

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ КОНЕВОДСТВА»  
(ФГБНУ «ВНИИ коневодства»)

*На правах рукописи*

**Дубровская Анастасия Борисовна**

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ  
РЕПРОДУКТИВНОГО СТАТУСА ПЛЕМЕННЫХ КОБЫЛ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ  
ЭНДОМЕТРИЯ**

06.02.10- частная зоотехния, технология производства продуктов  
животноводства

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:  
доктор сельскохозяйственных наук, доцент  
Лебедева Людмила Федоровна

Дивово-2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ.....	4
2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	13
2.1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
2.1.1 Воспроизводство племенных лошадей в коннозаводстве РФ в современных условиях.....	13
2.1.2 Экзогенные и эндогенные факторы, влияющие на плодовитость кобыл.....	15
2.1.3 Видовые особенности репродуктивной функции кобыл.....	20
2.1.4 Современные методы исследования репродуктивной системы кобыл в отечественном коннозаводстве .....	22
2.1.5 Гистологический анализ эндометрия кобыл.....	35
2.1.5.1 Структура и функции эндометрия.....	37
2.1.5.2 Процедура получения образцов эндометрия и методы приготовления гистосрезов.....	41
2.1.5.3 Способы окрашивания гистосрезов и дифференциальная диагностика структурных изменений в эндометрии.....	43
2.1.5.4 Основные факторы, влияющие на состояние и функцию эндометриальной ткани .....	44
2.1.5.5 Взаимосвязь между фертильностью и степенью деструктивных изменений в эндометрии кобыл.....	46
2.2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	51
2.3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	56
2.3.1 Анализ плодовитости племенных кобыл в конных заводах РФ.....	56
2.3.1.1. Краткая характеристика организационно-хозяйственной деятельности	

4 российских конных заводов орловского рысистого направления .....	56
2.3.1.2. Уровень воспроизводства племенных кобыл орловской рысистой породы .....	60
2.3.1.3 Динамика показателей воспроизводства кобыл по возрастным периодам.....	62
2.3.1.4 Особенности использования возрастных кобыл в маточном составе конных заводов РФ .....	69
2.3.2 Структура эндометрия кобыл в эструсе и диэструсе.....	70
2.3.3 Основные виды выявленных эндометриальных изменений.....	75
2.3.4 Определение различных деструктивных изменений в эндометрии с помощью 3 методов окрашивания гистосрезов. ....	80
2.3.5 Сравнительная характеристика эндометрия у молодых и возрастных кобыл в эструсе и диэструсе на основе морфометрических параметров.....	87
2.3.6 Влияние гормонального фона на структуру эндометрия в разные фазы полового цикла.....	90
2.3.7 Эндометриальный показатель.....	93
2.3.8 Сравнительный анализ информативности методов комплексной репродуктивной оценки кобыл .....	97
3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	105
3.1 Выводы.....	109
3.2 Практические предложения.....	111
3.3 Перспективы дальнейших исследований.....	112
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	114
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	148

## 1. ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследований.** В отечественном племенном коневодстве одной из главных технологических задач является повышение показателей и уровня воспроизводства, основу которого составляют репродуктивные качества маточного поголовья. Это особенно актуально, когда речь идет о племенных матках старшего возраста, содержание которых оказывается нерентабельным при возрастных расстройствах функции плодношения и невозможности регулярного получения от них жеребят в установленные технологические сроки.

В современной практике размножения племенных лошадей в мире достигнуты немалые успехи, благодаря новым биотехнологическим знаниям, развитию репродуктивных технологий и совершенствованию диагностических методов. Разработаны комплексные способы оценки состояния половой системы кобыл, которые позволяют определить их воспроизводительный статус и выявить патологические изменения в репродуктивных органах. В состав таких способов, наряду с ректальной, ультразвуковой, вагинальной, цитологической и бактериологической диагностикой, входит и гистологический анализ эндометрия кобыл. Этот метод занимает важное место в работе репродуктологов за рубежом, однако полностью отсутствует в практике отечественных специалистов. Вместе с тем, гистологический метод дает дополнительную и важную информацию в тех случаях, когда остальные методы гинекологического исследования не выявляют истинной причины субфертильности и бесплодия кобыл. Анализ структурных изменений в эндометрии может указать на присутствие и степень деструктивных процессов в слизистой матки, что будет служить объяснением причин снижения плодовитости и основанием для прогноза дальнейшей репродуктивной карьеры кобылы.

В этой связи особую актуальность приобретает исследование возможности использования гистоморфологического анализа эндометрия кобыл для более точной оценки их репродуктивного статуса и его внедрения в отечественную практику племенного коневодства.

**Степень научной разработанности темы исследования.** Литературные данные указывают на значительные видовые особенности структурно-функциональной организации ткани эндометрия с/х животных [31, 37, 47, 58, 71, 76, 105]. Существует достаточно много исследований в области физиологии размножения и патологии воспроизводительной системы сельскохозяйственных животных. Вопросами репродукции крупного рогатого скота занимались: Г. А. Кононов, 1963, 1968, 1974; Morfow et. al. 1966; А. М. Селюстьева, 1969; И. Я. Мюйрсепп, 1973; О. Н. Преображенский, 1975; С. Н. Sawyer, 1987; В. Ф. Дегай, 1992; свиноматок - R. Hadek, R. Getty, 1959; П. А. Ильин, 1979; овец – А.И. Лопырин, 1971 [32, 47, 57, 58, 71, 76, 90, 100, 186, 253]. Среди исследований, посвященных изучению половой системы кобыл, выделяются работы отечественных авторов: Х. И. Животкова, 1938; П. И. Шаталова, 1930; Н. Г. Балашов, 1960; А. Н. Буйко-Рогалевич, 1960; Н. Н. Скаткина, Г. В. Паршутина, 1953; К. И. Мамина, 1989; К. Баймухамбетова, 1990; Л. А. Храбровой, 1995; О. В. Баковецкой, 1998, 2000; Л. Ф. Лебедевой, 2017 и др. [6, 7, 8, 9, 11, 13, 19, 20, 38, 39, 40, 41, 67, 68, 69, 71, 72, 84, 101, 116, 124]. Между тем, в отечественной литературе незаслуженно мало внимания уделяется информативной значимости гистологического метода исследования эндометрия, тогда как слизистая матки играет определяющую роль в создании оптимальных условий для выживания спермы при осеменении и для нормального плодоношения.

Несмотря на некогда лидирующие позиции отечественных ученых в разработке эффективной технологии размножения лошадей в начале и середине прошлого века (И. И. Иванов, 1910; К. И. Милованов, Х. И. Животков, 1938, 1960; А. Н. Буйко-Рогалевич, 1960; Н. Н. Скаткин, Г. В. Паршутин, 1961; А. Ю.

Тарасевич, 1924; Н. А. Флегматов, 1937; П. А. Волосков, 1936, 1939; М. А. Керов, 1940, 1948; А. П. Студенцов, 1947, 1950; И. Т. Растяпин, 1936; Н. М. Рязанцева, 1936), вопросами комплексной репродуктивной оценки кобыл с привлечением различных диагностических методов впервые серьезно стали заниматься за рубежом [19, 20, 24, 25, 26, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 45, 54, 55, 74, 75, 84, 85, 91, 93, 101, 105, 106, 108, 110]. Изучению эндометрия кобыл посвящены научные публикации многих иностранных авторов - E. Seaborn 1925; S.W. Ricketts, 1975; R. M. Kenney 1978, 1986; P. A. Doig et. al., 1981; A. Concha-Bermejillo, J. Lehmann et.al., 2011; K. G. Üvencetal., 2006; D. H. Schlafer, 2007; C.C. Love et al., 2011; T. Katila, 2016; J. Buczkowska, 2016; M. Herrera et.al., 2018 и др. [157, 158, 168, 174, 194, 198, 199, 213, 217, 247, 248, 249, 253, 255, 271]. Сегодня комплексная оценка репродуктивной функции (breeding soundness examination) включена в обязательный порядок подготовки кобыл к продаже, приему на случку/осеменение/эмбриотрансплантацию, к отбору в производящий состав, для анализа субфертильности/бесплодия и лечения [153].

Для успешной работы в данном направлении, помимо общепринятых характеристик необходимы глубокие, фундаментальные знания физиологии, анатомии, цитологии, гистологии половых органов лошади. Так, изучение структуры ткани эндометрия кобыл разных возрастных категорий дает возможности дифференцировать особенности гистологического строения эндометрия кобыл в связи с естественным течением процессов старения организма, что не требует специальных приемов коррекции и ветеринарного вмешательства. И напротив, показаниями к биопсии эндометрия у кобыл будут служить: новообразования, заболевания, не поддающиеся стандартной терапии, субфертильность, стойкое бесплодие, привычный аборт, рождение нежизнеспособных и ослабленных жеребят. Использование гистологического анализа позволит расширить возможности гинекологического исследования, обеспечить своевременное предупреждение развития патологических изменений в

системе репродуктивных органов у племенных кобыл, получить информативный материал для прогноза дальнейшего использования лошади в воспроизводстве.

**Цель и задачи исследования.** Цель работы состоит в повышении эффективности воспроизводства в отечественном племенном коневодстве на основе введения гистологического анализа эндометрия в систему комплексной оценки репродуктивных качеств кобыл.

Для достижения поставленной цели были намечены следующие задачи:

1. Проанализировать уровень плодовитости племенных кобыл в конных заводах РФ.
2. Сравнить показатели воспроизводства племенных кобыл по возрастным периодам.
3. Изучить структуру эндометрия в связи с фазой полового цикла, возрастом, гормональным фоном и фертильностью кобыл.
4. Определить наиболее информативные показатели и методы выявления основных видов эндометриальных изменений.
5. Разработать цифровой показатель, характеризующий функциональную активность эндометрия, для оценки и прогноза воспроизводительных качеств кобыл.
6. Проанализировать информативность и значимость различных методов исследования в системе комплексной оценки воспроизводительных качеств кобыл.

