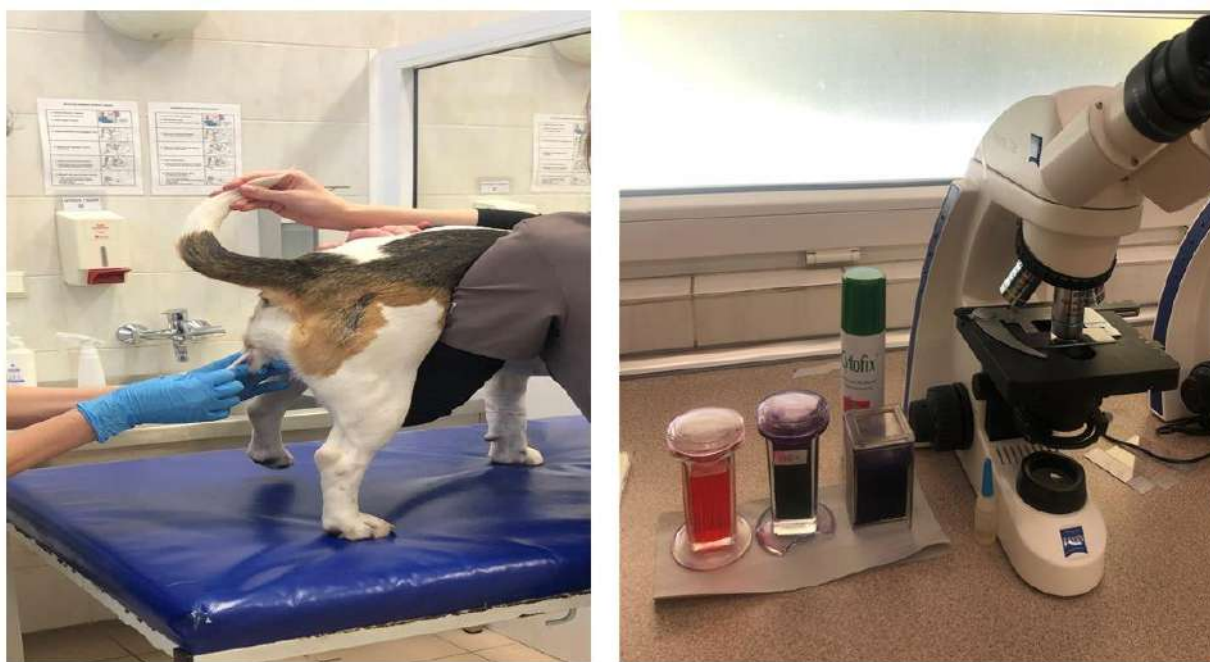


Рис. 2.5. Вагінальне цитологічне дослідження епітелію піхви у собак.

Для визначення *рівня прогестерону та естрадіолу* забір крові проводився шляхом венепункції вени передпліччя в пробірки для центрифугування без антикоагулянтів для сироватки (Сепармед®). і поміщали у термостат для відстоювання на 15 хвилин. Після цього кров в

пробірках центрифугували для отримання сироватки протягом 5 хв при 2500 обертах на хвилину.

Концентрація гормонів в сироватці периферичної крові сук визначалась за допомогою багатопараметрального безголкового автоматичного імуноферментного аналізатора *miniVIDAS (ELFA; mini VIDAS® Biomerieux, Marcy-l'Étoile, France)* з використанням *VIDAS® Estradiol II i Progesteron* (рис 2.6) [188, 189].



Рис. 2.6. Дослідження рівня статевих гормонів. А.) Імуноферментний аналізатор miniVIDAS (ELFA; mini VIDAS® Biomerieux, Marcy-l'Étoile, France. Б.) тести VIDAS ® Estradiol II і Progesteron, які складаються з двох елементів: смужки з реактивами та носія сталої фази у вигляді одноразової піпетки SPR.

Тести *VIDAS® Estradiol II i Progesteron* є автоматичними тестами для кількісної системи VIDAS, призначені для визначення рівня 17- β естрадіолу та прогестерону в сироватці крові. Тести *VIDAS ® Estradiol II i Progesteron* складаються з двох елементів: смужки, що містить заглиблення з

реактивами, та носія сталої фази у вигляді одноразової піпетки SPR, вистеленої всередині поліклональними імуноглобулінами анти-естрадіол та анти-прогестерон (кроликів). Всі дослідження виконувались автоматично за допомогою імуноферментного аналізатора VIDAS, результати вираховувались автоматично апаратом в розрахунку до калібраційної кривої [190]. Як базальний рівень вважали рівень 17- β естрадіолу <19 пг/мл і прогестерон <2 пг/мл.

Прийнято, що пік ЛГ співпадає з початком росту прогестерону (більше 3 нг/мл), і цей день вважається нульовою добою статевого циклу [17, 28, 35, 41]. Вважалася, що овуляція настає, коли рівень прогестерону підвищувався до 5-10 нг/мл [188].

Ультразвукове дослідження. Оцінку змін структури репродуктивних органів у сук (матки, яєчників, фолікули яєчників) проводили лінійним і конвексним датчиком з частотою трансдуктора 10 – 15 МГц. Використовували апарат SonoScape S50, обладнаний датчиками лінійним L742 (2–6 мГц) та мікроконвексним C613 (4–9 мГц).

Для дослідження тварин вкладали в спинне положення, без седації, попередньо вистригши шерсть в ділянці контакту датчика зі шкірою. Для кращого контакту використовували контактний гель для ультразвукової діагностики. Дослідження тварин проводили в затіненій кімнаті, щоб запобігти попаданню сонячних променів на монітор. Акустичним вікном для візуалізації матки є сечовий міхур, а яєчників – каудальний край нирки (рис 2.7).

Основні параметри, які оцінювали при ультразвуковому обстеженні органів репродуктивної системи – це розмір рогів матки та наявність в них вмістимого, структура ендометрію, товщина стінки матки та її ехогенність по відношенню до навколишніх тканин, наявність плодів чи новоутворень, наявність кіст або фолікулів на яєчниках. Під час експериментальних досліджень визначали день появи фолікулів на яєчниках, оцінювали їх

величину, для демонстрації результатів підраховували середнє значення їх величини на обох яєчниках.



Рис. 2.7. Ультразвукове дослідження органів статеві системи сук

Цифрові величини результатів досліджень виражали в одиницях Міжнародної системи СІ. Результати представлені як середнє $\pm$ SD вимірювань, доки не вказано інше. Розподіл даних перевіряли за допомогою тесту Шапіро-Вілка та тесту Левена. Якщо розподіл був нормальним, дані аналізували за допомогою дисперсійного аналізу та тесту Tukey post-hoc. Для даних, які не розподіляються зазвичай, використовувався дисперсійний аналіз Крускала-Уолліса. Ступінь вірогідності визначався як – $P < 0,05$ – *, $P < 0,01$ – **, $P < 0,001$ – ***. Весь статистичний аналіз проводився за допомогою програмного забезпечення Statistica для Windows, StatSoft Polska Sp. z o.o.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Моніторинг поширення порушення відтворної функції у сук у місті Львові

За даними звітності ветеринарної клініки «Ветіко», а також клініки кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення ім. Г.В. Зверєвої ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького у період з 2017 по 2021 р спостерігалась тенденція до збільшення випадків порушення відтворної функції від 10% до 30% серед незаразної патології (рис 3.1).

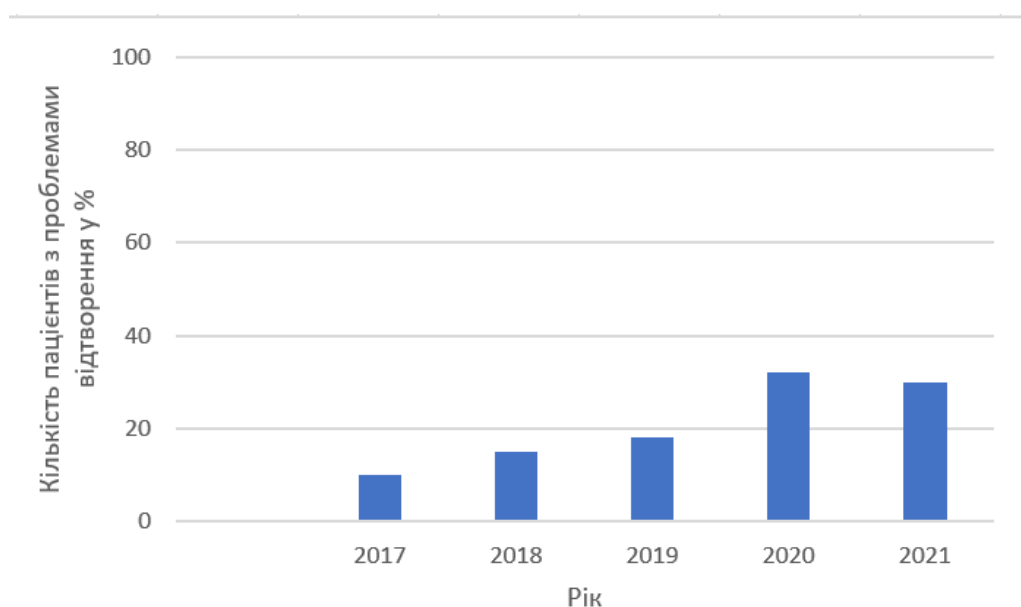


Рис. 3.1. Частота виявлення порушення відтворної функції у сук серед незаразної патології, n=300

За результатами аналізу щодо взаємозв'язку віку та частоти діагностики захворювань репродуктивної системи встановлено тенденцію до збільшення кількості випадків у віці 8,6 років, що складало 59% серед усієї акушерської патології. З них 60% випадків від цієї частки становило порушення або втрата відтворної функції у віці від 2-ох до 6-ти років, або скарги власників на неможливість отримати приплід (рис. 3.2). На нашу

думку, це пов'язано з піком репродуктивного віку у сук в цей віковий період та бажанням власників включати їх у репродуктивний цикл.

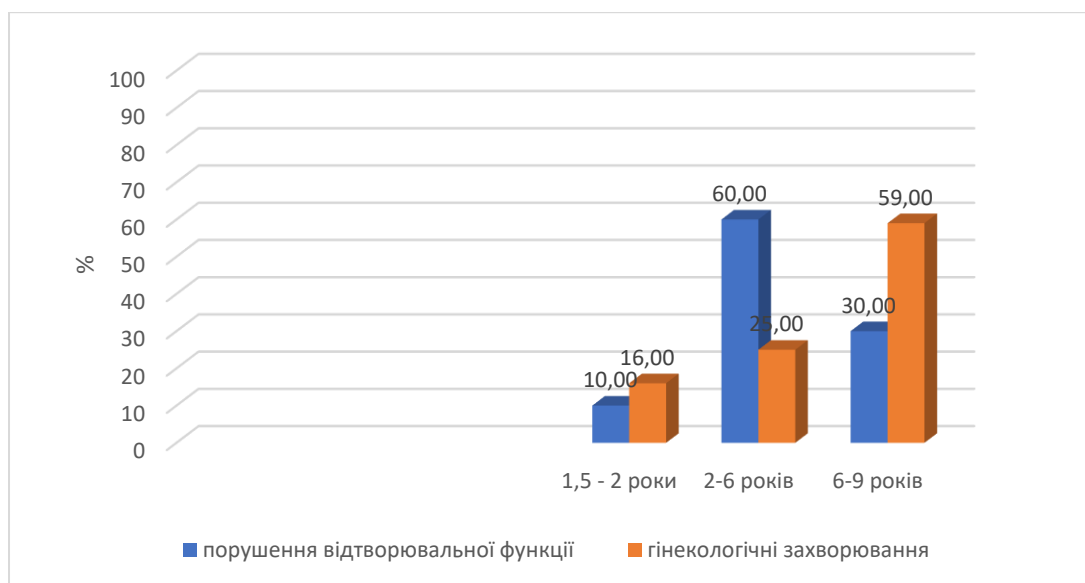


Рис 3.2. Частота появи порушень репродуктивної системи залежно від віку (n=300). Гінекологічні захворювання: хвороби матки (кістозна гіперплазія ендометрію, ендометрит, піометра) та яєчників (кісти та пухлини, лютеїнова недостатність)

Причини порушення відтворної функції та, як наслідок, неможливість отримати вагітність можна розділити на три основні групи: порушення статевого циклу (власне неплідність), неплідність при фізіологічному перебігу статевого циклу у суки (порушення правил в'язки, штучного осіменіння, стрес, виснаження, патології матки та яєчників, інфекційні захворювання, ідіопатичну неплідність) та андрологічні проблеми (пов'язані з псом). Характерними ознаками порушення статевого циклу було: відсутність еструсу (анестрія) та затяжний анеструс, пролонгований проеструс/еструс та скорочення міжтічкового періоду.

Було встановлено, що відсоток сук з порушенням статевого циклу становив 25% (n=300); неплідність при фізіологічному перебігу статевого циклу (порушення правил осіменіння, стрес, загибель ембріонів,

несправжня вагітність) – 20%; неможливість отримати вагітність через проблеми пов'язані з псом – 15%; хвороби матки (кістозна гіперплазія ендометрію, ендометрит, піометра) та хвороби яєчників (кісти та пухлини, лютеїнова недостатність), ідіопатична неплідність (Simpson et al., 1998) - 25%, та інфекційні захворювання (*Herpes virus canis*, *Mycoplasma canis*, *Chlamydia*, бактеріальні інфекції) – 15% (рис. 3.3).



Рис. 3.3. Причини порушення відтворної функції у сук, n=300

3.2. Результати другого етапу дослідження – доекспериментальні дослідження

Проведення досліджень другого етапу включали відбір тварин та проведення акушерсько-гінекологічної диспансеризації, що включало збір анамнестичних даних, клінічний огляд тварин, загальний та біохімічний аналіз крові, вагінальну цитологію епітелію піхви, визначення концентрації статевих гормонів (прогестерону та 17-β естрадіолу), УЗД органів статевої системи (матка, яєчники) та бактеріологічне дослідження секрету з піхви.

Для досліджень відбирали сук у яких з анамнезу відомо, що вони досягли статевої зрілості та були не менше як 90 діб від останніх ознак тічки. Суки утримувалися в належних умовах та були забезпечені збалансованою годівлею, їм не застосовували жодних екзогенних гормональних препаратів, попередні тічки відповідали фізіологічному перебігу статевого циклу. В деяких з сук було встановлено порушення прояву статевого циклу у вигляді затяжного анеструсу або анестрії, де попередня тічка проявлялася востаннє більше 250 діб (n=2). Також у дослідну групу відбиралися суки, у яких відбулися фізіологічні роди, а також ті, що не мали цуценят, але головною умовою було відсутність тічки більше року.

При клінічному огляді сук не було встановлено патологічних відхилень від фізіологічної норми, відсутні ознаки тічки, а саме: набряк вульви, специфічна поведінка з відведенням хвоста вбік та лібідо до самців. При огляді піхви слизова оболонка була блідо-рожевою, ненабряклою, без жодних виділень та слизу. При пальпації черевна стінка неболюча, сука легко дозволяла зробити маніпуляцію.

У всіх досліджуваних сук морфологічні та біохімічні показники крові були в межах фізіологічної норми або такими, що не мали впливу на відтворну функцію. (табл 3.1; 3.2).

Таблиця 3.1

Морфологічні показники крові сук до застосування імпланта

Супрелорін 4,7 мг ($M \pm m$, n=33)

Показники	Результати	Одиниці виміру	Норма
Лейкоцити	$9,1 \pm 2,1$	Г/Л	6,00-12,00
Нейтрофіли	$5,49 \pm 1,3$	Г/Л	3,00-9,00
Нейтрофіли %	$54,2 \pm 10,3$	%	55,0-75,0

Продовження таблиці 3.1

Лімфоцити	2,39±1,1	Г/л	1,00-3,60
Лімфоцити %	23,5±9,3	%	13,0-30,0
Моноцити	0,7±0,5	Г/л	0,150-0,850
Моноцити %	7,30±1,4	%	1,00-10,00
Еозинофіли	0,360±0,5	Г/л	0,040-0,600
Еозинофіли, %	3,30±1,5	%	0,01-6,00
Базофіли	0,040±0,02	Г/л	0,001-0,100
Базофіли %	0,400±0,10	%	0,001-1,00
Еритроцити	6,61±1,2	Г/л	5,50-8,50
Гемоглобін	161±10,4	Г/л	150,0-190,0
Гематокрит	0,455±0,12	Л/л	0,440-0,550
Середній об'єм еритроцита	68,8±5,7	фл	60,0-77,0
Середній вміст гемоглобіну	24,4±3,3	пг	21,0-27,0
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті	340,0±10,0	Г/л	320,0-360,0
Тромбоцити	345,0±12,4	Г/л	150,0-500,0

Таким чином при морфологічному дослідженні крові середнє значення лейкоцитів у сук становило 9,1±2,1 Г/л, лімфоцитів 2,39±1,1 Г/л, моноцитів 7,30±1,4 Г/л, нейтрофілів 5,49±1,3 Г/л, еозинофілів 0,360±0,5 Г/л, базофілів 0,040±0,02 Г/л, еритроцитів 6,61±1,2 Г/л, тромбоцитів 345,0±12,4 Г/л. вміст гемоглобіну 161±10,4 Г/л, гематокриту 0,455±0,12 Г/л, середнього

об'єму еритроцитів $68,8 \pm 5,7$ фл, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті $340,0 \pm 10,0$ Г/л.

Таблиця 3.2

**Біохімічні показники крові сук до застосування імпланта Супрелорін
($M \pm m$, $n=33$)**

Показники	Результати	Одиниці виміру	Норма
Альбумін	$27,1 \pm 3$	г/л	25,00-44,00
Глобулін	$29,1 \pm 1,2$	г/л	18,00-45,00
Загальний білок	$56,2 \pm 2,2$	г/л	54,0-75,00
Загальний білірубін	$3,28 \pm 2,3$	Мкмоль/л	0,010-4,60
АлАТ	$62,4 \pm 2,2$	Од/л	1,00-80,0
АсАТ	$46,6 \pm 5,3$	Од/л	1,00-76,0
Лужна фосфатаза	$62,5 \pm 4,7$	Мккат/л	1,00-141,0
Холестерол	$5,96 \pm 1,3$	Ммоль/л	3,10-8,60
Креатинін	$90,3 \pm 4,2$	Мкмоль/л	35,0-132,0
Сечовина	$6,9 \pm 1,5$	Ммоль/л	3,30-8,30
Кальцій	$2,5 \pm 0,5$	Ммоль/л	2,30-3,00
Фосфор	$0,7 \pm 0,3$	Ммоль/л	0,700-1,60
Калій	$4,5 \pm 0,3$	Ммоль/л	3,50-5,10
α -амілаза	$920,6 \pm 15,4$	Ммоль/л	10,0-1650,0

При біохімічному аналізі крові показники загального білка становили $56,2 \pm 2,2$ г/л, з них альбуміни $27,1 \pm 3$ г/л і глобуліни $29,1 \pm 1,2$ г/л, загальний білірубін $3,28 \pm 2,3$ Мкмоль/л, АлАТ $62,4 \pm 2,2$ Од/л, АсАТ $46,6 \pm 5,3$ Од/л, лужна фосфатаза $62,5 \pm 4,7$ Мккат/л, холестерол $5,96 \pm 1,3$ Ммоль/л, креатинін

90,3±4,2 Мкмоль/л, сечовина 6,9±1,5 Ммоль/л, Кальцій 2,5±0,5 Ммоль/л, Фосфор 0,7±0,3 Ммоль/л, Калій 4,5±0,3 Ммоль/л, А-амілаза 920,6±15,4 Ммоль/л.

За результати *цитологічного дослідження* епітелію піхви у всіх сук, яких відібрали до експерименту, було встановлено стадію анеструсу статевого циклу. В мазках виявили незначну кількість епітеліальних клітин, головним чином це були базальні клітини та одиночі парабазальні клітини (Рис 3.4).

До дослідної групи ми не відбирали сук, у яких вагінальне цитологічне дослідження вказувало на інші стадії статевого циклу, окрім анеструсу. Окремо у цю групу не допускалися суки, у яких після проведеного цитологічного дослідження у мазку виявляли велику кількість нейтрофілів та бактерій, що вказувало на ознаки запалення, хоча вони знаходилися у фазі анеструсу.

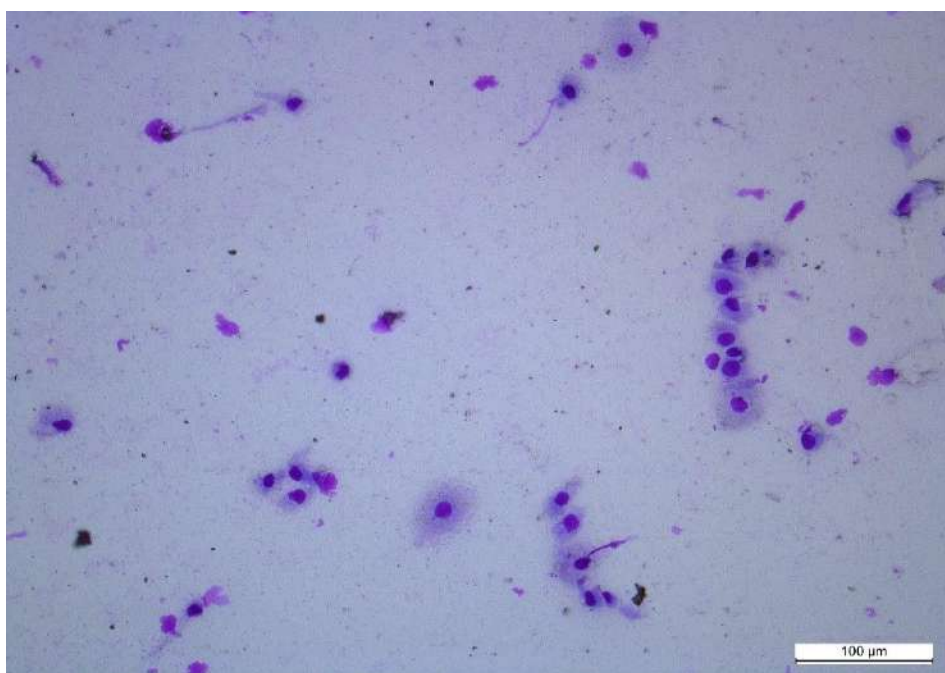


Рис. 3.4. Цитологічний рисунок, характерний для стадії статевого циклу анеструсу. Невелика кількість базальних клітин з крупними ядрами на чистому фоні предметного скла. Лейкодиф 200, об.100.

Важливим критерієм відбору сук перед застосуванням імпланта деслорелін 4,7 мг був *рівень статевих гормонів*: 17-β естрадіолу і прогестерону. Цей показник повинен був не перевищувати базальні значення, які для 17-β естрадіолу становлять <19 нг/мл, а для прогестерону <2 нг/мл (табл 3.3).

Таблиця 3.3

Рівень статевих гормонів під час доекспериментального етапу дослідження, (M±m, n=33)

Параметр	Результати	Одиниці виміру	Норми для базального рівня
Прогестерон	0,97 ± 0,47	нг/мл	< 2
17-β естрадіол	16,84 ± 4,6	нг/мл	< 19

При проведенні УЗД яєчників звертали увагу на наявність структур, що вказували на активні стадії статевого циклу, а саме: проєструс, еструс, дієструс, наявність кіст чи новоутворень. Також при дослідженні матки виключали наявність кіст, гіперплазії ендометрію, наявність рідини чи плодів. До експерименту допускались суки, у яких матка слабовізуалізувалась, була без ознак запалення, вмістимого чи додаткових структур, яєчники були з однорідною ехогенністю без ознак анехогенних структур більших 3 мм (рис 3.5).

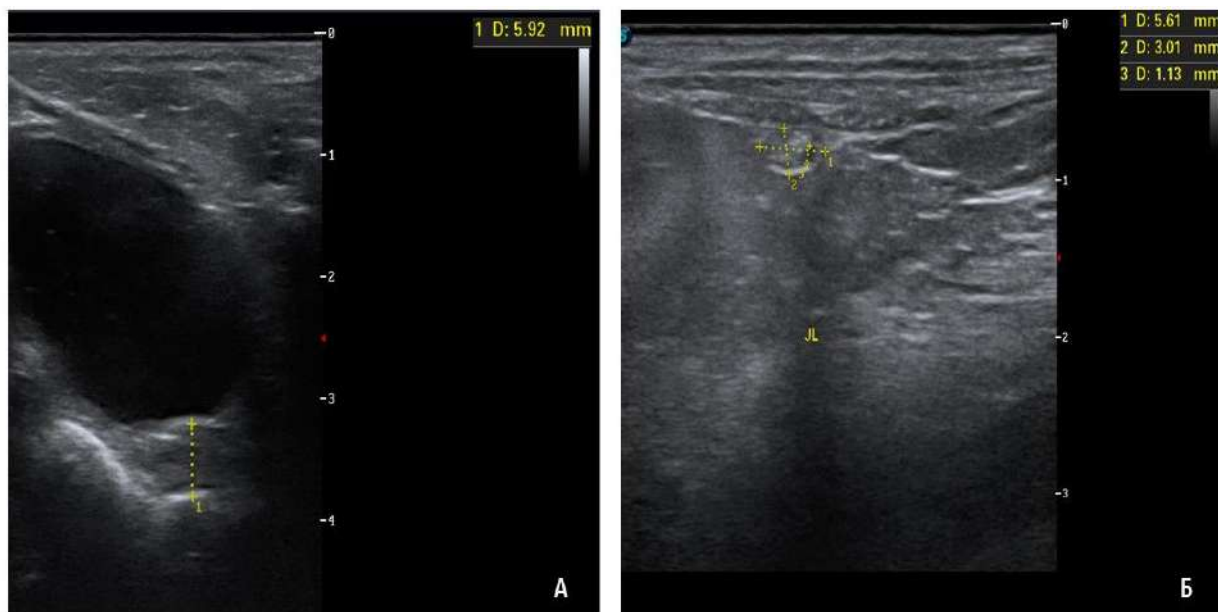


Рис. 3.5. Ультрасонографічна картина органів статеві системи суки на другому епаті дослідження. А – тіло матки в поздовжньому розрізі, діаметром 5,92 мм (структура без змін, просвіт не дилатований). Б – структура яєчника в період анеструсу (контури рівні, структура однорідна гіпоехогенна, без ознак анехогенних включень)

Бактеріологічні дослідження. До інтимної мікрофлори піхви сук відносять бактерії з роду *Streptococcus spp.* β -гемолітичні (*S. canis*), *Staphylococcus spp.* (*S. intermedius*, *S. aureus*) та *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pasteurella multocida*, а також *Proteus spp.* *Bacillus spp.* і *Corynebacterium spp.* Крім того також можуть зустрічатись бактерії роду *Klebsiella pneumoniae* *Actinomyces spp.*, негемолітичні і штами *Streptococcus* і *Neisseria spp.* Наявність бактерій з роду *Lactobacillus spp.*, *Mycoplasma spp.* та *Ureplasma* є суперчливою на сьогодні щодо патогенності [188, 194-197].

При бактеріологічному дослідженні посіву секрету з піхви на визначення штамів бактерій та їх кількості виявлено, що стерильне середовище було в 21 суки, у 10 сук– отримано титр колоній *Escherichia coli* β -hemalitica у кількості 10^2 колоній - нечисленні. Якщо чисельність колоній

мікрофлори переважає 10^4 , то сукам призначали антибіотик згідно антибіотикограми, і після повторного посіву матеріалу їх допускали до індукції еструсу у випадку зменшення кількості колоній мікрофлори. Дві суки з групи контрольної зі спонтанною тічкою мали титр *Staphylococcus intermedius* 10^2 - 10 , їм застосували антибіотик та включили у дослідну групу, Відомо, що кількість бактерій значно варіює під час різних стадій статевого циклу, зокрема в активні стадії статевого циклу проєструс чи еструс їх кількість збільшується в порівнянні з анєструсом чи дієструсом, так як шийка матки дещо привідкрита [187, 198, 199].

