

ДОРОХОВА ЯНИНА ДМИТРИЕВНА

**ВЛИЯНИЕ "МАРИМИКС 5:0" НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ
ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ**

06.02.06 - ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург

2017

Работа выполнена на кафедре акушерства и оперативной хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины"

Научный руководитель - Племяшов Кирилл Владимирович
доктор ветеринарных наук

Официальные оппоненты: Григорьева Тамара Егоровна

доктор ветеринарных наук, профессор,
профессор кафедры морфологии акушерства и
терапии ФГБОУ ВО «Чувашская
государственная сельскохозяйственная
академия»

Семиволос Александр Мефодьевич

доктор ветеринарных наук, профессор,
профессор кафедры болезней животных и
ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ
ВО «Саратовский государственный аграрный
университет имени Н.И. Вавилова».

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I»

Защита состоится «23» ноября 2017 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.04 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5, тел/факс (812)388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «СПбГАВМ» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5.

Автореферат размещен на сайтах: ВАК Минобрнауки РФ: <http://vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВО «СПбГАВМ»: <http://spbgavm.ru> «21» сентября 2017 г.

Автореферат разослан: « » _____ 2017г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Лунегова Ирина Владимировна

Общая характеристика работы

Актуальность темы. В условиях интенсификации отрасли молочного скотоводства важнейшую роль играют вопросы воспроизводства. Несмотря на непрекращающиеся исследования в данном направлении, проблема бесплодия среди продуктивных животных остаётся актуальной по настоящее время.

Среди высокопродуктивных коров в условиях интенсивного молочного производства учащаются случаи возникновения заболеваний, вызванных нарушением обмена веществ. Метаболические нарушения в организме коров характеризуются изменением белкового, углеводного, жирового, минерального, витаминного и других видов обменов. Результатом является возникновение различных патологий, в том числе и патологий половой системы. В конечном счете животные рано теряют хозяйственную ценность и подвергаются выбраковке (Цэдэндорж Л., 1982; Кондратьев Ю.Н., Аброськина Л.С. и др., 1988; Епанчинцева О.С., Жерносенко А.А., 2002; Валюшкин К.Д., 2004; Нежданов А.Г., Лободин К.А., Богданова Н.Е., 2007; Середин В.А., 2007; Абрамов С.С., Горидовец Е.В., 2011; Попов Л.К., Злобин В.В., 2013; Ярова Д.П., Григ Э.Н. и др., 2014; Мищенко В.А. и др., 2014; Наумова А.А., Шеховцова Т.А. и др., 2014; Белобороденко А.М., Родниной И.А. и др., 2015; Попова О.М., 2015; Shin E.K., Jeong J.K., 2015). Часто обменные нарушения в организме коров обусловлены попытками производителей снизить себестоимость продукции за счёт увеличения её количества. Для этого используются новые подходы в кормлении, переход на другие типы рационов и т.д.

Гипофункция яичников – одна из наиболее частых причин бесплодия сельскохозяйственных животных. По данным различных источников на долю гипофункции может приходиться от 7 до 40% из всего количества бесплодных коров (Порфирьев И.А., Сошенко Л.П., 2006; Сковородин Е.Н., Гребенькова Н.В. 2009; Бородыня В.И., Лозова Л.В., 2011; Топурии Л.Ю. и Есказиной А.Б., 2012; Григорьева Т.Е., Кондручина С.Г. и др., 2014; Ярова Д.П., Григ Э.Н. и др., 2014; Епанчинцева О.С., Дудолодова Т.С. и др., 2015). В качестве наиболее частых причин возникновения гипофункции яичников у высокопродуктивных коров выделяют нарушения обмена веществ, связанных с несбалансированным кормлением. Важную роль в развитии гипофункции играют нарушения минерального обмена, вызванные недостаточным содержанием минералов в кормах или несбалансированностью рационов по этим элементам (Середин В.А., 2007; Наумова А.А., Шеховцова Т.А. и др., 2014; Попова О.М., 2015; Быкова О.А., 2015; Hidirolou M., 1979; Swanson L.V., 1989; Hackbart K.S., Ferreira R.M., 2010). Заболевание наносит предприятиям огромный экономический ущерб, т.к. обусловлено алиментарными причинами и носит чаще массовый характер. При этом ущерб складывается из затрат на содержание и лечение больных животных, недополучения телят и выбраковки высокопродуктивных коров.

Первостепенной задачей ветеринарных специалистов в профилактике патологий репродуктивной системы должна быть своевременная диагностика нарушений обмена веществ у высокопродуктивных животных, а в случае их выявления, организация рациональных и максимально эффективных лечебных мероприятий.

Для лечения животных с гипофункцией яичников разработано много методик, которые в большинстве своём основаны на применении гормональных препаратов. При условии наличия у коров обменных нарушений эти методики могут быть не эффективны без дополнительных мер по устранению проблем метаболизма. Существует общая рекомендация – нормализовать условия кормления животных для достижения положительного результата, однако далеко не всегда у предприятий есть возможность быстро скорректировать состав рационов. Вследствие чего существует необходимость в поиске новых альтернативных подходов к коррекции воспроизводительной функции у

высокопродуктивных коров в условиях интенсивного производства, которые обладают высокой степенью эффективности при минимальных затратах.

Степень разработанности темы. Методики лечения гипофункции яичников у высокопродуктивных коров с использованием биологически активных препаратов предлагались и ранее (Валге А.А., 1965; Джанашия Х.Т. и Салалов Ю.Т., 1967; Гамаюнов В.М., Зорькин В.Н., Турлаков А.П., 2004; Межевов А.Б., 2012; Чернова Е.Н., 2011; Ярова Д.П., Григ Э.Н. и др., 2014; Мусаев Ф.А., Торжков Н.И. и др., 2014). Однако исследований по применению препарата "Маримикс 5:0" в качестве лечебного средства при гипофункции яичников у высокопродуктивных коров не проводилось. Проблема широкой распространённости заболеваний, обусловленных нарушением метаболизма, является очень острой в настоящее время, но при этом вопросы профилактики и лечения остаются открытыми и недостаточно изученными. Таким образом выбор данной темы исследования является аргументированным с теоретической и практической точки зрения.

