



KAPITEL 4 / CHAPTER 4⁴ DETERMINATION OF THE FERTILE PERIOD IN THE BITCH

DOI: 10.30890/2709-2313.2025-44-02-018

Вступ

Вимоги сьогодення потребують грамотного, науково-обґрунтованого підходу до племінного розведення собак. Висока племінна цінність, унікальність деяких особин є передумовою до ретельного обстеження репродуктивного апарату сук не тільки з метою виключення інфекційних захворювань, але й для виявлення термінів овуляції [2, 30, 32, 50, 66]. Особливо актуально таке обстеження для тварин, що призначені на в'язку до інших регіонів країни і світу [21, 23].

Вибір оптимального часу осіменіння є одним з важливих чинників успішної в'язки або штучного осіменіння сук [20, 38, 58, 75]. Тривалий період тічки і висока варіація його тривалості у різних особин вимагає індивідуального підходу до питання вибору часу осіменіння. Зазвичай до моменту запланованої в'язки власники сук вже кілька разів спостерігали тічку, знають її тривалість, інтенсивність, і можуть з певною точністю спрогнозувати дату в'язки. Однак суб'єктивних спостережень часто буває недостатньо для успішного проведення штучного осіменіння, особливо якщо мова йде про використання коштовної спермопродукції, а також, якщо її кількість обмежена [21, 71, 75].

Визначення оптимального часу осіменіння (як природного, так і штучного) має вирішальне значення у проблемі неплідності та малоплідності, адже визначає заплідненість [19, 23, 40, 55, 75]. Фізіологічно перебігаючий статевий цикл у сук схильний до значних варіацій, які можуть сприйматися за патологію. При цьому у власників сук трапляються випадки, коли за фізіологічного еструсу осіменіння не завершується вагітністю (заплідненням), що може стати суттєвою проблемою. Адже більше 40 % проблем, пов'язаних з плодовитістю сук-плідниць, обумовлені неточністю визначення часу осіменіння [21, 110].

⁴Authors: Skliarov Pavlo

Author's sheets: 1,64



Відомі факти, що оптимальні дні для в'язки суки відрізняються у собак однієї породи [36, 44, 77] і навіть можуть «зрушуватися» протягом життя навіть у однієї і тієї ж тварини. Вважається, що зі збільшенням віку суки в'язати її треба в більш пізні терміни. Зазвичай, це дійсно так, але відомо чимало випадків, коли, навпаки, статева охота, яка як правило збігається з періодом овуляції, може наступати раніше, ніж це було в попередні тички. Крім того, бувають «екземпляри», у яких статева охота не збігається з періодом овуляції – вона може наступити пізніше тих днів, коли найбільше шансів завагітніти [21, 32, 40].

При цьому багато заводчиків здійснюють в'язку своїх сук в стандартному режимі, через певну кількість днів після помічених вперше кров'яних виділень з вульви [12, 105]. Часто це є найпоширенішою причиною уявної неплідності, тому що парування відбувається в невідповідний час. Так, більшість власників практикують проведення парування (осіменіння) на 10-14 добу від початку проєструсу, однак це не завжди дає очікуваний результат, оскільки овуляція може відбутися і на 21, і навіть на 27-31 добу [10, 11, 21, 23, 44, 70].

Одним з факторів результативного осіменіння є урахування тривалості збереження гаметами здатності до запліднення: термін життя сперміїв у статевому апараті самок обмежується 2-3 добами, тоді як яйцеклітина після овуляції зберігає свою життєздатність упродовж однієї доби, а запліднювальну здатність – протягом лише 10-16 год. Тож заплідненість, як за надто раннього, як і за запізненого осіменіння, буде зниженою, обумовлюючи малоплідність [7, 102].

Відомо, що оптимальним для осіменіння є час, наближений до строків овуляції, яка відбувається, як правило, на 1-3 добу від початку охоти, рідше за 2 доби до її настання або затримується до 5-7 доби охоти. Дозрілі фолікули овулюють протягом 12-24 год. Тобто оптимальним часом осіменіння є 2-4 доба від прояву охоти [7, 23, 91, 99].

Тож існує проблема вибору оптимального методу встановлення часу овуляції для підбору дня осіменіння [21, 32, 36, 55]. До того ж це має ще й економічний аспект, бо власникам часто приходиться везти сук для в'язки на значну відстань і вони повинні бути впевненими у точній даті овуляції, бо лише



тоді можливе сподівання на те, що витрачені кошти будуть відшкодованими вартістю майбутніх цуценят [12, 75].

Методи визначення оптимального часу осіменіння сук

Для визначення фертильного періоду і оптимальних термінів осіменіння застосовують різні методи, до яких відносяться клінічний, вагінальна цитологія, вагінальна ендоскопія, аналіз концентрації гормонів у сироватці крові та ін. [12, 23, 27, 36, 47, 55, 67, 75, 91, 100, 103].