**Научная новизна работы.** Впервые показана подробная сравнительная морфометрическая характеристика эндометрия кобыл в различные фазы полового цикла на фоне уровня основных гормонов, участвующих в эндокринной регуляции репродуктивной функции. Уточнены и выделены главные отличительные признаки нормального строения слизистой матки у гинекологически здоровых кобыл, а также нарушений, связанных со снижением фертильности. Впервые проведена сравнительная характеристика использования различных методов дифференциального окрашивания гистосрезов при выявлении

основных видов деструктивных изменений в эндометрии и степени тяжести процесса. Впервые разработана система оценки функционального состояния эндометрия кобыл с помощью цифрового показателя на основе морфометрических параметров.

**Теоретическая и практическая значимость.** Комплексная оценка воспроизводительных качеств кобыл является основой для оптимизации технологии репродуктивного процесса в племенном коневодстве, как ключевого звена эффективной селекционно-племенной работы в отрасли с биологически малым коэффициентом размножения животных. Полученные данные существенно расширяют возможности и повышают эффективность диагностической базы при исследовании репродуктивной системы кобыл и могут быть предложены в качестве основных критериев отбора кобыл для использования в воспроизводстве.

Полученные новые научные данные позволяют выявить более глубокие причины субфертильности и бесплодия маток и на этой основе прогнозировать целесообразность дальнейшего использования кобылы в воспроизводстве. Определены основные критерии и характерные признаки патологических изменений в структуре эндометрия по гистологическим характеристикам эндометриальных желез и сосудов. Предложен новый подход к оценке функционального состояния эндометрия на основе вычисления эндометриального показателя с использованием морфометрических параметров.

Результаты работы представляют теоретическую значимость для углубления исследований функции эндометрия кобыл с учетом влияния различных факторов на его структуру в цикле воспроизводства, развивают классические положения о гормональной регуляции репродуктивной системы маток и являются приоритетными в разработке цифровых технологий оптимизации деятельности функциональных систем организма сельскохозяйственных животных. Полученные результаты исследований и методические приемы, использованные в

работе, могут быть включены в программы обучения студентов профильных ВУЗов и для научно-исследовательской работы.

**Методология и методы исследования.** В качестве методологической основы исследований были использованы научные работы ведущих отечественных и зарубежных ученых и специалистов в области репродукции лошадей, а также общенаучные методы: сравнительный анализ, синтез, обобщение теоретических и экспериментальных данных. Для решения поставленных задач применялись зоотехнические, биологические математические методы с использованием современного оборудования, инструментов и компьютерных программ (Microsoft Excel 2010, Statistica 10). Для оценки достоверности полученных данных использовали t-критерий Стьюдента и критерий Фишера, факторный анализ по методу главных компонент.

**Положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Динамика показателей воспроизводства кобыл по возрастным периодам в российских конных заводах.
2. Характеристика нормальной структуры эндометрия в различные фазы полового цикла и ее изменения в связи с возрастом кобыл.
3. Основные виды деструктивных изменений в эндометрии и наиболее информативные способы их выявления гистологическим методом.
4. Связь морфометрических параметров эндометрия с возрастом и фертильностью кобыл.
5. Оценка состояния эндометрия кобыл на основе вычисления эндометриального показателя с использованием морфометрических параметров для прогноза плодовитости кобыл.
6. Значимость морфометрического анализа эндометрия в системе оценки воспроизводительных качеств кобыл.

**Степень достоверности и апробация результатов исследований.**

Актуальность научных положений, обоснованность выводов и практических предложений производству, представленных в диссертационной работе, подтверждены экспериментальными данными. Полученные данные обработаны методами статистического и вариационного анализов с определением степени достоверности по критериям Стьюдента и Фишера. Цель и задачи, поставленные в диссертационной работе, выполнены в полном объёме. Результаты научных исследований по теме диссертационной работы доложены на научно-практической конференции «Достижения молодых ученых-зоотехнической науке и практике» (Дивово, ФГБНУ «ВНИИ коневодства» 2018), Международных научно – практических конференциях: «Современные достижения и актуальные проблемы в коневодстве» (ФГБНУ «ВНИИ коневодства», РФ, 2019), «Проблемы и перспективы развития животноводства» (г. Витебск, Беларусь 2018), представлены на XXXIII Всероссийской агропромышленной выставке «Золотая Осень – 2021» (бронзовая медаль).

Материалы исследований достаточно отражены в девяти научных статьях, в том числе шесть из них в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, одна на платформе Scopus и две в сборниках докладов научно-практических конференций.

**Список опубликованных по теме диссертации печатных работ:**

1. Дубровская А. Б. Современные методы исследования репродуктивных органов кобыл в племенном коневодстве /А. Б. Дубровская //Главный зоотехник. – 2022. - №1.- С 65-74.
2. Дубровская А. Б. Совершенствование оценки воспроизводительных качеств кобыл в племенном коневодстве/Л. Ф. Лебедева, А. Б. Дубровская//Зоотехния. – 2022.-№2. С. 30-33

3. Дубровская, А.Б. Морфометрические критерии здорового эндометрия у кобыл /Дубровская А.Б., Лебедева Л.Ф., Устьянцева А.В.// Коневодство и конный спорт.- 2021.- №5.- С.10-12.

4. Дубровская, А.Б. Связь гистологической структуры эндометрия с уровнем стероидных гормонов в крови у кобыл в различные фазы полового цикла/ А.Б. Дубровская, Л.Ф. Лебедева// Коневодство и конный спорт.- 2021.- № 1.- С. 8-11.

5. Дубровская, А.Б. Расширенная комплексная оценка репродуктивных качеств кобыл /Дубровская А.Б., Лебедева Л.Ф.// Коневодство и конный спорт.- 2020.- №1.- С. 30-33.

6. Дубровская, А.Б. Возрастные изменения в эндометрии у кобыл/ А.Б. Дубровская//Коневодство и конный спорт.- 2020.- №2. -С. 31-33.

7. Dubrovskaya, A. B. Comparative histomorphological characteristics of the endometrium of young and old mares with oestrus and diestrus/ A. B. Dubrovskaya, L.F. Lebedeva, K.A. Schukis // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2019- Vol. 341.

8. Дубровская, А.Б. О пользе гистологического метода исследования эндометрия у кобыл/ А.Б. Дубровская//Сборник докладов научно-практической конференции «Достижения молодых ученых – зоотехнической науке и практике». - Дивово -2018. -С. 102-106.

9. Лебедева, Л. Ф. Комплексная оценка репродуктивного статуса кобыл/ Лебедева Л. Ф., Дубровская А. Б.//Междунар. научно-практ конференция «Проблемы и перспективы развития животноводства, Витебск. Респ. Беларусь, 2018. - С.136.

**Личный вклад автора.** Автором лично собраны материалы и сделан анализ данных о показателях воспроизводства племенных кобыл в 5 отечественных конных заводах, проведена комплексная оценка репродуктивного тракта кобыл, забор материала для гистологического, цитологического и бактериологического анализа, расшифровка стекло-препаратов и сравнительный анализ

морфометрических параметров структурных элементов на гистологических срезах, а также статистическая обработка и анализ полученного материала, разработка цифрового эндометриального показателя у кобыл с использованием полученных в экспериментах морфометрических параметров.

**Благодарность.** Автор выражает глубокую благодарность и признательность своему научному руководителю, доктору сельскохозяйственных наук, кандидату биологических наук, доценту, заведующей лабораторией физиологии ФГБНУ «ВНИИК» Л. Ф. Лебедевой, доктору сельскохозяйственных наук, профессору, академику РАН, заслуженному деятелю науки РФ, научному руководителю ФГБНУ «ВНИИК» В.В. Калашникову, директору ФГБНУ «ВНИИК» Зайцеву А. М., доктору сельскохозяйственных наук, профессору, главному научному сотруднику лаборатории генетики ФГБНУ «ВНИИК» Л. А. Храбровой, доктору биологических наук, профессору, заведующей кафедрой биологии РГМУ им. академика И. П. Павлова О. В. Баковецкой, врачу-патологоанатому I квалификационной категории рязанской клинической больницы №11 К. А. Щукис, сотрудникам ФГБНУ «ВНИИ коневодства»: ст. науч. сотр. кандидату с.-х. наук А. В. Устьянцевой, ст. науч. сотр. кандидату с.-х. наук Ю. А. Орловой, ст. науч. сотрудникам лаборатории генетики ФГБНУ «ВНИИК» кандидату сельскохозяйственных наук Н. В. Блохиной и Т. В. Калашниковой, сотрудникам библиотеки ФГБНУ «ВНИИК» Н. В. Соломатиной и И. И. Лазаревой, специалисту лаборатории физиологии Н. В. Сидоровой, всем коллегам за отзывчивость и помощь в работе.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, предложений производству и списка использованной при написании диссертации литературы, включающего 280 источников, в том числе 147 на иностранных языках, содержит 152 страницы компьютерного текста, 36 рисунков, 12 таблиц.

## **2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

### **2.1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

#### **2.1.1 Воспроизводство племенных лошадей в коннозаводстве РФ в современных условиях**

В Российской Федерации, согласно данным государственного регистра племенных организаций, сегодня насчитывается 199 племенных конных заводов и племенных репродукторов с общей численностью маток 30768 голов 32 пород лошадей. В отличие от технологии разведения «местных» пород с преобладанием группового (косячного или табунного) содержания и выращивания лошадей, в племенных предприятиях, занимающихся воспроизводством лошадей «заводских» пород каждую лошадь, по выражению В. В. Калашникова (2021 г.), принято считать штучным «изделием», полученным в индивидуальном подборе, индивидуально выращенным, генетически и фенотипически оцененным и отобраным для дальнейшего воспроизводства методами сравнения с родителями, предками, сверстниками, братьями и сестрами [48]. Эта особенность отличает племенное коневодство от других отраслей животноводства и подчеркивает особое положение лошадей в общем ряду «племенной продукции».