Цель и задачи исследований. Целью работы являлось изучить влияние препарата «Маримикс 5:0» на организм высокопродуктивных коров с гипофункцией яичников.

Для выполнения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявить возможные причины возникновения гипофункции яичников у коров на основании результатов комплексных исследований (анамнез, клиническая картина, биохимические исследования крови, гистологическое исследование яичников).
2. Проанализировать результаты биохимических, гормональных исследований крови, клинических наблюдений за животными опытных групп и группы контроля. Определить характер влияния "Маримикс 5:0" на показатели сыворотки крови и воспроизводительную функцию высокопродуктивных коров.
3. Определить возможность использования препарата "Маримикс 5:0", как средства для коррекции воспроизводительной функции, в монорежиме и в составе комплексной терапии гипофункции яичников у коров. Разработать схему применения препарата при внутривенном его введении.

Научная новизна. Впервые разработана схема применения "Маримикс 5:0" внутривенно коровам с гипофункцией яичников. Предложен метод коррекции воспроизводительной функции высокопродуктивных коров с использованием «Маримикс 5:0». Рассмотрен вариант использования препарата «Маримикс 5:0» в монорежиме и в составе комплексной терапии.

Практическая и теоретическая значимость работы: Результаты исследований представляют собой данные, позволяющие усовершенствовать процесс диагностики и лечения коров с гипофункцией яичников. В ходе исследований был разработан метод коррекции состояния метаболизма высокопродуктивных коров и лечения гипофункции яичников путём парентерального введения биологически активного препарата «Маримикс 5:0». Данные, полученные в ходе исследований, могут быть использованы в научных целях, при чтении лекций и проведении занятий по дисциплине «Акушерство и гинекология животных», а также могут быть включены в учебные пособия. Материалы диссертации внедрены в учебный процесс кафедры акушерства и оперативной хирургии Санкт-Петербургской Государственной академии ветеринарной медицины, в производственный процесс ЗАО "Гатчинское" и ЗАО "Племхоз им. Тельмана" Ленинградской области.

Методология и методы исследования: Методологической основой исследований являлось изучение влияния препарата "Маримикс 5:0" на обмен веществ и

воспроизводительную функцию коров с гипофункцией яичников. Результаты получены с использованием общеклинических, биохимических, гистологических и статистических методов исследований.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Влияние препарата «Маримикс 5:0» на воспроизводительную функцию и гормональный статус коров при гипофункции яичников.
2. Динамика биохимических показателей крови коров с гипофункцией яичников при внутривенном введении препарата "Маримикс 5:0".
3. Результативность осеменений коров после применения "Маримикс 5:0".
4. Экономическая эффективность применения "Маримикс 5:0" для коррекции функции воспроизводства высокопродуктивных коров.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Опыт поставлен на достаточном по численности материале, в соответствии с принятым планом исследования. Все клинические, морфологические данные, а также результаты биохимического исследования крови были получены с применением современного сертифицированного оборудования с последующей статистической обработкой. Для проведения статистического анализа результатов использовалась программа SPSS 17, аналитический пакет программы MicrosoftExcel, достоверность определялась с использованием критерия Стьюдента.

Материалы диссертации были доложены, обсуждены и одобрены на:

- Международной научной конференции молодых ученых и студентов ФГБОУ ВПО СПбГАВМ (СПб, 2015);
- Международной научной студенческой конференции МНСК-2015 (Новосибирск, 2015);
- Международной научной студенческой конференции МНСК-2016 (Новосибирск, 2016);
- Международном Ветеринарном Конгрессе VETistanbulGroup (Санкт-Петербург, 2015);
- 10 и 11 Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной науки в 21 веке» (Махачкала, 2016);
- III Международной научной медицинской конференции «Современные медицинские исследования» (Кемерово, 2016).

Публикации: По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, 3 из них в рецензируемых журналах ВАК РФ («Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии», «Международный вестник ветеринарии»).

Структура и объем диссертации: Материалы диссертации изложены на 138 страницах стандартного компьютерного текста, включает в себя введение, анализ литературных источников и обоснование выбранного направления исследований, результаты исследований, заключение, практические рекомендации, список литературы. Работа содержит 35 таблиц, 17 рисунков. Список литературы включает в себя 144 источник, из них 125 на русском и 19 на иностранных языках.

Основное содержание работы

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в период с 2013 по 2016 год на кафедре «Акушерства и оперативной хирургии» ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины» и в производственных условиях хозяйства ЗАО "Племхоз им. Тельмана" Ленинградской области молочного направления производства. Лабораторные исследования осуществлялись в клиничко-биохимической лаборатории ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины».

Объектами исследования служили коровы чёрно-пёстрой голштинизированной породы с признаками нарушения функциональной активности яичников (анафродизия более 90 дней). Всего было обследовано 75 голов крупного рогатого скота, 60 из них были отобраны для проведения эксперимента. Животных подбирали по принципу условных аналогов на основании результатов общеклинических, гинекологических исследований, сбора анамнеза. В общую группу вошли коровы, у которых отсутствовали признаки других патологий, среднего возраста 4-5 лет (3-й - 4-й отёл), с периодом анафродизии 92 - 139 дней, продуктивностью 7500кг за лактацию.

Опыт проведён в соответствии с требованиями к эксперименту, постановке контроля, обеспечению одинаковых условий содержания и кормления животных в период проведения исследования, а также учета результатов.

Рационы кормления составлялись для отдельных групп в зависимости от среднесуточного удоя и периода репродуктивного цикла. В состав рациона входили силос, сено, заготавливаемые непосредственно хозяйством, а также корнеклубнеплоды, концентраты, витаминные и минеральные добавки. Анализ рационов по минеральным веществам показал, что на одну корову приходится кальция 114,34г; фосфора 101,95г; меди 138 мг; марганца 669,3 мг. Условия содержания и кормления у всех групп были аналогичны.