4.1 Клінічний (клініко-візуальний) метод

Це один з найбільш простих і доступних методів визначення оптимального часу осіменіння сук. Ґрунтується на виявленні у тварин клінічних ознак та змін поведінки, характерних для стадій статевого циклу з піком еструсу (періоду статевої охоти): позитивної сексуальної реакції самки на самця [16, 36]. Статева охота у собак триває в середньому 9 (2 ... 16) днів. Виділення із статевої щілини, як правило, світлі або зі слідами крові. Статеві губи стають менш набряклими і більш ригідними. Самка проявляє підвищений «інтерес» до самців, обнюхує їх статеві органи; потім вибирає самця-фаворита, допускає садку і коїтус [12].

Так деякі заводчики часто користуються простим *методом підрахунку днів*, визначаючи час овуляції через певну кількість днів, що пройшли з початку проеструсу (перше кров'яних виділень). Дійсно, у середньостатистичної суки овуляція відбувається через 10-12 днів після початку проеструсу, але ця ситуація може розвиватися і за іншим сценарієм: у деяких сук овуляція настає приблизно через 5 днів після початку проеструсу, у інших – через 30 днів, а отже парування на 11-13 день, яке широко практикують заводчики, може не привести до позитивного результату, і сука залишиться «пустою» [23, 99].

Оцінка стану вульви. Під час фази проеструсу вульва збільшується в розмірах і стає набряклою. У фазу еструсу вона дещо зменшується і стає більш м'якою. Розм'якшення вульви відбувається під час викиду в кров спеціального гормону, що збігається з початком еструсу і стимулює у суки еструсну поведінку



– сука готова допустити коїтус. Однак багато сук не підпускають до себе псів, навіть будучи готовими до в'язки, і на їх поведінку не можна орієнтуватися. Якщо доступна тільки клінічна оцінка термінів в'язки, то заводчик в своєму рішенні повинен виходити з початку еструсу і розм'якшення вульви, тому що обидва цих явища відбуваються, в середньому, за 4 дні до початку періоду заплідненості [23, 36, 99]. Тому, краще за все провести в'язку через 4 дні після встановленого дня початку еструсу.

Оцінка піхвових виділень. У фазу еструсу вагінальні виділення стають менш рясними, більш світлими, можливо, слизовими. За зовнішнім виглядом нагадують м'ясний сік. Але у деяких сук зберігаються кров'янисті виділення, а їх інтенсивність не змінюється в порівнянні з проеструсом [99].

Та навіть *діагностика ознак охоти* (позитивна реакція самки на самця) є лише опосередкованими ознаками овуляції, адже деякі суки допускають в'язку вже з початку проеструсу, а овуляція настає набагато пізніше – навіть на 30 добу. Чимало сук паруються за несправжньої вагітності, інфекційного запалення сечових шляхів, наявності кіст яєчників, прояву німфоманії. Тобто поведінка багатьох сук може не співпадати з гормональним фоном, що сприяє заплідненню [12, 23, 58, 99].

Отже, клініко-візуальне дослідження сук далеко не завжди гарантує настання овуляції і може використовуватися лише в комплексі з деякими іншими методами визначення оптимального часу осіменіння.

4.2 Оцінка кристалізації слини

В основі всіх способів визначення часу овуляції по слині лежить здатність виявити в даній біологічній рідині солей, які кристалізуються в результаті збільшення кількості естрогенів в організмі [23, 24]. Побачити їх можна за допомогою застосування спеціально призначених пристроїв. У початковому періоді циклу картинка буде мати вигляд пунктирних ліній, трохи пізніше приєднуються і поперечні лінії.



Кристалізація слизу з піхви і шийки матки жінок з утворенням деревоподібних структур вперше описана Paranicolau ще у 1942 р. [74]. Цей метод, полягає в тому, що аналізуючи під мікроскопом зміна характеру кристалізації висухої слини (або слизу) можна з високим ступенем вірогідності судити про настання плодового або безплідного періоду і, відповідно, підвищити ймовірність вагітності [75]. Garm and Skjerven (1952) [31] вивчали кристалізацію слизу з піхви і шийки матки корів; вони відзначили, що кристали у формі гілок утворювалися під час тічки і зникали в лютеїнову фазу циклу. У жінок циклічні зміни характеру кристалізації пов'язані з секрецією естрогену і прогестерону; естроген сприяє кристалізації, тоді як прогестерон пригнічує її. Zondek and Cooper відзначили, що кристалізується не тільки слиз шийки матки, але й усі слизові секрети і більшість рідин тіла, в тому числі слина [111]. Виявилось, що кристали являють собою звичайну сіль, а їх форма залежить від наявності муцину. Напевне, процес кристалізації залежить також від присутності електролітів, білка і вуглеводів [75].

Таким чином, за мірою збільшення естрогенів в організмі збільшується і кількість кристалів в слині, причому, в дні овуляції кристали набувають форму, що нагадує папороть. Максимальний ступінь кристалізації спостерігається за 2-3 доби до передовуляторного піку лютеїнізуючого гормону. Цей метод в медицині отримав назву «арборізації», від латинського «arbor» – дерево [24, 25, 65, 82].

Чутливість і специфічність тесту з кристалізацією слини вказується як 53 та 72% [15]. На підставі цих особливостей були розроблені готові тест-системи, що дозволяють швидко, просто і недорого визначити період, сприятливий для запліднення.