Результати даних підрозділів опубліковано в наступній праці :

Голумбійовська, Т. В., & Стефаник, В. Ю. (2018). Порухення відтворної функції у сук та методи діагностики. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*, 20(83), 385-395.

3.3. Результати третього етапу досліджень – індукція тічки за застосування імплантату Супрелорін (4,7 мг деслорелін)

З метою порівняння ефективності застосування різних схем з використанням імплантату Супрелорін було сформовано чотири дослідні групи та одну контрольну. При введенні імплантату суки не відчували болю чи дискомфорту після введення або його видалення, шкіра швидко загоювалась без ознак запалення, наявності інфекції чи болю. Імпланти можна було легко пропальпувати під шкірою, а видалення не потребувало зусиль. Тічка була успішною індукована у всіх дослідних тварин (28/33), окрім контрольної групи, в яку увійшли суки зі спонтанною тічкою.

3.3.1. Прояв тічки та зміна клітинного складу слизової оболонки піхви сук після застосування імпланта Супрелорін

У результаті застосування імпланта Супрелорін для індукції еструсу у всіх дослідних сук були виявлені ознаки тічки. Кров'яністі виділення з піхви були помічені вже на третю добу після встановлення імплантату в групах з пізнім анеструсом - Д2 (5 сук з 7), Д3 (4 суки з 6) і Д4 (3 суки з 5) і лише в групі Д1 в 1 з 7 дослідних сук, яким застосовували імплант Супрелорін в ранній анеструс. На 5 добу симптоми тічки виникли у решти сук в групах Д2 (2 з 7), Д3 (2 з 6), Д4 (2 з 5), Д1 (4 з 7), і в 2 з 7 сук в групі Д1 лише на 7 добу від введення імпланта.

У мазку з піхви мікроскопічно диференціювали декілька типів клітин: парабазальні, проміжні, поверхневі клітини з ядром і поверхні без'ядерні (зроговілі) клітини, також можна було помітити еритроцити, поодинокі бактерії та слиз. Для диференціації клітин за критерії брали розміри, форму, співвідношення між ядром та цитоплазмою і наявність речовини клітинного ядра зі слизової оболонки піхви.

Цитологічний мазок у фазу проеструсу характеризувався появою та значним збільшенням кількості дрібних і великих проміжних епітеліальних клітин, значним зменшенням парабазальних клітин, а також появою поверхневих клітин з ядром, було виявлено поодинокі еритроцити. Проміжні епітеліальні клітини виявлялися у вигляді пластів, клітини мали характерні округлі контурами з великим ядром. Великі проміжні клітини мали полігональну форму з неушкодженим ядром (рис 3.6.А).

У фазу еструсу було встановлено збільшення кількості поверхневих епітеліальних клітин з ядром та появою поверхневих без'ядерних клітин (епітелій ороговілій), зниження кількості проміжних клітин та практично повну відсутність парабазальних клітин і еритроцитів в мазку. У великої кількості злущених клітин, які знаходились на поверхні слизової оболонки структура ядер могла бути нечітка або взагалі не візуалізувалася (рис 3.6.Б).

Іноді поверхневі епітеліоцити могли складати більше 90% загальної кількості всіх епітеліальних клітин, а при настанні овуляції до 80% могли складати лише поверхневі без'ядерні епітеліоцити (рис 3.6.В).

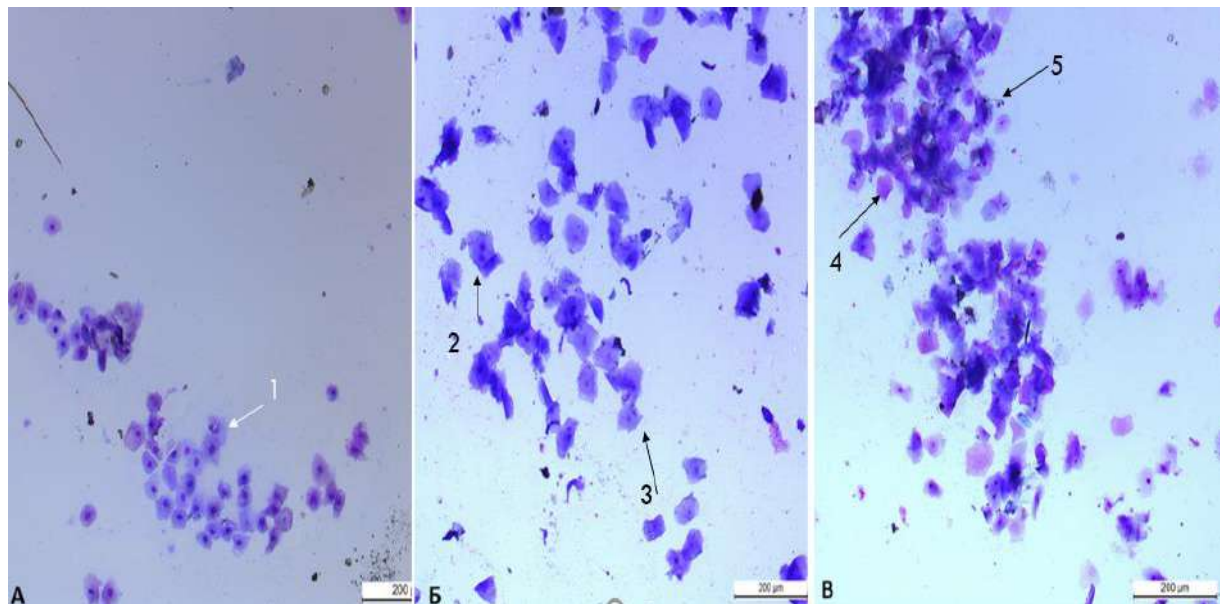


Рис. 3.6. Цитологічна картина епітелію піхви при різних стадіях статевого циклу. Лейкодіф 200, об. 200. А- проєструс ранній, Б – еструс, В- овуляція. 1- базальні і парабазальні клітини з великим ядром полігональної форми. 2- проміжні і поверхневі клітини з великим ядром. 3- поверхнева клітина з малим ядром, 4- поверхневі без'ядерні клітини. 5- великі нашарування кератинізованих безядерних клітин, 80%.

Зміну цитологічної картини епітелію піхви, яка б вказувала на початок стадії статевого циклу проєструс спостерігали у всіх групах починаючи з 3-ї доби від введення імплантанта, а у контрольній групі від моменту, коли власники помітили ознаки, що вказують на тічку.

У групі Д1 (Супрелорін анеструс ранній, видалення імплантанта при $P_4 > 3$ нг/мл), встановили ознаки на $5,6 \pm 1,5$ добу, в групі Д2 (Супрелорін анеструс пізній, видалення імплантанта при $P_4 > 3$ нг/мл) на $3,6 \pm 0,9$ добу, в Д3 (Супрелорін + Рецептал анеструс пізній, $\uparrow P_4 > 3$ нг/мл) на $3,7 \pm 0,9$ добу та у групі Д4 (Супрелорін анеструс пізній, $\uparrow P_4 > 5$ нг/мл) на $3,8 \pm 1,0$ добу

відповідно від часу введення імпланту. Статистичну різницю було встановлено лише між групою Д1 і Д2 ($p<0,05$). В контрольній групі на момент звернення власників у сук вже були виявлені ознаки проєструсу, тому в цій групі ми рахували лише появу еструсу.

В групі Д1 цитологічну картину характерну для початку еструсу спостерігали починаючи з 12 доби, в середньому $13,4\pm 1,0$ доба (2 суки на 12 добу, 5 – на 14). В групах Д2 і Д3 – початок еструсу відмічали подібно з 9 по 12 добу – в середньому $10,3\pm 1,0$ доба (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Зміна вагінальної цитології після застосування імпланту Супрелорін

Стадія статевого циклу	Групи тварин				
	Контрольна n=8 добы	Д ₁ n=7 добы	Д ₂ n=7 добы	Д ₃ n=6 добы	Д ₄ n=5 добы
Проєструс	-	$5,6\pm 1,5^{*D_2}$	$3,6\pm 0,9^{*D_1}$	$3,7\pm 0,9$	$3,8\pm 1,0$
Еструс	$11,3\pm 1,6^{**D_4}$	$13,4\pm 1,0$	$10,3\pm 1,0$	$10,3\pm 1,4$	$-^{***K}$

Примітка: $M \pm m$, дні від введення імпланту. В групі контрольній еструс визначався від появи ознак тічки

Д₁, Д₂, Д₃, Д₄, К - вказує на статистичну відмінність між зазначеними групами, значення з відмінністю верхніх індексів відрізняються: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

В групі контрольній цей показник значно варіював, і початок еструсу припадав з 9-ої по 14-ту добу від початку тічки - $11,3\pm 1,6$ діб відповідно. Натомість в групі Д₄ при дослідженні вагінальної цитології епітелію з піхви еструс так і не наступив, зміну епітелію піхви характерну для статевих циклу спостерігали до 12 дня, після чого появу поверхневих без'ядерних клітин так і не зафіксували. Статистичну різницю було виявлено лише між

групою Д4 і контрольною ($p<0,01$). Слід відмітити, що в дослідних групах, яким застосовували імплант в пізньому анеструсі, тічка наступала швидше, ніж у контрольній групі, в той час, як в групі Д1, якій застосовували імплант в ранньому анеструсі, стадія еструс наступила пізніше, ніж в контрольній групі, що було підтверджено вагінальним цитологічним дослідженням.

Результати даного підрозділу опубліковано в наступній праці :

Holumbiyovska, T. V., Stefanyk, V. Y., & Basarab, T. P. (2021). Effects of implant Suprelorin on cytological changes of vaginal epithelial cells in female dogs (4.7 mg deslorelin). *Ukrainian journal of veterinary and agricultural sciences*, 4(3), 3-10.

3.3.2. Зміна концентрації 17- β естрадіолу в крові сук після застосування імпланта Супрелорін

В контрольній та у всіх дослідних групах підвищення рівня естрогенів спостерігали на третю добу від введення імпланта Деслорелін. Таким чином у всіх групах цей рівень перевищував базальний і становив >19 пг/мл. В групі Д1 рівень естрогенів збільшувався повільніше, порівняно з іншими групами. Так на 8-му добу від введення імпланта рівень естрогенів в Д1 був нижчим і відрізнявся від груп Д2, Д3 і К ($*p<0,05$) і становив лише $27,6\pm4,8$ пг/мл, в той час як в групі К $56,7\pm11,8$ пг/мл, в групі Д2 і Д3 складав $54,4\pm8,8$ і $58,1\pm22,3$ пг/мл відповідно, в групі Д4 він складав - $35,5\pm6,1$ пг/мл (табл 3.5). На 11-ту 12-ту добу, коли у всіх групах естрадіол вже поступово знижувався, в групі Д1 він все ще збільшувався, досягнувши піку тільки на 11-ту добу, і становив $65,1\pm13$ пг/мл ($p<0,01$), у той же час в інших групах рівень естрадіолу знижувався на 11-ту та 12-ту добу і наближався до базального рівня. Ріст рівня естрогенів в групі Д1 був хвилеподібний, що не властиво для фізіологічного статевого циклу. В цій групі пік естрогенів припадав в середньому на $11\pm1,0$ добу ($p<0,01$), що статистично

відрізнялось від груп Д2, Д3, Д4 і К. Естрадіол в групі Д1, на відміну від інших груп, почав знижуватись ще до моменту, як був відмічений інтенсивний ріст та розвиток фолікулів. Натомість в групі Д2, Д3 і Д4 ріст концентрації естрогенів був подібним між групами і співпадав з контрольною групою. Лише на 16-ту добу від введення імпланта встановили статистичну різницю в рівні естрогенів між контрольною групою і дослідними групами, які отримували Супрелорін в пізньому анеструсі Д2 і Д3. В цих двох групах статевий цикл розвивався дещо швидше, і на 16-ту добу рівень естрогенів досяг базального рівня ($9,4 \pm 0,7$ і $10,9 \pm 1,8$ пг/мл відповідно для Д2 і Д3 ($p < 0,01$), в той час, як в контрольній групі він ще був вище базального - $25,3 \pm 11,8$ пг/мл.

Пік 17-β естрадіолу в групах Д2, Д3 і Д4 співпадав і припадав в середньому на $7 \pm 1,0$ (з 7-ї по 9-ту) добу від дня введення імпланта, і в групі контрольній - на $8 \pm 1,0$ (з 7-ї по 10-ту) добу від початку тічки.

При порівнянні груп Д2 і Д3 між собою було встановлені зміни рівня естрадіолу та були максимально наближеними як для спонтанного статевого циклу, пік Е2 припадав дещо швидше в дослідних групах порівняно з контрольною, в середньому на $7 \pm 1,0$ (з 7 по 9-ту) добу для Д2 і Д3 та $8 \pm 1,0$ добу для контрольної групи, але статистичної різниці не було виявлено. Зниження рівня естрадіолу було більш плавним в групі Д3 порівняно з Д2.

В групі Д4, в якій імплант видаляли на декілька діб пізніше від початку збільшення концентрації прогестерону, спостерігали зростання рівня естрогенів подібно, як в групах Д2, Д3 і К, але після піку Е2 їх рівень залишався певний час на високому рівні. Знаючи механізм дії імпланта Супрелорін можна припустити, що при несвоєчасному видаленні імпланта відбувається подальше вивільнення ГнРГ в організмі, що забезпечує додаткову стимуляцію для ФСГ, який впливає на ріст і розвиток фолікулів яєчника, що в свою чергу стимулюють виділення естрогенів.

В групах Д1 і Д4 спостерігали нетипову зміну рівня естрадіолу протягом тічки, характерну для фізіологічного перебігу статевих циклу. [5, 202] і перебігу самого статевих циклу, який ми спостерігали в контрольній групі, де пік естрадіолу відбувався за 2-3 доби до піку ЛГ. В нашій дослідній групі Д1, якій застосовували імплант Супрелорін в ранньому анаєструсі, у 6-ти з 7-ми сук спостерігали пік Е2 за 1 добу до початку росту прогестерону більше 3 нг/мл і разом з тим піку ЛГ, і в 1-ї з 7-ми навіть в день піку ЛГ. У сук з груп, яким застосовували імплант в пізній анаєструс, майже у всіх спостерігали пік Е2, як в контрольній групі, але динаміка зміни рівня естрогенів, тобто їх пік і зниження до базального рівня, проходила швидше. Також кількісні показники рівня естрогенів в групах, які отримували імплант Супрелорін, були вищими порівняно з контрольною (табл.3.5).

Таблиця 3.5

Зміна концентрації 17- β естрадіолу в крові сук після застосування імпланта Супрелорін 4,7 мг ($M \pm m$)

Доба	Групи тварин				
	Контрольна Естрадіол нг/мл n=8	Д ₁ Естрадіол нг/мл n=7	Д ₂ Естрадіол нг/мл n=7	Д ₃ Естрадіол нг/мл n=6	Д ₄ Естрадіол нг/мл n=5
день 0		10,4 $\pm$ 1,8	12,6 $\pm$ 4,6	10,8 $\pm$ 1,6	11,2 $\pm$ 3,1
доба 3	24,6 $\pm$ 8,2	22,3 $\pm$ 11,6	29,4 $\pm$ 6	25,4 $\pm$ 8,8	24,3 $\pm$ 4,2
доба 5	33,9 $\pm$ 12,4	24,4 $\pm$ 12,6	33,6 $\pm$ 9	27,7 $\pm$ 17,9	26,9 $\pm$ 3,6
доба 7	47,3 $\pm$ 14,9	26 $\pm$ 14,2	60,4 $\pm$ 6,5	63,7 $\pm$ 45,3	51,7 $\pm$ 15,6
доба 8	56,7 $\pm$ 11,8* Д1	27,6 $\pm$ 4,8* Д2, Д3, К	54,4 $\pm$ 8,8* Д1	58,1 $\pm$ 22,3* Д1	35,5 $\pm$ 6

Продовження табл. 3.5

доба 9	48,9±11,4	58,7±33,7	51,3±14,4	56,3±14,2	41,2±12,2
доба 10	46,6±6,6	60,8±36,3	41,6±9,6	41,1±7,7	41,5±12
доба 11	38,3±9,3 ^{Д1}	65,1±13,* ^{Д2} , Д3,Д4,К	24,5±8,7* Д1	37,5±8,5* ^{Д1}	42,3±11,1* ^{Д1}
доба 12	33,3±20,6	64,7±17,6** Д2,Д3	13,8±4,1** Д1	19,6±9,9** Д1	31,6±10,4
доба 14	26,8±15,4	27,6±15,3* ^{Д2}	10,8±2,1* ^{Д1}	11,2±2,6	26,2±4,3
доба 16	25,3±11,8** ^{Д2} , Д3	17,3±8,3	9,4±0,7** ^К	10,9 ±1,8** К	17,1±3,5
доба 21	18,1±8,7	17,3±8,3	9,9±1,5	10,4±1,6	11,6±2,1
доба 30	16,9±8	10±1,7	9,2±0,5	9,5±0,9	9,4±0,9
Пік естрадіол у [доба]	8±1,0* ^{Д1}	11±1,0* Д2,Д3,Д4,К	7±1,0* ^{Д1}	7±1,0* ^{Д1}	7±2,0 * ^{Д1}

Примітка: $M \pm m$, за винятком доби піку Е2, яка визначається в добах від введення імпланта. Д1,Д2,Д3,Д4,К - вказує на статистичну відмінність між зазначеними групами значення з відмінністю верхніх індексів відрізняються: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

3.3.3. Зміна концентрації прогестерону в крові сук після застосування імпланта Супрелорін

У сук, яким застосовували імплант Супрелорін, попередньо визначали вміст прогестерону в плазмі крові. Цей показник не повинен був перевищувати базального рівня, а саме 2 нг/мл. Підвищення рівня прогестерону більше 3нг/мл співпадає з добою піку ЛГ, і це прийнято вважати нульовою добою статевого циклу. Зміну концентрації прогестерону

між групами ми порівнювали від початку статевого циклу, тобто від піку ЛГ, який у різних групах наступив по різному. В групах, коли імплант вводили сукам, які знаходилися в пізньому анеструсі (Д2, Д3, Д4), пік ЛГ наступив однаково на $9 \pm 1,1$ (з 9-ї по 11-ту) добу, і це було швидше, ніж у тварин з контрольної групи, у яких пік ЛГ наступив в середньому на $10 \pm 2,1$ (з 8-ї по 14-ту) добу. В групі Д1 сукам, яким вводили імплант в ранній анеструс, пік ЛГ проявився пізніше, в середньому на $12 \pm 1,1$ добу, і це статистично відрізнялось від трьох інших дослідних груп, в яких тваринам вводили імплант в пізній анеструс ($p < 0,05$) (табл. 3.6). В доби , зазначені вище, коли P_4 перевищував 3 нг/мл, видаляли імпланти у сук в групах Д1, Д2 і Д3. Групі Д4 його видаляли в середньому на $3 \pm 1,0$ доби пізніше.

Таблиця 3.6

Зміна концентрації прогестерону в крові сук після застосуванні імпланта Супрелорін 4,7 мг ($M \pm m$).

Доба (Від піку ЛГ)	Прогестерон, нг/мл				
	Групи тварин				
	Контрольна n=8	Д ₁ n=7	Д ₂ n=7	Д ₃ n=6	Д ₄ n=5
Доба піку ЛГ (доба)	$\pm \pm 2,1$ (8-14)	$12 \pm 1,1^{*Д2,Д3,Д4}$ (11-14)	$9 \pm 1,1^{*Д1}$ (9-10)	$9 \pm 1,1^{*Д1}$ (9-11)	$9 \pm 1,2^{*Д1}$ (8-10)
Доба 0 (доба піку ЛГ)	$3,3 \pm 0,5$	$3,5 \pm 0,36$	$3,4 \pm 0,46$	$3,1 \pm 0,5$	$3,7 \pm 0,6$
Доба 1	$4,9 \pm 1,3^{***}$ Д ₄	$3,8 \pm 0,9$	$3,9 \pm 0,73$	$3,7 \pm 0,4$	$2,4 \pm 1,1^{***К}$
Доба 2	$7,9 \pm 1,5^{*}$ Д _{1,Д4}	$4,9 \pm 1,5^{*К}$	$7,1 \pm 1,2$	$7,2 \pm 1,6$	$4 \pm 1,5^{*К}$

Продовження табл. 3.6

Доба 3	11±3,1** Д4	8,6±2,7	11,3±3** Д4	11±1,6** Д4	5±1,1** Д2, Д3, К
Доба 5	15,2±5,1	18,1±11,7	25,01±8*Д4	19,4±7,2*Д4	4,2±0,4*Д2,Д3
Доба 7	25±9,3Д4	22,5±10,6** Д4	33,8±7,6** Д4	26±3,84**Д4	2,7±1,3** Д1,Д2,Д3,К
Доба 10	34,8±9*** Д4	28,7±13,6*** Д4	42,4±6,4*** Д4	33,4±4,6*** Д4	2,4±0,4*** Д1,Д2,Д3,К
Доба 30	47,1±11,2** *Д4	34,2±10,2*** Д4	46,7±5,1*** Д4	38,6±5,2*** Д4	2,1±0,4*** Д1,Д2,Д3,К

Примітка: $M \pm m$ в нг/мл. Д1,Д2,Д3,Г4,К - вказує на статистичну вірогідність між зазначеними групами; значення верхніх індексів: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

В групі Д1 рівень прогестерону тривалий час залишався на базальному рівні, а зростання його концентрації було затяжним і повільним порівняно з контрольною групою. На противагу Д1, в групах Д2 і Д3 зміна рівня прогестерону була властивою для перебігу фізіологічного статевого циклу (група К), але з дещо швидшим перебігом. Щодо групи Д4, в якій імплант вводили сукам у той період, як в групах Д2 і Д3, а саме в пізній анеструс, але видаляли його дещо пізніше, при рівні прогестерону більше 5 нг/мл, спостерігали схожу тенденцію зміни концентрації прогестерону лише до піку ЛГ, а далі лише незначне підвищення і подальшу його затримку на низькому рівні.

На першу добу статевого циклу, після піку ЛГ, у трьох дослідних групах Д1, Д2 і Д3 так само, як і в контрольній групі, спостерігали ріст рівня прогестерону, окрім групи Д4, в якій він навпаки знизився до базального. Таким чином на першу добу статевого циклу рівень прогестерону в

контрольній групі становив в середньому $4,9 \pm 1,3$ нг/мл, в дослідних групах відповідно Д1 = $3,8 \pm 0,9$; Д2 = $3,9 \pm 0,73$; Д3 = $3,7 \pm 0,4$ нг/мл і в групі Д4 лише $2,4 \pm 1,1$ нг/мл. Статистичну різницю ($p < 0,001$) було виявлено лише між контрольною групою та групою Д4. На другу добу статевого циклу в групах Д2, Д3 і контрольній спостерігали підвищення концентрації прогестерону вище 7 нг/мл, і як зазначає Bruger, за цим показником, можна припустити, що у сук цих трьох груп відбулась овуляція (овуляція від 5-10 нг/мл) [191]. В той час, в групі тварин Д1 показник рівня прогестерону залишався на нижчому рівні ($5,4 \pm 1,5$ нг/мл), що статистично відрізнялось від контрольної групи ($p < 0,05$). У групі Д4 на другу добу статевого циклу рівень прогестерону підвищився до показника $4,0 \pm 1,5$ нг/мл, але все рівно залишався нижчим порівняно з іншими групами ($p < 0,05$).

Спостерігаючи за змінами рівня прогестерону у сук групи Д1, можна констатувати, що овуляція наступила на третю добу від піку ЛГ при рівні прогестерону $8,6 \pm 2,7$ нг/мл, в той час, як у тварин групи Д4 вона так і не відбулася і максимальний рівень прогестерону в цій групі сягав $5,0 \pm 1$ нг/мл. На третю добу рівень прогестерону між групами Д2, Д3 і контрольною був майже однаковий і становив $11,0 \pm 3$ нг/мл для контрольної групи, $11,3 \pm 3,1$ нг/мл для Д2 і $11 \pm 1,6$ нг/мл для Д3. В групі Д1 спостерігали тенденцію до збільшення рівня прогестерону, але воно відбувалась значно повільніше ніж в трьох попередніх групах ($P_4 = 8,6 \pm 2,7$ нг/мл). Натомість, в групі Д4 прогестерон тільки досягнув рівня $5 \pm 1,1$ нг/мл, що статистично відрізнялось ($p < 0,01$) від контрольної групи, груп Д2 та Д3. На п'яту добу рівень прогестерону був найвищим в групі Д2 - $25,01 \pm 8,1$ нг/мл, у всіх інших групах цей показник був дещо нижчим, але загальна тенденція до зміни рівня прогестерону зберігалась. Лише в групі Д4 рівень прогестерону затримався на низькій концентрації та складав $4,2 \pm 0,4$ нг/мл, і це статистично відрізнялось лише від дослідних груп Д2 і Д3 ($p < 0,05$). На сьому, дев'яту і тридцяту доби статистичну різницю було виявлено в групі

Д4 по відношенню до всіх інших груп Д1, Д2, Д3 і К (доба 7 $p < 0,01$; доби 9 і 30 - $p < 0,001$). Рівень прогестерону в цій групі, починаючи з сьомої доби, знизився до базального ($P_4 = 2,7 \pm 1,3 \text{ нг/мг}$, $p < 0,01$) і продовжував залишатись на цьому ж рівні до кінця дослідження (доба 30 - $P_4 = 2,1 \pm 0,4$, $p < 0,001$). У всіх інших групах спостерігали підвищення прогестерону, властиве для фізіологічного статевих циклу, як в контрольній групі, але слід відмітити, що в групі Д1 цей процес був дуже повільним.

Результати даних підрозділів опубліковано в наступній праці :

Голумбійовська, Т. В. (2023). Зміни концентрації прогестерону та 17бета-естрадіолу (або 17-β естрадіолу), в сироватці крові після введення імпланту Супрелорін®(4, 7 мг деслореліну) для індукції еструсу у сук. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine & Biotechnologies Series: Veterinary Sciences*, 25(109), 137-145.

3.3.4. Зміни структури яєчників сук після застосування імпланту Супрелорін 4,7 мг у сук

При порівнянні розмірів фолікулів у правому і лівому яєчниках не виявили статистичної різниці. Також не було встановлено відмінності у величині фолікулів залежно від ваги суки. Тому наші результати подані як середнє значення величини фолікулів обох яєчників.

Появу фолікулів у яєчниках визначали по анехогенних утвореннях, розміри яких були більше 3 мм. У всіх групах тварин, окрім групи з раннім анеструсом Д1, як і в групі контрольній, ріст та розвиток фолікулів спостерігали приблизно в однаковий час, починаючи 3-ї доби, а в групі Д1 – на 5-ту добу (рис. 3.7 – 3.7.4, табл 3.7).