Подопытные животные были разделены на 4 группы по 15 голов в каждой. Первой подопытной группе (n=15) вводили «Маримикс 5:0», внутривенно, в дозе 100 мл на голову, в совокупности с парентеральным введением гормональных средств – Фоллимага (гонадотропин СЖК) – 1000МЕ и Эстрофана (клопростенол) – 2 мл, внутримышечно однократно. Второй подопытной группе (n=15) внутривенно вводили только препарат «Маримикс 5:0», в дозе 100 мл на голову, однократно. Третья подопытная группа - контроль положительный (контроль(+)), ей применяли препараты Фоллимаг (гонадотропин СЖК) – 1000МЕ и Эстрофан (клопростенол) – 2 мл, внутримышечно однократно, что соответствует принятой в хозяйстве схеме стимуляции воспроизводительной функции. Четвёртая группа (n=15) - контроль отрицательный (контроль(-)) - лекарственные препараты не применялись. Контрольными промежутками служили периоды в 14 дней, по истечении которых оценивалось общее клиническое состояние коров, наличие признаков наступления стадии возбуждения полового цикла, а также состояние яичников. При отсутствии положительной динамики введение препаратов повторяли. Общая продолжительность опыта составляла 28 дней.

Взятие крови для биохимического исследования, а также для определения содержания гормонов в сыворотке крови осуществляли до начала эксперимента с целью определения базового уровня. В дальнейшем, при выявлении положительной динамики (клинические признаки стадии возбуждения, появление на поверхности яичников фолликулов и/или желтых тел) на 14 день, кровь брали повторно. На 28 день наблюдений взятие крови производили от животных у которых за весь период опыта не отмечалось каких либо изменений в состоянии, либо наблюдались признаки неполноценных половых циклов (отсутствие клинических признаков стадии возбуждения при наличии

структурных изменений в яичниках). Кровь брали из подхвостовой вены с помощью вакуумной системы для взятия венозной крови фирмы Vacuette.

В сыворотке крови определяли концентрацию кальция, фосфора, меди, марганца, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ), общий белок, резервную щелочность с помощью биохимического полуавтоматического анализатора Clima MC-15 (фирма RAL).

Концентрацию гормонов (эстрадиол, прогестерон) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (анализатор MultiskanEX фирмы Thermo).

Для оценки состояния животных в ходе эксперимента производили регулярный их осмотр, учитывали данные анамнеза. Признаками наступления стадии возбуждения полового цикла считались изменения в поведении коров, а именно появление беспокойства, частое мычание, стремление к другим животным и человеку, выгибание спины, поднимание хвоста, запрыгивание на других коров, снижение аппетита. Кроме того клинически выявляли набухание наружных половых органов и выделение слизи (Шипилов В.С., 1977). Производили ректальные исследования, в ходе которых фиксировали любые изменения в состоянии яичников и матки, а также время начала течки и охоты.

Всех коров, у которых за период проведения опыта отмечали восстановление воспроизводительной функции, осеменяли. Оценку результативности осеменений проводили по результатам ректальных исследований на 90-й день от момента осеменения.

Для гистологического исследования были взяты яичники от выбракованных животных из первой и контрольной групп. Причина выбраковки - травматизм. Образцы фиксировали в жидкости Буэна. Обезвоживание и уплотнение производили в ряде спиртов возрастающей концентрации. Далее осуществляли заливку в парафин. Срезы толщиной 5-6 мкм изготавливали на санном микротоме. После депарафинизации их окрашивали гематоксилином и эозином, а также гематоксиллин-пикроиндигокармином. Готовые препараты просматривали с помощью светового микроскопа МИКМЕД – 5 (ЛОМО) с камерой для микроскопов TourCam в программе TourView 3.7, при увеличении 200.