З появою тест-мінімікроскопів («Арбор», «FertoTest», «Цикл», «Ovulux», "ORBI Mom", «Happy End», «OvaTel», «Maybe Baby», «Fairhaven Health», «Fertile Focus», «OvuPred», «Euler Happy End, «Ева-Тест Д», «Maybe-Mom», «Ову-Тест», «Ovu Control») метод арборізації став доступний в домашніх умовах [92].

На думку ряду вчених метод досить суб'єктивний і фізіологічно



недосконалий, на що вказує можливість кристалізації слизу під час ановуляторних статевих циклів та за кіст яєчників [12, 88, 99]. Можливо, поєднання цього тесту з іншими зможе стати більш точним засобом діагностики оптимального часу осіменіння у сук, хоча для підтвердження цього необхідні подальші дослідження [25, 75, 76].

4.3 Електрометричний метод дослідження цервіко-вагінального секрету

Заснований на тому, що електричний опір слизової оболонки піхви зменшується у пізню фазу еструсу [23, 36, 83]. На відміну від самок інших видів тварин (великої рогатої худоби, овець та свиней), електричний опір вагінальних виділень у суки зростає під час проеструсу і продовжує залишатися високим, тоді як сука демонструє естро-поведінку та високий відсоток еозинофільних поверхневих клітин у вагінальному мазку.

Вивчено взаємозв'язок між електричним опором слизової оболонки піхви та концентраціями естрадіолу і прогестерону в сироватці крові протягом естрального циклу [5].

Овуляція, яка визначається підвищенням рівня прогестерону в сироватці крові вище 5 нг / мл, відбувається протягом періоду підвищеної резистентності. Оптимальні умови для зачаття збігаються з останніми 3 днями підвищеного опору [34].

Доведено кореляцію між електричним опором слизової оболонки та передовуляційною концентрацією лютеїнізуючого гормону. За мірою дозрівання фолікулів електричний опір (450-600 Ом) різко знижується. Під час тічки при показниках опору слизової оболонки піхви 200-300 Ом шийка матки завжди відкрита, а при опорі понад 350 Ом може бути закритою або слабо відкритою. Оптимальний час для осіменіння відмічено за 250-400 Ом [12, 56].

Gürler et al. зазначають, що вагінальний електричний імпеданс був більш швидким та дешевим методом, ніж оцінка прогестерону і надійнішим, ніж вагінальна цитологія та клінічна оцінка. В підсумку автори зазначають, що



поєднання вагінальних вимірів електричного імпедансу та оцінки прогестерону було більш корисним методом для визначення оптимального часу осіменіння у сук [35].

Використання з цією метою еструальних детекторів (детекторів тічки, тічко-чи естровимірювачів) дозволяє визначити настання фертильного періоду в домашніх умовах. Зокрема у дослідженні Rocha Fonseca тести з детектором овуляції Draminski показали, що 87,5% сук були близькими до овуляції. Автор робить висновок, що використовуючи цей тест можна визначати оптимальний момент для природного чи штучного осіменіння, уникаючи зайвих витрат для заводчиків [87].

Більшість авторів вказують на недостатньо високу ефективність еструальних детекторів, та в той же час зазначають, що використання його з іншими методами значно підвищує ефективність заходів з визначення оптимального часу осіменіння сук [1, 46, 105].

Любецьким та ін. (2010) [62] було вивчено взаємозв'язок змін електропровідності біологічно активних точок матки та яєчників під час тічки з оптимальним часом осіменіння сук. Встановлено, що динаміка коефіцієнта електропровідності в біологічно активних точках шкіри, які відповідають за функцію матки та яєчників, пов'язана з морфо-функціональними змінами в геніталіях сук під час тічки та відображає їх біоелектричну активність. Автори робить висновок, що використання цього методу для діагностики оптимального часу осіменіння сук є досить корисним, але у зв'язку із складністю застосування і особливо інтерпретації отриманих результатів обмежується його широке впровадження в практику [23, 99]. Втім глибока наукова цінність електропунктурної діагностики для визначення оптимального часу осіменіння сук не втрачається.

В цілому слід відмітити, що методики дослідження цервіко-вагінального секрету ще погано вивчені на суках.



4.4 Вагінальна ендоскопія (вагіноскопія)

Простий і зручний метод, що дає досить достовірну інформацію для визначення оптимального терміну в'язки. Цей метод полягає у визначенні стану слизової оболонки піхви, а саме її складчастості і кольору [59, 60, 99]. Під час проєструсу колір піхви блідий, складки мають тьмяно-кремовий колір. У фазу початку еструсу складки слизової набряклі, рожевого кольору, збільшені в розмірах. Період плідності визначається по скороченню слизової і утворенню грудкуватих складок. Скорочення слизової починається за 3-1 день до початку овуляції, тому парування слід провести протягом 3-5 днів після вперше поміченого скорочення слизової оболонки. Період заплідненості закінчується зі зміною або припиненням скорочення слизової оболонки, яка поступово набуває рожевого кольору [23].