Новые экономические условия, в которых оказалась Россия после перехода к рыночной экономике, изменили всю структуру племенных коневодческих предприятий. Некоторые хозяйства не устояли в этот сложный переходный период и прекратили существование. Оставшиеся конные заводы перешли в частную собственность. Это привело к потере традиционных механизмов государственного регулирования сферы коннозаводства в России, сокращению племенного конского поголовья вплоть до критической численности в некоторых отечественных

породах [67]. Однако, благодаря энтузиазму и упорной совместной работе коннозаводчиков, регистраторов пород, специалистов в хозяйствах, удалось сохранить племенной поголовье, наладить процесс воспроизводства и выращивания высококлассных лошадей в отечественном коннозаводстве. Ярким примером такой работы является современное состояние орловской рысистой породы – жемчужины отечественной селекции и национальной гордости России. Достигнув расцвета в 1970-80 гг. в качестве образца выраженности типа, экстерьера, крепости конституции и резвости, а также - массового улучшателя местных пород, в 1990-х годах орловский рысак начинает утрачивать конкурентоспособность на ипподроме, вытесняемый более резвыми породами - русской рысистой и американской стандартбредной. В результате на начало 1998 года было отмечено значительное уменьшение доли испытанного молодняка и, соответственно, кобыл, поступающих в маточный состав заводов (~30%). Процент благополучной выжеребки в породе снизился с 79,9 до 76,8, а выход жеребят на 100 конематок составил 62,4 %. Встал вопрос не о прогрессе, а о сохранении породы [83]. Однако ряд мер, предпринятых специалистами ВНИИ коневодства, в частности, введение льгот и закрытых призов для орловского рысака, организация системы чемпионатов по типу и экстерьеру, пропаганда породы в России и за рубежом, в том числе для использования в соревнованиях по драйвингу, принесли свои плоды. За последнее десятилетие ситуация в породе стабилизировалась поголовье маток около 2000 голов. Орловцы одна из многочисленных пород РФ.

Общепризнано, что в системе селекционной работы с заводскими породами лошадей важнейшими составляющими являются качество маточного поголовья и эффективная организация производственно-технологического цикла воспроизводства. Исследования, проведенные Лебедевой Л.Ф. (2017), показали, что в коннозаводстве России при естественной случке в период 2005-2015 гг. зажеребляемость кобыл по породам колебалась от 66,2% (советская тяжеловозная)

до 97,8% (терская). Прохолосты составляли от 2 до 30%, доля аборт и мертворожденных жеребят варьировала в пределах от 2 до 20% и в большинстве пород превышала 10%. Выход жеребят в среднем по породам колебался от 52 до 76%. Однако, по данным автора, в племенных коневодческих хозяйствах РФ с высоким уровнем организации репродуктивного процесса и квалифицированными специалистами-репродуктологами показатели воспроизводства кобыл возрастают на 7-20% [67]. Исходным моментом в технологическом цикле воспроизводства племенного поголовья является системный отбор кобыл в маточный состав на основе комплексной репродуктивной оценки. Внедрение современных диагностических методов исследования половой системы кобыл в репродуктивный процесс способствует повышению эффективности использования маточного поголовья и улучшению качества приплода.

### **2.1.2 Экзогенные и эндогенные факторы, влияющие на плодовитость кобыл**

Итоговые показатели воспроизводства в коневодстве складываются из множества составляющих, каждая из которых может стать причиной снижения результатов. Помимо качества семени жеребцов, отмечено влияние целого ряда экзогенных и эндогенных факторов на функционирование репродуктивной системы кобыл, которые могут негативно отразиться на фертильности и приводить к бесплодию.

К экзогенным факторам относят: условия содержания и кормления, климатические условия, инфекционные и инвазионные заболевания, интенсивность использования (тренинг, испытания, работа), стресс-факторы, травмы. К эндогенным факторам причисляют репродуктивное здоровье лошадей, обмен веществ, гормональный статус, упитанность, генетическую основу и

наследственность, возраст, породные качества, продуктивность и работоспособность.

**Экзогенные факторы.** Проблемы с воспроизводством животных в странах с жарким климатом хорошо известны специалистам. Влияние теплового стресса на репродукцию подробно изучено на коровах. Отмечается снижение уровня оплодотворяемости на 20-30%, различные нарушения полового цикла, связанные с непосредственным влиянием жары на яичники, гаметы, матку, эмбрион и ранний плод. При этом предполагают два основных пути этого воздействия: через перераспределение кровотока и дефицит энергии, а также прямое воздействие высокой температуры тела на эндокринные механизмы и клеточную физиологию (овариальные, герминальные, эмбриональные клетки) [197, 252, 270]. Противоположная аномалия – сильные морозы - также является серьезным стресс-фактором для воспроизводства. В Якутии, где температура в условиях резко континентального климата иногда опускается ниже  $-60^{\circ}\text{C}$ . У кобыл якутской породы при табунном содержании, несмотря на адаптацию к экстремально низким температурам, наблюдается, как правило, две волны абортот: при наступлении первых сильных холодов (в конце октября-ноябре) и на пике зимних морозов (в феврале-марте), в результате чего показатели воспроизводства резко снижаются (до 50-60%) [2, 45, 49].

Фактор кормления и полноценности рациона также является фундаментальным аспектом технологии репродукции поголовья [91, 94, 95, 96, 97, 98, 192]. При этом обе крайности (недокорм и перекорм) одинаково плохо сказываются на показателях воспроизводства (зажеребляемость, благополучная выжеребка и выход жеребят). Важность правильного режима кормления и поения животных, сбалансированность рациона по макро- и микроэлементному составу признана зоотехнической нормой. Поэтому были разработаны многочисленные виды подкормок для повышения фертильности племенных маток и жеребцов в

соответствии с их репродуктивным статусом (например, Mega Base Fertility, Мега-Вит Репродуктив и др.)

Ряд инфекционных заболеваний, переносимых воздушно-капельным путем, насекомыми, через половые контакты или ятрогенно, в частности, герпес-вирусные инфекции (типы 1, 3 и 4), вирусный артериит, инфекционная анемия, случайная болезнь, лептоспироз, бруцеллез, сальмонеллез и др. вызывают массовые аборт и рождение нежизнеспособного и ослабленного потомства [127, 128, 129, 130, 131, 132]. Поэтому эпизоотологический фактор обязательно должен быть учтен при планировании случной кампании.

Спортивная карьера кобыл и жеребцов, бесконтрольное использование гормональных, лекарственных препаратов могут вызывать в дальнейшем сбой нормального функционирования репродуктивной системы. Известно, что чрезмерное напряжение в работе, интенсивный тренинг и ипподромные испытания, связанные со стресс-факторами, ослабляют репродуктивную функцию. Основным действующим веществом стрессового воздействия на организм считается выброс глюкокортикоидов (кортизола), который может вызывать сдвиги в гормональной регуляции репродуктивного цикла и жеребости у кобыл [134, 232, 244].

В нашей стране физиологи и селекционеры достаточно подробно изучали вопрос о влиянии степени напряженности работоспособности (призовые виды спорта) на плодовитость кобыл и постулировали обратную зависимость между этими признаками (В. О. Витт, 1937; Э. М. Пэрн, 1980; А. Б. Фомин 1982; Е. Б. Дубровская 1984; Г. К. Коновалова 1999; О. И. Сулейманов, 2000; А. В. Игнатов, 2009) [23, 34, 46, 50, 56, 107, 111]. Исследования Е. В. Кассесиновой (2013) показали, что кобылы орловской рысистой породы более высокого резвостного класса (2 мин.10 сек на дистанцию 1600 м.) имеют пониженные показатели плодовитости [53]. Было отмечено, что после ипподромных испытаний нормализация функциональной деятельности репродуктивной системы у кобыл наступает только спустя 2 – 3 года после начала их заводского использования. По

данным В. В. Калашникова с соавт. (1999), Г. Коноваловой (1999) ухудшение показателей воспроизводства американской стандартбредной породы связано с жестким отбором исключительно по одному признаку – работоспособности [50, 56]. У авторов нет единого мнения в данном вопросе, но большинство из них считает, что интенсивность и напряженность тренинга отрицательно влияют на будущую репродуктивную карьеру кобыл. С другой стороны, умеренные физические нагрузки и моцион, в том числе жеребых кобыл, всегда был и остается обязательным элементом технологии содержания племенного маточного поголовья в отечественных конных заводах [94, 95, 96, 97, 98].

В скотоводстве хорошо известна обратная зависимость между молочностью и плодовитостью высокоудойных (более 6000 кг за лактацию) коров [21]. Логично было бы предположить, что интенсивность использования кобыл в дойке (кумысо-производство) тоже может негативно сказываться на их воспроизводительной способности. Тем не менее, в исследованиях Чиргина Е. Д. (1998) за 12-летний период не было обнаружено отрицательной корреляции между молочной продуктивностью и воспроизводительными качествами кобыл литовской, советской и русской тяжеловозных пород при интенсивном доении. Высокий репродуктивный потенциал (выход жеребят на уровне 85-90%) сохранялся у кобыл до 15-18-летнего возраста, несмотря на то, что они находились в дойке по 16 часов в день (8-кратное доение с интервалом в 2 часа), а остальные 10 часов оставались с жеребятами [123].

К числу экзогенных факторов относятся также нервные стрессы, связанные с транспортировкой, сменой места обитания, отъемом жеребят. Например, перевозка глубоко жеребых кобыл (после 325 дня) может повлиять на срок выжеребки [233]. Однако, по мнению некоторых авторов, адаптация животных к стрессовым условиям или к их привычному периодическому воздействию (например, частые перевозки) снижает выброс кортизола и перестает иметь негативное воздействие на организм. Серьезные сдвиги в гормональной регуляции (в частности, секреция гонадотропинов) у кобыл может наступать лишь при

длительном стрессовом воздействии, а краткосрочный выброс кортизола не влияет на половой цикл и уровень зажеребляемости [142].