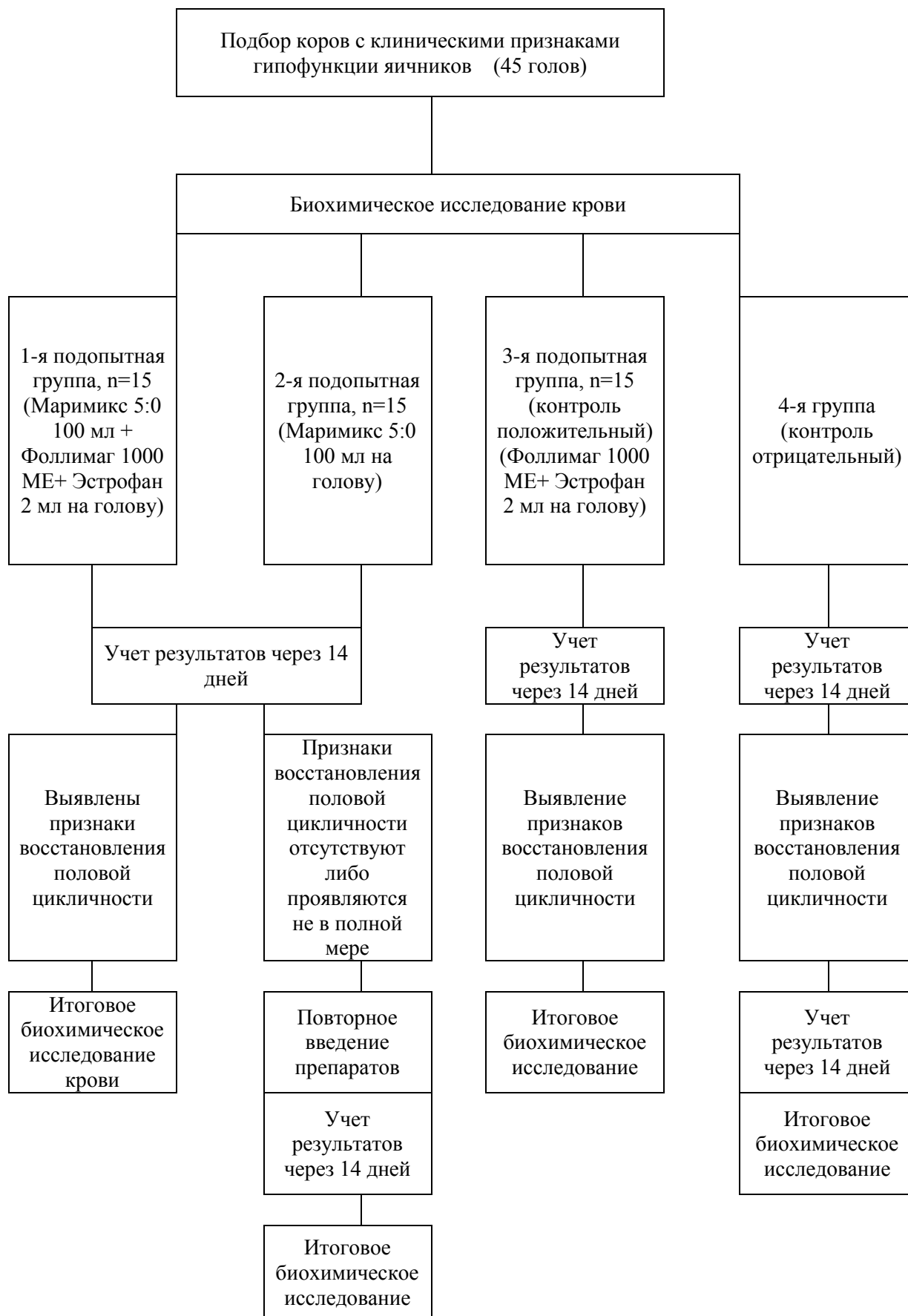
Препарат «Маримикс 5:0» представляет собой жидкость соломенно-желтого цвета, прозрачную с лёгким рыбным запахом; на дне флаконов при хранении может образовываться в норме небольшое количество осадка. По составу препарат представляет собой 5% водный раствор гидролизата мяса мидий. Действующим началом являются аминокислоты, жирные кислоты, макро- и микроэлементы (таблица 1, 2, 3). Механизм действия препарата основан на насыщении организма животных жизненно необходимыми веществами и эффективном восполнении недостатка при его наличии. Органическое происхождение препарата положительно сказывается на его усвоении и распределении в организме.

Препарат не оказывает местного раздражающего, кожного-резорбтивного действия, не обладает эмбриотропным, раздражающим и алергизирующим действиями. Относится к IV классу опасности – малоопасные вещества. (Попова О.С., 2013).

Фоллимаг – гонадотропный гормон СЖК (сыворотки жеребых кобыл). Обладает фолликулостимулирующей, лютеонизирующей активностью. Применяется для восстановления воспроизводительной функции у различных видов сельскохозяйственных животных, в том числе и у коров (Нежданов А.Г., Лободин К.А., Матюнин В.И., 2003; Анзоров В.А., Эльдаров Б.А., 2009; Малахова Л.С., Новопашина С.И., 2011; Майорова О.В., Григорьев В.С., 2012; Мешков И.В., Баймишев Х.Б., 2015; Суоров А.И., Сердюков В.Н. и др., 2016).

Эстрофан (клопростенол) – препарат простагландина F2 α . Применяется для стимуляции функциональной активности яичников (Анзоров В.А., Эльдаров Б.А., 2009; Магомедова З., Вареников М., 2009; Краснослободцева А.С., 2010; Анзоров В.А., Морякина С.В., 2015; Никитеев П.А., 2016).

Схема опыта



Результаты собственных исследований

Влияние «Маримикс 5:0» на минеральный обмен коров с гипофункцией яичников

В данном разделе исследований основное внимание уделялось изменениям состояния минерального обмена у высокопродуктивных коров с гипофункцией яичников алиментарной этиологии при введении препарата «Маримикс». Критериями оценки уровня метаболизма минеральных веществ служили кальций, фосфор, кальций-фосфорное отношение, а также определялась концентрация микроэлементов, оказывающих непосредственное влияние на функцию воспроизводства – меди и марганца.

Исследование крови коров с клинически установленным диагнозом гипофункция яичников до начала опыта показало, что концентрации минеральных веществ, таких как кальций и фосфор находятся в пределах физиологической нормы (2,48-3,8 ммоль/л для кальция и 1,4 - 2,3 ммоль/л для фосфора), однако они максимально приближены к нижней границе (таблица 4).

Таблица 4

Концентрации кальция, фосфора и кальций-фосфорное отношение в ходе опыта

Показатель		Кальций	Фосфор	Ca/P
Группа 1	До начала опыта	2,44±0,16	1,42±0,13	1,83±0,32
	После	2,76±0,16 *	1,62±0,15 *	1,81±0,3
Группа 2	До начала опыта	2,46±0,15	1,39±0,11	1,86±0,25
	После	2,84±0,13 *	1,58±0,17 *	1,88±0,29
Контроль (+)	До начала опыта	2,45±0,17	1,43±0,15	1,75±0,19
	После	2,16±0,14*	1,78±0,13 **	1,21±0,10 **
Контроль (-)	До начала опыта	2,46±0,29	1,43±0,16	1,75±0,20
	После	2,34±0,26	1,78±0,13**	1,32±0,14**

*- $p < 0,05$; **- $p < 0,001$

Если рассматривать уровни кальция и фосфора с точки зрения кальций-фосфорного отношения, то отмечается сходная картина. Показатели находятся в пределах нормы.

Полученные данные позволяют сделать вывод о наличии у животных нарушений минерального обмена. Так как подопытные коровы находились в периоде лактации, то их потребность в минеральных веществах особенно велика и должна восполняться за счёт рационов, однако этого не происходит. Анализ рациона по минеральным веществам показал, что он не содержит достаточного количества минераллов в соответствии с нормами кормления для данной производственной группы. Развивается минеральная недостаточность.