Припинення секреції естрадіолу фолікулами і перехід їх до секреції прогестерону призводить до зниження як набрякlostі, так і васкуляризації слизових оболонок, що супроводжується вираженим зміною характеру вагінальних виділень, які у свою чергу виявляються за допомогою вагінальної ендоскопії. На стадії проєструсу слизова оболонка стає більш опуклою і набряклою, потім спостерігається її зменшення; за мірою наближення овуляторного піку слизова стискається і блідне, у деяких випадках стаючи практично білою. Перераховані зміни свідчать про наближення стадії, яка характеризується поступовим підвищенням концентрації прогестерону перед овуляцією і подальшим наступом фертильного періоду. Ці зміни легко дізнатися, маючи навіть невелику практику, крім того, вони настільки відтворювані, що за набором ознак їх можна оцінювати напівкількісно. Вагінальна ендоскопія вельми корисна у визначенні оптимальних термінів в'язки. Після закінчення фертильного періоду, тобто на початку метеструсу, слизова оболонка піхви блідне і витончується, складки стають закругленими – і що, ймовірно, є найбільш характерною ознакою, – слизова в передньому відділі піхви виглядає подразненою і при доторкуванні швидко стискається, утворюючи розетку [60,



91].

Значна вартість обладнання та маніпуляцій на ньому, а також певні незручності, що виникають за дослідження агресивних та неспокійних сук, є недоліками цього методу [12, 21, 23]. Однак окремі автори вбачають перспективу в тому, що ендоскопічне дослідження може замінити вагінальну цитологію при визначенні оптимального часу осіменіння сук або використовуватися як додаток до інших методів, таких як аналіз на прогестерон та вагінальна цитологія [67].

4.5 Цитологічний метод (вагінальна цитологія, дослідження піхвового мазка

Є одним з найбільш простих методів відстеження стадії естрального циклу, а деякі автори розглядають його як найкорисніший інструмент [36, 81]. Ґрунтується на визначенні співвідношення різних типів епітеліальних клітин піхви і служить показником гормонального фону суки [52, 99, 101]. Метод вимагає від діагноста досить великого досвіду і, хоча дає показову картину всіх стадій естрального циклу, необхідно враховувати, що у виняткових випадках максимальне зроговіння епітелію піхви буде за 10 днів до початку овуляції або через день після неї [23].

Підвищення концентрації естрадіолу в період проєструсу стимулює поділ клітин в базальних шарах вагінального епітелію, але потім концентрація естрадіолу, а відповідно й ендокринна підтримка утворення нового, багат шарового епітелію знижується, тому в зразку виявляється більше мертвих зроговілих клітин. За мірою розвитку проєструсу знижується кількість епітеліальних клітин, що містять ядро. З початку до середини проєструсу в вагінальних мазках виявляють підвищений вміст еритроцитів. Пік зроговіння збігається з початком підвищення концентрації прогестерону; однак на початку еструсу дослідження не виявляє характерних особливостей, які могли б вказувати на початок фертильного періоду. Як правило, такий період настає декількома днями пізніше [23, 36, 91].

Для отримання зразка використовують ватний тампон, який вводять до



піхви і обережно беруть мазок. Отриманий мазок поміщають під мікроскоп, а потім забарвлюють контрастною (трихромом) або неконтрастною (наприклад, препаратом Diff-Quik) речовиною. При такому фарбуванні мертві кератинизовані клітини стають помаранчевими, тоді як активні ядерні клітини, а також базальні і парабазальні епітеліальні клітини набувають різних відтінків – від блакитного до зеленого [17, 91].

Ближче до закінчення еструсу вагінальні виділення зазнають характерних змін (знову виявляються епітеліальні клітини, що містять ядро, і з'являється велика кількість лейкоцитів). Така картина зазвичай спостерігається через 7-9 діб після піку лютеїнізуючого гормону і відома як «вагінальний мазок метеструсу» (в цей час більше 80 % епітеліальних клітин є без'ядерними). Змінам характеру виділень передують перехідний період, який характеризується зростаючою кількістю активних клітин і вказує на закінчення фертильного періоду та еструсу [21, 36, 54].

Вагінальна цитологія – практичний, простий та недорогий метод, який є вельми інформативним в плані визначення фази естрального циклу [6, 79, 101]. Проте значні розбіжності у часі появи основних ознак еструсу по відношенню до піку фертильності обмежує застосування зазначеної методики. Так, в окремих випадках в мазках протягом усього періоду плодовитості мається вірогідність виявлення поліморфно-ядерних лейкоцитів, а у деяких сук пік кількості без'ядерних клітин складає всього 60 %. Тож деякі автори вважають суперечливою надійність вагінальної цитології для визначення періоду фертильності у сук [28, 41, 58, 68]. Тому не рекомендується визначати оптимальний час парування сук на основі дослідження лише одного вагінального мазка [2]. Тим не менше, її можна використовувати для визначення стадії циклу загалом, наприклад, ранньої частини фолікулярної фази або метеструсу та виявлення розладів у фолікулярній фазі [41]. Тож вагінальна цитологія залишається популярним методом визначення репродуктивного статусу суки через свою дешевизну, простоту і доступність [23, 91].