**Эндогенные факторы.** Полностью исключают использование животных в воспроизводстве хромосомные аномалии, болезни, вызывающие бесплодие (моно- и трисомия, инфантилизм, гермафродитизм, болезнь Кушинга, врожденные аномалии полового тракта) [206, 207].

Породные, линейные, индивидуальные характеристики репродуктивных качеств лошадей, их наследуемость, склонность к рождению двоен у некоторых пород подробно изучали отечественные и зарубежные ученые [63, 114, 115, 241]. В ряде работ о влиянии степени инбридинга на воспроизводительные качества кобыл на различных породах лошадей было продемонстрировано, что с повышением гомозиготности у кобыл снижается выход жеребят. Наилучшие показатели воспроизводства были получены при применении умеренного и отдаленного инбридинга, в сравнении с близким инбридингом [109, 114, 118, 122, 133, 268]. Также у кобыл тяжеловозных пород было показано снижение молочной продуктивности и показателей воспроизводства у инбредных маток, по сравнению с аутбредными [17, 123.].

Склонность кобыл к рождению двоен, как оказалось, тоже имеет генетическую основу. Наибольшая выраженность и передача по наследству этого признака была выявлена, в частности, у кобыл чистокровной верховой породы, в том числе при скрещивании с другими породами (в полукровном коннозаводстве) [63, 208].

Прорывы в генетике привели к кардинальному изменению принципов селекции животных и переходу к использованию генетических маркеров определенных хозяйственно-полезных признаков, то есть к геномной селекции. Уже выявлены некоторые генетические аномалии, в том числе в репродуктивной сфере, и разработаны тест-системы для их определения и исключения носителей таких заболеваний из воспроизводства [118].

Необходимым условием полноценной воспроизводительной деятельности кобыл является хорошая усвояемость и переваримость кормов для поддержания нормальной кондиции, вынашивания плода и лактации [193, 234]. У здоровых маток с сильным иммунитетом имеются дополнительные резервы для сопротивления болезням, в том числе гинекологическим, в наибольшей степени ответственным за нормальную работу репродуктивной системы.

В отсутствие более глубоких нарушений, гинекологические проблемы представляют собой главную причину субфертильности и бесплодия кобыл. Их эндогенный характер в большинстве случаев обусловлен длительным воздействием неблагоприятных экзогенных факторов (неполноценное кормление, неправильный режим содержания и использования, отсутствие ветеринарного обслуживания, хронические заболевания и инфекции и т.п.). Дополнительный вклад в этот ряд проблем вносят приобретенные аномалии полового тракта (родовые травмы, опухоли, яичников и матки, изменение строения наружных половых органов [148, 163, 225, 236]).

Своевременное выявление гинекологических причин субфертильности, диагностика видов патологий и правильный выбор их лечения дает шанс на восстановление репродуктивной функции и дальнейшее использование кобыл в воспроизводстве [135, 140, 147, 148, 149, 154, 160, 161, 162, 163, 185, 200, 205, 235, 277].

### **2.1.3 Видовые особенности репродуктивной функции кобыл**

Лошади относятся к полициклическим животным, их половая цикличность носит сезонный характер. В средней полосе России с февраля у кобыл наступает весенний переходный период, который продолжается, примерно, до середины апреля. Организм кобылы выходит из зимнего физиологического «покоя» - анэструса - и готовится к репродуктивному сезону: в крови повышается уровень

гонадотропных гормонов (ФСГ и ЛГ) за счет чего активизируются яичники, и начинается волнообразный рост фолликулов. Примерно, к началу-середине мая у кобыл с интервалом в 21-23 дня устанавливаются регулярные половые циклы, завершающиеся овуляцией. Период полноценной половой цикличности – овуляторная фаза - продолжается у кобыл в средней полосе, приблизительно, до середины октября.

Половой цикл включает эструс и диэструс. Половая охота (эструс) длится с момента проявления поведенческих признаков расположения к жеребцу до «отбоя» и составляет, в среднем 3-5 дней. В этот период в яичнике происходит созревание лидирующего фолликула и его овуляция. На момент эструса в крови растет уровень эстрогенов и лютеолизирующего гормона (ЛГ), их пик приходится на момент овуляции (день 0 полового цикла), после чего уровень данных гормонов снижается до базального, наступает период диэструса (полового покоя). На месте овулировавшего фолликула развивается желтое тело, которое продуцирует гормон прогестерон на протяжении всего периода диэструса. С 8 по 14 день цикла отмечается пик уровня прогестерона в крови, в яичнике функционирует зрелое желтое тело, и кобыла агрессивна по отношению к жеребцу. С 15 по 17 день наблюдается регрессия желтого тела и спад уровня прогестерона [67, 166, 259]. В начале диэструса происходит также рост промежуточных фолликулов (первая фолликулярная волна), развитие которых стимулируется 2-фазной выработкой фолликулостимулирующего (ФСГ) гормона гипофизом. Из второй волны ФСГ (в середине диэструса) запускается рост и созревание лидирующего фолликула. С 16-18 дня цикла созревающий фолликул (или несколько фолликулов) в яичнике наращивает уровень эстрогенов, вызывающих наступление очередной охоты. Эстрогены, действуя на гипофиз, стимулируют увеличение секреции ЛГ, под действием которого лидирующий фолликул доходит до овуляции. В случае наступления беременности желтое тело

полового цикла не регрессирует, а продолжает наращивать эндокринную активность, переходя в желтое тело беременности.

С наступлением осени (середины октября) начинается угасание активной половой цикличности - «осенний переходный период», плавно перетекающий в анэструс, который длится до середины февраля. Вовремя анэструса у кобыл отсутствуют признаки половой охоты, поскольку в яичниках фолликулы не развиваются, и овуляция не происходит.

Каждой фазе полового цикла и беременности соответствуют определенные изменения в структуре и функциональной активности половых органов. Главным рычагом, запускающим эти изменения в организме кобылы, служит уровень половых гормонов. Перестройка функций элементов репродуктивной системы тесно связана со структурными преобразованиями в матке и яичниках. Существует несколько способов диагностики половой системы кобыл.

#### **2.1.4 Современные методы исследования репродуктивных органов кобыл в отечественном коннозаводстве**

Важность комплексного подхода к оценке воспроизводительных качеств кобыл доказана многочисленными исследованиями и накопленным опытом специалистов-репродуктологов. В настоящее время в систему отечественной комплексной репродуктивной оценки включены пять основных методов: ректальное, ультразвуковое, вагинальное, цитологическое и бактериологическое исследования полового тракта кобыл, которые предваряют визуальный осмотр наружных половых органов и сбор информации о репродуктивной истории кобылы. Данные методы диагностики в совокупности друг друга дополняют и дают наиболее подробную картину для постановки точного диагноза и назначения лечения. В комплексе они обеспечивают высокую эффективность выявления

патологий репродуктивной системы и лечения гинекологических заболеваний [64]. За рубежом, благодаря более широким диагностическим возможностям и спектру лабораторных исследований, помимо перечисленных пяти методов, используют также гормональный, гистологический, эндоскопический и в некоторых случаях хромосомный анализы [172].

**Ректальный метод.** При исследовании функционального состояния матки и яичников одним из старейших и высоко информативных методов является ректальная диагностика. В нашей стране основоположниками данного метода были А. Ю. Тарасевич, Х. И. Животков, Г. В. Паршутин, П. Н. Скаткин [40, 84, 85, 108]. Этот метод был основным в отечественных конных заводах почти до начала 2000-х годов. Его успешное применение требует основательной практической подготовки и многолетнего опыта.

Метод ректальной пальпации позволяет установить степень зрелости и овуляцию фолликула, срок жеребости кобылы, определить тонус матки, размер, консистенцию органов, наличие жидкости в полости матки по характерной флюктуации. На основании ректальной диагностики можно определить ряд патологий, связанных со снижением фертильности кобыл (атония и субинволюция матки, скопление жидкости и воздух в матке, гематома и новообразования в яичниках и др.) [43, 64, 68, 70].

Однако возможности метода ограничены тактильным восприятием, посредством которого нельзя определить текстуру и содержимое исследуемого органа. Например, наличие в яичнике мягкого круглого образования может означать и зрелый, и лютеинизирующийся фолликул, и гематому. А плодный пузырь неопытному исследователю легко спутать с тяжелым эндометритом и пиометрой. Для более точного диагноза необходимо подкреплять данный метод повторным исследованием, смотреть за изменениями в динамике и анализировать результат в комплексе с поведенческими признаками. Поэтому в современной

коневодческой практике ректальная диагностика сопровождается ультразвуковым исследованием матки и яичников.

**Ультразвуковой метод.** Ультразвук используют в медицине и ветеринарии для визуализации и точного измерения структур репродуктивного тракта. Первые предположения и гипотезы о наличии в природе ультразвуковых колебаний выдвинул итальянский естествоиспытатель Л. Спалланцани в 1794 г. при наблюдении за жизнью летучих мышей и их способностью ориентироваться в пространстве. Прародителями же медицинского УЗИ принято считать физиков Пьера и Жака Кюри, обнаруживших в 1880 г. пьезоэлектрический эффект при механическом воздействии на некоторые кристаллы. В результате, благодаря этому открытию, были созданы детекторы ультразвука, которые до сих пор являются основными элементами современных УЗ-сканеров. Первые полноценные аппараты ультразвуковой диагностики, позволяющие врачу провести обследование пациента на должном уровне, появились в США в 1963 г.