Применение препарата «Маримикс 5:0» коровам первой и второй групп способствовало повышению уровня кальция в крови на 13,11% ($p < 0,05$) и 15,45% ($p < 0,05$) соответственно. Зафиксирована тенденция к снижению в группах контроля. Однако статистически достоверные изменения отмечались только в группе контроля(+) - концентрация кальция снизилась на 11,84% ($p < 0,05$).

Уровень фосфора повысился в крови коров всех групп. Особенно резкий скачок отмечался в контрольных группах – 24,48%($p<0,001$). В первой и второй группах повышение не такое значительное и составляет 14,08%($p<0,05$) и 13,67% ($p<0,05$) соответственно. Это объясняется высоким уровнем фосфора в рационе животных.

Нормализация обменных процессов у животных из этих групп скоординировало усвоение фосфора. За счет пропорционального повышения кальция и фосфора в первой и второй группах кальций-фосфорное отношение сохраняет своё значение. В группах контроля резкое увеличение уровня фосфора приводит к уменьшению отношения до $1,21\pm 0,10$ ($p<0,001$) в группе контроля (+) и $1,32\pm 0,14$ ($p<0,001$) в группе контроля (-).

Установлено снижение концентраций меди и марганца (таблица 5). При норме – 70 - 100 мкг% для меди и 4-5 мкг% для марганца.

Таблица 5

Концентрации меди и марганца в ходе опыта

Показатель		Медь	Марганец
Группа 1	До начала опыта	58,59±3,92	3,66±0,26
	После	72,55±3,9 *	4±0,22 **
Группа 2	До начала опыта	58,25±3,67	3,64±0,24
	После	73,84±4,15 *	4,03±0,22 **
Контроль (+)	До начала опыта	58,09±4,52	3,65±0,25
	После	55,96±3,87	3,49±0,22
Контроль (-)	До начала опыта	58,33±3,8	3,62±0,21
	После	57,72±3,91	3,65±0,25

*- $p<0,001$; **- $p<0,01$

Концентрация меди в первой и второй группах повышается на 23,8%($p<0,001$) и 26,8% ($p<0,001$) соответственно, марганца на 9,3% ($p<0,01$) и 9,9 % ($p<0,01$) соответственно. В группах контроля концентрации минеральных веществ продолжают снижаться.

Влияние «Маримикс 5:0» на обмен веществ у коров с гипофункцией яичников

Для оценки состояния обмена веществ определялась активность ферментов аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ),показатель щелочного резерва (ЩР), концентрация общего белка (ОБ).

Таблица 6

Показатели щелочного резерва, АЛТ, АСТ, общего белка в ходе опыта

	Группа 1		Группа 2		Контроль(+)		Контроль (-)	
	До начала опыта	После	До начала опыта	После	До начала опыта	После	До начала опыта	После
ЩР	50,53± 2,62	48,13± 2,39	50,67± 3,77	47,67± 2,64	50,23± 3,23	47,47± 2,70	50,13± 3,32	47,73± 2,34
АЛТ	43,38± 1,68	39,09± 1,51*	43,84± 1,02	39,3± 1,15 *	43,7± 2,03	46,75± 1,95	43,39± 2,88	45,40± 2,76

АСТ	79,99± 7,17	80,06± 7,0	79,12± 7,1	76,44± 6,93	79,74± 6,44	83,06± 7,41	79,94± 6,92	80,18± 6,84
ОБ	79,51± 2,93	79,82± 3,13	79,87± 2,77	79,55± 2,75	79,57± 2,17	72,08± 4,20 **	79,67± 2,96	77,99± 2,83

*- $p < 0,02$; **- $p < 0,001$

При первичном биохимическом исследовании сыворотки крови, активность фермента АЛТ повышена у всех коров (таблица 6), при норме 27-42 ЕД/л. Активность фермента АСТ находится на верхней границе референсных значений (56-85 ЕД/л). Это может косвенно свидетельствовать о наличии у коров хронических заболеваний печени (гепатозов). Наличие гепатоза является признаком прогрессирующих метаболических нарушений в организме коров.

По завершении опыта отмечено, что активность АЛТ снизилась в первой и второй группах на 9,89% ($p < 0,02$) и 10,36% ($p < 0,02$) соответственно, что может свидетельствовать о положительном влиянии препарата «Маримикс 5:0» на обмен веществ и косвенно на функциональное состояние печени, как органа, участвующего во всех видах обменных процессов. В группах контроля достоверных изменений активности данных ферментов не отмечается. Активность фермента АСТ не изменилась.

В изменениях уровня щелочного резерва чёткой закономерности не выявлено (таблица 5). Тенденция к снижению отмечается во всех трёх группах. Колебания не выходят за пределы референсных значений (46-66 об% CO_2).

При первичном исследовании крови концентрация общего белка у животных всех групп имеет близкие значения и находится в пределах физиологической нормы (таблица 5) 60-85 г/л. В дальнейшем в первой и второй группах концентрация общего белка статистически не изменяется. В группе контроля(+) зафиксировано снижение концентрации общего белка на 8,62% ($p < 0,001$) по сравнению с первоначальным показателем. Кроме того, значение общего белка по этой группе теперь находится ниже физиологической нормы. Интенсификация обменных процессов, необходимая для восстановления воспроизводительной функции требует определённых затрат пластических веществ, к которым относятся белки. В период лактации эти затраты особенно велики. За счёт поступления составных компонентов белка извне, коровам из первой и второй подопытных групп удалось компенсировать эту потребность. У животных из группы контроля отсутствовал дополнительный источник белковых компонентов, это по всей видимости и привело к снижению уровня общего белка в крови.