4.6 Вимірювання концентрації гормонів

Відомо, що протягом естрального циклу відбувається каскад гормональних реакцій. Так, у проєструс підвищується рівень естрогенів, а рівень лютеїнізуючого гормону і прогестерону є низьким. У фазу еструсу рівень естрогенів падає і починає підвищуватись рівень прогестерону [12, 18, 20, 36, 73].

Концентрація *прогестерону* в плазмі «тічної» суки починає поступово підвищуватися за 2-3 дні до овуляції і дозволяє передбачити овуляцію, підтвердити її наявність і визначити період заплідненості [23, 36, 49].

Дані про концентрацію прогестерону у сироватці крові можуть служити орієнтиром для визначення фертильного періоду у сук [11, 23, 58, 78, 94, 99]. В кінці анеструсу концентрація прогестерону в сироватці крові знаходиться на базальному рівні (і практично не визначається), до закінчення проєструсу вона підвищується до низької, але піддається визначенню (біля 3 нмоль / л або 1 нг / мл). І продовжує підвищуватися, досягаючи рівня 3-6 нмоль/л (1-2 нг/мл) до моменту овуляторного піку лютеїнізуючого гормону; 2 доби згодом (в день овуляції) показники досягають 6-12 нмоль/л (2-4 нг/мл), а до 4 доби (тобто до початку фертильного періоду) – 18-30 нмоль/л (6-10 нг/мл) [36, 42, 91].

Концентрацію прогестерону визначають в плазмі крові, оскільки аналіз інших рідин (слини і сечі) в даний час не дає точних результатів. Дослідження проводять після появи перших ознак проєструсу і повторюють щонайменше кожні 2-3 доби до закінчення проєструсу або початку поведінкового еструсу. Така методика дозволяє виявляти стрімке наростання концентрації прогестерону перед овуляцією і відповідно розрахувати дату можливої в'язки. У випадках дуже короткого проєструсу дослідження починають раніше. Залежно від методу дослідження (радіоімунний або імуоферментний) можливі деякі розбіжності в показниках концентрації прогестерону; при цьому слід враховувати, що імуоферментний метод дає завищені, але в іншому надійні результати [91].

Готові імуоферментні тест-системи, призначені для визначення концентрації прогестерону в плазмі крові на різних стадіях естрального циклу,



дають результати, що майже вдвічі перевершують дані радіоімунного аналізу, але в тому ж ступені відображають характерні циклічні зміни [11]. За допомогою готових наборів не можна отримати абсолютні показники концентрації прогестерону, але можна простежити відносні зміни його концентрації від початку проєструсу і до кінця циклу.

Проби прогестерону у сироватці крові служать хорошим індикатором овуляції. Враховуючи тривалий період сексуальної рецептивності у сук, що включає овуляцію і період дозрівання гамет, фертильним слід вважати інтервал між 4-ю та 7-ю добою після піку концентрації лютеїнізуючого гормону [23]. Однак не виключено, що ближче до закінчення фертильного періоду здатність до запліднення знижується, тоді як деякі ситуації потребують особливо належного врахування – наприклад штучне осіменіння замороженою спермою [58, 95, 108].

Концентрація прогестерону, що визначається радіоімунним методом, повинна підтримуватися на рівні 30 нмоль/л (10 нг/мл) у першу добу і між 55 та 75 нмоль/л (18-25 нг/мл) – на другу добу осіменіння. Швидкий імуноферментний метод (ELISA) також підходить для оцінки якісного і кількісного вмісту прогестерону [91, 104].

Високий ступінь достовірності визначення термінів овуляції дає змогу не лише збільшити відсоток результативних осіменінь, а й плодючість суки – чим точніше встановлений час овуляції, тим більше яйцеклітин зустрінеться зі сперміями і відбудеться запліднення [55].

Однак, визначення рівня прогестерону в крові – кошковий і трудомісткий метод. Аналіз на прогестерон не дозволяє визначити, коли саме трапилася овуляції. Наприклад за розвитку піометри рівень прогестерону буде на досить високому рівні, а виділення власники часто приймають за тічку.

Лютеїнізуючий гормон – це гормон, який стимулює овуляцію. Він виділяється як один великий пік, з високими концентраціями, зберігається приблизно від 24 до 48 год. Концентрація лютеїнізуючого гормону у сироватці крові більше 1 нг / мл передуює овуляції на 2-3 дні [36]. Він вважається



оптимальним індикатором за діагностики овуляції, так як є прогнозованим та надійним (Nishiyama et al., 1999) [77, 86, 108]. Але проблемним у його визначенні є те, що власне сплеск виділення лютеїнізуючого гормону короткочасний, тому відбір проб слід здійснювати часто. До того ж тестові набори мають короткий термін придатності і загалом таке дослідження є досить коштовним [58, 99].

Вимірювання плазмового *естрогену* не має переваг щодо рівня лютеїнізуючого гормону через його змінне значення у сук та швидке зменшення за день до сплеску рівня лютеїнізуючого гормону. Під час проєструсу фолікули яєчників, що розвиваються, виробляють естроген від 2-10 пг / мл протягом 10-14 днів. Потім пік естрогену досягає 50-120 пг / мл, приблизно за 2-3 дні до еструсу, з наступним швидким зниженням безпосередньо перед сплеском лютеїнізуючого гормону [36].