В коневодстве ультразвуковое исследование репродуктивной системы кобыл впервые было предложено французским ветеринарным врачом Е. Palmer [233]. Анатомическое расположение половых органов непосредственно под прямой кишкой у кобыл позволило, изменив конфигурацию медицинского датчика, визуализировать их с помощью ультразвука. Основным инструментом в современной практике при трансректальной УЗ-экспертизе является датчик (зонд) с нижним обзором, когда его сканирующая поверхность обращена вниз. Однако конвексные датчики с фронтальным обзором не утратили своего значения и используются для трансабдоминального УЗ-исследования (поздняя жеребость) или трансвагинальных процедур (например, прижизненное извлечение яйцеклеток из яичников кобыл –ОРУ). С появлением данного метода появилась возможность визуально оценивать процессы, происходящие в матке и яичниках кобыл, что существенно облегчило диагностику и углубило комплексное репродуктивное исследование.

Наиболее тщательно вопросами УЗИ матки и яичников кобыл в течение полового цикла и жеребости занимались J. Ginther, A. O. McKinnon, P. McCue и др. [182, 226, 228, 229]. Было показано, что структуры, наполненные жидкостью (фолликулы, ранний эмбрион, плодная жидкость, прозрачный экссудат в матке), имеют черное (анэхогенное) изображение на экране УЗ-сканера. А более плотные (эхогенные), такие как желтое тело, матка, плод – оттенки от темно-серого до почти белого (костная ткань). Белый цвет так же имеет на эхограммах воздух, который полностью отражает ультразвуковые волны. Овуляцию определяли как отсутствие ранее зафиксированного у кобылы в эструсе лидирующего фолликула, на месте которого образуется геморрагическое желтое тело. Оно постепенно созревает, принимая все более эхогенное ультразвуковое изображение и превращается в зрелое желтое тело к 5 дню после овуляции [218, 227, 228].

Особое внимание исследователей было уделено УЗ-диагностике жеребости кобыл. Были подробно изучены все фазы жеребости и их ультразвуковые признаки, составлена шкала нормального развития эмбриона, вычислены средние размеры эмбрионального пузырька в соответствии с возрастом, разработаны методики оценки состояния эмбриона и определения признаков нарушения его развития [146, 172, 181]. Разработаны методики определения пола плода [182].

Большое число исследований было направлено на изучение репродуктивных органов кобыл в норме и патологии с помощью УЗИ. Многие авторы наблюдали и описали лютеинизацию фолликула без овуляции, первыми признаками которой считается появление в фолликулярной жидкости эхогенных включений. Были описаны также геморрагические (ановуляторные) фолликулы, долго присутствующие в яичнике без овуляции и лютеинизации, а также различные патологии (паровариальные и маточные кисты, опухоли яичников, жидкость в матке, эмбриональная гибель и др.) [218, 229]. Целая серия работ была посвящена трансректальной и трансабдоминальной УЗ-диагностике плацентитов – одной из главных причин аборт у кобыл [247, 258, 263, 264].

Обширные исследования были проведены в связи с проблемой двойнёвности в коневодстве, которая наносила существенный урон отрасли, приводя к потерям жеребости, родовым травмам и появлению слаборожденного потомства. С помощью УЗИ эту проблему теперь удастся успешно решить на самых ранних этапах (10-15 дней жеребости). При выявлении двух (и более) эмбрионов проводится мануальное отдавливание лишних эмбриональных пузырьков в матке кобылы [150, 182, 209, 231, 242].

В России на экспериментальной базе ВНИИ коневодства Лебедевым С. Г. с коллегами с 1999 г. было начато освоение метода ультразвукового исследования физиологического состояния репродуктивных органов кобыл. Были изучены и описаны фолликулогенез, начальные стадии жеребости, образование первичных и вторичных желтых тел у кобыл с помощью УЗИ [60, 62]. В дальнейшем эта работа была продолжена Лебедевой Л. Ф. с учениками, которая провела масштабные исследования по УЗ-диагностике репродуктивной системы кобыл в норме и патологии и выпустила практическое руководство для российских специалистов [69].

В последние годы ультразвуковой метод был обогащен новыми возможностями, в частности функцией доплер-сигнала, позволяющей визуализировать и измерять скорость кровотока в сосудах матки, яичников и эмбриона/плода, что дает дополнительную важную информацию об их состоянии [65, 66, 177, 182, 260].

В результате освоения и применения ультразвукового метода в практике воспроизводства лошадей удалось не только поднять уровень зажеребляемости и сохранения жеребости, но существенно углубить фундаментальные знания о физиологии воспроизводства лошадей. А в системе оценки репродуктивных качеств кобыл метод УЗИ по своей информативности занимает в настоящее время лидирующую позицию [67].

**Вагиноскопия.** Вагиноскопия – это метод исследования преддверия и всех отделов влагалища, а также наружного зева шейки матки в ветеринарной гинекологии. с помощью влагалищного зеркала (спекулюм) с источником освещения. При осмотре обращают внимание на цвет слизистой, количество, степень вязкости и прозрачности секрета, наличие экссудата, спаек, разрывов и рубцов шейки матки и влагалища [171]. По характеру и звуку выходящего воздуха при продвижении влагалищного зеркала определяют компетентность защитных барьеров полового тракта и выявляют тяжелое заболевание - пневмо - и утеровагина. О выявлении с помощью вагиноскопии отклонений в строении вульво-вагинального барьера и насасывании воздуха в половой тракт писал еще в 1939 году П. А. Волосков [26]. Эта патология связана с постоянной контаминацией влагалища и матки инфекционными агентами, что приводит в итоге к субфертильности и бесплодию кобыл, если вовремя не сделать операцию Каслика (хирургическое ушивание верхней части вульвы) [164].

Рекомендовано проводить вагиноскопию в сочетании с мануальным исследованием влагалища и шейки матки для уточнения целостности и проходимости цервикального канала [213]. Советскими специалистами еще в середине прошлого столетия на основе метода вагиноскопии были изучены характерные физиологические изменения в репродуктивном тракте кобыл, наблюдаемые в период эструса, диэструса и жеребости [25, 85, 87]. Эти наблюдения легли в основу оценки фазы полового цикла с помощью влагалищного зеркала. В частности, в период эструса описаны следующие изменения: слизистая оболочки влагалища гиперемирована, поверхность гладкая, блестящая с обильным количеством прозрачной слизи, которая вытягивается в тонкие нити и легко смывается с руки; шейка матки отекшая, опущена к нижнему своду влагалища. Данные признаки оказываются очень полезными при выборе времени для случки/осеменения кобылы в сочетании с остальными диагностическими методами. В период диэструса отмечается небольшое

количество вязкой слизи, которая препятствует легкому прохождению гинекологического зеркала по родовому пути, ярко выраженная васкуляризация свода влагалища, бледность слизистой оболочки, плотно закрытая, узкая шейка матки, расположенная центрально и выпячивающаяся в просвет влагалища в форме конуса. В анэструсе наблюдается сухость и синюшность слизистой влагалища с сосудистой сетью по своду влагалища; вагинальный секрет отсутствует, шейка матки дряблая, часто на грани раскрытия [67, 262].

Во время жеребости характеристики слизи меняются: она становится густой, саловидной, плохо смывается с руки, стенки влагалища слипаются и затрудняют введение спекулюма. Эти признаки служили подтверждением жеребости кобыл у старых советских специалистов в табунном коневодстве [17]. Сегодня ответ на этот вопрос легко дает ультразвуковое исследование.

Однако ценность вагиноскопии при выявлении признаков и источника воспалительного процесса, а также визуализация различных патологий влагалища и шейки матки кобыл (спайки, разрывы, рубцы, влагалищный варикоз, персистентная девственная плева) остается неизменной.

**Цитологический метод.** Цитологическое исследование влагалищной слизи кобыл впервые было описано в 1920-1925г. (метод Бенеша-Куросавы) в связи с ранней диагностикой жеребости у кобыл. По данной методике работали отечественные исследователи И. Т. Растяпин и Н. М. Рязанцева. В 1936 г. на экспериментальной базе ВНИИК авторы отбирали образцы цервикальной слизи у жеребых кобыл. В результате данных исследований получено подробное описание клеточного состава цервикальных мазков, отмечено появление в мазках слизневых шаров и реснитчатого эпителия. Благодаря этим исследованиям, стало возможно определить жеребость у кобыл, начиная с 21-го дня после случки. У кобыл с признаками воспаления репродуктивного тракта, в цитологических образцах авторы отмечали скопление большого количества нейтрофилов [93].

Влагалищные и цервикальные мазки широко использовались советскими специалистами и были рекомендованы к применению на производстве для

уточнения и подтверждения фазы полового цикла и жеребости, а также воспалительных процессов в половом тракте [15, 26].

Цитологическое исследование эндометрия для диагностики воспалительного процесса вошло в рутинную практику в 1960-х годах. Были предложены различные методы и инструменты для отбора материала, окраски мазков и интерпретации результата. Образцы получают с помощью ватного тампона или цитологической щеточки (cytobrush) в двойном чехле, адаптированной для кобыл из медицинского аналога, путем лаважа матки или биопсии эндометрия [213]. Основная цель - получить достаточное количество клеток именно с поверхности эндометрия, минуя слизистую преддверия, влагалища и шейки матки. Исследования J. Aguilar et al. (2006) показали, что количество нейтрофилов в наружных отделах полового тракта (преддверии, влагалище и цервикальном канале) больше, чем в матке, поэтому авторами рекомендованы инструменты с двойным чехлом, чтобы не контаминировать матку и не получить ложный результат [136].

Каждый из методов имеет свои достоинства и недостатки. В частности, недостатком тампонов и щеточек является локальность отбора материала, и в случае очаговой инфекции можно пропустить нужный участок эндометрия. Однако доступность, стерильность и удобство одноразовых инструментов делает метод привлекательным для специалистов. Кроме того, у кобыл с ушитой вульвой (операция Каслика) цитологические зачехленные тампоны или щеточки можно вводить в матку через узкое одноразовое влагалищное зеркало (производство Minitube, Германия). Лаваж матки (50-100 мл) позволяет собрать материал с большей поверхности эндометрия, но жидкость нужно вводить в матку, отстаивать или центрифугировать, что требует дополнительных затрат труда и времени [210]. Итальянскими специалистами в 2020 г. было проведено сравнение чувствительности и специфичности различных методов забора материала (ватный тампон, щеточка, лаваж матки и биопсия эндометрия) в диагностике воспалительных процессов эндометрия у кобыл. Каждый из этих методов

оказался по-своему информативен, хотя и не лишен ошибок в диагнозе, но в комплексе они подтверждали и дополняли друг друга [245].