Изменение гормонального статуса коров с гипофункцией яичников под влиянием «Маримикс 5:0»

Таблица 7

Концентрация эстрадиола и прогестерона в ходе опыта

	Эстрадиол		Прогестерон	
	1-е исслед	2-е исслед	1-е исслед	2-е исслед
Группа 1	98,33±8,99	131,3±10,15 *	0,76±0,1	5,06±0,9 *
Группа 2	99,67±7,89	133,47±6,44*	0,77±0,12	5,1±0,67*
Контроль(+)	99,60±5,50	129,07±10,39 *	0,77±0,11	4,44±0,54 *
Контроль(-)	99,60±6,96	114,30±7,02*	0,76±0,10	2,87±0,74*

*- $p < 0,001$

В группах, где применялся исследуемый препарат, отмечалось повышение концентраций прогестерона и эстрадиола (таблица 7). Прогестерон в первой и второй группе увеличился в 6,66 ($p<0,001$) и 6,62 ($p<0,001$) раза соответственно. Концентрация эстрогенов в первой и второй группах возросла в равной степени, в 1,34 раза ($p<0,001$). Такое изменение концентрации половых гормонов связано с активным восстановлением у этих животных функции яичников и появлении структур – фолликулов, желтых тел, интенсивно продуцирующих данные вещества. С уровня базальной секреции концентрация половых гормонов повысилась до уровней, соответствующих таковым в условиях наличия физиологического полового цикла. В группе контроля(+) концентрация прогестерона увеличилась в 5,77 раз ($p<0,001$), концентрация эстрадиола в 1,3 раза ($p<0,001$). В группе контроля(-) также было отмечено увеличение уровня гормонов, оно составляло 3,92 раз ($p<0,001$) для прогестерона и 1,15 раз ($p<0,001$) для эстрадиола. Эти изменения происходят в основном за счёт животных, у которых отмечалось появление на поверхности яичников фолликулов и жёлтых тел. У остальных коров результаты первичного и повторного исследования сыворотки крови относительно близки.

Влияние «Маримикс 5:0» на воспроизводительную функцию коров с гипофункцией яичников

Таблица 8

Результаты восстановления воспроизводительной функции у коров в ходе опыта

		I Подопытная группа		II Подопытная группа		Контроль (+)	Контроль (-)
Положительный результат	Однократное введение	7 коров (46,7%)	11 коров (73,4%)	4 коровы (26,7%)	8 коров (53,4%)	4 коров (26,7%)	2 коровы (13,3%)
	Двукратное введение	4 коровы (26,7%)		4 коровы (26,7%)		5 коров (33,3%)	–
Сомнительный результат		3 коровы (20,0%)		5 коров (33,3%)		2 коровы (13,3%)	4 коровы (26,7%)
Отрицательный результат		1 корова (6,7%)		2 коровы (13,3%)		4 коров (26,7%)	9 коров (60,0%)

Наблюдение за коровами, участвующими в опыте показало, что в первой группе 73,4% животных показали положительный результат на введение препаратов (таблица 8). При этом у животных отмечались признаки восстановления половой цикличности, появлялись клинические признаки стадии возбуждения полового цикла и изменения в яичниках. Из них 46,7% коров для достижения положительного результата потребовалось однократное введение препаратов (признаки стадии возбуждения отмечались на $9\pm 1,3$ день от момента введения), а 26,7% - двукратное введение препаратов (признаки стадии возбуждения на 19 ± 1 день). Сомнительный результат был у коров, у которых при наличии изменений в яичниках, отсутствовала клиника стадии возбуждения полового цикла – 20,0%. Отрицательным считался результат, при котором полностью отсутствовала реакция со стороны организма коров на лечение – 6,6%.

Во второй группе положительный результат был зафиксирован у 53,4% коров. На однократное (признаки стадии возбуждения на $9,75\pm 1,7$ день) и двукратное (признаки стадии возбуждения на $18,5\pm 2,4$ день) применение препарата "Маримикс 5:0"

приходилось по 26,7% коров. Сомнительный результат зафиксирован у 33,3 % животных, а 13,3% показали отрицательный результат.

И в первой, и во второй группах отмечалось достоверное увеличение размеров яичников у коров.

Различие между группами обусловлено тем, что в первой подопытной группе использовался комплексный подход. Исследуемый препарат применялся в совокупности с гормональными средствами. Оказывая положительное влияние на состояние обмена веществ, препарат «Маримикс 5:0» способствовал более эффективному воздействию гормональных компонентов на организм коров. Ответная реакция на воздействие развивалась у животных быстрее. Во второй группе применение препарата «Маримикс 5:0" также способствовало восстановлению обменных процессов, но без дополнительной стимуляции гормональными препаратами, восстановление воспроизводительной функции происходило медленнее и менее эффективно, нежели в первой группе.

В группе контроля(+)восстановление воспроизводительной функции отмечалось у 9 коров: у 4- х после однократного введения препаратов и у 5 после повторного введения (таб. 28,32). Сомнительный результат, характеризующийся неполноценными циклами отмечен у 2-х коров и 4-х коров полностью отсутствовали признаки восстановления функции воспроизводства. Использование гормональной стимуляции без дополнительной стабилизации обменных процессов в большинстве случаев не дала положительного результата. Активизация функции половой системы требует общего напряжения организма и определённых затрат питательных веществ. При наличии у животных обменных нарушений, вызванных недостатком отдельных веществ в рационах или некорректной их сбалансированностью, резервы организма, которые можно было бы задействовать, уже достаточно истощены или отсутствуют. Любая стимуляция гормональными средствами может привести к еще более серьёзным нарушениям в организме и развитию новых патологий. Это наглядно подтверждают результаты биохимического исследования крови, описанные ранее.

В группе контроля (-) положительная реакция на терапию была отмечена у 13,3% коров (признаки стадии возбуждения регистрировались на $6,5 \pm 0,7$ день). У 26,7% результат был отнесён к сомнительным и 60,0% животных не дали ответной реакции на терапию. Размеры яичников коров остались прежними. Результаты осеменения коров по группам представлены в таблице 9.