Слід відмітити, що рівень естрадіолу та лютеїнізуючого гормону є навіть більш інформативними, однак їх визначення мало практикується [35, 91]. Розроблені ж ферментноімунологічні набори з експрес-визначення концентрації прогестерону та лютеїнізуючого гормону (LH ELISA) в крові собак безпосередньо в умовах клініки виявилися мало придатними для практичного застосування з-за недостатньо високої точності методу при вимірюванні концентрації прогестерону в крові і короткочасного преовуляторного викиду лютеїнізуючого гормону.

4.7 Ультразвукове дослідження

Було чітко продемонстровано, що яєчники суки можна ідентифікувати за допомогою діагностичного ультразвукового дослідження в режимі реального часу. Ретельне і повторне обстеження дозволяє контролювати ріст фолікулів і виявляти час овуляції [4, 22, 23, 36, 45, 73]. Для його проведення необхідний апарат, обладнаний датчиком 7,5-15 мГц [10, 12, 39, 45, 106]. Орієнтиром для матки є сечовий міхур, для яєчників – каудальні полюси нирок відповідного боку. У стадію еструсу ендометрій потовщується до 0,5-0,8 см, просвіт рогів



матки стає видимим та має гіпоехогенну структуру. Яєчники неправильної форми, мають великі (0,6-1,2 см) анехогенні структури (фолікули) округлої чи овальної форми з тонкою капсулою (Ingland, 2006) [4, 22, 23, 43, 45, 109].

Та на жаль, у сук в період овуляції досить складно оцінити ультразвукову картину яєчників, на відміну від тварин інших видів. Так, персистуючі в яєчниках фолікули мають картину, схожу з такою до та після овуляції, а безпосередньо перед овуляцією оваріальні фолікули і жовте тіло протягом декількох дуже погано розрізняються за ультразвукового дослідження. Деякі розірвані фолікули не завжди повністю колабуються (спадаються) під час овуляції і поступово заміщаються лютеїновою тканиною, зберігаючи при цьому ехогенну картину в дні подальшої овуляції. Крім того, фолікули, що не овулюють, можуть ускладнити інтерпретацію ехографічної картини [23, 43]. У зв'язку з цим рекомендується здійснювати мінімум дві ехографії на день, щоб нарешті точно визначити овуляцію. Крім того, було показано, що ехографія, що проводиться щодня, у 20% сук в порівнянні з кількісним вмістом одного лише прогестерону дозволила підвищити точність діагностики процесу овуляції.

Суці, призначеній для ехографічного дослідження, необхідно проводити стрижку, що також є одним з незручностей, але цю проблему можна вирішити шляхом нанесення такої кількості гелю, який дозволить знизити зону стрижки до мінімуму, і часто цього достатньо для собак з короткою шерстю.

Ехографія в даний час являє собою один з нових [10]. Такий метод дозволяє дати уточнення, нехтувати якими не слід, і в основному при використанні низької якості сперми через нетривалий час її використання, як це буває при її охолодженні під час осіменіння або після глибокого заморожування. При цьому порівняно з аналізами на прогестерон, використання ультразвукового дослідження для виявлення овуляції дозволяє підвищити точність.

Крім того, окремі автори стверджують, що одного щоденного сканування яєчників було достатньо для правильного виявлення часу овуляції [58].

Bergeron et al. дійшли висновку, що кольорове доплерівське ультразвукове дослідження, проведене один раз на день, було більш точним у визначенні



преовуляторного піку лютеїнізуючого гормону, ніж ультразвукове дослідження в В-режимі, і дозволило перспективне визначення овуляції [8].

Ультразвукове дослідження яєчників та доплерівське вимірювання маткових та яєчникових артерій специфічно змінюються під час періовуляторної фази. Якщо розглядати їх разом, вимірювання можуть бути використані для більш точного визначення дати овуляції, та ці оцінки повинні проводитися послідовно досвідченим фахівцем (Barbosa et al., 2013) [4, 51, 64].

Однак деякі автори не вважають метод ультразвукового дослідження пріоритетним при діагностиці оптимального часу осіменіння у сук, зважаючи на мінливість якості зображення, необхідність щоденних обстежень та незначні зміни, пов'язані з овуляцією, віддаючи перевагу гормональним методам визначення прогестерону та лютеїнізуючого гормону [86, 89, 99].

Тим не менше ультрасонографія є методом, що найбільше обходить обмеження щодо практичного впровадження, пов'язані з економічною доцільністю, технічною складністю, практичною спроможністю, об'єктивністю, інформативністю. До того ж лише він дозволяє визначати істинні (морфологічні) ознаки овуляції [14]. І такі можливості стають все більш реальними з появою новітніх приладів з підвищеною здатністю.

4.8 Інші аспекти визначення фертильного періоду

Метод визначення концентрації глюкози у піхвових виділеннях. Вміст цукрів у цервікальному слизі має вагомe значення для створення умов виживання та збереження запліднювальної здатності сперміїв. За нестачі цукрів (а також надлишку хлоридів і вільних іонів кальцію) знижується негативний електричний заряд і настає їх аглютинація (Torrans & Muni, 2006).