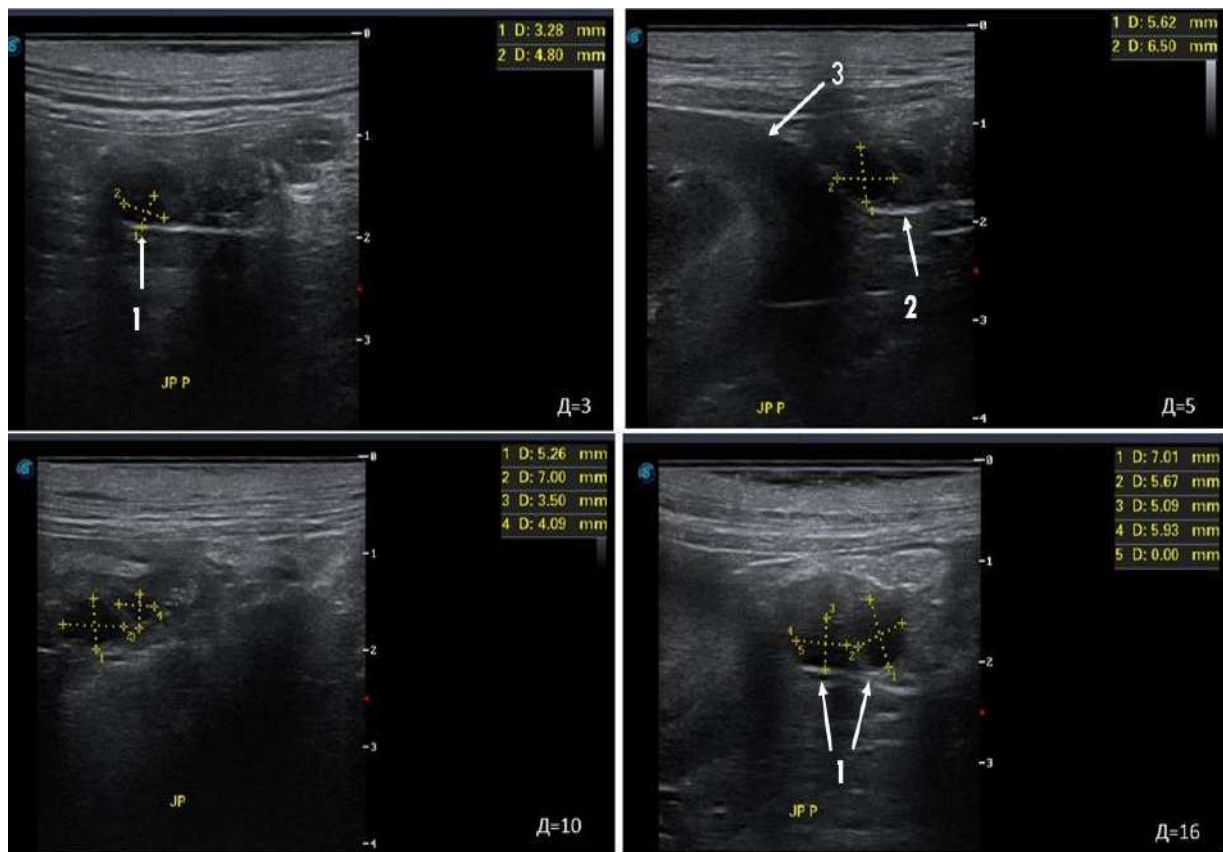


Рис. 3.7. Ультрасонографічна структура фолікулів у яєчниках в контрольній групі (Візуалізація фолікулів з 3-ї по 16-ту добу статевого циклу. 1 – фолікул яєчника (анехогенне утворення розміром >3 мм), 2 – яєчник, 3 – права нирка).

На третю добу в контрольній групі фолікули відмічали лише у 2 з 8 сук, в той час, як в групі Д2 - 4 з 7 сук, в групі Д3 - в 3 з 6 сук, в групі Д4 в 2 з 5 і в групі Д1 в жодної з досліджених сук ще не спостерігали фолікули. На п'яту добу від введення імплантату у всіх сук з групи спостерігали фолікули на яєчниках лише в групах, яким застосовували Супрелорін в пізньому анеструсі – Д2, Д3 і Д4. Натомість в групі контрольній на п'яту добу виявили фолікули у 4 з 8 сук, а в групі Д1, якій застосовували імплантат в ранній анеструс – у 4 з 7 сук. Величина фолікулів в ці дні у всіх групах була приблизно однаковою і становила від $3,2 \pm 0,4$ мм в групі Д1 до $3,9 \pm 0,9$ мм в групі Д4. У всіх сук з групи Д1 фолікули у яєчниках зафіксували на 7-му

добу від введення імпланта, а в контрольній групі лише на 9-ту добу від початку тічки. З 9-ї доби встановили статистичну різницю між розмірами фолікулів у групах (табл 3.7). Так вірогідно відрізнялась ($p < 0,01$) величина фолікулів в контрольній групі ($3,8 \pm 0,5$ мм) і групі Д2 ($5,2 \pm 0,5$ мм). На 10-ту добу різницю ($p < 0,05$) встановили між контрольною групою ($3,9 \pm 0,5$ мм) і двома групами в пізньому анеструсі – Д2 і Д3, розміри фолікулів яких були $5,9 \pm 0,5$ мм і $5,6 \pm 0,7$ мм відповідно. Було також виявлено різницю ($p < 0,05$) між двома попередніми групами в пізньому анеструсі (Д2 і Д3) та групою Д1 (ранній анеструс), яка мала тенденцію до затримки росту і розвитку фолікулів. В контрольній групі і групі Д1 на 9-ту та 10-ту добу розміри фолікулів були менші порівняно з групами, які отримали Деслорелін в пізньому анеструсі. Таку ж динаміку виявили на 11-ту добу. Розміри фолікулів в контрольній групі відрізнялись від груп Д2 і Д3 ($p < 0,05$), окрім того слід відмітити, що вони були найменшими у тварин з усіх дослідних груп ($3,9 \pm 0,7$ мм). В той час, як найбільшими за розміром були фолікули у сук з групи Д3 ($6,9 \pm 1,1$ мм), в якій застосовували імплант Супрелорін з додаванням препарату Рецептал. В момент, коли виймали імплант, що припадало на 10-ту і 11-ту доби в цій групі, був застосований препарат Рецептал двічі на добу у дозі 0,5 мл/10кг маси тіла два дні. Було встановлено різницю у розмірах фолікулів тварин з цієї групи (Д3) і групами Д1 і Д4, що підтверджує той факт, що в групі Д3 візуалізувалися найбільші за розміром фолікули після застосування препарату Рецептал. Фолікули у сук групи Д3 залишались найбільшими за розмірами до 14-ї доби. На 16-ту добу в 3-х з 6-ти сук були виявлені лише гіпоехогенні структури з нерівними краями, що вказували на фолікули, в яких відбулася овуляція. Статистично на 14-ту добу група Д3 відрізнялась від контрольної групи та від групи Д4, в якій імплант виймали при рівні $P_4 > 5$ нг/мл. Величина фолікулів у сук групи Д3 були $6,6 \pm 0,3$ мм, в той час, як у контрольній групі - $4,2 \pm 0,8$ мм, і в групі Д4 - $4,6 \pm 0,8$ мм ($p < 0,01$). Слід відмітити, що в дослідній групі тварин Д4

розвиток фолікулів та збільшення їх розмірів до певної величини була подібною, як в групах Д2 і Д3. А починаючи з 10-ї доби, величина фолікулів дещо зменшилась та залишилася на одному рівні до кінця експерименту. Натомість в групі Д1 було встановлено у сук постійний ріст та розвиток фолікулів, та до 21-ї доби експерименту їх проміри становили $7,9 \pm 2,6$ мм, що відрізнялось на 16-ту і 21-шу доби від контрольної групи і груп Д2 і Д3 ($p < 0,05$) (рис. 3.7.1).



Рис. 3.7.1. Ультрасонографічна структура фолікулів у яєчниках в групі Д1 (анеструс ранній). Візуалізація фолікулів у яєчниках з 3-ї по 21-ту добу після введення імпланту Супрелорін. 1 – яєчник правий, 2 – анехогенне утворення дуже малих розмірів, 3 – фолікул яєчника розміром 4.17×5.00 мм, 4 – анехогенні утворення до 1 см, які спостерігали до 21 доби досліджу.

В контрольній групі на 16-ту добу величина фолікулів становила $4,8 \pm 1,2$ мм, вони були зафіксовані ще у 6 з 8 сук, і до 21 доби у всіх з сук

спостерігали лише гіпоехогенні структури з нерівними краями, що дозволяє стверджувати про те, що відбулась овуляція. В групах Д2 і Д3 на 16-ту добу величина фолікулів була $4,7 \pm 0,3$ мм і $5,8 \pm 0,7$ мм відповідно, і фолікули ще спостерігались у 5 з 7 і 3 з 6 сук з груп. В групі Д3 у 3 з 6 сук відбулась овуляція після 14-ї доби. На 21-шу добу в жодної з сук з цих двох груп не було виявлено чітко виражених анехогенних структур округлої форми, що свідчить про те, що фолікули овулювали (рис. 3.7.2; 3.7.3.).

В групі тварин Д2 і Д3, яким застосовували імплант Супрелорін в пізньому анеструсі, порівняно з іншими групами спостерігали швидший ріст фолікулів, значне збільшення їх розмірів і в подальшому швидка їх атрезія. Ці зміни спостерігали в групі Д2 з 3-ї по 16-ту доби, в той час, як в групі Д3 – з 3-ї по 14-ту відповідно (рис. 3.7.2; 3.7.3.).



Рис. 3.7.2. Ультрасонографічна структура фолікулів у яєчниках в групі Д2 після введення імпланта Супрелорін в пізній анеструс. 1 - яєчник з анехогенними утвореннями округлої форми, 2 – яєчник, 3 – фолікул яєчника (анехогенне утворення круглої форми розміром $5,94 \times 7,18$ мм), 4 – гіпоехогенні структури з нерівними краями – фолікули, що овулювали.



Рис. 3.7.3. Ультрасонографічна структура фолікулів у яєчниках в групі Д3 після введення імпланту Супрелорін в пізній анеструс в комбінації з препаратом Рецептал. Фолікули в деяких сук з групи фіксували з 3-ї по 14-добу. 1 - яєчник з анехогенними утвореннями округлої форми, 2 – фолікул яєчника (анехогенне утворення круглої форми розміром > 3 мм), 4 – гіпоехогенні структури з нерівними краями – фолікули, що овулювали.

В групі Д3, яка отримувала імплант Супрелорін в пізньому анеструсі у комбінації з препаратом Рецептал величина фолікулів була більшою, порівняно з іншими групами і навіть з групою Д2, яка отримувала імплант теж в пізньому анеструсі. Проте було встановлено, що у тварин групи Д2 фолікули були більшими порівняно з контрольною групою. В контрольній групі поява з подальшим ростом, розвитком фолікулів та їх овуляція займали значно більше часу, а саме з 3-ї по 21-шу добу (рис. 3.7). Розміри фолікулів у тварин цієї групи змінювались повільніше і були набагато меншими порівняно з дослідними групами. В групі Д4, яка також отримувала імплант в пізньому анеструсі, але видаляли його дещо пізніше,

ніж в інших групах (при $P_4 > 5$ нг/мл), розміри та величина фолікулів збільшувались до 10-ї доби з подібною динамікою, як у тварин груп Д2 і Д3, а потім дещо зменшившись, так і залишившись на одному рівні до кінця експерименту (рис. 3.7.4).



Рис. 3.7.4. Ультрасонографічна структура фолікулів у яєчниках в групі Д4 після введення імплантату Супрелорін в пізній анеструс і видалення його при рівня $P_4 > 5$ нг/мл. 1. Яєчник лівий з анехогенним утворенням, заповненим рідиною - фолікулом, 2 – фолікули яєчника, 3 – анехогенні утворення невеликих розмірів, що спостерігались до кінця експерименту

При ультразвуковому дослідженні зміни в матці не мали значних відмінностей протягом всього періоду дослідження та не несли інформативного значення.

Таблиця 3.7

**Ультрасонографічні зміни структур яєчників після застосування
імпланта Супрелорін 4,7 мг у сук. $M \pm m$ в мм**

Доба від введення імпланта	Групи тварин				
	Контрольна n=8 (мм)	Д ₁ n=7 (мм)	Д ₂ n=7 (мм)	Д ₃ n=6 (мм)	Д ₄ n=5 (мм)
Доба 3	3±0,4 (n*=2)	0	3,3±0,3 (n*=4)	3±0,2 (n*=3)	2,7±1 (n*=2)
Доба 5	3,7±0,8 (n*=4)	3,2±0,4 (n*=4)	3,6±0,3	3,2±0,2	3,9±0,9
Доба 7	3,7±0,5 (n*=6)	3,4±0,4	4,3±0,5	3,8±0,4	4,3±1,2
Доба 9	3,8±0,5**Д ₂	3,9±0,7	5,2±0,5**К	4,4±0,2	4,7±1,1
Доба 10	3,9±0,5*Д ₂ ,Д ₃	4,2±0,3*Д ₃	5,9±0,5*Д ₁ ,К	5,6±0,7*Д ₁ ,К	5,1±0,9
Доба 12	3,9±0,7*Д ₂ ,Д ₃	4,8±0,7*Д ₃	5,8±0,3*К	6,9±1*К, Д ₁ ,Д ₄	4,9±0,9*Д ₃
Доба 14	4,2±0,8**Д ₃	5,6±0,4	5,54±0,4	6,6±0,3**Д ₄ ,К (n*=4)	4,6±0,8**Д ₃
Доба 16	4,8±1,2*Д ₁ (n*=6)	7,8±1,2*Д ₂ ,Д ₃ ,К	4,7±0,3*Д ₁ (n*=5)	5,8±0,7*Д ₁ (n*=3)	4,4±0,8
Доба 21	0*Д ₁	7,9±2,6*Д ₂ ,Д ₃ ,К	0*Д ₁	0*Д ₁	3,9±0,5 (n*=4)

Примітка: $M \pm m$ в мм; Д₁,Д₂,Д₃,Д₄,К - вказує на статистичну відмінність між зазначеними групами; значення з відмінністю верхніх індексів відрізняються: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; n- кількість тварин в групах; n*- кількість сук в групі, у яких виявлено фолікули.

Результати даних підрозділів опубліковано в наступній праці:

Holumbiiiovskа, T. (2023). Dynamics of ovarian structures after application of Suprelorin®(4.7 mg de-slorelin acetate) implant for estrus induction in bitches. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(1), 51-57.

3.3.6. Дослідження вагітності сук

У групі Д1 жодна з сук, які були злучені з псом, не завагітніла (0/3), в групі Д2 - завагітніли всі суки (3/3), в групі Д3 - 2/3, а в контрольній групі - 4/6. Усі вагітні собаки народили здоровий приплід (рис 3.8). У групі Д4 жодна з сук не була злучена через відсутність у них овуляції.

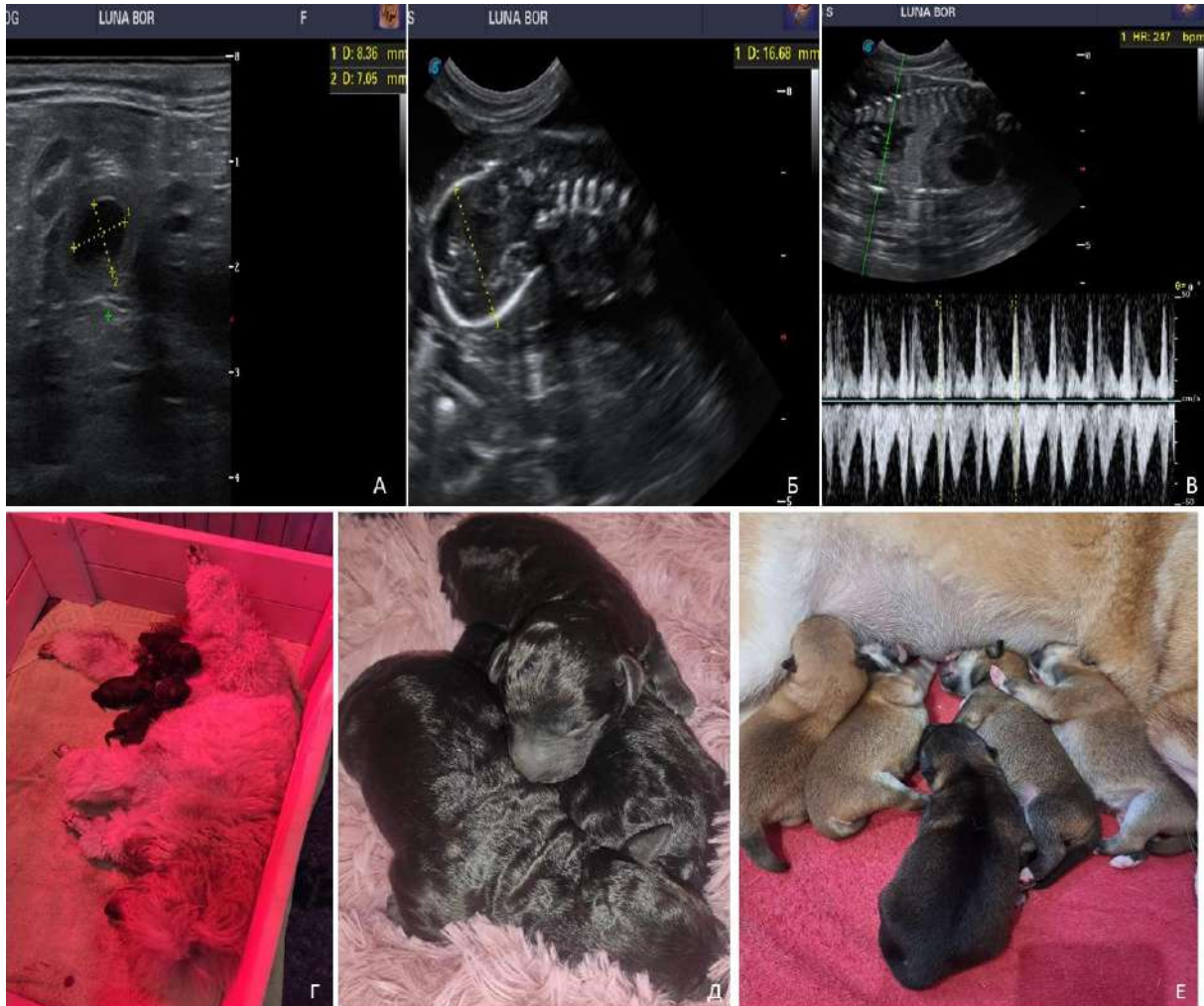


Рис. 3.8. Діагностика та моніторинг вагітності. А – ультасонографічне дослідження вагітності на 21 добу, зародок плода 8,36х7,05 мм. Б - ультасонографічне дослідження вагітності на 49 добу, вимірювання скроневих ділянок черепа плода для визначення терміну родів. В - ультасонографічне дослідження вагітності на 55 добу, дослідження ЧСС плода - 247 скорочень/хв. SonoScape S50, С 613 (4–9 мГц). Г, Д, Е – новонароджені цуценята сук з груп, яким застосовували імплант Супрелорін для індукції еструсу.

3.3.7. Перебіг статевих циклу у сук при різних схемах застосування імплантату Супрелорін.

Різні науковці, такі як Kutzler та ін. (2002); Volkmann та ін. (2006b); Kutzler та ін. (2009), Walter B. (2011), Fontaine E. та ін. (2011) вже застосовували раніше для стимуляції овуляції імплантат Деслорелін, але вони подавали різні схеми застосування імплантату, і отримані ними дані дещо відрізняються [14, 168, 175, 182, 205, 206, 207]. Тому ми вирішили порівняти різні схеми застосування імплантату Супрелорін та проаналізувати, як буде проявлятися статевий цикл при кожній з них.

У групі тварин Д1 статевий цикл розвивався повільніше, ніж у контрольній групі (рис. 3.9.; рис 3.9.1)

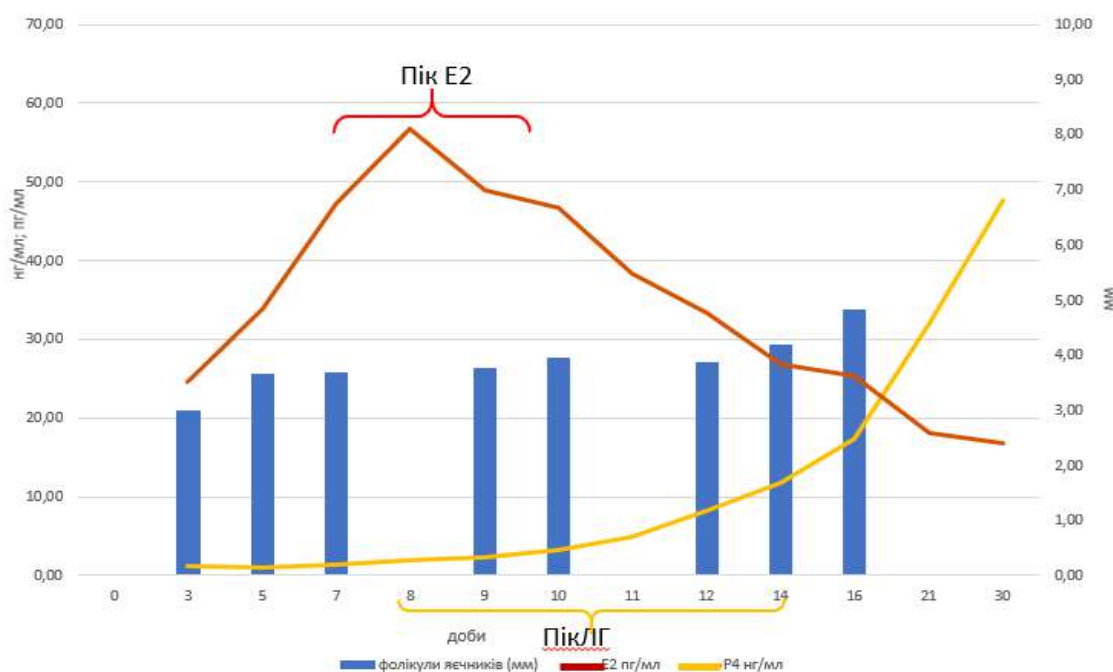


Рис. 3.9. Перебіг фізіологічного статевих циклу, група контрольна.

Пік ЛГ наступив в середньому на $12 \pm 1,1$ добу (з 11 по 14), що було пізнішим на 2-і доби, ніж в контрольній групі, на $10 \pm 1,0$ (з 8 по 14 доби). Пік Е2 у всіх сук з групи Д1 спостерігали за одну добу до піку ЛГ – на $11 \pm 1,1$

добу від введення імпланту. Крім того, спостерігали хвилюподібний ріст концентрації 17- β естрадіолу та наявність у яєчниках до 21-ї доби анехогенних структур розміром до $7,9 \pm 2,6$ мм, також було встановлено, що після в'язки вагітність не наступила. Порівнюючи перебіг статевого циклу в групі Д1 з контрольною групою, можна ствердити про гормональний дисбаланс в цій групі (рис.3.9.1).

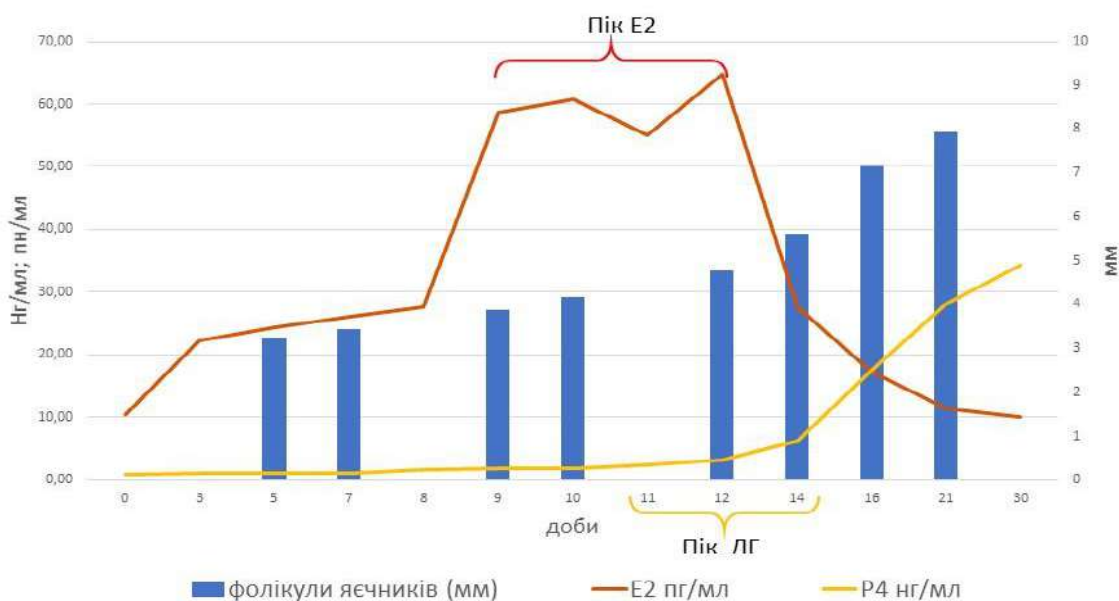


Рис. 3.9.1. Перебіг статевого циклу в групі Д1, якій застосовували імплант Супрелорін в анеструс ранній і виймали його при рівня $P_4 > 3$ нг/мл.

В групах Д2, Д3, яким застосовували імплант в пізній анеструс (понад 160 діб), перебіг статевого циклу був характерним для спонтанного його прояву, але мав дещо швидший перебіг і був більш передбачуваним порівняно з контрольною групою (рис. 3.9; 3.9.2; 3.9.3).

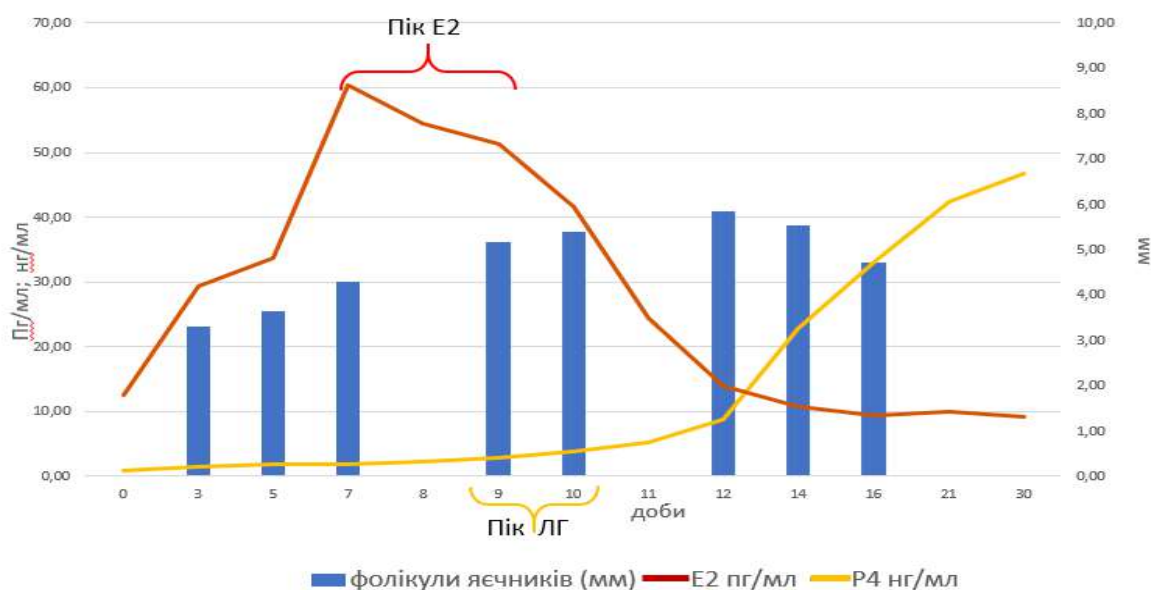


Рис. 3.9.2. Перебіг статевого циклу в групі Д2, якій застосовували імплант Супрелорін в пізньому анеструсі і виймали його при рівні $P_4 > 3$ нг/мл.