Эндометриальные цитологические образцы принято отбирать на 2-3 день эструса, то есть в фазу увеличения количества и разжижения слизи, но не на пике пролиферативной активности желез матки, чтобы не снижалась концентрация клеток в мазке. В диэструсе или во время удлинённой охоты в весенний переходный период можно получить ложные результаты [215].

Были также разработаны и усовершенствованы методы окраски цитологических мазков. Наиболее предпочтительными считаются методики окрашивания по Райту, Романовскому-Гимза, Май-Грюнвальду, Diff-Quik. Большое внимание исследователи уделяли дифференциальной диагностике цитологического состава влагалищных мазков. Были выявлены и описаны изменения формы эпителиальных клеток и локализации ядер в клетке в различные периоды полового цикла [170]. В эструсе обнаружено появление в мазках клеток реснитчатого эпителия с ацентричным, базально-расположенным ядром и клеточного дебриса, образовавшийся от потери клетками ресничек. В диэструсе, согласно данным Л. Ф. Лебедевой (2015), эпителиальные клетки приобретают более округлую форму, а ядро смещается к центру [70]. О. В. Баковецкой (1998) были описаны изменения вида вагинальной слизи на цитологических препаратах, в зависимости от фазы цикла, в частности, появление «папаратникообразного» рисунка слизи в период эструса. В диэструсе такая картина отсутствовала [11].

Индикатором воспалительного процесса в половом тракте является присутствие нейтрофилов в цитологическом мазке. Наличие более 5-7 нейтрофилов в поле зрения (x400), либо 1 нейтрофила на 10 эпителиальных клеток считается признаком воспаления. Однако после случки у гинекологически здоровых кобыл может наблюдаться повышение количества нейтрофилов в цервикальном мазке. Это естественный иммунный ответ, данный механизм обеспечивает защиту матки от контаминации [70, 170, 257].

По данным J. Dascanio, W. Ley, при переходе острого воспаления полового тракта в хроническое, в цитологических мазках цервикальной и влагалищной слизи появляются лимфоциты. В случае хронических заболеваний количество лимфоцитов значительно увеличивается, а также обнаруживается присутствие макрофагов и плазматических клеток. Редко встречающиеся в мазках эозинофилы свидетельствуют о напряжении иммунной системы в результате проникновения инородного агента (воздух, моча, каловые массы, гельминты). Были описаны также различные формы бактериальной и грибковой микрофлоры, встречающиеся в цервикальных и эндометриальных мазках (кокки, дрожжи, *Candida*, *Aspergillus*) [170].

Л. А. Храбровой (1995) во ВНИИ коневодства были разработаны методические рекомендации по цитологической диагностике эндометритов у кобыл и получен патент. В своих исследованиях автор предложил оценку промывной маточной жидкости как визуально, так и микроскопически. По результатам микроскопического анализа мазков, приготовленных из осадка промывной жидкости, автором было предложено дифференцировать характер воспалительного процесса в матке кобыл, как острый, подострый и хронический, в зависимости от соотношения количества нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и эпителиальных клеток с дегенеративными изменениями в цитологических образцах [116].

На сегодняшний день цитологический метод исследования клеточного состава в мазках, взятых с поверхности влагалища, шейки матки и эндометрия у кобыл позволяет определить функциональное состояние репродуктивной системы и подтвердить или исключить наличие воспаления, а при достаточном опыте дифференцировать бактериальную или грибковую микрофлору.

**Бактериологический анализ.** Это крайне важная процедура, посредством которой идентифицируется состав возбудителей половых инфекций и чувствительность их к антибиотикам. Эта процедура определяет стратегию лечения и выбор лекарственных препаратов. Информативность данного метода

зависит от правильной техники забора биоматериала (недопущения контаминации), своевременной транспортировки, а также от соблюдения правил культивирования микроорганизмов. Проведение данного исследования возможно только в специализированных лабораториях [51].

Наиболее благоприятным для бактериологического анализа периодом считается 1-2 день или середина эструса, когда увеличивается секреция маточных желез (влажный тампон) и снижается риск ложного результата или занесения инфекции во время процедуры [213].

Результаты многочисленных исследований показали, что наиболее часто встречающиеся микроорганизмы в половом тракте кобыл – это *E. Coli*, *S. Aureus*, *S. Equi*, *S. nonepidemic*, *P. aeruginosa* и *Klebsiella pneumonia* [203, 250]. Однако, по мнению Р. М. McCue и J. Bishop (2014), стандартные методы посева не всегда обнаруживают бактериальные или грибковые организмы. Это связано с наличием медленно растущих и прихотливых микроорганизмов в том числе и анаэробных бактерий, для культивирования которых требуется создание специальных условий. В связи с этим авторы предлагают использовать количественный ПЦР-анализ, наиболее информативный, но и дорогостоящий [224].

По данным американских специалистов, приблизительно 15% маточного поголовья кобыл различных пород имеют признаки посткоитального эндометрита. [181]. В своих исследованиях Troedsson M. H. T. и Loset K. (2001) отмечали, что картина физиологического воспаления эндометрия наблюдается как после естественной случки, так и после искусственного осеменения. Данная патология связана с защитным механизмом клиренса матки от чужеродного белка и десквамированного эпителия (семени и семенной плазмы, бактерий и клеточного дебриса) [267, 275]. Загрязнение вызывает воспалительный ответ с незначительной нейтрофилией [180, 278]. По мнению многих авторов у 25–60% бесплодных кобыл наблюдалось наличие бактериальных инфекций в репродуктивном тракте [145, 167], при этом две наиболее часто выделяемые

бактерии–*Escherichia coli* (*E. coli*) и *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* (*S. equus zooepidemicus*) –считаются условно-патогенными и у здоровых кобыл (в незначительном количестве) не вызывают воспаления [137].

В научных трудах LeBlanc M. M. et al. (1994); Evans M. J. et al. (1986); Christoffersen M. et al. (2012) описывается связь между фазой полового цикла и эффективностью иммунного ответа матки. Так в экспериментальных инокуляциях кишечной палочки в полость матки здоровым кобылам в период эструса авторы наблюдали небольшое воспаление, а в период диэструса у кобыл отмечались гнойные и катаральные выделения из влагалища, а также острое системное воспаление [165, 176, 212].

В исследованиях отечественных специалистов были получены схожие результаты. В частности, наблюдения Л. Ф. Лебедевой (2017) показали, что наиболее часто цервикальная и эндометриальная микрофлора у кобыл представлена кишечной палочкой (*Escherichia coli* -33,3%) и стафилакокками (*S.aureus* и *S. Epidermidis* – 27,8%), реже в образцах присутствовали стрептококки (*S.equi*, *S.zooepidemicus* – 16,7%), энтерококки (5,6%) и синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) (5,6%). Среди возбудителей грибковых инфекций были обнаружены *Aspergillus fumigatus*, *Penicillum*, *Candida albicans*. Автором было отмечено, что у молодых кобыл рост грибов не наблюдался, в отличие от кобыл старшего возраста, что свидетельствует о наличии хронических заболеваний с сопутствующим развитием грибковых и дрожжевых инфекций [67]. Зарубежные специалисты также утверждают, что часто после интенсивного курса антибиотикотерапии место побежденной бактериальной микрофлоры занимают устойчивые к использованному препарату грибковые и дрожжевые микроорганизмы, с которыми справиться гораздо сложнее [203].

**Гормональный анализ.** Циклический характер проявления половой функции у самок определяется сменой гормонального фона, который, в свою очередь, подвержен влиянию внешних и внутренних факторов. Главную роль в

эндокринной регуляции играет длина светового дня, которая определяет сезонность проявления половой цикличности кобыл [239]. Дополнительными значимыми факторами считают температуру, уровень кормления, половую стимуляцию (проба жеребцом) [38]. Наличие определенных видов патологий репродуктивной системы также может быть связано с гормональными нарушениями.

В отечественном коневодстве изучением эндокринной регуляции половой системы кобыл занимались К. И. Барулин, 1932, 1935, 1946; Л. М. Мирская и В. В. Петропавловский, 1937, 1938; Б. М. Завадовский, 1934, 1937; А. В. Шилова, 1969; С. Г. Лебедев, 1977; В. В. Андрюшин, Е. Л. Фомина, 1984 и многие другие физиологи. Наиболее ранние исследования были направлены на выявление уровня и динамики гормона, обнаруженного в сыворотке жеребых кобыл на сроках 1,5-4 месяца жеребости (гонадотропин СЖК). Был также активно изучен его фолликулостимулирующий эффект на самках других видов животных, способствующий полиовуляции и многоплодию [44, 71, 91].

Функция матки в первую очередь контролируется комбинированным действием эстрогена и прогестерона, работающего через родственные им ядерные рецепторы [190]. В основе циклических изменений морфологической картины эндометрия лежит способность этих стероидных гормонов вызывать характерные изменения в структуре слизистой матки. Так, эстрогены стимулируют пролиферацию клеток желез и стромы, способствуют регенеративным процессам, обладают сосудорасширяющим действием и повышают проницаемость капилляров эндометрия. Прогестерон оказывает противоположное действие на эндометрий, снижая его пролиферативную активность. Он вызывает секреторные изменения в железах и стимулирует развитие спиральных сосудов в эндометрии [166, 259].

Репродуктивная система функционирует под сложным эндокринным контролем. Нарушение нормальных гормональных соотношений, т.е.

гормонального гомеостаза, на разных этапах развития организма кобылы оказывает влияние на структуру эндометрия, вызывая в нем, с одной стороны, нехарактерные для данного возраста изменения, с другой - задерживая формирование структурных элементов, соответствующих возрасту кобылы.