Методика може бути корисною у поєднанні з вагінальною цитологією [23, 24]. Тож загалом цей метод не знайшов широкого практичного застосування, адже достойність даної методики не була підтверджена науковими дослідженнями [12, 23, 99].



Метод вимірювання температури. Діагностична цінність цього методу теж невисока, адже за даними окремих авторів підвищення температури в період еструсу виявляється лише у 27 % сук. Тож він може використовуватися лише як допоміжний метод [12].

Метод інфрачервоної термографії. Термографія – перспективний безконтактний дистанційно-діагностичний експрес-метод. Будучи абсолютно нешкідливим та об'єктивним методом обстеження, дозволяє виявляти відмінності у розподілі та інтенсивності інфрачервоного випромінювання залежно від фізіологічного чи патологічного стану організму тварин [37, 80, 85, 96]. В останні роки термографічний моніторинг став корисною технікою і дав цінні результати у розмноженні тварин. Окрім іншого, метод дозволяє в тому числі й виявляти та диференціювати феномени статевих циклу у самок різних видів тварин [53, 64, 90, 93, 97, 98]. При цьому превентивно визначається температурний градієнт і кольорова палітра зовнішніх статевих органів, а потім проводяться детальні дослідження у відповідності з настановами та інструкціями щодо визначення оптимального часу осіменіння. При цьому різниця температур між тілом і поверхнею вульви збільшується на стадіях проеструсу та еструсу. На початку еструсу ця різниця знаходиться на найвищому рівні, а потім зменшується до часу овуляції. Для термограми зовнішніх статевих органів самок у стадії еструсу характерне переважання більш «гарячих» кольорів палітри (червоних), а у стадії метеструсу – теплих (помаранчевих).

Таким чином, результати досліджень достовірно підтверджують закономірність підвищення температури зовнішніх статевих органів у самок у стадію еструсу, що можна визначати дистанційно як метод превентивної (безконтактною, дистанційно-проектною) діагностики феноменів статевих циклу [53].

Olğaç et al. провели дослідження щодо оцінки ефективності термографічного моніторингу для виявлення стадій естрального циклу та часу овуляції у сук [73]. Автори повідомляють, що використання даного методу дозволяє зменшити витрати та час на виявлення еструсу. Однак надійність і



точність техніки термографічного моніторингу можуть покращитись завдяки більшій кількості досліджень в ізолюваному середовищі від різних зовнішніх умов (Olğaç et al., 2017).

Тож лише термографічного моніторингу недостатньо для виявлення часу овуляції, тим не менше він може бути використаний в якості допоміжного з іншими сучасними методами [53, 73].

Останні *рентгенографічні дослідження* піхви із застосуванням контрастної речовини виявили стійкий зв'язок між концентраціями естрадіолу і прогестерону в крові і розкриттям шийки матки. Результати цих досліджень мають вирішальне значення для визначення фертильного періоду у собак, оскільки шийка матки залишається закритою (непроникною для контрастної речовини і, ймовірно, сперміїв) до тих пір, поки не відбудеться зниження концентрації естрадіолу і не зросте співвідношення прогестерон / естрадіол під час преовуляторного періоду. Після піку лютеїнізуючого гормону шийка матки залишається відкритою протягом приблизно 6 діб (тобто вона закривається приблизно за 2 доби до початку цитологічного метеструсу), і в цей період концентрація прогестерону залишається високою, а естрадіол практично не визначається. Наведені дані свідчать про те, що спермії мають доступ до шийки матки тільки в обмежений час еструсу всупереч загальноприйнятій думці, згідно якої в'язку можна проводити як до, так і після розкриття шийки матки. Зміни стану шийки матки пояснюються потовщенням слизової оболонки під впливом естрогену на стадії проеструсу, що призводить до закриття шийки матки. Подальше розкриття шийки матки супроводжується зниженням набряклості слизової оболонки і обумовлено збільшенням співвідношення прогестерон / естрадіол [91].

Цікаво, що період, коли шийка матки розкрита, відповідає оптимальними термінами в'язки, розрахованим на підставі результатів ендоскопічного дослідження слизової піхви. Дані рентгенографічних досліджень із застосуванням контрастної речовини зручні для інтерпретації, проте не пояснюють, яким чином на стадії проеструсу кров і матковий секрет проникають через набряклу шийку матки. Мабуть, далось взнаки вплив інших активаторів,



наприклад, естрогенів, здатних розслабляти гладку мускулатуру, а також простагландинів, що містяться в спермі. Необхідність лютеїнізуючого гормону вказує на те, що стійкі прояви тічки спостерігаються лише безпосередньо перед початком фертильного періоду [23]. Хоча початок тічки по відношенню до піку лютеїнізуючого гормону – індивідуальна характеристика особини, зазначені прояви можуть служити орієнтиром для обчислення фертильного періоду [91].

Bergeron et al. вказують на те, що всі оцінені ними методики (вагінальна імпедометрія, аналіз концентрації прогестерону в сироватці крові, вагіноскопія та вагінальна цитологічна оцінка) часто давали неточні результати при індивідуальному застосуванні. Тож автори роблять висновок, що для визначення оптимального часу осіменіння у сук слід використовувати кілька методів [9, 89].