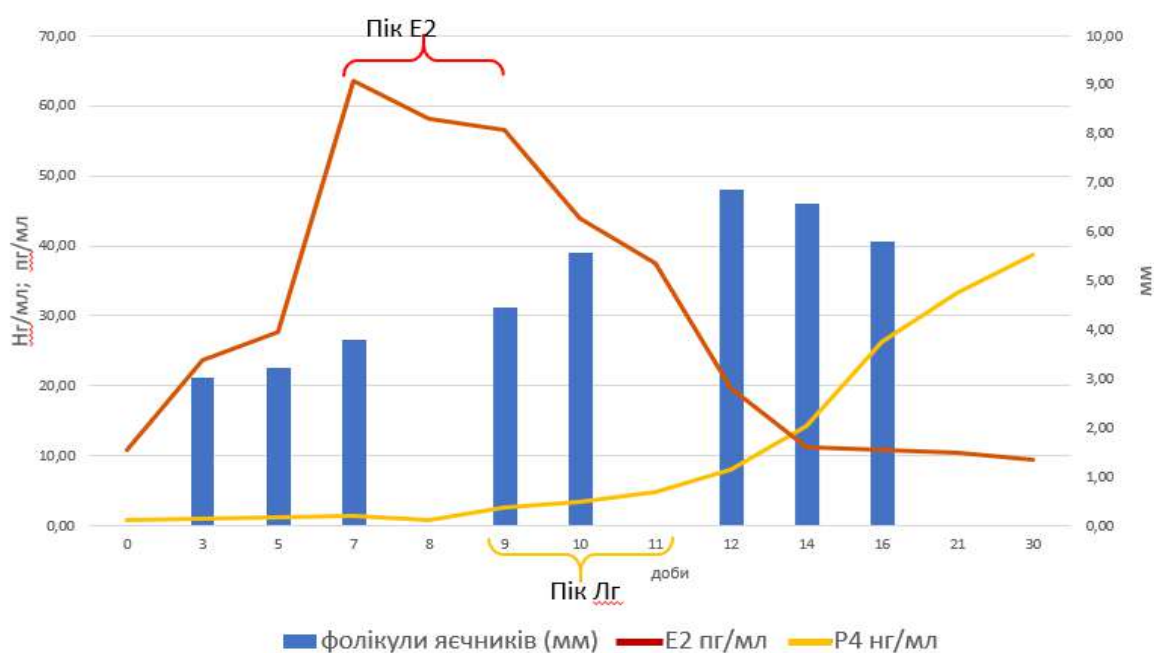


Рис. 3.9.3. Перебіг статевого циклу в групі Д3, якій застосовували імплант Супрелорін в пізньому анеструсі у комбінації з препаратом Ресептал, видаляли імплант при рівні $P_4 > 3$ нг/мл.

У групах Д2 і Д3 пік Е2 наступив в середньому на $7 \pm 1,0$ –му добу (з 7-ї по 9-ту) і дещо швидше, ніж в контрольній групі, - $8 \pm 1,0$ (з 7-ї по 10) добу. Було встановлено, що пік Е2 відбувся за дві доби до піку ЛГ у сук цих груп, а також у тварин контрольної групи, що властиво для фізіологічного перебігу статевого циклу, описаного Conceptionne [202, 208]. Також потрібно відмітити, що у тварин усіх дослідних груп пік ЛГ припадав на 9-ту, 10-ту доби, в той час як у сук зі спонтанною тічкою діапазон настання піку ЛГ був значно ширшим - з 8-ї по 14-ту доби (рис. 3.9). Виходячи з цього, можна стверджувати, що індукований статевий цикл за допомогою імплантата Супрелорін є більш передбачуваним, а також має дещо швидший перебіг. Ці дані можна враховувати при плануванні в'язки чи штучному осіменінні.

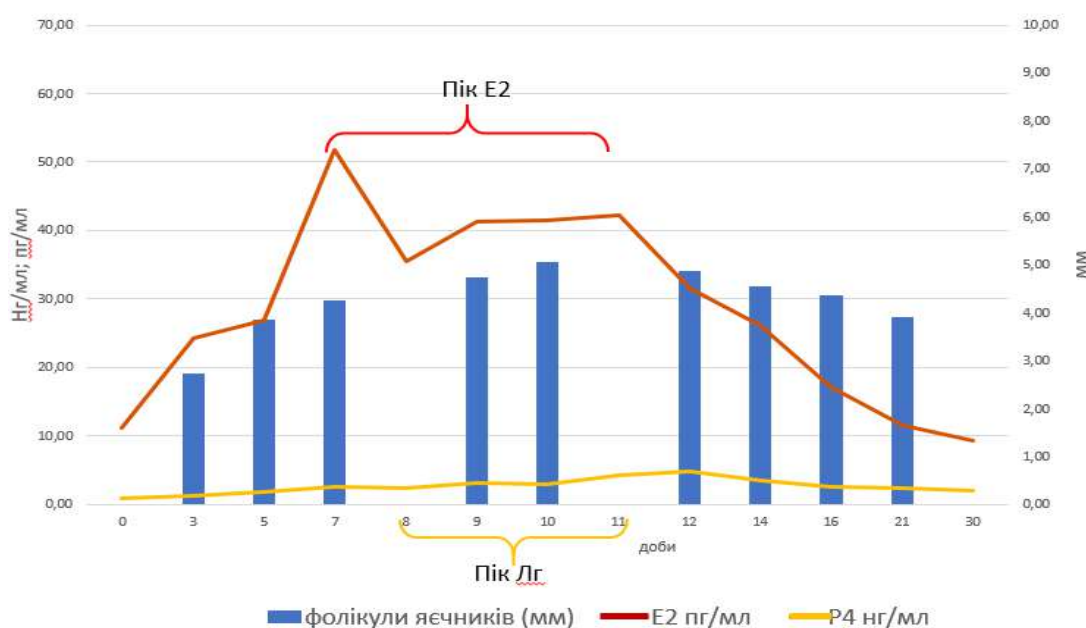


Рис. 3.9.4. Перебіг статевого циклу в групі Д4, якій застосовували імплант Супрелорін в пізньому анеструсі і видаляли його при рівні $P_4 > 5$ нг/мл.

У групі Д4, в якій видаляли імплантат на $3 \pm 1,1$ дні пізніше піку ЛГ (при $P_4 > 5$ нг/мл), статевий цикл розвивався схоже, як в групах Д2, Д3 і К,

ще декілька днів після піку ЛГ, але в подальшому його розвиток припинився, рівень статевих гормонів, як і розмір фолікулів, затримались на одному рівні, овуляція в цій групі не відбулася (рис. 3.9.4). Рівень прогестерону почав зменшуватись до базального, а рівень естрадіолу, замість того, щоб знижуватись до базального, знову почав хвилеподібно підніматись. В цій групі спостерігали гормональний дисбаланс.

Висновок до розділу 3

Узагальнюючи результати проведених досліджень, можна підсумувати, що імплант довготривалої дії Супрелорін з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг, що є синтетичним аналогом ГнРГ, на початку його застосування призводить до появи еструсу у всіх сук. Цей ефект відомий як «ефект спалаху» і викликає появу тічки у 100% сук, які перебували в анеструсі.

Встановлено, що у сук в анеструсі ранньому поява кров'янистих виділень та при цитологічному дослідженні стадія статевого циклу проеструс спостерігалася на $5,6 \pm 1,5$ добу в групі Д1 від введення імпланта, в той час, як в групах Д2, Д3, Д4 з пізнім анеструсом на $3,6 \pm 0,9$, $3,7 \pm 0,9$ і $3,8 \pm 1,1$ добу відповідно. Появу еструсу в групі Д1, якій вводили імплант в ранній анеструс, спостерігали на $13,4 \pm 1,0$ добу порівняно з контрольною групою, в якій еструс спостерігали на $11,3 \pm 1,6$ добу. Найшвидше при дослідженні вагінальних мазків еструс спостерігали в групах Д2 і Д3, яким застосовували імплант Супрелорін в анеструс пізній, на $10,3 \pm 1,0$ доби в Д2 і на $10,3 \pm 1,4$ в Д3. В групі Д4 еструс взагалі не наступив.

При дослідженні динаміки статевих гормонів при різних схемах застосування імпланта Супрелорін встановлено, що при введенні імпланта в ранній анеструс та видаленні його на початку піку ЛГ при рівні прогестерону більше 3 нг/мл (група Д1), ріст гормонів відбувався

повільніше, ніж в контрольній групі. Спостерігали хвилеподібне збільшення концентрації естрогенів і їх затримку на високому рівні перед піком E_2 , а їх пік за 1 добу до піку ЛГ.

В групі Д1 (анеструс ранній), якій застосовували імплант Супрелорін, статевий цикл розвивався повільніше, ніж в групі контрольній, натомість в групах Д2, Д3, Д4 при введенні імпланта Супрелорін в пізній анеструс (більше 160 днів від останніх ознак тічки) статевий цикл розвивався швидше порівняно з контрольною групою. Але в групі G=4, в якій виймали імплант пізніше зросту прогестерону (P_4 більше 5 нг/мл), статевий цикл не розвинувся взагалі. В групі Д3, якій додавали препарат Рецептал, статевий цикл проходив схоже, як в групі Д2 та у всіх інших групах. Але розміри фолікулів в цій групі були найбільші. В групах Д1 і Д4 спостерігали гормональний дисбаланс в динаміці статевих гормонів. Лише в групі Д2 і Д3, яким вводили імплант в анеструс пізній і виймали його при рівні прогестерону більше 3 нг/мл, спостерігали перебіг статевого циклу, властивий для фізіологічного, але він характеризувався дещо швидшим перебігом і більшою передбачуваністю.

В групі Д4, коли імплант виймали пізніше піку ЛГ (при рівні $P_4 > 5$ нг/мл), статевий цикл перервався, овуляція не відбулась. В групі Д1, хоч ріст рівня прогестерону спостерігали до кінця дослідження, що свідчить про те, що овуляція відбулась, спостерігали наявність великих фолікулів у яєчниках до 21 доби експерименту, та жодна з сук, після спарювання не завагітніла. В групах Д2 і Д3, як і в групі контрольній, овуляцію спостерігали на 2 добу статевого циклу. В цих двох групах встановили вагітність у сук після індукції еструсу за допомогою імпланта Супрелорін.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Здатність до відтворення характерна для всіх тварин при умові настання статевої та фізіологічної зрілості. Можливість до репродукції є однією з найважливіших функцій організму, яка на протязі життя піддається впливу різноманітних чинників, що можуть стимулювати чи навпаки гальмувати її, викликаючи при цьому коротку чи тривалу неплідність. З віком (після 6-7 років) у сук частота появи тічки знижується і вагітність спостерігається рідше. Також кількість приплоду зменшується.

Згідно даних BSAVA, причинами неплідності можуть бути репродуктивні проблеми, пов'язані з самцем чи з сукою, порушення статевого циклу та неможливість в'язки (погані умови утримання, поведінкові порушення і порушення розвитку суки, анатомічні і функціональні зміни органів репродуктивного тракту вроджені або обумовлені інфекціями, неоплазіями, ятрогенами.). Окрім того, існує класифікація неплідності, яка включає відсутність еструсу, неплідність при порушенні статевого циклу (короткий інтервал інтер/проеструсу, короткий проеструс, затяжний проеструс/еструс), неплідність при фізіологічному статевому циклі (невідповідний термін злучки, неплідність самця, стрес, пухлини матки, поліпи, стеноз шийки матки, відсутність овуляції, загибель ембріонів, недостатність лютеїнової активності, ендометрит, кістозна гіперплазія ендометрію), нездатність до в'язки або мимовільне переривання вагітності [19, 101, 209, 210]. А. Ю. Тарасевич розрізняє три основні причини неплідності: екстрагенітальні, інтергенітальні та екзогенні. До екстрагенітальних відносять причини: вік, ендокринні і нервові розлади, патологію молочної залози, інфекційні та інвазійні захворювання. До інтергенітальних - порушення фізіологічного стану яєчників, такі як фолікулярні кісти та персистентне жовте тіло, неповноцінні статеві цикли,

розлади при імплантації, ендокринна анафродизія, німфоманія. До екзогенних відносять аліментарні фактори, дефіцит світла, помилки при в'язці [45]. Порушення відтворної функції, окрім гінекологічних захворювань, можуть бути спричинені такими етіологічними факторами, як порушення статевого циклу, несвоєчасне або неправильне осіменіння, порушення імплантації ембріонів або перебігу вагітності.

Питання щодо причин неплідності дуже складне, і думка авторів з цього приводу часто є різною. Але все ж ми вирішили дотримуватись класифікацій BSAVA і основні причини умовно розділили на проблеми, пов'язані з псом, неплідність при фізіологічному перебігу статевого циклу та неплідність при порушенні статевого циклу. До проблеми, пов'язаних з псом відносили помилки у в'язці (недосвідченість пса), погану якість сперми, захворювання репродуктивної системи самця (орхит, епідидиміт, крипторхізм, травми мошонки) [211].

Причинами неплідності при фізіологічному перебігу статевого циклу були порушення правил осіменіння, стрес, хвороби матки (кістозна гіперплазія ендометрію, ендометрит, піометра), хвороби яєчників (кісти та пухлини), інфекційні захворювання (*Brucella canis*, *Herpes virus canis*, бактеріальні інфекції), ідіопатична неплідність [19, 212].

Порушення статевого циклу (власне неплідність) включала розлади, що характеризувалися відсутністю еструсу (анестрія) та пролонгованим проеструс/еструс, а також збільшення міжтічкового періоду або скорочення його. Анестрія – це відсутність еструсу, окрім того може бути затяжний анеструс у вигляді тривалого періоду між тічками, що спостерігається у старих сук та у сук деяких порід (наприклад великі та гігантські породи собак) [16, 213]; часті (3-4 тічки на рік) та ановуляторні цикли часто пов'язані між собою, можуть проявлятися під час статевого дозрівання та у статевозрілих сук. За цих обставин відбувається в'язка суки, але запліднення не відбувається [20, 214, 215].

В результаті моніторингу захворювань репродуктивної системи собак ми виявили, що за останні п'ять років випадки порушення відтворної функції та проблеми з відтворенням збільшились з 10% до 30% випадків. Також встановлено, що різні гінекологічні захворювання мали вікову залежність. Так наприклад, 59% захворювань всієї акушерсько-гінекологічних патологій припадало на вік 8,6-тих років, в той час, як у віці від 2-х до 6-ти років 60% від загальної частки усіх гінекологічних патологій становили проблеми з відтворенням і порушенням відтворної функції у вигляді відсутності приплоду. Це пояснюється тим, що саме цей вік у суки вважається репродуктивним та сприятливим для народження потомства [19, 20] і тому велика частка власників, які бажали отримати приплід від своєї суки звертались в клініку за допомогою. Серед патологій, пов'язаних з порушенням відтворної функції, відсоток сук з порушенням статевого циклу становив 25% (n=300), як не парадоксально, неплідність при фізіологічному перебігу статевого циклу - також 20%, патології матки та яєчників – 25%, інфекційні захворювання становили 15 %, неможливість завагітніти через проблеми пов'язані з псом – 15%.

З літературних даних відомо, що захворювання репродуктивного тракту у сук складає до 20% від загальної патології. Серед акушерської та гінекологічної патології найпоширенішою була патологія статевих органів, яка у середньому становила 38,2% за період 3 роки з середнім віком тварин – 8,8 року. Патологічні роди діагностували у 17,3 % собак із середнім віком тварин 3,3 роки, а патологію післяродового періоду – у 7 % із середнім віком тварин 2,5 роки [8, 9]. С. Власенко (2021), досліджуючи поширеність порушення фертильності встановила, що 16,5 % випадків неплідності у сук була зумовлена патологією яєчників, 42,1 % припадали на морфологічні ураження матки, і це була найпоширеніша причина порушення фертильності. Також досить часто спостерігались пухлини статевих органів та молочної залози (авторка не подає відсоткового значення). Серед

патологій матки найчастіше у сук діагностували піометру (19,7 %), хронічний ендометрит (13,5 %), а також досить велику частку займала несправжня вагітність (12,1 %) [7].

З поширенням культури утримання домашніх тварин та залученням службових собак до виконання різних завдань все частіше постає питання їх розведення, отримання здорового приплоду та навіть виведення нових порід. Це, в свою чергу, веде до того, що власники тварин все більше зацікавлені в отриманні приплоду, а разом з тим і лікарі ветеринарної медицини частіше почали зустрічатись з порушенням функції відтворення у собак. Крім того, так як сука - моноциклічна тварина, статевий цикл у неї триває 6-7 місяців, а це означає, що овуляція у неї відбувається здебільшого 1-2 рази на рік, що значно ускладнює племінну роботу з собакою. Репродуктивний вік у сук обмежений, тому одна пропущена овуляція і, як наслідок, відсутність вагітності створює значні незручності для заводчиків тварин. Тому корекція статевого циклу та індукція еструсу у сук часто є вирішенням цієї проблеми та користується популярністю серед власників тварин і племінних центрів. Синхронізація статевого циклу широко застосовується у сільськогосподарському тваринництві [143, 216]. У випадку з дрібними домашніми тваринами цей метод ще розробляється, тривають пошуки найбезпечніших способів індукції тічки. Ці методики набирають щораз більшої популярності. Така потреба може бути пов'язана з бажанням власників займатись розведенням тварин, популяризацією культури домашньої тваринки в сім'ї. Чим більше заводчиків прагнуть займатись розведенням тварин, тим більше вони зустрічаються з певними проблемами в цій справі. Наприклад, корекція статевого циклу або його індукція актуальна при короткотривалому доступі до племінної самки чи самця чи при бажанні власників оптимізувати вагітність або отримати приплід в певний сезон, з кращими умовами середовища для утримання потомства, наприклад, у більш теплу пору року [13, 14]. Крім того, є також

породи, які мають довгий період анеструсу (собаки великих порід). У таких випадках доцільно проводити скорочення періоду анеструсу шляхом індукції тічки [16, 213]. Стимуляція еструсу у сук також є способом лікування сук з аномаліями статевого циклу, таких як: тривалий анеструс, первинний або вторинний анеструс [70]. Таким чином, фармакологічна індукція статевого циклу може бути використана для планування в'язки, вагітності, родів, відновлення репродуктивної функції у сук при порушенні статевого циклу, контролю над статевим циклом у зв'язку з медичними показаннями чи поведінковими проблемами або для збереження циклічності репродуктивної функції у продуктивних сук.

Фактори, що регулюють тривалість анеструсу до кінця невідомі, але основну роль в перебігу анеструсу та ініціації гормональної активності в кінці цієї стадії є гонадотропін-релізінг гормон (ГнРГ), що виробляється гіпоталамусом. Зі збільшенням кількості імпульсів ГнРГ підвищується чутливість клітин-рецепторів гіпофіза, який виділяє гонадотропні гормони: ФСГ та ЛГ, які у свою чергу збільшують чутливість гонад (яєчників) до них. [13].

На сьогоднішній день описано понад 40 схем фармакологічної стимуляції тічки такими речовинами, як каберголіни, бромкриптин, діетилстилбестрол, hCG та eCG [128–132, 138, 143, 217, 218]. Опубліковано ряд протоколів для індукції еструсу [13, 14, 164]. Серед них застосування синтетичних естрогенів (діетилстилбестролу) [128], екзогенних гонадотропінів (hCG, eCG, PMSG) [129–131], агоністів дофаміну (бромкриптину, каберголіну), [133–138], агоністів ГнРГ (lutrelin, buserelin, fertirelin, deslorelin, leuprolide) [16, 139–141, 141, 142]. І хоч більшість з цих методів давала можливість викликати тічку, частота появи серйозних побічних ефектів не дозволяє їх використанню у ветеринарній практиці [14, 129, 131]. Наприклад, при застосовуванні гонадотропів, після індукції еструсу були описані такі ускладнення, як високі концентрації естрогенів

[131], низькі концентрації прогестерону [132] або надмірні концентрації прогестерону на початку циклу [130]. Також при довготривалому застосування каберголіну, хоч і можна отримати тічку без будь-яких побічних ефектів, спостерігався широкий діапазон дії та варіації інтервалу від початку його застосування до овуляції, що обмежує його використання [14]. Деякі з цих методів є занадто дорогими, трудомісткими чи неефективними, або навіть шкідливим та непридатними для використання в практиці ветеринарного лікаря. Одним з таких прикладів є використання препарату діетилстилбестрол, застосування якого вже давно вважається шкідливим та збільшує ризик появи піометри у сук [164, 219]. Синхронізувати статевий цикл у сук важко, і, незважаючи на численні публікації, досі не повністю розроблено якісні схеми індукції еструсу. Ця складність також пов'язана з тим, що сука за своєю природою, на відміну від інших домашніх тварин, є моноестральною [14].

В Україні науковці займались вивченням статевого циклу та порушенням фертильності [7-12], але питання індукції еструсу у сук вивчене мало. Ковальов П. В. (2004) у своїй праці для корекції статевого циклу та розвитку вагітності вивчав застосування різних комбінацій хорулону, фолігону, фолікуліну, тканинного препарату і вітаміну Е [6]. Щодо використання імплантів з діючою речовиною деслорелін для індукції еструсу у сук - на сьогодні це питання в Україні не вивчалось.

Одним із способів фармакологічної стимуляції статевого циклу у суки є використання аналогів ГнРГ (гонадотропін-релізінг гормону), таких як лупрелід, бусерелін (Рецептал), деслорелін (Овуплант 2,1 мг, Супрелорін 4,7 мг). Дія цих препаратів полягає у стимуляції гіпофіза та вироблення ним гонадотропних гормонів (ЛГ, ФСГ), які ініціюють початок статевого циклу. Імплант Супрелорін® (4,7 мг деслорелін) – це агоніст ГнРГ тривалої дії, який є його синтетичним аналогом. Першочерговим показанням для його застосування було пригнічення статевої функції у псів і тхорів на період не

менше 6-ти місяців. Дія його полягає в забезпеченні стійкого, поступового і постійного вивільнення діючої речовини, що призводить до регуляції гіпофізарних рецепторів ГнРГ та, як наслідок, їх інгібування та десенсибілізації, що призводить до пригнічення статевої функції [165, 172]. Але зазвичай підвищена доступність ГнРГ на початку своєї дії призводить до секреції гонадотропінів (ЛГ, ФСГ), які в свою чергу впливають на гонади і запускають механізм тічки [172]. Цей ефект відомий як «ефект спалаху», що призводить до індукції еструсу майже у 100% дорослих сук та почав успішно застосовуватись науковцями для індукції статевого циклу у них. [173,172, 184].

Поява на ветеринарному ринку агоністи ГнРГ тривалої дії у вигляді імплантів, таких як деслорелін, змінила підхід до питання індукції тічки у сук [143]. Деслорелін стимулює гіпофіз до вивільнення гонадотропних гормонів, що мають вплив на гонади і відповідають за початок статевого циклу. Застосування агоністів ГнРГ дає можливість впливати на найвищий рівень ініціації статевого циклу, що дозволяє отримати індукований статевий цикл, механізм дії якого найбільш наближений за своєю дією до природного статевого циклу. Дія на найвищий рівень гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної осі дозволяє уникнути прямого гормонального впливу на статеві залози, таким чином зменшуючи ризик небезпечних патологій у репродуктивній системі, таких як піометра або кісти яєчників [128, 219]. Разом з тим, на противагу використанню для індукції еструсу препаратів, які були зазначені вище та потребують постійного введення у вигляді ін'єкцій, застосування агоніста ГнРГ у вигляді імплантів, що розсмоктуються, дає змогу отримати поступове постійне вивільнення діючої речовини, що не допускає перенасичення організму статевими гормонами та дозволяє отримати овуляцію у відносно короткий термін від дня введення, що забезпечує достатню точність для прогнозування перебігу статевого циклу у суки після застосування цього препарату [206, 142].

Для стимуляції овуляції імплант Деслорелін в країнах Європи та інших країнах світу вже раніше застосовували такі науковці, як: Kutzler та ін. (2002); Volkmann та ін. (2006a); Kutzler та ін. (2009); Walter (2011) та Fontaine E. (2011); A von Heimendal (2012); Wolf T. (2012) [142, 164, 181, 206, 221, 222]. В Україні ще не має публікацій на цю тему, окрім наших власних. З літературних джерел відомо, що ключовим етапом у появі тічки та овуляції у сук є вибір часу імплантації. Автори статей зі схожими дослідженнями подають різні дані та не мають спільної думки з цього приводу. У наукових публікаціях Fontaine (2011), Walter (2011), A von Heimendal (2012), B. van Haafeten (1989) є повідомлення про введення імплантатів сукам в ранній та пізній анеструс [14, 159, 181, 221] і навіть у дієструс [142, 184, 206]. У своїх дослідженнях Kutzler та ін.(2002); Volkmann та ін. (2006a), використовуючи 2,1-мг деслорелін імплант Овуплант® та використовуючи імплант 4,7 мг деслорелін Супрелорін® (Kutzler та ін. 2009), повідомляють про різницю в появі овуляції залежно від часу, коли їм вводили імплант, а саме в період дієструс або анеструс з кращими результатами на користь анеструсу [142 175, 206]. У дослідженнях Walter B. (2011) та Fontaine E. (2011) із застосуванням імпланта Супрелорін® (4,7 мг деслорелін) автори відмічали, що овуляція відбувається швидше та з меншою варіабельністю у індукованих сук порівняно з сукам з спонтанним статевим циклом [14, 181, 223]. У різних авторів є дані, що хоч тічка відмічалась з високою частотою у сук, яким застосовували імплант для стимуляції еструсу, сама ж овуляція при цьому відбувалась рідше. Тобто не кожна індукована тічка закінчується овуляцією. Fontaine E. та ін. (2011) спостерігали різний відсоток овуляції в залежності від фази циклу, в якій був введений імплант [181]. Romagnoli S. (2010) зазначає, що є принципова відмінність для часу введення імпланта залежно від мети, з якою його застосовують. Так для тимчасового придушення статевої функції у сук

імплант Супрелорін рекомендовано вводити під час дієструсу, а для індукції еструсу - в період не раніше 3-5 місяців від початку анеструсу [224].

Другим не менш важливим моментом у появі овуляції у сук при застосуванні імпланта Супрелорін є час його видалення. У своїх дослідженнях Kutzler M. (2002, 2009) [175, 206], а також Walter B. (2011) підкреслили важливість видалення підшкірного імпланта на початку піку ЛГ, щоб уникнути подальшої недостатності жовтого тіла [14]. A Fontaine E. та ін.(2011) [181], A von Heimendahl та ін. (2012) [221] повідомляють, що видалення імпланта навіть після овуляції дає можливість отримати вагітність.

Незважаючи на численні публікації, використання імпланта, що вивільняє деслорелін, для індукції тічки у сук все ще досліджується. Часова залежність змін в статевих органах у сук після встановлення та видалення імплантату поки що не встановлена. Дані щодо використання імплантатів дуже відрізняються, і існує багато розбіжностей щодо того, коли найкраще вводити імплантат, а коли його бажано видаляти, щоб досягнути овуляції та вагітності. Тому ми вирішили порівняти різні схеми застосування імпланта Супрелорін та перевірити, яка з них буде ефективною для відновлення статевої функції у сук та дозволить отримати овуляцію та вагітність.