В настоящее время в коневодческой практике гормональный анализ применяется для контроля эндокринной активности желтого тела полового цикла (первая в сезоне овуляция) или беременности (прогестерон), жизни плода (сульфат эстрон). Уровни лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов тестируют при нарушении развития фолликулов и овуляции. Для дифференцированной диагностики некоторых видов овариальных опухолей также бывает полезен гормональный анализ (ингибин). Однако для исследования концентрации нестероидных половых гормонов требуются дорогостоящие специфические (лошадиные) тест-системы, которые пока малодоступны в России.

### **2.1.5 Гистологический анализ эндометрия кобыл**

Гистологическая оценка эндометрия - важный диагностический метод позволяющий дать адекватную оценку репродуктивного здоровья кобыл, а также оценить сезонные и циклические изменения эндометрия в соответствии с нормой. В медицине он считается опорным при диагностике патологий женской воспроизводительной системы. К сожалению, в настоящее время в российском коннозаводстве этот метод не применяется, и отечественные специалисты не знакомы с его возможностями, в то время как за рубежом преимущества гистологического анализа эндометрия кобыл давно оценены и прочно вошли в коневодческую практику. Поэтому ниже мы подробно остановимся на данной теме, которая стала предметом нашей работы.

Показаниями к применению гистологической оценки эндометрия кобыл являются неоднократные прохолосты и аборты в репродуктивной истории, нарушение половой цикличности в период физиологического случного сезона и другие патологии. За рубежом биопсия эндометрия у кобыл используется при оценке репродуктивного здоровья маточного поголовья в возрасте 10 лет и старше. Данный метод диагностики позволяет обнаружить структурные изменения в эндометрии, а также уточнить диагноз заболевания в тех случаях, когда не инвазивные методы себя исчерпали. E. Seaborn в 1925 году впервые описал гистологические изменения структуры эндометрия у кобыл *post mortem*. Во время своих исследований он особое внимание уделял изучению сезонных и циклических изменений эндометрия в норме и патологии, образованию воспалительных инфильтратов, фиброзных изменений, расширению желез и лимфатических сосудов эндометрия [256].

Фундаментальные основы эндометриальной биопсии у кобыл заложил R. M. Kenney [200]. Позже система гистологической оценки была им усовершенствована. Было выделено 3 категории деструктивных изменений в эндометрии кобыл (от незначительных (I) до средних (IIa, IIb) и тяжелых (III), высоко коррелирующих со снижением репродуктивной функции кобыл. Основными характеристиками служили степень воспаления, фиброза и атрофии эндометрия. В дальнейшем эта система превратилась в «международный стандарт» [262]. Некоторые исследователи находят эту классификацию неполной без учета важных гистопатологических данных (ангиозы, ангиопатия, мальдифференцировка эндометрия) [195, 255]. Многочисленные исследователи A. A. Conha-Bermejillo, 1982; R. M. Kenny, 1978-1986; M. M. LeBlanc et. all, 1994-2009 изучали взаимосвязь между фертильностью и специфическими патологическими изменениями в эндометрии кобыл [168, 199, 200, 201, 211, 212, 213].

Вопрос о выборе наиболее подходящей фазы для отбора гистологического образца эндометрия у кобыл был предметом изучения на протяжении многих лет. Современные зарубежные исследователи уделяли большое внимание изменению гистоморфометрических показателей в период эструса и диэструса. Были отмечены некоторые характерные преобразования в строении поверхностного и glandularного эпителия, в частности изменение его высоты в эструсе и диэструсе. Поэтому гистоморфометрическим показателям придается важное значение, как полезному дополнению в диагностике состояния эндометрия [194].

По мнению многих авторов, выявление воспалительного процесса в эндометрии, критерием которого является количество полиморфноядерных нейтрофилов (PMN-клеток) в цитологических и гистологических образцах, наиболее информативным периодом цикла считается эструс [70, 204]. Однако, согласно мнению R. M. Kenney и P. A. Doig, 1986, гистологическая структура эндометрия во время диэструса наименее вариабельна [201]. В диагностике субклинического эндометрита W. Overbeck также считает более предпочтительной фазу диэструса [238].

### **2.1.5.1 Структура и функции эндометрия**

Согласно исследованиям R. M. Kenney, 1978, стенка матки кобылы состоит из слизистого (эндометрий) и мышечного (миометрий) слоев, покрытых снаружи серозной оболочкой (периметрий) (Рисунок 1) [200]. Миометрий представлен двумя слоями мышечных волокон (внутренним поперечным и наружным продольным), между которыми пролегает сосудистый слой. Эндометрий у кобыл состоит из двух слоев: поверхностного эпителия, выстилающего матку изнутри, и собственно эндометрия, граничащего с миометрием.

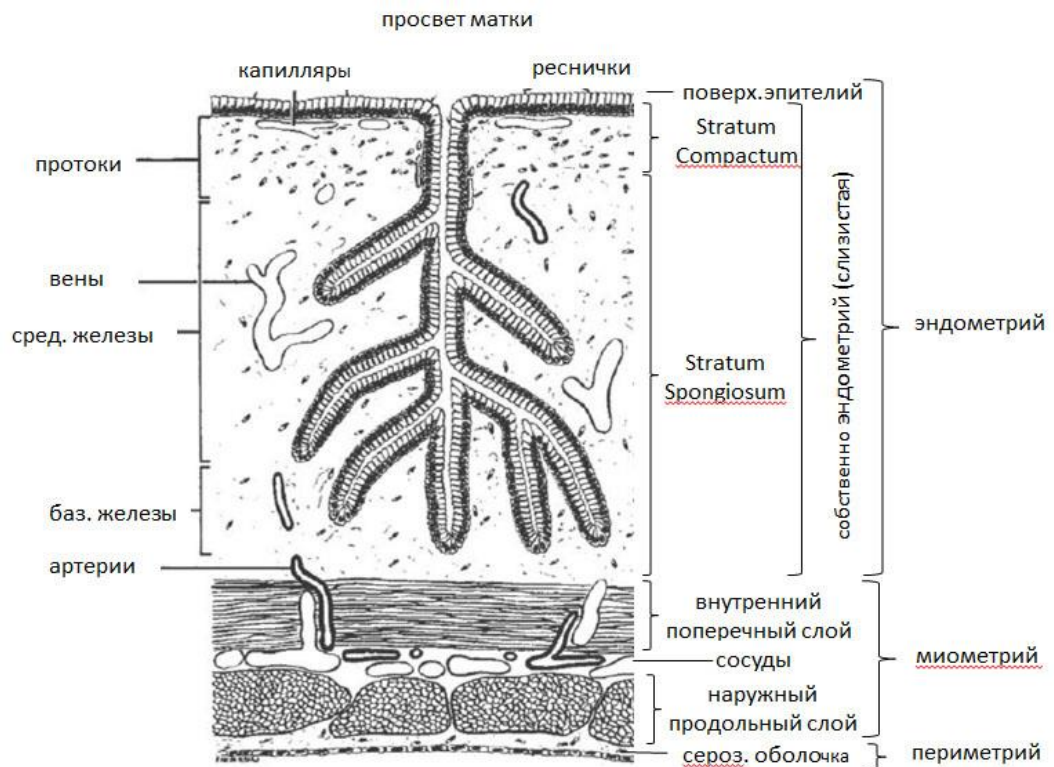


Рисунок 1- Поперечный срез стенки матки кобылы [200]

В свою очередь, в собственно эндометрии различают два слоя - компактный (Stratum Compactum) и губчатый (Stratum Spongiosum). Компактный слой прилегает к поверхностному эпителию и имеет толщину 0,75-1,0 мм, характеризуется относительно плотным скоплением фибробластов, ретикулярных клеток, макрофагов, моноцитов, гранулоцитов, лимфоцитов, плазматических клеток, веретенообразных и отростчатых лаброцитов, а также многочисленных капилляров. Стромальные клетки имеют звездчатую форму, по отношению друг к другу расположены хаотично, имеют овальные или округлые ядра и негустую цитоплазму. Губчатый слой имеет низкий клеточный удельный вес с большим количеством соединительных волокон, вследствие чего создается пористая поверхность, заполненная тканевой жидкостью. Кровеносные сосуды в губчатом слое — это капилляры, артериолы, венулы и мышечные артерии. Кроме того, в губчатом слое залегают лимфатические сосуды. Характерным признаком собственно эндометрия является наличие многочисленных маточных желёз [201].

Основным компонентом соединительной ткани эндометрия являются коллагеновые, эластиновые и ретикулярные волокна. Наличие эластических волокон в соединительной ткани определяет ее эластичность и растяжимость.

По данным отечественных гистологов эндометрий покрыт однослойным цилиндрическим эпителием, имеет в своем составе мерцательные и секреторные клетки, выделяющие слизистый и серозный секрет [1, 47]. В стадию эструса эндометрий выстлан цилиндрическим эпителием. Границы клеток четкие, их ядра овальной формы, в собственно слизистой встречаются плазматические клетки, моноциты и гистиоциты. Маточные железы имеют трубчатое строение, слабо извилистые, их концевые отделы выстланы цилиндрическим эпителием. В просвете маточных желез встречается большое количество секрета. В стадию диэструса клетки цилиндрического эпителия, покрывающего эндометрий, приобретают сглаженные границы, маточные железы слабо функционируют [201].