Таблица 9

Результативность осеменений коров по группам

Группа	Всего коров, гол	Зафиксирована течка и охота, гол	Осеменено	Результаты исследования на стельность (ректальное, на 90-й день после осеменения)	
				Стельные	Яловые
I	15(100%)	11(73,4%)	11(73,4%)	9(60,0%)	2(13,4%)
II	15(100%)	8(53,4%)	8(53,4%)	5(33,4%)	3(20,0%)
Контроль (+)	15(100%)	9(60,0%)	9(60,0%)	4(26,6%)	5(33,4%)
Контроль (-)	15(100%)	2(13,3%)	2(13,3%)	1(6,7%)	1(6,7%)

При этом лучшая результативность осеменений по исследованию отмечалась в первой подопытной группе и составляла 60,0% стельных коров, против 13,4% яловых (от общего количества коров в группе). В свою очередь самый низкий результат отмечается в

контрольной (отрицательный) группе - 6,7% стельных и столько же яловых (от общего количества коров в группе).

Гистологическое исследование яичников коровы из первой группы показало наличие большого количества фолликулов разной степени зрелости в корковой зоне яичников (рисунок 1). У коровы из группы контроля (-) отмечались лишь единичные незрелые фолликулы, обнаруживались фолликулы, находящиеся в процессе атрезии (рисунок 2).



Рисунок 1 (окраска: гематоксилин-пикроиндигокармин; увел. 200) - Фрагмент коркового вещества яичника (хорошо видна белочная оболочка и фолликулы разной степени зрелости)

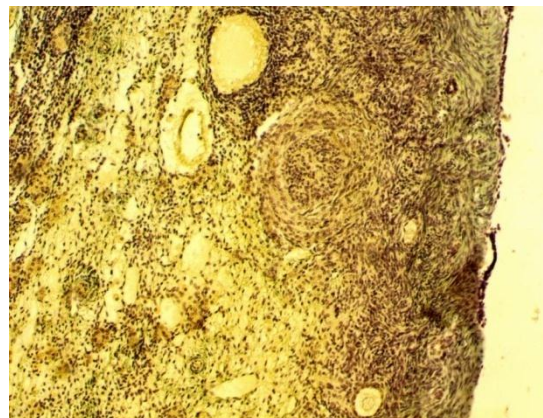


Рисунок 2 (окраска: гематоксилин-пикроиндигокармин; увел. 200) - Фрагмент коркового вещества яичника (видны единичные фолликулы ранней степени зрелости и фолликулы в состоянии атрезии)

Экономическая эффективность использования «Маримикс 5:0» в комплексном лечении гипофункции яичников у коров

Коровы с гипофункцией яичников, у которых воспроизводительная функция не восстанавливается при применении лечебных препаратов, подлежат выбраковке по завершении лактации, так как их дальнейшее содержание не является целесообразным. Применение препарата «Маримикс 5:0» в дозировке 100-200 мл на голову, в совокупности со стандартной для хозяйства гормональной терапией, позволило восстановить воспроизводительную функцию у 11 коров. В группе контроля (+) воспроизводительная функция восстановилась только у 9 животных. Подсчёт экономической эффективности применения препарата «Маримикс 5:0» в совокупности с гормональной схемой осуществлялся по общепринятой методике, представленной в методических указаниях авторства Калишина Н.М., Баранцева И.Д. и др. (1998).

Экономический ущерб в данном случае складывается из преждевременной выбраковки коров (У1), недополучения телят (У2) и затрат на лечение (Зв).

Общий экономический ущерб (Уо) в группе контроля составляет 230975 рублей; в 1-й подопытной группе – Уо = 151000 рублей.

Предотвращенный экономический ущерб (Пу) составляет 230975 руб – 151000 руб = 79975 руб. Экономический эффект (Эв) от применения препарата «Маримикс 5:0»: Пу – Зв.

Эв = 79975 руб – 25599 руб = 54376 руб.

Экономический эффект от комплексного применения исследуемого препарата и стандартной для хозяйства гормональной схемы на 1 рубль затрат составляет 54376 руб/25542 руб = 2,12 рубля.

Можно сделать вывод, что применение препарата «Маримикс 5:0» для комплексной терапии коров с гипофункцией яичников является экономически обоснованным в условиях данного хозяйства.

Заключение

В результате проведенных исследований у коров с диагнозом гипофункция яичников были выявлены нарушения обмена веществ, что проявлялось снижением концентрации минеральных веществ, повышенной активностью ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови. Диагноз был подтвержден результатами гормональных исследований.

Применение препарата «Маримикс 5:0» внутривенно позволило нормализовать обменные процессы, что положительно повлияло на воспроизводительную функцию. Отмечалось восстановление функциональной активности яичников у коров первой и второй подопытных групп о чем свидетельствуют результаты исследований крови на концентрацию гормонов.

Выводы

1. В ЗАО "Племхоз им. Тельмана" гипофункция яичников регистрируется у 40% бесплодных коров. Клиническое исследование подопытных животных показало, что гипофункция яичников проявлялась анафродизией до $115,93 \pm 14,17$ дней, уменьшением яичников в размере, отсутствием на поверхности функциональных образований, таких как фолликулы и желтые тела. У единичных животных пальпировались остаточные желтые тела.

2. Биохимическое исследование крови показало наличие у коров с гипофункцией яичников нарушений общего обмена веществ и минерального обмена в частности. Это характеризовалось приближающимися к нижней границе нормы концентрациями кальция ($2,45 \pm 0,26$ ммоль/л при норме 2,5-3,11 ммоль/л) и фосфора ($1,41 \pm 0,20$ ммоль/л при норме 1,45-2,10 ммоль/л), сниженными концентрациями меди ($57,69 \pm 4,25$ мкг% при норме 70-100 мкг%) и марганца ($3,65 \pm 0,25$ мкг% при норме 4-5 мкг%), повышенной активностью АЛТ ($43,57 \pm 3,93$ МЕ при норме 27-42 МЕ), приближающейся к пороговым значениям активностью АСТ ($79,57 \pm 7,25$ МЕ при норме 56-85 МЕ).