Як вже згадувалось раніше, ключовим моментом в появі тічки та овуляції при застосуванні імпланта Супрелорін є час його введення. Так як автори статей з цього приводу подають різні дані, ми вирішили порівняти ефективність індукції тічки залежно від моменту введення імпланта. Тому було створено дослідні групи сук, які перебували на момент введення імпланта в ранньому та пізньому анеструсі. У своїх дослідженнях Fontaine та ін. (2011), B.van Naafeten (1989) [159, 181] встановили, що відсоток статевих циклів, які закінчилися овуляцією та вагітністю, коли імплантат вводили у пізній анеструс, був вищим ніж при введенні імпланта в ранній анеструс. У дослідженні von Heimendahl та ін. (2012) імплант вводили сукам

лише в пізній анеструс, і автори повідомляють, що у всіх дослідних сук відбулася овуляція [221]. У наших дослідженнях ми спостерігали 100% ефективність індукції тічки та овуляції незалежно від часу введення імпланту в групах Д1, Д2, Д3 (з раннім та пізнім анеструсом), однак було помічено, що в групі, якій вводили імплант в ранній анеструс (група Д1), статевий цикл розвивався повільніше, ніж у сук з груп з пізнім анеструсом та ніж у контрольній групі у сук із спонтанною тічкою. У сук з групи Д1 спостерігали гормональний дисбаланс, та жодна з тих, яких крили в цій групі, не завагітніла.

Наступним важливим етапом при індукції еструсу та отриманні овуляції за допомогою імпланту деслорелін є момент його видалення. В наших дослідженнях суки було поділено на дослідні групи, в яких імплант видаляли, коли було встановлено підвищення рівня прогестерону більше 3 нг/мл (пік ЛГ) – групи Д1, Д2, Д3, та групу Д4, в якій видаляли імплант при рівні прогестерону більше 5 нг/мл (кілька діб пізніше піку ЛГ).

Так в групі Д1 (Супрелорін, анеструс ранній, $\uparrow P_4 > 3 \text{ нг/мл}$) пік ЛГ в середньому наступив на $12 \pm 1,1$ добу, і тоді ж видалили імплант (в середині групи - у 3 з 7 сук на 11-ту добу, у 3 з 7 на 12-ту і в 1 з 7 на 14-ту добу від введення імпланту). В групах Д2 (Супрелорін, анеструс пізній, $\uparrow P_4 > 3 \text{ нг/мл}$) і Д3 (Супрелорін+Рецептал, анеструс пізній $\uparrow P_4 > 3 \text{ нг/мл}$) момент підвищення P_4 , а отже пік ЛГ наступив аналогічно, що припадало в середньому на $9,5 \pm 0,5$ добу, в Д2 – у 4-х сук на 9-ту добу і у 3-х на 10-ту, в групі Д3 цей момент припадав у 3-х сук - на 9-ту добу і у 3-х на 10-ту. В групі Д4 (Супрелорін, анеструс пізній, $\uparrow P_4 > 5 \text{ нг/мл}$), у якій імплант видаляли пізніше піку ЛГ при рівні $P_4 > 5 \text{ нг/мл}$ момент реімплантації наступив в середньому на $11 \pm 1,1$ добу, у 3-х сук на 11-ту і у 2-х на 12-ту добу від введення імпланту.

Після видаленні імпланту при рівні прогестерону більше 5 нг/мл (група Д4) статевий цикл розвивався нетипово. На початку експерименту в цій групі спостерігали властивий ріст рівня естрогенів і прогестерону для

фізіологічного статевого циклу, а згодом, після піку E_2 , встановили затримку концентрації естрогенів на високому рівні упродовж кількох діб, і лише після цього відмітили зниження їх концентрації (див Рис. 3.9.1; Рис. 3.9.4). Підвищення рівня P_4 спостерігали до моменту піку ЛГ, аналогічно як в контрольній, так і в інших дослідних групах. Але потрібно відмітити, що після того, як імплант залишили на декілька діб і видалили його дещо пізніше при рівні $P_4 > 5$ нг/мл, в групі Д4 не спостерігали подальше підвищення рівня прогестерону.

Схожу картину з рівнем естрогенів спостерігали у групі Д1, але в цій групі хвилеподібне збільшення концентрації естрогенів і їх затримку на високому рівні спостерігали перед піком E_2 , на відміну від групи Д4, у якій затримка рівня естрогенів спостерігалась після піку E_2 . В групах Д2, Д3 і в контрольній пік E_2 був за 1-2 доби до піку ЛГ, як і в Д4, а в Д1 - за 1-ну добу, в день піку ЛГ або навіть наступної доби після піку ЛГ. При фізіологічному статевому циклі максимальна концентрація естрогенів повинна спостерігатись за 2 - 3 доби до підвищення концентрації прогестерону і піку ЛГ, після цього крива концентрації різко знижується до вихідних значень під час фази тічки [208].

В групі Д1 естрадіол підвищувався нерівномірно і залишався високим протягом певного часу. На відміну від інших груп, він почав знижуватися ще до того, як фолікули почали збільшуватися в розмірах (фолікули розвивалися дуже повільно, і їх великі розміри візуалізувалися до 21 доби). Це дозволяє припустити, що в групі Д1 була неадекватна реакція гонад та неготовність організму до стимуляції гонадотропінами, оскільки індукція в цій групі відбувалася в ранній фазі анеструс. А в групі Д4 реакція організму була природньою лише до моменту піку ЛГ, тобто до часу того, коли у всіх інших групах видаляли імплант. Далі статевий цикл перестав розвиватись. Оскільки за призначенням імплант Супрелорін через надмірне накопичення ГнРГ та перенасичення організму викликає пригнічення статевої функції, це

може призводити до пригнічення подальшого розвитку статевого циклу та неможливості отримати овуляцію, коли імплант видаляють надто пізно.

У своїх дослідженнях M. Kutzler (2002, 2009) [175, 206], а також Walter (2011) підкреслили важливість видалення імпланта на початку піку ЛГ, щоб уникнути подальшої недостатності жовтого тіла [14, 142, 207]. M. Kutzler та ін. (2002, 2009) окремо відзначила значно вищу частоту абортів, коли імплантат не був видалений вчасно, тобто на початку піку ЛГ [119, 191]. Потрібно відмітити, що в групі Д4, де статевий цикл був ановуляторним, найвище середнє значення P_4 в цій групі становило $5,0 \pm 1,0$ нг/мл, та у зв'язку з відсутністю овуляції та формування жовтого тіла, про функціональну недостатність жовтого тіла говорити не можна. На відміну від наших результатів, такі автори, як Fontaine та ін. (2011) [181] та A von Heimendahl та ін. (2012)[221] повідомляють, що видалення імпланта навіть після овуляції дає можливість отримати вагітність. Ці дані не збігаються з нашими результатами, оскільки в нашій дослідній групі Д4, у сук якої видаляли імплант декілька діб пізніше піку ЛГ, динаміка статевого циклу припинилася і овуляція не відбулась у жодної з сук. Разом з тим, за результатами цитологічного дослідження вагінальних мазків, в 4 з 5 сук стадії еструс не спостерігали та овуляція не була підтверджена. Прийнято вважати, що овуляція відбувається при наявності близько 60-80% кератинізованих поверхневих без'ядерних клітин [30, 75]. Також рівень прогестерону залишився на низькому рівні, що дає підставу стверджувати, що овуляція таки не відбулася, оскільки, як зазначає Bruger, рівень P_4 , при якому відмічають овуляцію, повинен бути не менше 5-10 нг/мл [191], а з практики відомо, що овуляція відбувається в середньому при $P_4=8,0$ нг/мл та діагностується комплексно разом з проведенням вагінальної цитології та УЗД яєчників.

У нашій дослідній групі, якій вводили імплант Супрелорін у ранній анеструс (Д1), найвища концентрація естрогенів спостерігалася протягом

кількох діб, але потрібно відмітити, що замість зниження, яке характерне для прояву фізіологічного статевого циклу, вони залишилися на високому рівні ще кілька діб, і їх пік зафіксували лише за одну добу до піку ЛГ (див Рис. 3.9.1.). Крім того, у сук цієї групи рівень естрогенів зростав повільніше та нерівномірно порівняно з іншими групами. Відмічено їх хвилеподібний ріст, невластивий для фізіологічного статевого циклу. При дослідженні концентрації прогестерону в сироватці крові дослідних сук, ріст його та пік ЛГ у групі Д1 з раннім анеструсом відбувся пізніше, зі статистичною відмінністю від груп з пізнім анеструсом Д2, Д3, Д4, а також порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Такий гормональний дисбаланс може свідчити про те, що чутливість гіпофіза до ГнРГ спостерігається з прогресуванням анеструсу [159], а так як суки з групи Д1 отримували імплант Супрелорін для індукції еструсу в ранній анеструс, їх організм ще не повністю пройшов етапи відновлення після попередньої тічки та не пристосований до фізіологічної відповіді на стимуляцію ГнРГ. Також слід відмітити, що в групі Д1 гіпоехогенні структури діаметром до 1 см ($7,9 \pm 2,6$ см) зберігалися до 21-ї доби після введення імпланта, що може свідчити про розвиток фолікулярних кіст у яєчнику. У своїх дослідженнях Fontaine (2015), Borges (2015) також вказують на появу кіст у деяких сук із груп стимульованих у ранній анеструс [181, 225]. В групі Д1 було встановлено, що рівень прогестерону зростав, що дозволяє припустити, що овуляція таки відбулася, розмір фолікулів у цих сук був великим, і вони фіксувалися до 21-ї доби дослідження, в той час, як у сук з інших дослідних груп фолікули не виявляли вже після 16-ї доби. Крім того, жодна з покритих сук не завагітніла. Пізніша поява кров'янистих виділень та фаз проеструс і еструс при цитологічному дослідженні, а також нетипова зміна рівнів статевих гормонів (E_2 , P_4) дозволяють припустити, що ендометрій матки недостатньо регенерував за відносно короткий період анеструсу, що у свою чергу сповільнило динаміку фізіологічного перебігу статевого циклу та не дало

можливості отримати вагітність у сук [19, 30, 157]. Це дає підставу вважати, що введення імпланта в фазу раннього анеструсу може сприяти розвитку гормональної дисгармонії під час статевого циклу, що дозволяє не рекомендувати його застосування у цю стадію.

Лише у групах Д2 (Супрелорін) і Д3 (Супрелорін+Рецептал), у яких сукам вводили імплант Супрелорін в пізній анеструс і видаляли його при рівні прогестерону більше 3 нг/мл, спостерігали тенденцію перебігу статевого циклу, як у контрольній групі. Але він мав дещо швидший перебіг, ніж у сук з контрольної групи та характеризувався більшою передбачуваністю. Наприклад, у всіх сук з цих двох дослідних груп пік ЛГ наступив на 9-ту та 10-ту добу від моменту введення імпланта, в той час, як у тварин контрольній групі пік ЛГ спостерігали зі значним діапазоном від 9-ї до 14-ї доби від початку тічки. Подібні ефекти спостерігали Walter та ін.(2011), Fontaine та ін. (2011) [14, 181]. У свої дослідженнях вони також зазначають, що при застосуванні Деслореліну відмічається швидкий прояв еструсу та швидший перебіг індукованого статевого циклу, порівняно з спонтанною тічкою. Таким чином можна стверджувати, що видалення імпланта в межах піку ЛГ при рівні прогестерону вище 3 нг/мл забезпечує овуляторний цикл, а також, ймовірно, знижує ризик появи функціональної недостатності жовтого тіла [175, 206, 207].

У наших дослідженнях лише в групах (Д1, Д2, Д3), у яких імплант Супрелорін видаляли при збільшенні прогестерону $\uparrow 3$ нг/мл (середнє $3,4 \pm 0,2$ у всіх групах разом), вдалось досягнути овуляції. Але в групі Д1 (Супрелорін, ранній анеструс, $\uparrow P_4 > 3$ нг/мл) вона хоч і відбулася, вагітності все ж не вдалось досягнути. Окрім того, як зазначалось вище, в цій групі статевий цикл розвивався значно повільніше від фізіологічного перебігу статевого циклу з групи контрольної, з помітним гормональним дисбалансом рівня естрогенів та наявністю анехогенних утворень $7,9 \pm 2,6$ мм ($p < 0,05$) до 21 доби. У тварин цієї групи, імовірно, причиною таких

проявів була рання фаза анеструс. В той час, як в групі Д4 (Супрелорін, анеструс пізній, $\uparrow P_4 > 5 \text{ нг/мл}$) статевий цикл перервався, овуляція не відбулась через пізніше видалення імплантанта. Знаючи механізм дії імплантанта Супрелорін, першочергове призначення якого є пригнічення статевої функції, можна припустити, що при несвоєчасному видаленні імплантанта відбувається надмірне накопичення ГнРГ в організмі, що перешкоджає появі овуляції. Отримані нами результати не співпадають з даними Fontaine E. та ін. (2011) [181], A von Heimendahl та ін. (2012) [221], які у своїх дослідженнях видаляли імплант під час овуляції, і зазначають, що це не впливало на динаміку статевого циклу.

У дослідженнях, описаних Borges та ін. (2015) [225], відсоток овуляцій та вагітності у сук був значно вищим при спонтанній тічці, ніж при індукованій тічці. При проведенні наших досліджень не всі власники дали згоду на спаровування своїх собак в ході експерименту. Тому ми робили висновки з тих даних, які мали. Група Д2 – 3 з 3 сук, яких крили, завагітніли та народили здоровий приплід, група Д3 – 2 з 3 сук, група контрольна - 4 з 6 сук. У групі тварин Д1, якій вводили імплант в ранній анеструс, жодна з сук, які були злучені з псом, не завагітніла (0/3). У групі Д4 жодна з сук не була злучена через відсутність фізіологічного перебігу статевого циклу у сук з цієї групи. Усі вагітні собаки народили здоровий приплід. Результати, які ми отримали, не збігаються з дослідженнями автора Borges та ін. (2015). Оскільки в наших дослідних групах, яким вводили імплант в пізній анеструс, кількість сук, які завагітніли після спаровування з псом, більша, ніж у контрольній групі.

Окрім того, ми встановили, що перебіг циклу, індукованого за допомогою імплантанта Супрелорін, був більш передбачуваним порівняно з циклом, що розвивався спонтанно. В контрольній групі у сук зі спонтанною тічкою спостерігали значну різницю у розвитку індивідуальних змін під час перебігу статевого циклу, таких як поява піку ЛГ та овуляції (вагінальна

цитологія, рівень гормонів, УЗД). Однак у порівнянні між перебігом статевого циклу у сук, стимульованих імплантом у ранній та пізній анеструс, усі автори вказують на значно вищий відсоток овуляції у сук із груп із пізнім анеструсом порівняно з раннім [181, 225]. Walter та ін. (2011) і Fontaine, Mir та ін (2011) у своїх дослідженнях, використовуючи імплант Супрелорін® 4,7мг деслорелін в анеструс пізній і ранній, спостерігали овуляцію швидше і з меншими варіаціями, ніж при спонтанному статевому циклі [14, 181].

Щодо проявів ознак тічки та появи цитологічної картини вагінальних мазків з піхви, характерної для стадії статевого циклу проєструс, у наших дослідженнях після введення імпланта Супрелорін у групах сук з пізнім анеструсом вже на третю добу спостерігали появу кров'янистих виділень та появу фази проєструс статевого циклу при цитологічному дослідженні вагінальних мазків епітелію піхви. Між цими групами (Д2, Д3, Д4) проєструс наступив схоже у всіх трьох групах, і поява його припадала в середньому на $3,7 \pm 0,1$ доби від введення імпланта. У дослідженнях інших авторів, враховуючи сук у пізньому анеструсі, автори зазначають, що ознаки тічки і при вагінальному дослідженні стадію проєструс відмічали дещо пізніше, а саме: на $4,3 \pm 1,4$ добу, як вказує Fontaine та ін. (2011) [181]; на 4,5 добу – у дослідженнях von Heimendahl (2012) [221]; на 5-ту добу – у дослідженнях Wolf та ін. (2012) [222]; на $5,6 \pm 0,6$ - Walter та ін. (2011) [14]; та на 6-ту добу – як зазначає Kutzler (2002) [175].

У групі Д1, в якій імплант вводили в анеструс ранній симптоми проєструсу (кров'яністі виділення, зміни вагінальної цитології епітелію піхви) спостерігалися пізніше порівняно з іншими дослідними групами, яким застосовували Супрелорін - на $5,6 \pm 1,5$ добу в групі Д1, в той час, як в групах Д2, Д3, Д4 з пізнім анеструсом на $3,6 \pm 0,9$, $3,7 \pm 0,9$ і $3,8 \pm 1$ добу відповідно. Згідно досліджень вагінальних мазків еструс в групі Д1, якій вводили імплант в ранній анеструс, теж наступив найпізніше - на $13,4 \pm 1$

добу порівняно з контрольною групою, в якій еструс спостерігали на $11,3 \pm 1,6$ добу. Найшвидше при дослідженні вагінальних мазків еструс спостерігали в групах Д2 і Д3, яким застосовували імплант Супрелорін в анеструс пізній, – на $10,3 \pm 1$ доби в Д2 і на $10,3 \pm 1,4$ в Д3. В групі Д4 еструс взагалі не наступив ($p < 0,01$), що ще раз підтверджує недоцільність видалення імпланта пізніше піку ЛГ.

За результатами ультразвукових досліджень, було встановлено, що після застосування імпланта Супрелорін в пізній анеструс спостерігали ріст та розвиток фолікулів у яєчниках вже на 3-тю добу від моменту введення імпланта, так само як у контрольній групі. У сук з групи Д1, яким вводили імплант в ранній анеструс, ріст фолікулів почали відмічати пізніше, починаючи з 5-ї доби від введення імпланта. У всіх сук з дослідних груп наявність фолікулів на яєчниках зафіксували на 7-му добу, в той час, як в контрольній групі лише на 9-ту. Це свідчить про те, що при імплант Супрелорін пришвидшує появу фолікулів та їх ріст та розвиток. Встановлено, що починаючи з 9-ї доби відмічали статистичну різницю між розмірами фолікулів у контрольній групі тварин ($3,8 \pm 0,5$ мм) і групі Д2 ($5,2 \pm 0,5$ мм), сукам яким застосовували імплант Супрелорін в пізньому анеструсі. А також було виявлено, що фолікули у групах, які отримували імплант Супрелорін, були значно більшими за розмірами порівняно з контрольною групою. Окрім групи Д4, у тварин, у яких фолікули на початковому етапі розвивались так само, як у сук інших дослідних груп, а потім перестали розвиватись та залишились на одному рівні до кінця дослідження. Можна припустити, що несвоєчасне видалення імпланта пригнічує подальший розвиток фолікулів, як і весь статевий цикл. Натомість в групі Д1 зберігалась тенденція до затримки росту та розвитку їх. Фолікули у тварин цієї групи виявляли пізніше, ніж у всіх інших групах, ріст та їх розвиток відбувались повільно. Характерною ознакою було те, що у сук цієї групи спостерігали наявність анехогенних структур до 1-го см до 21-ї доби.

У групах, які отримали Супрелорін в пізньому анаєструсі (Д2, Д3), відмічали швидку появу фолікулів, їх більші розміри, а також спостерігали їх швидку атрезію. Так, починаючи вже з 14-ї доби від моменту введення імпланта у деяких сук з групи Д3 (4/6) не візуалізували фолікули у яєчниках, а на їх місці були помітні гіпоехогенні структури з нерівними краями, що свідчить про те, що відбулася овуляція цих фолікулів. В групі Д2 овуляцію спостерігали на 16-ту добу та у всіх сук контрольної групи встановили феномен овуляції до 21-ї доби

Були проведені дослідження щодо застосування імпланта Супрелорін у сільськогосподарських тварин, встановлено його вплив на величину фолікулів та на пришвидшення їх овуляції [220]. Потрібно відмітити, що ми не опиралися у своїй роботі на дані результатів застосування імпланта у корів, але отримані дані наших досліджень вказують, що фолікули у яєчниках сук, які отримували імплант Супрелорін, значно більші за розмірами, а також овуляція у них відбулась швидше за контрольну групу.

На сьогодні дуже мало інформації про застосування у сук препарату Рецептал з діючою речовиною Бусерелін. Опубліковані лише дослідження щодо використання його для індукції тічки у сук на основі змін вагінальної цитології [218]. У літературі немає даних про вплив цієї речовини на структури яєчників і час овуляції. У великої рогатої худоби повідомлялося про збільшення кількості овуляторних фолікулів [220], а також про синхронізацію та прискорення овуляції при введенні Бусереліну у свиней [217]. Відомо, що Бусерелін так само, як і Деслорелін, є агоністом ГнРГ. Тому ми вирішили створити групу тварин, в якій для індукції еструсу поєднали Деслорелін з додаванням Бусереліну (Рецептал®) одразу після видалення імпланта. Ми хотіли перевірити теорію, а саме: чи введення Бусереліну 2 р/д. протягом 2 днів, починаючи з дня видалення імпланта Супрелоріну, прискорює настання овуляції. Результати наших досліджень показали, що овуляція в групі Д3, якій застосовували імплант Супрелорін у

комбінації з препаратом Рецептал, наступила в той самий час, як в групі Д2, яка отримувала лише імплант Супрелорін, як і в контрольній групі. Час овуляції у цих трьох групах припадав на другу добу після піку ЛГ. Це можна підтвердити, спираючись на рівень прогестерону, який на другий день від піку ЛГ у контрольній групі становив $7,9 \pm 1,5$ нг/мл, що відрізнялось статистично від груп Д1 і Д4 ($p < 0,05$), а також у групах Д2 - $7,1 \pm 1,2$ нг/мл, Д3 - $7,2 \pm 1,6$ нг/мл. Наша гіпотеза не була підтверджена цим дослідженням, і препарат Рецептал не мав суттєвого впливу на перебіг статевого циклу і на пришвидшення овуляції. Однак фолікули, видимі на ультразвуковому зображенні, були більшими $6,6 \pm 0,3$ мм порівняно з групою контрольною $4,2 \pm 0,8$ мм ($p < 0,01$) та було помітно, що вони були більшими, ніж в групі Д2 $5,54 \pm 0,4$ мм, проте статистичної різниці між групою Д3 і Д2 не було встановлено (див Табл 3.7.). Але фолікули в групі Д2 також були більшими, ніж в групі контрольній - $5,8 \pm 0,3$ мм і $3,9 \pm 0,7$ мм, відповідно, ($p > 0,05$). Окрім того, кількісно фолікули в групі Д3 не відрізнялись від інших груп. У двох із шістьох сук з групи Д3 фолікули піддалися атрезії на 14-ту добу. З цього дослідження можна зробити висновок, що застосування сукам імпланта Супрелорін у комплексі з препаратом Рецептал хоч і збільшував величину фолікулів, але суттєво не впливав на перебіг статевого циклу та настання овуляції. Отже схема із застосуванням імпланта Супрелорін в комбінації з препаратом Рецептал порівняно з використанням лише імпланта Супрелорін є неефективною.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше запропоновано вирішення проблеми щодо застосування імпланта Супрелорін (4,7 мг деслорелін) для відновлення репродуктивної функції у сук. На підставі отриманих результатів щодо змін цитологічної картини клітин ендотелію слизової оболонки піхви, гормонального профілю, структурного стану яєчників, запропоновано оптимальну схему застосування імпланта. Встановлено оптимальний час введення Супрелоріну та його вилучення для отримання овуляції та вагітності.

1. Згідно проведеного аналізу даних клінік міста Львова встановлено, що за період з 2017 по 2021 рік спостерігалась тенденція до збільшення випадків порушення репродуктивної функції у сук, що становило від 10% до 30% всієї незаразної патології. Встановлено, що найчастіше її діагностували у віці від 2-х до 6-ти років, що становить 60% від акушерської патології. Неплідність пов'язана з порушенням статевого циклу становила 35%, хвороби матки, яєчників та інфекційні захворювання 30%, неплідність при фізіологічному перебігу статевого циклу (порушення правил осіменіння, стрес, загибель ембріонів, несправжня вагітність) – 20% та неможливість отримати вагітність через андрологічні патології у пса – 15%

2. На основі клінічних, цитологічних досліджень епітеліальних клітин піхви встановлено, що після застосування імпланта Супрелорін тічка проявилася у 100% тварин. Фази проєструс та еструс наступили найшвидше у тварин, яким вводили імплант на стадії пізній анеструс. Проєструс спостерігали на $3,6 \pm 0,9$ добу в групі Д2, на $3,7 \pm 0,9$ добу в Д3 і на $3,8 \pm 1$ добу – в Д4, в групі тварин Д1 (анеструс ранній) – лише на $5,6 \pm 1,5$ добу ($p < 0,05$). Еструс виявили у тварин контрольної групи на $11,3 \pm 1,6$ добу від початку ознак тічки (з 9-ї по 14-ту добу), в групах Д2 і Д3 на $10,3 \pm 1$ добу від введення імпланта (з 9-ї по 12-ту добу), в групі Д1 на $13,4 \pm 1$ добу від (з 12-ї по 14-ту добу) відповідно.

У сук групи Д4 цитологічна картина вагінального мазка була характерна для фази проєструс та фіксувалася до 12 доби, поверхневих без'ядерних клітин типових для стадії еструс не виявлено, що дає підставу стверджувати, що дана фаза не наступила. ($p < 0,01$).

3. Після застосування імпланта Супрелорін сукам в групах Д2, Д3, Д4 (пізній анеструс) ріст 17- β естрадіолу був подібним між групами, співпадав з контрольною групою, але мав дещо швидший перебіг. Пік Е2 у сук з контрольної групи спостерігали на $8 \pm 1,0$ добу, в групах Д2, Д3, Д4 - на $7 \pm 1,0$ добу від моменту введення імпланта і в групі Д1 (ранній анеструс) лише на $11 \pm 1,0$ добу, ($p < 0,05$). В групі Д1 відмічали повільний хвилеподібний ріст естрогенів і затримання на високому рівні до їх піку. В групі тварин Д4, яким видаляли імплант при $P_4 > 5$ нг/мл, встановили затримку концентрації естрогенів на високому рівні після їх піку.

4. Виявлено, що у тварин з групи Д2, Д3, Д4 збільшення рівня прогестерону більше 3 нг/мл та відповідно пік ЛГ припадав на $9 \pm 1,1$ добу (з 9 по 11-ту), у дослідній групі тварин Д1 – на $12 \pm 1,1$ добу (з 11 по 14-ту) від часу застосування імпланта ($p < 0,05$), в контрольній групі на $10 \pm 2,1$ добу (з 8 по 14-ту) відповідно.

5. Встановлено, що феномен овуляції виявляли на другу добу статевого циклу в контрольній групі і аналогічно в групах Д2 і Д3, при рівні $P_4 = 7,9 \pm 1,5$ нг/мл в групі К, при $7,1 \pm 1,2$ нг/мл- в групі Д2 та при $7,2 \pm 1,6$ нг/мл в групі Д3. В групі Д1 овуляція наступила на третю добу від піку ЛГ при $P_4 = 8,6 \pm 2,7$ нг/мл ($p < 0,05$). В групі Д4 овуляція не наступила і максимальний рівень P_4 становив $5,0 \pm 1,0$ нг/мл ($p < 0,01$).

6. Ультразвукове дослідження дозволило встановити, що величина фолікулів яєчників у дослідних групах була значно більшою, ніж в контрольній групі: $3,9 \pm 0,7$ мм – в групі К; $5,8 \pm 0,3$ мм - в Д2; $6,9 \pm 1,0$ мм - в Д3. У тварин дослідної групи Д1 фолікули розвивались повільно, але

візалізувалися до 21 доби дослідження $7,9 \pm 2,6$ мм ($p < 0,05$). У сук дослідної групи Д4 виявили затримку росту та розвитку фолікулів на одному рівні.