З метою мінімізації вартості досліджень за визначення оптимального часу осіменіння у сук ряд вважають, що достатньо проводити лише вагінальну цитологію та аналіз гормонів – лютеїнізуючого гормону, прогестерону чи естрадіолу [3, 13, 36, 59, 73, 107].

Інші автори вважають, що виявлення овуляції та термінів осіменіння у сук повинно ґрунтуватися на основі концентрації гормонів, вагінальної цитології та ендоскопічного дослідження піхви [47, 72, 84].

На думку England and Concannon протокол визначення оптимального часу осіменіння сук повинен включати:

- дослідження вагінальних мазків, відібраних кожні 1-3 дні, для відстеження ступеню, відсотку або індексу ороговіння вагінальних епітеліальних клітин, наявності та відсутності лейкоцитів у мазку;
- характеристика ступеню естроген-індукованого набряку і тургідності вульви та термінів її зменшення, пов'язані із періовуляторним спадом естрогену;
- вагіноскопичні оцінки набряку та гіпертрофії, спричинені підвищенням рівня естрогену, терміни та обсяги подальшого зменшення слизової оболонки піхви та складок, спричинених зниженням рівня естрогену незадовго до та після овуляції;
- визначення нормально очікуваних змін у сексуальній поведінці сук,



включаючи терміни та ступінь сексуальної сприйнятливості протягом нормального періовуляторного періоду;

- вимірювання концентрації прогестерону в сироватці або плазмі крові та оцінка дня сплеску лютеїнізуючого гормону як часу, коли прогестерон, швидше за все, вперше перевищив 1-2 нг / мл [23].

Виходячи з вище наведеного, для успішного проведення в'язки необхідно:

- комбінувати дослідження вагінальних мазків і вимірювання рівня прогестерону в крові;

- перше вагінальне дослідження проводити на 3-5 день від початку тічки з інтервалом 3-5 днів;

- при виявленні більше 60% ороговілих клітин в мазку починати вимірювати прогестерон з інтервалом 1-2-3 дня.

Вважають, що основними рекомендаціями за визначення фертильного періоду у сук є наступні:

- початок взяття цитологічних зразків з піхви на 4-5 день після початку проєструсу;

- коли кількість зроговілих піхвових епітеліальних клітин перевищує 80 % усіх ексфоліюваних клітин слід починати брати зразки крові для визначення сироваткової концентрації прогестерону;

- рекомендується брати зразки крові для визначення сироваткової концентрації прогестерону кожні 2-3 дня, поки не почнеться підвищення концентрації, що буде показником викиду лютеїнізуючого гормону або овуляції. Це дозволить передбачити оптимальний період для осіменіння. Якщо вимірюють сироваткову концентрацію прогестерону за допомогою тестів ELISA, зразки слід брати щодня, поки концентрація не досягне вищих значень (5,0-10,0 нг / мл; 15,5-31,0 нмоль / л);

- ймовірність зачаття підвищується за в'язки в період з 4-го дня перед по 2-й день після овуляції, а максимальний послід можна отримати від в'язки на 2-й день після овуляції [11].

Однак усі зазначені методи передбачають визначення опосередкованих



ознак оптимального часу осіменіння. Тож стандартної методики оцінки овуляції та оптимальних термінів осіменіння сук наразі немає [20, 38, 100].

Найбільш уніфікованою є схема, яка повинна передбачати (за умови, що тварина клінічно здорова, не має відхилень статевого циклу в анамнезі):

1) цитологічне дослідження вагінальних мазків – проводять на 3-4 день від моменту виявлення ознак тічки власником;

2) повторне (лікар призначає день) дослідження вагінальних мазків для контролю динаміки цитологічних змін слизової піхви;

3) ультразвукова діагностика стану фолікулів в яєчниках. За результатами вище зазначених досліджень (на розсуд лікаря) забір крові для визначення концентрації прогестерону;

4) контрольне ультразвукове дослідження яєчників для визначення динаміки розвитку фолікулів;

5) повторний аналіз концентрації прогестерону в крові для визначення найбільш точного дня овуляції і в'язки.

Висновки

Період заплідненості або час, коли яйцеклітини можуть бути запліднені, становить 2-5 днів після овуляції. Отже, в'язка повинна бути проведена безпосередньо перед цим періодом або під час нього. Визначити оптимальний час парування можна за допомогою різних методів, що визначають період плідності (коли парування може привести до зачаття), а краще в період заплідненості. Однак жодна з діагностичних методик не є абсолютно надійною, тому, для максимально достовірного результату, рекомендується користуватися декількома (двома-трьома) дослідженнями. Наприклад: підрахунок днів, оцінка стану вульви і вагінальних виділень плюс мазок і (або) вагіноскопія. Контрольна в'язка збільшує вірогідність зачаття і проводиться, як правило, через день після першої в'язки. Необхідно пам'ятати, що час овуляції у однієї і тієї ж суки під час різних тічок може бути різним. Для сук з проблемами зачаття використовують максимальну кількість методів з аналізом минулих вдалих і невдалих в'язок.