3. Применение препарата «Маримикс 5:0» коровам с гипофункцией яичников способствовало восстановлению воспроизводительной функции в первой подопытной группе у 73,4% коров, во второй подопытной группе у 53,4% коров. Это сопровождалось проявлением ярко выраженных клинических признаков стадии возбуждения. При трансректальном исследовании отмечалось увеличение яичников в размерах, появлением на поверхности яичников фолликулов и желтых тел.

4. После применения препарата "Маримикс 5:0" эффективность осеменений в первой и второй подопытных группах составила 60,0% и 33,4% от всего количества животных, против 26,6% зафиксированных в группе контроля, которой применялись только гормональные препараты.

5. Наличие гипофункции яичников подтверждено результатами исследования сыворотки крови на эстрадиол и прогестерон. Оба вещества находились в крови в низких концентрациях: эстрадиол - $99,18 \pm 8,01$ пг/мл, прогестерон – $0,77 \pm 0,11$ нг/мл. В свою очередь, нормализация половой функции сопровождалась повышением концентрации эстрадиола до $132,48 \pm 8,3$ пг/мл ($p < 0,001$) и прогестерона до $5,08 \pm 0,8$ нг/мл ($p < 0,001$) в крови коров.

5. Внутривенное введение препарата «Маримикс 5:0» в дозе 100 мл на голову способствовало нормализации минерального обмена. Повысился уровень кальция (в первой подопытной группе на 13,11% ($p < 0,05$) и второй на 15,45% ($p < 0,05$)) и фосфора (на 14,08% ($p < 0,05$) и 13,67% ($p < 0,05$)), кальций-фосфорное отношение при этом осталось неизменным. Выросли до нормальных значений концентрации меди ($73,2 \pm 4,12$ мкг% ($p < 0,001$)) и марганца ($4,0 \pm 0,22$ мкг% ($p < 0,01$)).

6. Применение препарата «Маримикс 5:0» способствовало снижению активности фермента АЛТ на 9,89% ($p < 0,02$) и 10,36% ($p < 0,02$). Также в крови сохранялся высокий уровня общего белка в пределах $79,7 \pm 2,9$ г/л, в то время как в контрольной группе этот показатель снижается до $72,82 \pm 4,39$ г/л ($p < 0,001$).

7. Применение препарата "Маримикс 5:0" в составе комплексной терапии гипофункции яичников является экономически обоснованным мероприятием, что подтверждает экономическая эффективность 2,12 рублей, на один рубль затрат.

Практические предложения

Для коррекции воспроизводительной функции у высокопродуктивных коров с гипофункцией яичников, обусловленной нарушением обмена веществ, и повышения эффективности гормональной терапии рекомендуется использовать препарат «Маримикс 5:0» в дозировке 100 мл на голову внутривенно. При необходимости введение препарата следует повторить через 14 дней после первого применения.

Список опубликованных работ по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных изданиях

1. Дорохова Я.Д. Влияние препарата "Маримикс 5:0" на уровень кальция в крови коров с гипофункцией яичников / Я.Д. Дорохова, Н.Б. Баженова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2016. - №1. - С. 120-122.
2. Дорохова Я.Д. Коррекция нарушений минерального обмена и восстановление воспроизводительной функции у коров при применении препарата "Маримикс 5:0" / Я.Д. Дорохова, К.В. Племяшов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2016. - №4. - С. 116-118.
3. Дорохова Я.Д. Влияние препарата "Маримикс 5:0" на минеральный обмен и воспроизводительную функцию высокопродуктивных коров / Я.Д. Дорохова, К.В. Племяшов // Международный вестник ветеринарии. - 2016. - №4. - С. 75-79.

Статьи в других научных изданиях

1. Дорохова Я.Д. Коррекция состояния яичников при их гипофункции у высокопродуктивных коров / Я.Д.Дорохова // Международная научная конференция молодых ученых и студентов: материалы 69 науч.- практ. конф./ «СПбГАВМ». – Санкт-Петербург, 2015. – С. 30-31.
2. Дорохова Я.Д. Лечение высокопродуктивных коров при гипофункции яичников с использованием биологически активного препарата Маримикс / Я.Д.Дорохова // Международная научная студенческая конференция МНСК-2015: материалы 53 науч.- практ. конф. / «НГАУ». – Новосибирск, 2015. – С. 38.
3. Дорохова Я.Д. Коррекция состояния яичников при их гипофункции у высокопродуктивных коров с использованием комплексного препарата «Маримикс». / Я.Д.Дорохова, Н.Б.Баженова // Международный Ветеринарный Конгресс VETistanbulGroup: материалы 2 науч.- практ. конгр./ «СПбГАВМ». – Санкт-Петербург, 2015. – С. 114-115.

4. Дорохова Я.Д. Коррекция нарушений минерального обмена у коров с гипофункцией яичников / Я.Д.Дорохова //10-я Международная научно-практическая конференция "Актуальные проблемы современной науки в 21 веке: материалы 10-й науч.-практ. конф. / НИЦ "Апробация". - Махачкала, 2016. - С. 237-238.
5. Дорохова Я.Д. Влияние препарата "Маримикс" на уровень кальция и фосфора в крови коров с гипофункцией яичников / Я.Д.Дорохова //11-я Международная научно-практическая конференция "Актуальные проблемы современной науки в 21 веке: материалы 11-й науч.-практ. конф. / НИЦ "Апробация". - Махачкала, 2016. - С. 69-70.
6. Дорохова Я.Д. Изменение уровня кальция в крови коров с гипофункцией яичников при применении биологически активного препарата "Маримикс" / Я.Д.Дорохова // Международная научная студенческая конференция МНСК-2016: материалы 54 науч.-практ. конф. / «НГАУ». – Новосибирск, 2016. – С. 40.
7. Дорохова Я.Д. Влияние препарата "Маримикс" на состояние обмена веществ коров при гипофункции яичников / Я.Д.Дорохова // 3-я Международная научная медицинская конференция "Современные медицинские исследования: материалы 3 науч.- практ. конф. / «Авиценна». – Кемерово, 2016. – С. 13-16.