7. Встановлено, що застосування імпланта Супрелорін в комбінації з препаратом Рецептал (бусерелін) не впливає на перебіг статевих циклу, час овуляції та на кількість отриманого приплоду. В цій групі виявили найбільші за розмірами фолікули $6,9 \pm 1,0$ мм ($p < 0,05$), та у 2 з 6 сук вони овулювали найшвидше з усіх дослідних груп - на 14 добу від введення імпланта.

8. З'ясовано, що при застосуванні імпланта Супрелорін в групі Д1 динаміка статевих циклу розвивалася з затримкою порівняно з фізіологічним його перебігом, виявлено гормональний дисбаланс. Встановлено хвилеподібний ріст рівня 17- β естрадіолу, кількадечну затримку його на високому рівні до його пікового значення $65,1 \pm 13,1$ ($p < 0,05$), за одну добу до піку ЛГ, що відрізнялося від контрольної групи ($p < 0,05$).

9. В групах Д2 і Д3 статевий цикл проходив аналогічно, як в контрольній групі, але з дещо швидшою динамікою. Рівень прогестерону > 3 нг/мл, а отже пік ЛГ наступив швидше, ніж в контрольній групі, та з меншими варіаціями між окремими суками (з 8 по 14 добу в групі К, з 9 по 11 добу в групах Д2, Д3). Овуляцію у тварин з цих груп виявили як в контрольній групі. Суки з перелічених дослідних груп після спарювання завагітніли та народили здоровий приплід.

10. При видаленні імпланта за рівня прогестерону більше 5,0 нг/мл (група Д3) приблизно на $3 \pm 1,1$ добу після піку ЛГ статевий цикл перервався, еструс та овуляцію не спостерігали. Встановили кількадечну затримку естрогенів на високому рівні після їх піку, збільшення концентрації прогестерону припинилось з максимальним рівнем $5,0 \pm 1,0$ нг/мл ($p < 0,01$). Встановили затримку росту і розвитку фолікулів на одному рівні до 21 доби ($3,9 \pm 0,5$ мм). Сукупність цих даних, дає підстави стверджувати про

гормональний дисбаланс статевого циклу та функціональну недостатність жовтого тіла.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для відновлення репродуктивної функції та індукції еструсу у сук рекомендується застосовувати імплант Супрелорін 4,7 мг Деслорелін в стадію пізній анеструс (>160 діб від ознак останньої тічки) та видаляти його при рівні прогестерону 3 нг/мл на початку піку ЛГ.
2. Статевий цикл, індукований за допомогою імпланта Супрелорін, є більш передбачуваним та дає можливість прогнозувати його перебіг та планування в'язки сук.
3. Теоретичні дані роботи можуть бути використані при вивченні курсів «Ветеринарне акушерство», «Репродуктологія дрібних тварин» та «Ветеринарна гінекологія» здобувачів вищої освіти факультетів ветеринарної медицини, які навчаються за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» освітнього ступеня «Магістр», та слухачами післядипломної освіти.

Список використаної літератури

1. Була, Л. В. (2009). *Оцінка службових собак, які дресируються по пошуку наркотичних засобів та зброї* (Doctoral dissertation, спец. 06.02. 01 «Розведення та селекція тварин»/Людмила Валер'янівна Була.–Чубинське: УААН, 2009.–171 с).
2. Kutzler, M. A. (2018). Estrous cycle manipulation in dogs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 48(4), 581-594.
3. Concannon, P. W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 200-210.
4. Heape, W. (1900) The "sexual season" of mammals and the relation of the l'pro-oestrustt'o menstruation. *Quart. J. Micr. Sci.*44, Part I, 1-70.
5. Concannon, P. W., McCann, J. P., & Temple, M. (1989). Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of reproduction and fertility*. Supplement, 39, 3-25.
6. Ковальов, П. В., & Ковалев, П. В. (2004). Корекція статевого циклу та розвиток вагітності у сук., <http://ir.polissiauniver.edu.ua/handle/123456789/3903>
7. Біленька, А. О., Власенко, С. А. (2021). Порушення фертильності у сук (поширеність і діагностика). Міжнар. наук.-практ. конф. магістрантів "Наукові пошуки молоді у ХХІ столітті. Актуальні проблеми ветеринарної медицини" (БНАУ, 18 листопада 2021 р.). - Біла Церква. С. 122-123.
8. Давиденко, Н. Г., Пономаренко, В. Г. (2013). Поширення репродуктивної патології у собак в умовах ветеринарної клініки «Хелс» м. Суми. Вісник Сумського національного аграрного університету, 2(32), с145-148.
9. Давиденко, Н. Г. (2014). Використання кольпоцитологічного методу дослідження при діагностиці причин неплідності у сук. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*, (1), 204-207.

10. Желавський М.М., Шунін І.М., Смоляк Д.В. (2017). Щодо вдосконалення цитологічного методу оцінювання клітинних факторів локального імунітету репродуктивних органів тварин // Збірник наукових праць міжнародної науково-практичної конференції «Аграрна наука та освіта Поділля». Ч. 1. Кам'янець-Подільський, 14-16 березня 2017 року, Подільський державний аграрно-технічний університет, 2017. С. 325-326. <http://188.190.33.56:7980/jspui/handle/123456789/2683>

11. Смоляк Д., Желавський М. (2019). Зміни цитологічного складу та стан локального імунітету репродуктивних органів собак в різні періоди естрального циклу. Збірник наукових праць міжнародної науково-практичної конференції «Аграрна наука та освіта в умовах Євроінтеграції». Ч. 1. Кам'янець-Подільський, 20-21 березня 2019 року, м. Кам'янець-Подільський, Подільський державний аграрно-технічний університет, 2019. С. 351-353.

12. Zhelavskyi M. M. (2022). Modern protocols of fertility control in cats and dogs. Сучасні аспекти лікування і профілактики хвороб тварин: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції 23-24 листопада 2022 року, м. Полтава. С. 30-32.

13. Kutzler, M. A. (2007). Estrus induction and synchronization in canids and felids. *Theriogenology*, 68(3), 354-374.

14. Walter, B., Otzdorff, C., Brugger, N., & Braun, J. (2011). Estrus induction in Beagle bitches with the GnRH-agonist implant containing 4.7 mg Deslorelin. *Theriogenology*, 75(6), 1125-1129.

15. Christie, D. W., & Bell, E. T. (1971). Some observations on the seasonal incidence and frequency of oestrus in breeding bitches in Britain. *Journal of Small Animal Practice*, 12(3), 159-167.

16. Concannon, P. W. (1989). Induction of fertile oestrus in anoestrous dogs by constant infusion of GnRH agonist. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 39, 149-160.

17. Johnston, S. D., Kustritz, M. V., & Olson, P. S. (2001). Canine and feline theriogenology. *W.B. Saunders Comp., Philadelphia*. 257-275.
18. Wilborn, R. R., & Maxwell, H. S. (2012). Clinical approaches to infertility in the bitch. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42(3), 457-468.
19. Simpson, G., England, G. C., & Harvey, M. (1998). BSAVA manual of small animal reproduction and neonatology. British Small Animal Veterinary Association.
20. Dubiel, A., Nizanski, W., Wasecki, A.(2000), Nieplodnosc suk, [w:] Rozród psów. Red. A. Dubiel, Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław. 165-172.
21. Hewitt, D., & England, G. (2000). Assessment of optimal mating time in the bitch. *In Practice*, 22(1), 24–33. doi:10.1136/inpract.22.1.24
22. England, G., & Russo, M. (2006). Conception problems in the bitch. *In Practice*, 28(10), 588–597. doi:10.1136/inpract.28.10.588
23. Noakes, D. E. (1980). Pathology of reproduction in the dog. In *9th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, 16th-20th June 1980. I. Plenary sessions*. (pp. 245-260).
24. BielaŁ, A., & Tischner, M. (1998). *Biotechnologia rozrodu zwierząt udomowionych*. Drukrol.
25. Marshall, F. H. A. and Jolly, W. A. (1906) Contributions to the physiology of mammalian reproduction, Part I. The oestrous cycle in the dog. *Philos. Trans. Roy. Sot. London, Ser. B*,198, 99-122.
26. Christiansen, I. J. (1990). Reproduction in small domestic animals. 9. Use of biotechnology for dogs and cats. *Dansk Veterinærtidsskrift*, 73(14), 745-749.
27. England, G. C. (1998). Rozród i położnictwo psów według Allena. SIMA WLW. 243 p.
28. Feldman E.C., Nelson R.W. (1996). Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. W.B. Saunders Comp., Philadelphia

29. Stabenfeld G.H., Shille V.M. (1977). Reproduction in the dog and cat, [w:] Reproduction in Domestic Animals. 3rd Ed., red. H.H.Cole & P.T. Cupps, Academic Press, New York, 499-527.
30. Nizański, W., Dzimira, S., & Twardoń, J. (2003). *Cytodiagnostyka w rozrodzie suk*. Wydaw. Akademii Rolniczej, 12-53.
31. Lindh, L., Kowalewski, M. P., Günzel-Apel, A. R., Goericke-Pesch, S., Myllys, V., Schuler, G., Dahlbom, M., Lindeberg, H., & Peltoniemi, O. A. T. (2023). Ovarian and uterine changes during the oestrous cycle in female dogs. Reproduction, fertility, and development, 35(4), 321–337. <https://doi.org/10.1071/RD22177>
32. Willson, C. J., Chandra, S. A., Kimbrough, C. L., & Jordan, H. L. (2012). Effect of estrous cycle phase on clinical pathology values in beagle dogs. Veterinary clinical pathology, 41(1), 71–76. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00392.x>
33. Kustritz, M. V. R. (2012). Managing the reproductive cycle in the bitch. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42(3), 423-437.
34. Phemister, R. D., Holst, P. A., Spano, J. S., & Lloyd Hopwood, M. (1973). Time of ovulation in the beagle bitch. *Biology of Reproduction*, 8(1), 74-82.
35. Wildt, D. E., Panko, W. B., Chakraborty, P. K., & Seager, S. W. J. (1979). Relationship of Serum Estrone, Estradiol-17 β and Progesterone to LH, Sexual Behavior and Time of Ovulation in the Bitch. *Biology of reproduction*, 20(3), 648-658.
36. Wildt, D. E., Chakraborty, P. K., Panko, W. B., & Seager, S. W. J. (1978). Relationship of reproductive behavior, serum luteinizing hormone and time of ovulation in the bitch. *Biology of Reproduction*, 18(4), 561-570.
37. Concannon, P., Hansel, W., & Mcentee, K. (1977). Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Biology of reproduction*, 17(4), 604-613.

38. Holst, P. A., & Phemister, R. D. (1975). Temporal sequence of events in the estrous cycle of the bitch. *American journal of veterinary research*, 36(5), 705-706.
39. Concannon, P. W., Hansel, W., & Visek, W. J. (1975). The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biology of reproduction*, 13(1), 112-121.
40. Hadley, J. C. (1975). Total unconjugated oestrogen and progesterone concentrations in peripheral blood during the oestrous cycle of the dog. *Reproduction*, 44(3), 445-451.
41. Schuler, G., Riesenbeck, A., & Hoffmann, B. (1996). Hormonalna regulacja cyklu u suki. *Nowa Weterynaria*, 1(spec.[pazdziernik'96]), 2-7.
42. Feldman, E. C., Nelson, R. W., Reusch, C., & Scott-Moncrieff, J. C. (2014). *Canine and feline endocrinology-e-book*. Elsevier health sciences.
43. Arthur, G. H., Noakes, D. E., & Pearson, H. (1982). *Veterinary reproduction and obstetrics* (No. Ed. 5). Ballière Tindall.
44. Parks, G. (2017). Canine & Feline Endocrinology. *The Canadian Veterinary Journal*, 58(8), 858.
45. Яблонський, В. А., & Хомин, С. П. (2006). *Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології.: Навчальний посібник для ВНЗ II-IV р. а.* Нова Книга. 35-84.
46. Jöchle, W., & Andersen, A. C. (1977). The estrous cycle in the dog: A review. *Theriogenology*, 7(3), 113–140. doi:10.1016/0093-691x(77)90240-0
47. England, G., Schäfer-Somi, S., Aurich J., Concannon, P. (Eds.), 2009. Canine and feline reproduction VI: reproductive biology and medicine of domestic and exotic Carnivores. ISSN 0936-6768. *Reprod. Domest. Anim.* 44 (Suppl. 2), 1–380
48. Concannon, P., Lasley, B., & Vanderlip, S. (1997). LH release, induction of oestrus and fertile ovulations in response to pulsatile administration

of GnRH to anoestrous dogs. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 51, 41-54.

49. Lindsay, F. E. F. (1983). The normal endoscopic appearance of the caudal reproductive tract of the cyclic and non-cyclic bitch: post-uterine endoscopy. *Journal of Small Animal Practice*, 24(1), 1-15.

50. England, G. C., Allen, W. E., & Porter, D. J. (1989). A comparison of radioimmunoassay with quantitative and qualitative enzyme-linked immunoassay for plasma progestogen detection in bitches. *The Veterinary record*, 125(5), 107-108.

51. Dubiel, A. (2000) Regulacja neurohormonalna cyklu płciowego u suk [w:] Rozród psow. Red. A. Dubiel, Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław, 174-180.

52. Andersen, A. C., & Simpson, M. E. (1973). *The ovary and reproductive cycle of the dog (Beagle)*. Geron-X, Inc. 290.

53. Reynaud, K., Fontbonne, A., Saint-Dizier, M., Thoumire, S., Marnier, C., Tahir, M., Chastant-Maillard, S. (2012). Folliculogenesis, Ovulation and Endocrine Control of Oocytes and Embryos in the Dog. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 66–69. doi:10.1111/rda.12055

54. Badinand, F., Fontbonne, A., Maurel, M. C., & Siliart, B. (1993). Fertilization time in the bitch in relation to plasma concentration of oestradiol, progesterone and luteinizing hormone and vaginal smears. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 47, 63-67.

55. Verstegen-Onclin, K., & Verstegen, J. (2008). Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Theriogenology*, 70(3), 291–299. doi:10.1016/j.theriogenology.200

56. De Gier, J., Kooistra, H. S., Djajadiningrat-Laanen, S. C., Dieleman, S. J., & Okkens, A. C. (2006). Differential regulation of the secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone around the time of ovulation in the bitch. *Theriogenology*, 66(6-7), 1419-1422.

57. Christie, D. W., & Bell, E. T. (1971). Endocrinology of the oestrous cycle in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 12(7), 383-389.

58. Бордюгов, К. С., Бордюгова, С. С., & Кот, В. С. (2013). Різні методи визначення овуляції у собак. Вісник Полтавської державної аграрної академії, (1), 116-119.

59. Zubair, M., Rehman, U., & Sajid, S. M. (2014). Causes of infertility in bitch. *Adv Anim Vet Sci*, 2(10), 565-573.

60. Arlt, S. (2018). Canine ovulation timing: A survey on methodology and an assessment on reliability of vaginal cytology. *Reproduction in domestic animals*, 53, 53-62.

61. Bouchard, G. F., Solorzano, N., Concannon, P. W., Youngquist, R. S., & Bierschwal, C. J. (1991). Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology, and elisa for progesterone. *Theriogenology*, 35(3), 603-611.

62. Ковальов, П. В., & Ковалев, П. В. (2003). Цитологічна картина мазків із піхви у сук.

63. Деркач, С. С. (2011). Діагностика оптимального часу осіменіння сук (клініко-експериментальні дані). *Київ: НУБіП*, 24.

64. Appleyard, W. T., & Cook, B. (1976). The detection of oestrus in dairy cattle. *The Veterinary Record*, 99(13), 253-256.

65. Grundy S.A., Feldman E.C., Davidson A.P., (2002). Evaluation of fertility in the bitch. *Clin Tech in Sm Anim Pract*. 17(3): 108-115.

66. Харенко, М. І., Хомин, С. П., & Кошовий, В. П. (2005). та ін. Фізіологія та патологія розмноження дрібних тварин/навчальний посібник. Суми: ВАТ «Сумська обласна друкарня», видавництво «Козацький вал».

67. Lisciandro, G. (2018). Techniki ultrasonograficzne w diagnostyce stanów nagłych małych zwierząt. Polish edition Galaktyka Sp. Z. o. o., Łódź ISBN 978-83-7579-700-8

68. Margaret, V., & Kustritz, R. (2010). *Clinical canine and feline reproduction: evidence-based answers*. Wiley-Blackwell. – P. 37-49.
69. Eilts B.E., Davidson A.P. (2005). Approach to infertility in the dog and bitch. *Proceeding for the American Animal Hospital Association Annual Meeting*.
70. Johnston, S. D., Olson, P. N., & Root, M. V. (1994). Clinical approach to infertility in the bitch. *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)*, 9(1), 2–6.
71. Davidson, A. P. (2004). Controversies in ovulation timing in the bitch. In *Proceedings, ACVIM 22nd Ann. Vet Med Forum*.
72. Ball, P. J., Cowpe, J. E., & Harker, D. B. (1983). Evaluation of tail paste as an oestrus detection aid using serial progesterone analysis. *The Veterinary Record*, 112(7), 147-149.
73. Post, K. (1985). Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *The Canadian veterinary journal*, 26(3), 101.
74. Buckrell, B. C., Bonnett, B., Etherington, W. G., Johnson, W. H., & Savage, N. C. (1985). Canine vaginal cytology during the estrous cycle. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 26(7), 217.
75. Желавський, М. М., Боднар, О. О., & Смоляк, Д. В. (2018, December). Цитологічний склад вагінального мазка собак в різні періоди статевого циклу. In *Conference" Modern methods of diagnostic, treatment and prevention in veterinary medicine"* (pp. 55-56).
76. Lévy, X., & Fontbonne, A. (2007). Determining the optimal time of mating in bitches: particularities. *Rev Bras Reprod Anim*, 31(1), 128-134.
77. Antonov, A. L. (2017). Application of exfoliative vaginal cytology in clinical canine reproduction-a review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 20(3).
78. Haji, M., Ahmed, F. A., Lalrintluanga, K., Talukdar, D. J., Doley, P. J., Behera, S., & Sarma, K. (2018). The role of estrogen and progesterone hormone on vaginal cytology in bitch. *Int J Livest Res*, 8(9), 241-247.

79. Влізло, В. В., Федорук, Р. С., & Ратич, І. Б. (2012). Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 764.

80. Влізло, В.В., (2014) Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині (довідник) – 2-ге видання, перероблене і доповнене / [Влізло В.В., Слівінська Л.Г., Максимович І.А. та ін.] // Львів: Афіша,. – 152 с.

81. Linde, C., & Karlsson, I. (1984). The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 25(2), 77-82.

82. Galabova, G., Egerbacher, M., Aurich, J. E., Leitner, M., & Walter, I. (2003). Morphological changes of the endometrial epithelium in the bitch during metoestrus and anoestrus. *Reproduction in domestic animals*, 38(5), 415-420.

83. Hiemstra, M., Schaefers-Okkens, A. C., Teske, E., & Kooistra, H. S. (2001). The reliability of vaginal cytology in determining the optimal mating time in the bitch. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*, 126(21), 685-689.

84. Reimers, T. J. (1983). Endocrine testing for infertility in the bitch. *Current Vet Therapy VIII*, WB Saunders, 922-925.

85. Hase, M., Hori, T., Kawakami, E., & Tsutsui, T. (2000). Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 62(3), 243-248.

86. Van Haften, B., Bevers, M. M., Van den Brom, W. E., Okkens, A. C., Van Sluijs, F. J., Willemse, A. H., & Dieleman, S. J. (1994). Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle bitch. *Reproduction*, 101(1), 221-225.

87. Onlcin, K., Verstegen, J., Silva, L. D. M., & Concannon, P. (1995, January). Patterns of circulating prolactin, LH and FSH during dopamine-agonist induced termination of anestrus in beagle dogs. In *Biology of Reproduction* (Vol. 52, pp. 135-135).

88. Jeffcoate, I. A. (1993). Endocrinology of anoestrous bitches. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 47, 69-76.
89. Concannon, P. W. (1993). Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 47, 3-27.
90. Goncalves, J. S. A., Vannucchi, C. I., Braga, F. C., Paula-Lopes, F. F., Milazzotto, M. P., Assumpcao, M. E. O. A., & Visintin, J. A. (2009). Oestrogen and progesterone receptor gene expression in canine oocytes and cumulus cells throughout the oestrous cycle. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 239-242.
91. Пономаренко В.П., Давиденко Н.Г. (2010). Діагностична цінність ультразвукового (сонографічного) дослідження репродуктивної системи та вагінальної ендоскопії при неплідності у самок собак. *Сумський національний аграрний університет, м. Суми*, 32.2, 67-71.
92. Penninck D., D'anjou M-A. Atlas ultrasonografii małych zwierząt. Polish edition Galaktyka Sp. Z.o.o., Łódź 2016, 516.
93. Локес, П. І., Стовба, В. Г., & Каришева, Л. П. (2005). Ультразвукова діагностика у ветеринарній медицині дрібних тварин.
94. Barr, F., & Gaschen, L. (2011). BSAVA manual of Canine and Feline Ultrasonography. British Small Animal Veterinary Association.
95. Johnson, C. A. (1995). Cystic endometrial hyperplasia, pyometra and infertility. *Textbook of veterinary internal medicine*, 2, 1636-1642.
96. Bigliardi E., Parmigiani E. (2004). Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch, "*Repro Dom Anim*" 2004, 39: 136-140.
97. Davidson, A., & Baker, T. (2009). Neonatal and pediatric ultrasonography—part II. *Clin Theriogenol*, 1(1), 156-150.
98. Jonson S.D. (1992). Infertility in the bitch. In: Kirk RW and Bonagura JD (eds). *Kirk's Curr Vet Ther XI. Small Anim Pract*. WB Saunders, Philadelphia 1992, 954.

99. Couto, C. G., & Nelson, R. W. (2009). Small animal internal medicine.— 4th ed. — 2009. — 1466 p.
100. Lopate, C. (2008). Estimation of gestational age and assessment of canine fetal maturation using radiology and ultrasonography: a review. *Theriogenology*, 70(3), 397-402.
101. England, G. C. W., Russo, M., & Freeman, S. L. (2009). Follicular dynamics, ovulation and conception rates in bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 53-58.
102. Nyland T., Mattoon J., Herrgesell E. (2002). Physical principles, instrumentation, and safety of diagnostic ultrasound, [w:] Nyland T., Mattoon J., *Small Animal Diagnostic Ultrasound*, 2nd ed., Philadelphia: WB Saunders 2002, 1-18.
103. Mattoon J., Nyland T. (2002). Ovaries and uterus, [w:] Nyland T., Mattoon J., (ed.), *Small Animal Diagnostic Ultrasound*, 2nd ed., Philadelphia: WB Saunders 2002, s. 231-249.
104. Nautrup, C. P., & Tobias, R. (2000). *Atlas and textbook of diagnostic ultrasonography of the dog and cat*. Manson Publishing Ltd.— P. 209.
105. Інґленд., Д. (2006). Ультразвукове дослідження репродуктивних органів у сук. Здоров'я дрібних тварин. — 2006. - №4. — С. 48-50.
106. England, G., & Russo, M. (2006). Conception problems in the bitch. *In Practice*, 28(10), 588-597.
107. England, G., Russo, M. (2005) Laboratory evaluation of the reproductive system. In Manual of Canine and Feline Clinical Pathology. Eds E. Villiers and Blackwood. Quedgeley, British Small Animal Veterinary Association 2005.
108. Boyd, J. S., Renton, J. P., Harvey, M. J., Nickson, D. A., Eckersall, P. D., & Ferguson, J. M. (1993). Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 47, 101–105.

109. Marseloo, N., Fontbonne, A., Bassu, G., Riviere, S., Leblanc, B., Rault, D., ... & Chastant-Maillard, S. (2004, August). Comparison of ovarian ultrasonography with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. In *Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction* (Vol. 757).

110. England, G., Yeager, A., & Concannon, P. W. (2003). Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch. *Concannon PW, England G, Verstegen III J, Linde-Forsberg C. Recent advances in small animal reproduction. Ithaca: International Veterinary Information Service.*

111. Hayer, P., Günzel-Apel, A. R., Lüerssen, D., & Hoppen, H. O. (1993). Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 47, 93-100.

112. Yeager, A., Concannon, P., (1996) Ovaries. In: Green RW, ed *Small Animal Ultrasound*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. Pp 293-303.

113. Concannon, P.W., Yeager, A.E. (1990) Endocrine, ultrasonographic, radiographic and clinical changes during pregnancy, parturition and lactation in dog. *Proceeding Society for Theriogenology 1990*, 197-223.

114. Ohtaki, T., Fujiwara, H., Watanabe, G., Ono, M., Taya, K., & Tsumagari, S. (2020). Changes in luteinizing hormone pulse frequency and prolactin levels in bitches in response to estrus induction by cabergoline-its cases where it is delayed to induce estrus. *The Journal of veterinary medical science*, 82(12), 1773–1780.

115. Фонтбон, А., Маланден, С. (2007). УЗИ яичников и контроль течки у сук и кошек. *Waltham Focus 2007*. 22-29.

116. Silva, L. D., Onclin, K., & Verstegen, J. P. (1996). Assessment of ovarian changes around ovulation in bitches by ultrasonography, laparoscopy and hormonal assays. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 37(4), 313-320.

117. Wallace, S. S., Mahaffey, M. B., Miller, D. M., Thompson, F. N., & Chakraborty, P. K. (1992). Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. *American journal of veterinary research*, 53(2), 209-215.
118. England, G. C., & Yeager, A. E. (1993). Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 47, 107-117.
119. Durrant, B. S., Ravida, N., Spady, T., & Cheng, A. (2006). New technologies for the study of carnivore reproduction. *Theriogenology*, 66(6-7), 1729-1736.
120. Feeney, D. A., & Johnston, G. R. (2007). The uterus, ovaries, and testes. *Textbook of veterinary diagnostic radiology*, 735-749.
121. Hammond, G. (2009). The female reproductive system, [w:] O'Brien, Barr F. (ed.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Abdominal Imaging*, BSAVA Publications: Gloucester, 222-236.
122. Davidson, A. P., & Baker, T. W. (2009). Reproductive ultrasound of the bitch and queen. *Topics in companion animal medicine*, 24(2), 55-63.
123. Березовський, А. В., Харенко, М., Хомин, С., Кошевой, В. П., Пономаренко, В. П., Стефаник, В. Ю., ... & Мусієко, Ю. В. (2017). Фізіологія та патологія розмноження дрібних тварин. *Житомир: Полісся.2017, 311ст.*
124. Mason, S. J. (2017). A retrospective clinical study of endoscopic-assisted transcervical insemination in the bitch with frozen-thawed dog semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 275-280.
125. Suzuki, H., Watanabe, H., & Abe, Y. (2022). Assisted reproductive techniques for canines: Preservation of genetic material in domestic dogs. *Journal of Reproduction and Development*, 68(1), 1-11.
126. Jeffcoate, I. A., & Lindsay, F. E. (1989). Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and

the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 39, 277-287.

127. Fáy, J., Mező, T., Solti, L., Wölfling, A., & Abonyi-Tóth, Z. (2003). Comparison of different methods used for oestrus examination in the bitch. *Acta Veterinaria Hungarica*, 51(3), 385-394.

128. Bouchard, G., Youngquist, R. S., Clark, B., Concannon, P. W., & Braun, W. F. (1991). Estrus induction in the bitch using a combination diethylstilbestrol and FSH-P. *Theriogenology*, 36(1), 51-65.

129. Arnold, S., Arnold, P., Concannon, P. W., Weilenmann, R., Hubler, M., Casal, M., ... & Rüschi, P. (1989). Effect of duration of PMSG treatment on induction of oestrus, pregnancy rates and the complications of hyperoestrogenism in dogs. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 39, 115-122.

130. Chaffaux, S., Locci, D., Pontois, M., Deletang, F., & Thibier, M. (1984). Induction of ovarian activity in anoestrous beagle bitches. *British Veterinary Journal*, 140(2), 191-195.

131. England, G. C. W., & Allen, W. E. (1991). Repeatability of events during spontaneous and gonadotrophin-induced oestrus in bitches. *Reproduction*, 93(2), 443-448.

132. Nakao, T., Aoto, Y., Fukushima, S., Moriyoshi, M., & Kawata, K. (1985). Induction of estrus in bitches with exogenous gonadotropins, and pregnancy rate and blood progesterone profiles. *Nihon juigaku zasshi. The Japanese journal of veterinary science*, 47(1), 17-24.

133. Beijerink, N. J., Dieleman, S. J., Kooistra, H. S., & Okkens, A. C. (2003). Low doses of bromocriptine shorten the interestrus interval in the bitch without lowering plasma prolactin concentration. *Theriogenology*, 60(7), 1379-1386.

134. Cirit, Ü., Bacinoglu, S., Cangul, I. T., Kaya, H. H., Taş, M., & Ak, K. (2007). The effects of a low dose of cabergoline on induction of estrus and

pregnancy rates in anestrous bitches. *Animal reproduction science*, 101(1-2), 134-144.

135. Rota, A., Mollo, A., Marinelli, L., Gabai, G., & Vincenti, L. (2003). Evaluation of cabergoline and buserelin efficacy for oestrous induction in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*, 38(6), 440-443.

136. Spattini, G., Borghi, V., Thuroczy, J., Balogh, L., Scaramuzzi, R. J., & De Rensis, F. (2007). Follicular development and plasma concentrations of LH and prolactin in anestrous female dogs treated with the dopamine agonist cabergoline. *Theriogenology*, 68(6), 826-833.

137. Verstegen, J. P., Onclin, K., Silva, L. D. M., & Concannon, P. W. (1999). Effect of stage of anestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs. *Theriogenology*, 51(3), 597-611.

138. Zöldág, L., Fekete, S., Csaky, I., & Bersenyi, A. (2001). Fertile estrus induced in bitches by bromocryptine, a dopamine agonist: a clinical trial. *Theriogenology*, 55(8), 1657-1666.

139. Asa, C. S., Bauman, K., Callahan, P., Bauman, J., Volkmann, D. H., & Jöchle, W. (2006). GnRH-agonist induction of fertile estrus with either natural mating or artificial insemination, followed by birth of pups in gray wolves (*Canis lupus*). *Theriogenology*, 66(6-7), 1778-1782.

140. Cain, J. L., Lasley, B. L., Cain, G. R., Feldman, E. C., & Stabenfeldt, G. H. (1989). Induction of ovulation in bitches with pulsatile or continuous infusion of GnRH. *Journal of Reproduction and fertility. Supplement*, 39, 143-147.

141. Concannon, P. W., Temple, M., Montanez, A., & Newton, L. (2006). Effects of dose and duration of continuous GnRH-agonist treatment on induction of estrus in beagle dogs: competing and concurrent up-regulation and down-regulation of LH release. *Theriogenology*, 66(6-7), 1488-1496.

142. Volkmann, D. H., Kutzler, M. A., Wheeler, R., & Krekeler, N. (2006). The use of deslorelin implants for the synchronization of estrous in diestrous bitches. *Theriogenology*, 66(6-7), 1497-1501.

143. Maenhoudt, C., Santos, N. R., & Fontbonne, A. (2018). Manipulation of the oestrous cycle of the bitch what works... for now. *Reproduction in Domestic Animals*, 53, 44-52.

144. Moses, D.L. and Shille, V.M. Induction of estrus in Greyhound bitches with prolonged idiopathic anestrus or with suppression of estrus after testosterone administration. *J. Am. Vet. Assoc.* 192:1541-1544 (1988).

145. Shille, V. M., Thatcher, M. J., Lloyd, M. L., Miller, D. D., Seyfert, D. F., & Sherrod, J. D. (1989). Gonadotrophic control of follicular development and the use of exogenous gonadotrophins for induction of oestrus and ovulation in the bitch. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 39, 103-113.

146. Stornelli, M. C., Mitacek, M. G., Giménez, F., Bonaura, M. C., Dorna, I. V., de la Sota, R. L., & Stornelli, M. A. (2012). Pharmacokinetics of eCG and induction of fertile estrus in bitches using eCG followed by hCG. *Theriogenology*, 78(5), 1056-1064.

147. Sokolowski, J. H., Medernach, R. W., & Helper, L. C. (1968). Exogenous hormone therapy to control the estrous cycle of the bitch. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 153(4), 425-428.

148. Tsuchida, M., Sakurai, D., Komura, N., Nakagata, N., & Suzuki, H. (2021). Induction of oestrus by administering Inhibin antiserum along with equine chorionic gonadotropin in anoestrous bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(11), 1398-1405.

149. ALLEN, W. E. (1982). Attempted oestrus induction in four bitches using pregnant mare serum gonadotrophin. *Journal of Small Animal Practice*, 23(4), 223-231.

150. Chakraborty, P. K., Wildt, D. E., & Seager, S. W. (1982). Induction of estrus and ovulation in the cat and dog. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 12(1), 85-92.
151. Nak, D., Nak, Y., & Simsek, G. (2012). Comparison of the use of cabergoline and gonadotrophin to treat primary and secondary anoestrus in bitches. *Australian veterinary journal*, 90(5), 194–196.
152. Hirata, M., Tanihara, F., Taniguchi, M., Takagi, M., Terazono, T., & Otoi, T. (2018). Follicular development of canine ovaries stimulated by a combination treatment of eCG and hCG. *Veterinary medicine and science*, 4(4), 333–340.
153. Ajitkumar, G., Praseeda, R., Rajankutty, K., & Alex, P. C. (2010). Comparative efficacy of high vs low dose cabergoline treatment regimen in inducing fertile oestrus in anoestrus dogs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 1735–1738.
154. Cirit, Ü., Bacinoglu, S., Cangul, I. T., Kaya, H. H., Taş, M., & Ak, K. (2007). The effects of a low dose of cabergoline on induction of estrus and pregnancy rates in anestrous bitches. *Animal Reproduction Science*, 101, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.09.005>
155. Gobello, C., Castex, G., & Corrada, Y. (2002). Use of cabergoline to treat primary and secondary anestrus in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220, 1653–1654. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.1653>
156. Shimatsu, Y. (2017). Use of cabergoline for oestrus induction in multiparous anoestrous Beagle bitches. *Australian Veterinary Journal*, 95, 350–352. <https://doi.org/10.1111/avj.12622>
157. Okkens, A. C., & Kooistra, H. S. (2006). Anoestrus in the dog: A fascinating story. *Reproduction in Domestic Animals*, 41, 291–296. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00702.x>

158. Beijerink, N. J., Dieleman, S. J., Kooistra, H. S., & Okkens, A. C. (2003). Low doses of bromocriptine shorten the interestrus interval in the bitch without lowering plasma prolactin concentration. *Theriogenology*, 60, 1379–1386. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00170-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00170-5)
159. van Haafeten, B., Dieleman, S. J., Schaefer-Okkens, A. C., Bevers, M. M., & Willemse, A. H. (1989). Induction of estrus and ovulation in dogs by treatment with PMSG and/or bromocriptine. *Journal of Reproduction and Fertility*, 39, 330–331. 52
160. Verstegen, J. P., Onclin, K., Silva, L. D. M., & Concannon, P. W. (1999). Effect of stage of anestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs. *Theriogenology*, 51, 597–611. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00013-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00013-8)
161. Mogheiseh, A., Mosavi Ghiri, M. J., & Bandarian, E. (2017). The clinical follow-up of estradiol benzoate priming during induction of estrus with cabergoline in dogs. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32, 16–19.
162. Gobello, C., Castex, G., Broglia, G., & Corrada, Y. (2003). Coat colour changes associated with cabergoline administration in bitches. *Journal of Small Animal Practice*, 44, 352–354.
163. Kutzler, M. A., Wheeler, R., & Volkmann, D. H. (2001). Serum deslorelin concentrations in bitches after Ovuplant® administration. *Proc Ann Meet Soc Theriogenology Vancouver*, 13.
164. Kutzler, M. A. (2005). Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology*, 64(3), 766–775.
165. Fontaine, C. (2015). Long-term contraception in a small implant: a review of Suprelorin (deslorelin) studies in cats. *Journal of feline medicine and surgery*, 17(9), 766–771.
166. Romagnoli, S., Geretto, N., Stelletta, C., Milani, C., Sontas, B. H., Gelli, D., & Mollo, A. (2009). Prolonged suppression of reproductive activity in

male cats with a 4.7 mg implant of deslorelin. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 36-39.

167. Romagnoli, S., Stelletta, C., Milani, C., Gelli, D., Falomo, M. E., & Mollo, A. (2009). Clinical use of deslorelin for the control of reproduction in the bitch. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 44 Suppl 2, 36–39.

168. Kutzler, M. A., Wheeler, R., & Volkmann, D. H. (2001, March). Canine estrus induction using the GnRH agonist, deslorelin. In *Proc. Ann. Symp. Eur. Vet. Soc. Small Anim. Reprod* (pp. 147-148).

169. Trigg, T. E., Wright, P. J., Armour, A. F., Williamson, P. R., Junaidi, A., Martin, G. B., ... & Walsh, J. (2000). Long-term reversible desexing of male dogs and oestrus postponement of bitches, using a GnRH analogue implant. *Proc Adv Dog Cat Exotic Carniv Reprod Oslo*, 21.

170. Trigg, T. E., Wright, P. J., Armour, A. F., Williamson, P. E., Junaidi, A., Martin, G. B., ... & Walsh, J. (2001). Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 57, 255-261.

171. Wright, P. J., Verstegen, J. P., Onclin, K., Jöchle, W., Armour, A. F., Martin, G. B., & Trigg, T. E. (2001). Suppression of the oestrous responses of bitches to the GnRH analogue deslorelin by progestin. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 57, 263–268.

172. de Gier, J., Beijerink, N. J., Kooistra, H. S., & Okkens, A. C. (2008). Physiology of the canine anoestrus and methods for manipulation of its length. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 43 Suppl 2, 157–164. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01156.x>

173. Clayton, R. N. (1989). Gonadotrophin-releasing hormone: its actions and receptors. *Journal of endocrinology*, 120(1), 11-19.

174. Larson, S., Belting, T., Rifenbury, K., Fisher, G., & Boutelle, S. M. (2013). Preliminary Findings of Fecal Gonadal Hormone Concentrations in Six

Captive Sea Otters (*Enhydra lutris*) after Deslorelin Implantation. *Zoo biology*, 32(3), 307-315.

175. Kutzler, M. A., Wheeler, R., Lamb, S., & Volkmann, D. H. (2002, May). Deslorelin implant administration beneath the vulvar mucosa for the induction of synchronous estrus in bitches. In *Proceedings of Third EVSSAR European Congress* (Vol. 96).

176. Stich, K. L., Wendt, K. M., Blanchard, T. L., & Brinsko, S. P. (2004). Effects of a new injectable short-term release deslorelin in foal-heat mares. *Theriogenology*, 62(5), 831-836.

177. Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., & Parker, K. L. (2008). *Manual of Pharmacology and therapeutics*. McGraw-Hill Medical.

178. Wagner, R. A., Piché, C. A., Jöchle, W., & Oliver, J. W. (2005). Clinical and endocrine responses to treatment with deslorelin acetate implants in ferrets with adrenocortical disease. *American journal of veterinary research*, 66(5), 910-914.

179. Nizański, W., Eberhardt, M., Ochota, M., Fontaine, C., Levy, X., & Pasikowska, J. (2022). A Comparative Study of the Effects of Osaterone Acetate and Deslorelin Acetate on Sperm Kinematics and Morpho-Functional Parameters in Dogs. *Animals*, 12(12), 1548.

180. Івахів, М. А. (2018). Зміна рівня статевих гормонів в крові псів при застосуванні імпланту Suprelorin 4, 7 mg. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 20(83), 425-428.

181. Fontaine, E., Mir, F., Vannier, F., Gérardin, A., Albouy, M., Navarro, C., & Fontbonne, A. (2011). Induction of fertile oestrus in the bitch using Deslorelin, a GnRH agonist. *Theriogenology*, 76(8), 1561–1566. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.06.031>

182. Goericke-Pesch, S., Georgiev, P., Antonov, A., Albouy, M., & Wehrend, A. (2011). Clinical efficacy of a GnRH-agonist implant containing 4.7

mg deslorelin, Suprelorin®, regarding suppression of reproductive function in tomcats. *Theriogenology*, 75(5), 803-810.

183. Navarro, C., & Schober, P. A. (2012, July). Pharmacodynamics and pharmacokinetics of a sustained-release implant of deslorelin in companion animals. In *Proceedings of the 7th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*, Whistler, BC, Canada (pp. 26-29).

184. Goericke-Pesch, S. (2017). Long-term effects of GnRH agonists on fertility and behaviour. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 336-347.

185. Lanna, L. L., Marques Jr, A. P., & Douglas, R. H. (2010). Effect of deslorelin on the induction of estrus in anestrus bitches Efeito da deslorelina na indução de estro em cadelas no anestro.

186. Piepenbrink, A., Failing, K., Riesenbeck, A., Schmid, P., & Hoffmann, B. (2017). Downregulation of LH in the bitch after application of the GnRH-agonist buserelin as a slow-release implant. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/heimtiere*, 45(3), 147-152.

187. Zduńczyk, S., Janowski, T., Borkowska, I. (2006). Flora bakteryjna pochwy i macicy suk w stanach fizjologicznych i zapalnych. *Medycyna Wet*, 62, 1116-1119.

188. Witka, N., Szydło, M., Strus, M., Golinska, E., Lenarczyk, J., & Sowinska, N. (2020). Mikroflora fizjologiczna oraz w stanach zapalnych dróg rodnych u suk. Możliwość wykorzystania probiotyków. *Życie Weterynaryjne*, 95(04).

189. Hutchins, R. G., Vaden, S. L., Jacob, M. E., Harris, T. L., Bowles, K. D., Wood, M. W., & Bailey, C. S. (2014). Vaginal microbiota of spayed dogs with or without recurrent urinary tract infections. *Journal of veterinary internal medicine*, 28(2), 300-304.

190. John, A., Nair, D. R., Sreejith, J. R., Deepthi, L., Praseeda, R., & Ajitkumar, G. (2011). Vaginal microflora and its antibiogram in infertile bitches. *Vet Scan| Online Veterinary Medical Journal*, 6(1), 79-79.

191. Brugger, N., Otzdorff, C., Walter, B., Hoffmann, B., & Braun, J. (2011). Quantitative determination of progesterone (P4) in canine blood serum using an enzyme-linked fluorescence assay. *Reproduction in domestic animals*, 46(5), 870-873.
192. Frank, L. A., Mullins, R., & Rohrbach, B. W. (2010). Variability of estradiol concentration in normal dogs. *Veterinary dermatology*, 21(5), 490-493.
193. Xie, B., Tsao, S. W., & Wong, Y. C. (1999). Induction of high incidence of mammary tumour in female Noble rats with a combination of 17 β -oestradiol and testosterone. *Carcinogenesis*, 20(6), 1069-1078.
194. Kustritz, M. V. R. (2006). Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. *Theriogenology*, 66(3), 567-574.
195. Groppetti, D., Pecile, A., Barbero, C., & Martino, P. A. (2012). Vaginal bacterial flora and cytology in proestrous bitches: Role on fertility. *Theriogenology*, 77(8), 1549-1556.
196. Maksimovic, A., Maksimovic, Z., Filipovic, S., Besirovic, H., & Rifatbegovic, M. (2012). Vaginal and uterine bacteria of healthy bitches during different stages of their reproductive cycle. *Vet Rec*, 171(15), 375.
197. Golinska, E., Sowinska, N., Tomusiak-Plebanek, A., Szydło, M., Witka, N., Lenarczyk, J., & Strus, M. (2021). The vaginal microbial community in various stages of the estrous cycle of healthy female dogs and the one with genital tract infections. *BMC Vet. Res*, 17, 126.
198. Watts, J. R., Wright, P. J., & Whithear, K. C. (1996). Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *Journal of small animal practice*, 37(2), 54-60.
199. Janowski, t., Zduńczyk, S., Borkowska, I., Jurczak, A., & Podhalicz-Dzięgielewska, M. (2008). Flora bakteryjna pochwy i macicy w różnych fazach cyklu rujowego suk*. *Medycyna Wet.* 64 (4A)
200. Голумбійовська, Т. В., & Стефаник, В. Ю. (2018). Порушення відтворної функції у сук та методи діагностики. *Науковий вісник*

Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, 20(83), 385-395.

201. Holumbiyovska, T. V., Stefanyk, V. Y., & Basarab, T. P. (2021). Effects of implant Suprelorin on cytological changes of vaginal epithelial cells in female dogs (4.7 mg deslorelin). *Ukrainian journal of veterinary and agricultural sciences*, 4(3), 3-10.

202. Concannon, P. W. (2009). Endocrinologic control of normal canine ovarian function. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 3-15.

203. Голумбійовська, Т. В. (2023). Зміни концентрації прогестерону та 17бета-естрадіолу (або 17-β естрадіолу), в сироватці крові після введення імпланту Супрелорін®(4, 7 мг деслореліну) для індукції еструсу у сук. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine & Biotechnologies Series: Veterinary Sciences*, 25(109).

204. Holumbiiiovska, T. (2023). Dynamics of ovarian structures after application of Suprelorin®(4.7 mg de-slorelin acetate) implant for estrus induction in bitches. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(1), 51-57.

205. Kutzler, M. (2002). Canine estrus induction using deslorelin (Ovuplant). In *Proc. Annual Meeting Eur. Vet. Soc. Sm. Anim. Reprod., Liege, Belgium. Abstract*.

206. Kutzler, M., Lamb, S. V., & Volkmann, D. (2009). Comparison between vestibular and subcutaneous insertion of deslorelin implants for oestrus induction in bitches. *Reproduction in Domestic Animals*, 44, 83-86.

207. Volkmann, D. H., Kutzler, M. A., Wheeler, R., Krekeler, N., Klewitz, J., & Lamb, S. V. (2006). Failure of hCG to support luteal function in bitches after estrus induction using deslorelin implants. *Theriogenology*, 66(6-7), 1502-1506.

208. Concannon, P.W. (1989). Hormonal and clinical correlates of ovarian cycles, ovulation, pseudopregnancy and pregnancy in dogs. *Current Veterinary Therapy (Small Animal Practice)*, 10, 1269-1282.

209. Johnston, S. D., & Romagnoli, S. E. (1991). Canine reproduction. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice (USA)*. 21, № 3.
210. England, G. C. W., & Shille, V. M. (1998). Book review: allen's fertility and obstetrics in the dog. *Theriogenology*, 50(2), 175-176.
211. Jeffcoate, I. (1998). Physiology and Endocrinology of the bitch. *BSVA Manual of small animal reproduction and neonatology. British Small Animal Veterinary Association, UK*, 1-9.
212. Elliott, D. A., Pibot, P., Devlin P., Hurley, K. (2007)«Focus WALTHAM Международный журнал по ветеринарии мелких домашних животных» Buena Media Plus CEO: Bernardo Gallitelli, Boulogne – France, 45(2), 122-148.
213. Al-Zubaidi, S. F. A., & Hussain, S. O. (2021). Study the Reproductive Pattern of Different Breeds Bitches in Iraq by estimation of Kisspeptin and detection ovulation time. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 15(3), 4345-4353.
214. Meyers-Wallen, V. N. (2007). Unusual and abnormal canine estrous cycles. *Theriogenology*, 68(9), 1205-1210.
215. Pretzer, S. D. (2008, August). Abnormalities of the Canine Estrous Cycle: A review. In *Article presented at the Canine Breeder's Symposium, St. Louis, Missouri* (pp. 41-49).
216. Cavalieri, J., Hepworth, G., Fitzpatrick, L. A., Shephard, R. W., & Macmillan, K. L. (2006). Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology*, 65(1), 45-64.
217. Martinat-Botté, F., Venturi, E., Guillouet, P., Driancourt, M. A., & Terqui, M. (2010). Induction and synchronization of ovulations of nulliparous and multiparous sows with an injection of gonadotropin-releasing hormone agonist (Receptal). *Theriogenology*, 73(3), 332-342.

218. Rezende, R. S., Eurides, D., Barbosa, C. P., Lacerda, M. S., Sampaio, R. L., & Gomes, A. L. (2018). Use of a GnRH synthetic analog (buserelin) for estrous induction in female dogs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70, 656-660.
219. Bowen, R. A., Olson, P. N., Behrendt, M. D., Wheeler, S. L., Husted, P. W., & Nett, T. M. (1985). Efficacy and toxicity of estrogens commonly used to terminate canine pregnancy. *Journal of the american veterinary medical association*, 186(8), 783-788.
220. Rajamahendran, R., Ambrose, J. D., Schmitt, E. P., Thatcher, M. J., & Thatcher, W. W. (1998). Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH-agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, follicle and corpus luteum dynamics in Holstein cows. *Theriogenology*, 50(7), 1141-1155.
221. Von Heimendahl, A., & Miller, C. (2012). Clinical evaluation of deslorelin to induce oestrus, ovulation and pregnancy in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 398-399.
222. Wolf, T., Meyer, H., & Kutzler, M. (2012). Litter Size Response to Oestrous Induction with Deslorelin (O vuplant®) in Dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 387-388.
223. Fontaine, E., & Fontbonne, A. (2011). Clinical use of GnRH agonists in canine and feline species. *Reproduction in domestic animals*, 46(2), 344-353.
224. Romagnoli, S., & Sontas, H. (2010). Prevention of breeding in the female. In *BSAVA manual of canine and feline reproduction and neonatology* (pp. 23-33). BSAVA Library.
225. Borges, P., Fontaine, E., Maenhoudt, C., Payan-Carreira, R., Santos, N., Leblond, E., ... & Fontbonne, A. (2015). Fertility in adult bitches previously treated with a 4.7 mg subcutaneous deslorelin implant. *Reproduction in Domestic Animals*, 50(6), 965-971.

ДОДАТКИ

**НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ
РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ**

Статті у фахових наукових виданнях України:

1. **Голумбійовська Т.В.**, Стефаник В.Ю. Порухення відтворної функції у сук та методи діагностики. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія Ветеринарні науки* 2019 Т 20 № 83, С. 385-395. (Здобувач зібрала та опрацювала літературу за темою статті).

2. **Holumbiyovska T. V.**, Stefanyk V. Y., & Basarab, T. P. Effects of implant Suprelorin on cytological changes of vaginal epithelial cells in female dogs (4.7 mg deslorelin). *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2021, Vol. 4, No. 3, p.3–10. (Здобувач провела дослідження, брала участь в аналізі отриманих результатів та написанні статті).

3. **Holumbiyovska, T.** (2023). Dynamics of ovarian structures after application of Suprelorin®(4.7 mg de-slorelin acetate) implant for estrus induction in bitches. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(1), 51-57. (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до публікації).

4. **Голумбійовська, Т. В.** (2023). Зміни концентрації прогестерону та 17бета-естрадіолу (або 17-β естрадіолу), в сироватці крові після введення імпланту Супрелорін®(4, 7 мг деслореліну) для індукції еструсу у сук. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine & Biotechnologies Series: Veterinary Sciences*, 25(109). (Здобувач провела дослідження та підготувала статтю до публікації).

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

II Міжнародна науково-практична конференція викладачів і студентів «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», 18-19.листопада 2021, м. Львів. Виступ на секційному засіданні.

XVI Kongres "*Problemy w rozrodzie małych zwierząt*", 24-25 września 2022., Wrocław. Poland. Представлений плакат на стендовій доповіді.

XXX Międzynarodowy kongres Medycyny Weterynaryjnej małych zwierząt PSLWMZ. 17-20 listopada 2022., Łódź. Poland. Представлений плакат на стендовій доповіді.

ДОДАТОК В

Бактеріологічний посів з піхви собаки породи шиба-іну перед застосуванням препарату Супрелорін. Не виявлено патогенних мікроорганізмів.

ТзОВ «Науково-виробничий консультаційний центр»

Поштова адреса: 79068, м. Львів
Україна, вул. Лінкольна 10а/23
Код ЄДРПОУ 40168143
р/р 2600417494
в банк ПУМБ м. Львів
МФО 334851
тел.0677018146
e-mail: NVKC@ukr.net



21 вересня 2020 № 21-09/2020

Замовник: Голумбійовська Т.

Об'єкт дослідження: мазок з піхви, відібраний від тварини, кличка «Люта».

Дата відбору: 21.09.2020 р.

ЕКСПЕРТНИЙ ВИСНОВОК

Результати мікробіологічного дослідження мазка на присутність патогенних мікроорганізмів з посівом на поживні середовища: МПА, Ендо, Радж Ханса.

Виділено: *E.coli*.

Результати чутливості виділених мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів:

Антибіотики	Високо чутливі	Помірно чутливі	Слабо чутливі	Не чутливі
	++++	+++	++	-
Азитроміцин (AZM 30)				+
Амікацин (АМК) АК 30		+		
Амоксиклав АМС 10				+
Ампіцилін АМР 10		+		
Гентаміцин GEN 10	+			
Доксициклін ДОК (DOX 30)				+
Енрофлоксацин (ENR 5)				
Еритроміцин (E5) EPT				
Іміпенем (ИМ)				
Кларитроміцин CLR 15				+
Кліндаміцин CD 2				+
Левовфлоксацин ЛВФ	+			
Лінкоміцин L 10				+
Нітрофурантоїн НФР				
Окситетрациклін О 30				
Офлоксацин OF 5		+		
Пеніцилін Р 10				+
Триметоприм TR 5				
Фосфоміцин FO 200				
Хлорамфенікол С 30				
Цефалексин CN 30				
Цефепім СРМ 30		+		
Цефподоксим СЕР 10		+		
Цефазолін	+			
Цефтріаксон	+			
Ципрофлоксацим СІР 30 (ЦИП)	+			
Доріпенем	+			

Виконавець: Щербентовська О.М.



ДОДАТОК Г

Бактеріологічний посів з піхви собаки породи німецька вівчарка перед застосуванням препарату Супрелорін. Не виявлено патогенних мікроорганізмів.



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Weterynaryjne Laboratorium Diagnostyczne Epi-Vet
50-366 Wrocław, ul. Plac Grunwaldzki 45
tel. 71 320 10 40



SPRAWOZDANIE Z BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

Nr E /3471/2022

Data otrzymania próbki/próbek	Data rozpoczęcia badania	Data zakończenia badania
21.12.2022	21.12.2022	23.12.2022

1. Dane zleceniodawcy: Zajączkowski Sebastian

2. Rodzaj materiału: wymaz z pochwy suzki MARUSIA

WYNIK BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

W posiewie bezpośrednim po 72 h inkubacji	Brak wzrostu bakterii tlenowych chorobotwórczych, Flora fizjologiczna
W posiewie po namnożeniu	tj. wyżej

Osoba wykonująca badanie :
mgr Aleksandra Chmielina

Osoba autoryzująca wynik
dr Iwona Przychoźniak

Wynik badania mikrobiologicznego odnosi się wyłącznie do dostarczonej próbki/próbek, czas reklamacji 14 dni.

Wynik badania nie może być powielany bez pisemnej zgody Kierownika Laboratorium Epi-Vet inaczej niż w całości.

Laboratorium Diagnostyczne Epi-Vet nie uczestniczy w poborze i transporcie próbek do badań.

Próbki są dostarczane do laboratorium przez zlecającego badanie.

FO-03/PO-06

(aktualizacja na dzień 19.04.2022 r.)



UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
ul. Plac Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław
tel. 71 320 10 40
e-mail: epi.vet.wroc@upwr.edu.pl

ДОДАТОК Д

Бактеріологічний посів з піхви собаки породи німецька вівчарка перед застосуванням препарату Супрелорін. Не виявлено патогенних мікроорганізмів.



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Weterynaryjne Laboratorium Diagnostyczne Epi-Vet
50-366 Wrocław, ul. Plac Grunwaldzki 45
tel. 71 320 10 40



SPRAWOZDANIE Z BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO Nr E /243/2023

Data otrzymania próbki/próbek	Data rozpoczęcia badania	Data zakończenia badania
25.01.2023	25.01.2023	27.01.2023

1. Dane zlecniodawcy: Zajączkowski Sebastian
2. Rodzaj materiału: wymaz z pochwy suzki NAPOLI

WYNIK BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

W posiewie bezpośrednim	<i>Brak wzrostu bakterii tlenowych chorobotwórczych</i>
W posiewie po namnożeniu	<i>j. wyżej</i>

Osoba wykonująca badanie :
dr Iwona Przychodniak

Osoba autoryzująca wynik :
mgr Aleksandra Chmielina

Wynik badania mikrobiologicznego odnosi się wyłącznie do dostarczonej próbki/próbek, czas reklamacji 14 dni.
Wynik badania nie może być powielany bez pisemnej zgody Kierownika Laboratorium Epi-Vet inaczej niż w całości.
Laboratorium Diagnostyczne Epi-Vet nie uczestniczy w poborze i transporcie próbek do badań.
Próbki są dostarczane do laboratorium przez zlecającego badanie.
FO-03/PO-06
(aktualizacja na dzień 19.04.2022 r.)



UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
ul. Plac Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław
tel. 71 320 10 40
e-mail: epi.vet.wroc@upwr.edu.pl

ДОДАТОК Е

Бактеріологічний посів з піхви собаки породи шиб-іну перед застосуванням препарату Супрелорін. Виявлено незначну кількість штаму *Streptococcus canis*, собаку було допущено до експерименту після лікування курсом антибіотику Синулокс.



UNIwersYTET
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU

Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
Weterynaryjne Laboratorium Diagnostyczne Epi-Vet
50-366 Wrocław, ul. Plac Grunwaldzki 45
tel. 71 320 10 40



SPRAWOZDANIE Z BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO Nr E /2514/2022

Data otrzymania próbki/próbek	Data rozpoczęcia badania	Data zakończenia badania
15.09.2022	15.09.2022	20.09.2022

1. Dane zleceniodawcy: Reiter Tomasz
2. Rodzaj materiału: pochwa sućki ROMI

WYNIK BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

W posiewie bezpośrednim	<i>Streptococcus canis</i> - nielicznie <i>Streptococcus spp.</i> wykazuje naturalną oporność niskiego stopnia na aminoglikozydy, oporność na kwas fusydowy oraz kolistynę Fenotyp MLSB konstytutywny tzn. oporny na makrolidy, linkozamidy oraz streptograminy gr B
AMOKSYCYLINA Z KWASEM KŁAWULANOWYM	S
AMOKSYCYLINA	S
AMPICYLINA	S
AMIKACyna	I
CEFALEKSyna	S
CEFOWECyna	S
CHLORAMFENIKOL	S
ERYTROMYCyna	S
KLINDAMYCyna	S
CIPROFLOKSACyna	R
ENROFLOKSACyna	R
MARBOFLOKSACyna	I
TETRACYKLINA	I
TRIMETOPRIM/SULFAMETOKSAZOL	S
LINCOSPECTIN	I

S-wrażliwy, R-oporny, I-wrażliwy przy zwiększonej ekspozycji

Osoba wykonująca badanie :

dr Iwona Przyehodniak

Wynik badania mikrobiologicznego odnosi się wyłącznie do dostarczonej próbki/próbek, czas reklamacji 14 dni.
Wynik badania nie może być powielany bez pisemnej zgody Kierownika Laboratorium Epi-Vet innej niż w całości.
Laboratorium Diagnostyczne Epi-Vet nie uczestniczy w poborze i transporcie próbek do badań.
Próbki są dostarczane do laboratorium przez zlecającego badanie.
FO-03/PO-06 (aktualizacja na dzień 19.04.2022 r.)

Osoba autoryzująca wynik:

mgr Aleksandra Chmielina



UNIwersYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych
ul. Plac Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław
tel. 71 320 10 40
e-mail: epi.vet.wroc@upwr.edu.pl

ДОДАТОК Є

Загальний і біохімічний аналіз крові собаки Луни, породи той-пудель перед введенням імпланту Супрелорін для індукції еструсу.



50-375 Wrocław
Telefon: 713205308
e-mail: Rozod@upwr.edu.pl
KATEDRA ROZRODU Z KLINIKĄ
ZWIERZĄT GOSPODARSKICH

Karta informacyjna wizyty

ZWIERZĘ

Luna

Gatunek: pies

Rasa: pudel-toy

Data ur.: 25/08/2020

Maść: ruda

Płeć: samica

WŁAŚCICIEL

Bor Magdalena

Rubinowa 58

55-200 Oława

Telefon: 509 05 28 55

12/10/2022 10:56: BADANIA DIAGNOSTYCZNE

WYNIKI BADAŃ DIAGNOSTYCZNYCH

Idexx ProCytex DX

PARAMETR	WARTOŚĆ	J.M.	MIN	MAX	
RBC	5,69	M/ μ L	5,65	8,87	
HCT	39,7	%	37,3	61,7	
HGB	14,3	g/dl	13,1	20,5	
MCV	69,8	fL	61,6	73,5	
MCH	25,1	pg	21,2	25,9	
MCHC	36	g/dl	32	37,9	
RDW	13,2	%	13,6	21,7	
RETIC%	0,4	%			
RETIC	23	K/ μ L	10	110	
WBC	13,67	K/ μ L	5,05	16,76	
NEU%	75,2	%			
MONO%	9	%			
EOS%	2	%			
BASO%	0,1	%			
Limfocyty	1,87	K/ μ L	1,05	5,1	
Limfocyty%	13,7	%			
Monocyty	1,23	K/ μ L	0,16	1,12	
Eozynofile	0,28	K/ μ L	0,06	1,23	
Bazofile	0,01	K/ μ L	0	0,1	
PLT (Trombocyty)	482	K/ μ L	148	484	
MPV	10,9	fL	8,7	13,2	
PDW	9,3	fL	9,1	19,4	
PCT	0,53	%	0,14	0,46	
NEU	10,28	K/ μ L	2,95	11,64	
RETIC-HGB	27,2	pg	22,3	29,6	

PARAMETR

CA
Glukoza

WARTOŚĆ = J.M.
9,3 mg/dL
77 mg/dL

MIN MAX
7,9 12
74 143



ZABIEGI

Gn Morfologia IDEXX R
Gn wapń idexx
Gn Glukoza IDEXX

ДОДАТОК Ж

Загальний і біохімічний аналіз крові собака Гертруди, породи французький бульдог, на початку тічки, яка була відібрана для контрольної групи.

Wynik badania laboratoryjnego nr: 08904-1122

Data pobrania materiału: 09.11.2022 Data badania: 09.11.2022 Rodzaj próbki: krew EDTA, surowica, osocze cytrynianowe (9:1) x2

Vetlab sp. z o.o.
ul. Wodzisławska 6
52-017 Wrocław
71 722 35 25

Właściciel: Maria Eberhardt

Pacjent: Gertruda Gatunek: Pies Rasa: Buldog francuski Płeć: samica Wiek: 1 rok

Lecznica: D0051 Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich

Lekarz:

Badanie	Wynik	Jedn.	Norma
---------	-------	-------	-------

Profil przedoperacyjny kontrolny:

Morfologia			
WBC	10,1	G/l	6,00-12,0
NEU	5,49	G/l	3,00-9,00
NEU %	54,2	%	55,0-75,0
LYM	3,39	G/l	1,00-3,60
LYM %	33,5	%	13,0-30,0
MONO	0,840	G/l	0,150-0,850
MONO %	8,30	%	1,00-10,0
EOS	0,360	G/l	0,040-0,600
EOS %	3,60	%	0,010-6,00
BASO	0,040	G/l	0,001-0,100
BASO %	0,400	%	0,001-1,00
RBC	6,61	T/l	5,50-8,50
HGB	161,0	g/l	150,0-190,0
HCT	0,455	l/l	0,440-0,550
MCV	68,8	fl	60,0-77,0
MCH	24,4	pg	21,0-27,0
MCHC	354,0	g/l	320,0-360,0
PLT	345,0	G/l	150,0-500,0

Czas kaolinowo - kefalinowy (APTT)

Uwagi			
Badania czasów krzepnięcia anulowano ze względu na przeterminowanie próbówki (data ważności na próbówce z osoczem cytrynianowym 12.2021). Prosimy również po odwirowaniu krwi w próbówce z antykoagulantem przelewać odwirowane osocze do czystej próbówki transportowej.			
ALT	29,7	U/l	1,00-80,0
AP	32,0	U/l	1,00-141,0
Bilirubina całkowita	2,68	μmol/l	0,010-4,60
Kreatynina	95,6	μmol/l	35,0-132,0
Mocznik	8,62	mmol/l	3,30-8,30

Badanie zatwierdził: mgr inż. Filip Żebrowski

1

ДОДАТОК 3

Дослідження гормонального статусу собаки Маруся породи німецька вівчарка після застосування імпланту Супрелорін на 3 і 10 добу. При рівня прогестерону >3 нг/мл імпланту видаляли.

D=3

mini VIDAS Raport
UP KAT.ROZRODU
Sekoja: A
Wykonano : 12:58:10 11gru22
Progesterone (PRG)
Wer.: R5.6.1
Seria#: 230725-0
Użyty standard:
Wykonano : 09:38:02 21list22
RFV = 2795

Pozycja: A3
ID próbki: MARUSIA
Tło: 133 RFV: 3425
Wynik: 0.64 ng/ml

D=10

mini VIDAS Raport
UP KAT.ROZRODU
Sekoja: A
Wykonano : 09:15:08 10gru22
Progesterone (PRG)
Wer.: R5.6.1
Seria#: 230725-0
Użyty standard:
Wykonano : 09:38:02 21list22
RFV = 2795

Pozycja: A3
ID próbki: MARUSIA
Tło: 137 RFV: 2234
Wynik: 3.18 ng/ml

mini VIDAS Raport
UP KAT.ROZRODU
Sekoja: B
Wykonano : 13:19:09 11gru22
Estradiol II (E2II)
Wer.: R5.6.1
Seria#: 230610-0
Użyty standard:
Wykonano : 15:01:49 06gru22
RFV = 3432

Pozycja: B3
ID próbki: MARUSIA
Tło: 127 RFV: 4006
Wynik: 23.02 pg/ml

mini VIDAS Raport
UP KAT.ROZRODU
Sekoja: B
Wykonano : 09:35:21 10gru22
Estradiol II (E2II)
Wer.: R5.6.1
Seria#: 230610-0
Użyty standard:
Wykonano : 15:01:49 06gru22
RFV = 3432

Pozycja: B3
ID próbki: MARUSIA
Tło: 129 RFV: 3599
Wynik: 41.79 pg/ml

ДОДАТОК І

Скан 1. Рівень прогестерону та естрадіолу в сироватці крові собаки Маруся породи німецька вівчарка після застосування на 9 добу імпланту Супрелорін.

Скан 2. Дослідження гормонального статусу собак з контрольної групи.

D=9

mini VIDAS Raport
 UP KAT.ROZRODU
Sekoja: A
 Wykonano : 13:12:10 17gru22
Progesterone (PRG)
 Wer.: R5.6.1
 Serial#: 230725-0
 Użyty standard:
 Wykonano : 09:38:02 21list22
 RFV = 2795

Pozycja: A3
 ID próbki: MARUSIA
 Tło: 130 RFV: 2808
 Wynik: **1.64** ng/ml

mini VIDAS Raport
 UP KAT.ROZRODU
Sekoja: B
 Wykonano : 13:34:46 17gru22
Estradiol II (E2II)
 Wer.: R5.6.1
 Serial#: 230610-0
 Użyty standard:
 Wykonano : 15:01:49 06gru22
 RFV = 3432

Pozycja: B3
 ID próbki: MARUSIA
 Tło: 123 RFV: 3032
 Wynik: **80.10** pg/ml

mini VIDAS Raport
 UP KAT.ROZRODU
Sekoja: B
 Wykonano : 14:42:06 28list15
Progesterone (PRG)
 Wer.: R5.6.1
 Serial#: 230725-0
 Użyty standard:
 Wykonano : 09:38:02 21list18
 RFV = 2795

Pozycja: B1
 ID próbki: KOLA
 Tło: 129 RFV: 366
 Wynik: **1.01** ng/ml

Pozycja: B2
 ID próbki: YUMA
 Tło: 127 RFV: 3094
 Wynik: **3.67** ng/ml

Pozycja: B3
 ID próbki: AMI
 Tło: 127 RFV: 2330
 Wynik: **2.86** ng/ml

Pozycja: B4
 ID próbki: MONIKA
 Tło: 128 RFV: 3467
 Wynik: **0.59** ng/ml

mini VIDAS Raport
 UP KAT.ROZRODU
Sekoja: A
 Wykonano : 14:34:23 28list19
Estradiol II (E2II)
 Wer.: R5.6.1
 Serial#: 230610-0
 Użyty standard:
 Wykonano : 09:44:37 08list19
 RFV = 3212

Pozycja: A1
 ID próbki: KOLA
 Tło: 131 RFV: 3796
 Wynik: **21.10** pg/ml

Pozycja: A2
 ID próbki: YUMA
 Tło: 130 RFV: 3230
 Wynik: **50.19** pg/ml

Pozycja: A3
 ID próbki: AMI
 Tło: 134 RFV: 3521
 Wynik: **33.56** pg/ml

Pozycja: A4
 ID próbki: MONIKA
 Tło: 128 RFV: 4080
 Wynik: **10.96** pg/ml

ДОДАТОК І

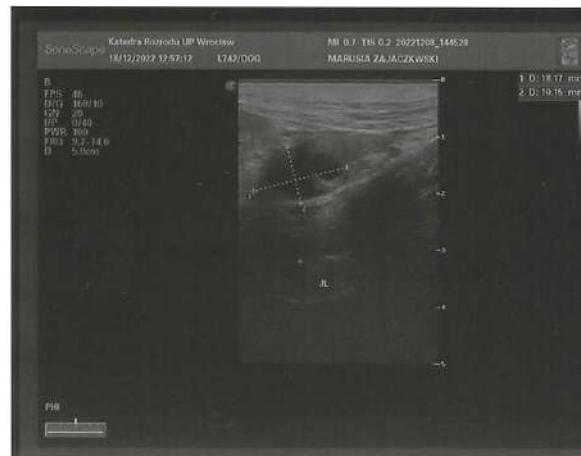
Ехоструктура яєчників на 3 і 10 добу після застосування імпланту Супредлорін. Рис 1. - JP -яєчник правий, М – матка на 3 добу.

Рис 2. – JL – яєчник лівий з анехогенними структурами (фолікулами) JP – яєчник правий з анехогенними структурами з рівними та нерівними краями (фолікули, що овулюють).

Рис.1



Рис.2



ДОДАТОК Й

„Затверджую”

Начальник ветеринарного лазарету
Військової частини 2418,
м. Великі Мости
Рудиш Ю.О.



Акт

Від 12 вересня 2020 року

Ми, що нижче підписані, начальник ветеринарного лазарету військової частини 2418 Рудиш Ю.О., лікар ветеринарної медицини Рудиш Б.Я., аспірантка Голумбійовська Т.В., професор Стефаник В.Ю. ЛНУВМБТ імені С.З.Гжицького, склали акт про те, що на базі „Кінологічного навчального центру Державної прикордонної служби України військової частини 2418” м. Великі Мости, проводили моніторинг відтворної функції тварин та дослідження її порушень, аналіз умов утримання (30 сук породи німецька вівчарка) відбір крові, бактеріологічні дослідження секрету з піхви, вагінальну цитологію епітелію з піхви, дослідження рівня статевих гормонів в сироватці крові тварин, УЗД органів репродуктивної системи.

Про що склали акт в 3-х примірниках.

Підписи:



Рудиш Ю.О.
Рудиш Б.Я.
Стефаник В.Ю.
Голумбійовська Т.В.

ДОДАТОК К

„Затверджую”
Начальник ветеринарного лазарету
Військова частина 2418,
м. Великі Мости
Рудиш Ю.О.



Акт

Від 21 жовтня 2020 року

Ми, що нижче підписані, начальник ветеринарного лазарету військової частини 2418 Рудиш Ю.О., лікар ветеринарної медицини Рудиш Б.Я., аспірантка Голумбійовська Т.В., професор Стефаник В.Ю. ЛНУВМБТ імені С.З.Гжицького, склали акт про те, що на базі „Кінологічного навчального центру Державної прикордонної служби України військової частини 2418” м. Великі Мости, протягом 21 вересня 2020 року по 10 жовтня 2020 року проводилось відновлення відтворної функції у 12 сук породи німецька вівчарка, віком від 2-х до 6-ти років, методом стимуляції еструсу за допомогою імпланту Супрелорін, проводився відбір крові для дослідження рівня статевих гормонів, вагінальна цитологія епітелію з піхви, УЗД органів репродуктивної системи.

Про що склали акт в 3-х примірниках.

Підписи:


Рудиш Ю.О.

Рудиш Б.Я.

Стефаник В.Ю.

Голумбійовська Т.В.



ДОДАТОК Л



„Затверджую”
ФОП, Директор клініки для тварин
„Ветіко”, м. Львів,
Проспект Червоної Калини, 95
Лехів Ю.С.

Акт

Про впровадження у ветеринарну практику

Ми, що нижче підписані лікар ветеринарної медицини Лехів Ю.С, лікар ветеринарної медицини Грицевич А.Л. склали акт про те, що в умовах клініки для тварин „Ветіко” м. Львова впроваджено в клінічну практику застосування імпланту „Супрелорін” для індукції еструсу у сук при відновлення відтворної функції.

Розроблені схеми застосування імпланту Супрелорін для індукції еструсу та матеріали дисертаційного дослідження аспірантки кафедри Акушерства, гінекології та біотехнології відтворення ім. Г.В.Зверєвої ЛНУВМБТ і. С.З.Гжицького Голумбійовської Т.В використовуються у практичній діяльності клініки для тварин „Ветіко”, м. Львів при діагностиці та лікуванні неплідності дрібних тварин.

Імплант Супрелорін, що є синтетичним аналогом ГнРГ з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг, що застосовували для індукції еструсу у сук слід вводиться підшкірно в ділянці пупка, а виймати його на початку зростання концентрації прогестерону в сироватці крові вище 3 нг/мл.

ФОП, головний лікар
клініки для тварин „Ветіко”
Лікар ветеринарної медицини



Лехів Ю.С.
Грицевич А.Л.

ДОДАТОК М

„Затверджую”

Директор клініки для тварин

„Прайд”, м. Львів,

Вул. Володимира Великого, 22

Лехів Ю.С.

Акт

Про впровадження у ветеринарну практику

Складений про те, що схеми застосування імпланту Супрелорін для індукції еструсу у сук та матеріали дисертаційного дослідження аспірантки кафедри Акушерства, гінекології та біотехнології відтворення ім. Г.В.Зверєвої ЛНУВМБТ і. С.З.Гжицького Голумбійовської Т.В. використовуються у практичній діяльності клініки для тварин „Прайд”, м. Львів при діагностиці неплідності та відновленні відтворної функції у сук за допомогою імпланту Супрелорін.

Імплант Супрелорін, що є синтетичним аналогом ГнРГ з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг, що застосовували для індукції еструсу у сук слід вводиться підшкірно в ділянці пупка, а виймати його на початку зростання концентрації прогестерону в сироватці крові вище 3 нг/мл.

Акт складений в 3-х примірниках.

ФОП, головний лікар
клініки „Прайд”, м.Львів.



Лехів Ю.С.

ДОДАТОК Н

„Затверджую”

ФОП, директор ветеринарної клініки

„Загавет”, м. Львів, вул. Київська, 17

Личко Т. В.

Акт

Про впровадження застосування імпланту „Супрелорін” для індукції еструсу у сук.

Ми, що нижче підписані лікар ветеринарної медицини Личко Т.В., лікар ветеринарної медицини Микитей К.В. склали акт про те, що в умовах ветеринарної амбулаторії „Загавет” м. Львова впроваджено в клінічну практику застосування імпланту „Супрелорін” для індукції еструсу у сук при відновлення відтворної функції.

Імплант Супрелорін, що є синтетичним аналогом ГнРГ з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг, що застосовували для індукції еструсу у сук слід вводиться підшкірно в ділянці пупка, а виймати його на початку зростання концентрації прогестерону в сироватці крові вище 3 нг/мл.

Акт складено в 3-х примірниках.

ФОП, лікар ветеринарної медицини

ветеринарної амбулаторії „Загавет”

м.Львів.



Личко Т. В.

Лікар ветеринарної медицини амбулаторії „Загавет”,

м.Львів.



Микитей К. В.

ДОДАТОК О



„Затверджую”

Головний лікар Львівської міської
державної лікарні ветеринарної медицини

Промислова, 9
Пуківський Б.М.

Акт

Про впровадження у ветеринарну практику

Складений про те, що розроблені схеми застосування імпланту Супрелорін для індукції еструсу у сук та матеріали дисертаційного дослідження аспірантки кафедри Акушерства, гінекології та біотехнології відтворення ім. Г.В.Зверсові ЛНУВМБТ і. С.З.Гжицького Голумбійовської Т.В використовуються у практичній діяльності Львівської міської державної лікарні ветеринарної медицини при діагностиці та лікуванні неплідності дрібних тварин.

Імплант Супрелорін, що є синтетичним аналогом ГнРГ з діючою речовиною деслорелін 4,7 мг, що застосовували для індукції еструсу у сук слід вводиться підшкірно в ділянці пупка, а виймати його на початку зростання концентрації прогестерону в сироватці крові вище 3 нг/мл.

Акт складено в 3-х примірниках.

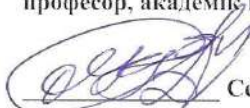
Головний лікар Львівської міської
державної лікарні
ветеринарної медицини



Пуківський М.Б.

ДОДАТОК П

Погоджено
Проректор з науково-педагогічної
роботи та розвитку, д. екон. н.,
професор, академік НААН України


Сергій КВАША
«___» _____ 2023 р.

Затверджую
Проректор з наукової роботи та
інноваційної діяльності, д. с.-г. н.,
доцент


Вадим КОНДРАТЮК
«___» _____ 2023 р.

А К Т

про впровадження / використання результатів кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес

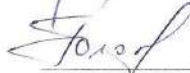
Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Відновлення репродуктивної функції у сук при застосуванні специфічного імпланту Супрелорін», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – Ветеринарна медицина, виконаної Голумбійовською Тетяною Василівною, впроваджено у навчальну програму при викладанні дисципліни: «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології».

Результати дисертаційної роботи Голумбійовської Тетяни Василівни щодо методів діагностики порушення відтворної функції та індукції еструсу у сук за допомогою імпланту Супрелорін використовуються при читанні лекцій та веденні лабораторних занять на кафедрі акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України, у підготовці фахівців ОС «Магістр» (галузь знань 21 – Ветеринарна медицина, спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

Декан факультету ветеринарної
медицини, д.б.н., професор,
академік НААН України


Микола ЦВІЛХОВСЬКИЙ

Директор НДІ здоров'я тварин
д.вет.н., професор


Сергій ГОЛОПУРА

Завідувач кафедри акушерства,
гінекології та біотехнології
відтворення тварин, к.вет.н., доцент


Олександр ВАЛЬЧУК

ДОДАТОК Р

**Затверджую**
Проректор з наукової та інноваційної діяльності
Білоцерківського національного аграрного університету
підпис _____ прізвище, ініціали Д. Варгас
« _____ » _____ 2023 р.
М.П.

А К Т **про впровадження / використання результатів** **кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес**

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Відновлення репродуктивної функції у сук при застосуванні специфічного імпланту Супрелорін», що подана на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина, виконана Голумбійовською Тетяною Василівною впроваджено у навчальні програми з дисципліни «Репродуктологія дрібних тварин»

Результати дисертаційної роботи Голумбійовської Тетяни Василівни щодо методів діагностики порушення відтворної функції та індукції еструсу у сук за допомогою імпланту Супрелорін використовуються під час читання лекцій, проведення лабораторних занять, а також під час проведення наукових досліджень на кафедрі Акушерства і біотехнології репродукції тварин Білоцерківського національного аграрного університету у підготовці фахівців ОС «Магістр» (галузь знань 21 – Ветеринарна медицина, спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

Протокол засідання кафедри № 6 від 15.06.2023.

Завідувач кафедри акушерства
і біотехнології репродукції тварин
канд. ветеринарних наук, доцент _____ Івасенко Б.П.

Доктор ветеринарних наук, доцент _____ Власенко С.А.

ДОДАТОК С

Затверджую
Проректор з наукової та міжнародної
діяльності
Сумського національного аграрного

університету
назва навчального чи наукового закладу
Ю. Данько
прізвище, ініціали
« » 2023 р.



А К Т про впровадження / використання результатів кандидатської дисертаційної роботи у навчальний процес

Цим актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Відновлення репродуктивної функції у сук при застосуванні специфічного імпланту Супрелорін», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – Ветеринарна медицина, виконаної Голумбійовською Тетяною Василівною, впроваджено у навчальну програму при викладанні дисципліни: «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології».

Результати дисертаційної роботи Голумбійовської Тетяни Василівни щодо методів діагностики порушення відтворної функції та індукції еструсу у сук за допомогою імпланту Супрелорін використовуються при читанні лекцій та веденні лабораторних занять на кафедрі Акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету України у підготовці фахівців ОС «Магістр» (галузь знань 21 – Ветеринарна медицина, спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

Протокол засідання кафедри № 12 від 2.06.2023.

Завідувач кафедри акушерства та хірургії
доктор ветеринарних наук, професор

Шкромада О.І.

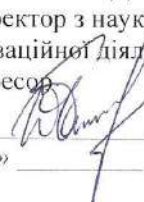
К. вет. н., доцент

Чекан О.М.

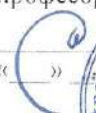
ПІДПИС
ЗАСВІДЧУЮ
ПРОВІДНИЙ
ФАХІВЕЦЬ
Організаційного
забезпечення

та Чекана О.М.

ДОДАТОК Т

ПОГОДЖЕНО
Проректор з наукової та
інноваційної діяльності,
професор
«» Юрій Ткаліч
« » « » 2023 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перший проректор – проректор з
навчальної роботи,
професор

«» Дмитро Онопрієнко
« » « » 2023 р.


А К Т

про впровадження / використання результатів дисертаційної роботи у навчальний процес і науково-дослідну роботу

Даним актом стверджується, що матеріали дисертаційної роботи
Голумбійовської Тетяни Василівни «Відновлення репродуктивної функції
у сук при застосуванні специфічного імпланту Супрелорін», поданої на
здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю
16.00.07 – ветеринарне акушерство, використовуються у навчальному процесі
та науково-дослідній роботі кафедри ветеринарної хірургії і репродуктології
Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри ветеринарної хірургії і
репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного
університету (протокол № 9 від 6 червня 2023 р.).

Декан факультету ветеринарної
медицини, доцент



Іван Бібен

Завідувач кафедри ветеринарної хірургії
і репродуктології, професор



Дмитро Білий