В различные фазы полового цикла гистологическая структура эндометрия меняется. Так, в фазе эструса наблюдается диффузная гиперплазия и стромальный отек эндометрия. По данным R. M. Kenney, 1978г., в период раннего эструса полостной эпителий обычно достигает максимальной величины. В это время его высота составляет 20-30 микрон, но может достигать и 50 микрон. У некоторых кобыл в поздний эструс наблюдается уменьшение высоты эпителия до низкого цилиндрического (15 микрон), хотя у других кобыл это уменьшение наступает не раньше, чем через несколько дней после прекращения внешних признаков охоты [200]. В цитоплазме клеток железистого эпителия происходит вакуолизация, что свидетельствует об образовании секрета. Г. В. Дорофей, 2011г. так описывает процесс секретобразования: секреторная вакуоль, приближаясь к апикальному полюсу клетки, сливается с ней своей мембраной, образуя пору, через которую в просвет железы изливается секрет, клетка при этом остается невредимой. Такой тип секреции носит название – мерокринный [33].

Во время диэструса эпителий желез по форме обычно цилиндрический или призматический, а по высоте - от низкого до высокого. Железы извилистые, и за счет уменьшения отека плотность их увеличивается. В период анэструса из-за снижения овариальной активности эндометрий атрофируется. Железистый эпителий в это время обычно однорядный кубический. Плотность желез высокая. Железы прямые, эпителий однослойный кубический [201].

Исследования G. D. Mansour et al., 2015г. с использованием гистохимических методов показали, что клетки поверхностного эпителия демонстрируют более высокую пролиферацию во время эструса, а железистые эпителиальные клетки – во время диэструса [221]. В то же время в диэструсе и ранней беременности повышается экспрессия ряда ферментов, участвующих в процессе метаболизма гликогена [152].

Развитие иммуногистохимических методов исследования углубило представление о влиянии гормонального фона на эндометрий у кобыл. D. Brunckhorst et. all обнаружили рецепторы эстрогена ( $ESR\alpha$  и  $ESR\beta$ ) и рецепторы прогестерона (PGR) в клетках поверхностного и железистого эпителия слизистой матки [156]. Aupperle H. et al. была выявлена циклическая зависимость между стимулирующим действием эстрадиола и ингибирующим влиянием прогестерона на экспрессию белка в эндометрии в течение полового цикла [141]. В исследованиях других авторов биопсии, собранные во время эструса (с 20 и 0 дня цикла), показывают более высокую экспрессию белка на эстроген  $\alpha$ -рецепторах в клетках поверхностного и железистого эпителия, чем те, которые получены от кобыл в середине и в конце диэструса (с 9 до 14 дня цикла). Подобные вариации в экспрессии рецепторов гормонов между эструсом и диэструсом среднего и позднего периодов также обнаруживаются для прогестерона [190, 260].

### 2.1.5.2 Процедура получения образцов эндометрия и методы приготовления гистосрезов

Эндометриальная биопсия — это метод, который обычно используется для определения состояния эндометрия и степени его повреждения. Данный метод достаточно подробно описан S. W. Ricketts, 1975; R. M. Kenney, 1978, J. Lehmann et al., 1982, P. A. Doig, J. D. McKnight, R. B. Miller, 1981; R. M. Kenney, P. A. D. Doig, D. A. Morrow, 1986; и до сих пор считается наиболее информативным методом оценки эндометриальной ткани, поскольку он простой, безопасный, безболезненный и достаточно информативный в диагностике и прогнозе нарушений репродуктивной функции самок (J. C. Ferreira, F. S. Ignácio, C. Meira, 2010; M. Hanada, Y. Maeda, M. Oikawa, 2012, 2014; Katila, 2016; Lehmann J. et al., 1982; S. W. Ricketts, 1975). Наряду с другими методами диагностики он используется для оценки и прогноза плодовитости в соответствии с разработанной шкалой по R. M. Kenney, P. A. Doig, D. A. Morrow, 1986. По мнению Lehmann J. et al., 1982; S. W. Ricketts, 1975 с помощью гистопатологического анализа возможно выявить воспалительные процессы, оценить хронические дегенеративные нарушения эндометрия [177, 189, 194, 198, 200, 201, 214, 249].

Результаты исследований M. Hanada et al. (2012) показали, что для рутинной биопсии эндометрия подходят любые отделы матки, кроме каудальной части тела матки, в котором плотность желез и толщина эндометрия были заметно понижены [189]. Не было обнаружено существенных различий в количестве PMN-клеток в цитологических и гистологических образцах, полученных из разных участков основания и вершины рогов матки [237].

Специалистов также волновал вопрос о влиянии биопсии на дальнейшую работу эндометрия, поскольку эта процедура инвазивная и может вызывать кровотечение, следы которого иногда бывают заметны на вульве кобылы даже

спустя несколько суток после забора биоптата [217]. Однако ряд исследований, включающих частые процедуры (до 6 на одном животном), подтвердили безопасность данного метода и возможность его частого применения без вреда для дальнейшей репродуктивной деятельности кобылы, при условии, что сама процедура выполняется врачом с соблюдением правил асептики и антисептики [196].

Для проведения гистологического исследования отбирается биоптат эндометриальной ткани величиной не более 1 см<sup>3</sup>. Полученный материал немедленно подвергается фиксации. Фиксация — это химический метод обработки ткани для сохранения ее прижизненной структуры за счет коагуляции белков. Для фиксации эндометриальной биопсии гистологи используют 10% забуференный раствор формалина. Продолжительность фиксации от нескольких часов до суток и более. После фиксации гистологический материал промывают в проточной воде в течение нескольких часов, для того чтобы убрать избыток фиксатора. По классической схеме проводят обезвоживание образца с помощью этилового спирта. Биоптат помещают в этиловый спирт в возрастающей концентрации от 70% до 96% обычно по очереди, в 3-4 широкогорлых банках по 6-24 часа в каждой порции. После этого кусочки помещают на 1-3 часа в ксилол или другой растворитель, затем на 2-3 часа в расплавленный парафин. Данный метод проводки занимает много времени, именно поэтому был предложен другой метод проводки с использованием изопропилового спирта. Кусочки гистологического материала, промытые и просушенные на фильтровальной бумаге, помещают в 4 порции изопропилового спирта на 1 час в каждую порцию; после этого кусочки переносят на 1 час в один из растворителей и переносят в расплавленный, нагретый в термостате до 57° С парафин, 2 порции по 1 часу в каждой. Изопропиловый спирт легко смешивается с расплавленным парафином и это позволяет переносить материал непосредственно из изопропилового спирта в расплавленный парафин, не меняя времени экспозиции и не прибегая к сильно

ядовитым веществам, таким как ксилол, толуол, бензол. Общая длительность обработки материала составляет 7 часов. Обрабатываемые кусочки становятся весьма пластичными, что позволяет делать серийные срезы толщиной 3-4 микрона каждый. Изопропиловый спирт не является сильнодействующим ядовитым веществом и более вредного влияния, чем этиловый спирт, на организм работающего с ним не оказывает. Срезы тканей после проводки с применением изопропилового спирта хорошо воспринимают стандартные методы окраски, такие как гематоксилин-эозин, окраску по методу Ван-Гизона [89].

### **2. 1. 5. 3 Способы окрашивания гистосрезов и дифференциальная диагностика структурных изменений в эндометрии**

Основоположником гистологического исследования эндометрия лошадей R. M. Kenny было предложено проводить окрашивание препаратов гематоксилином и эозином. В гистологии этот метод считается одним из самых распространенных методов окраски. При использовании данного метода базофильные клеточные структуры (ядра, рибосомы) окрашиваются гематоксилином в ярко-синий цвет, а эозинофильные структуры клеток окрашиваются эозином Y в розово-красный цвет. При окрашивании соединительной ткани с целью выявления коллагеновых волокон в гистологии используется методика трихромной окраски по Массону с анилиновым синим и по Ван Гизону.

В состав красителя по Ван Гизону входит три различных красителя: железистый гематоксилин по Вейгерту для окрашивания ядер, пикриновая кислота для цитоплазмы, кислый фуксин для коллагена. В результате окрашивания ядра клеток становятся черного цвета, коллагеновые волокна-пурпурно-красные, цитоплазма, гладкая и поперечнополосатая мышечная ткань и эритроциты в желтый.

В состав трихромного красителя по Массону входит железистый гематоксилин Вейгерта для окраски ядер, пикриновая кислота для окраски эритроцитов, смесь кислых красителей для окрашивания цитоплазмы, а анилиновый синий - для соединительной ткани.

В 1987 г. в своих исследованиях T. L. Blanchard провел параллельную окраску гистологических образцов эндометриальной ткани кобыл гематоксилином-эозином и трихромным красителем по Массону. По результатам проведенного анализа автором было установлено, что тип окраски не влияет на обнаружение воспаления, частоты и степени очагового перигландулярного фиброза (ПГФ), наличия лимфатических лакун. Однако, по мнению автора, для визуализации стромального коллагена эндометрия, определения степени ПГФ требуется использование трихромного окрашивания по Массону [150].

#### **2. 1. 5. 4 Основные факторы, влияющие на состояние и функцию эндометриальной ткани**

На функцию эндометриальной ткани влияет множество экзогенных и эндогенных факторов. К внешним факторам относится сезон года, который в свою очередь определяет овариальную активность и непосредственно оказывает воздействие на состояние и функцию репродуктивной системы кобыл. Биопсия эндометрия, собранная во время зимнего анэструса, обнаруживает сезонную атрофию эндометрия, что является физиологической нормой [255]. В период случного сезона овариальные циклы регулярные, и эндометриальные железы активны [143]. Соответственно, функциональная морфология эндометрия (пролиферативная и секреторная) согласуется с фолликулярной и лютеиновой фазами полового цикла и имеет отличия в эструсе и диэструсе.

Однако существуют факторы, способствующие проникновению в полость матки воспалительных агентов, что в свою очередь неблагоприятно сказывается

на функции эндометрия. К таким факторам можно отнести дефекты строения наружных половых органов, в частности западение и плохое смыкание вульвы, нарушение вестибуло-вагинального защитного барьера, вызывающие зияние промежности и как следствие - пневмовагину (засасывание воздуха в половой тракт) и воспалительные процессы репродуктивного тракта.

Фиброз эндометрия считается одной из основных причин субфертильности у кобыл [157]. По данным С. Hoffmann et al. (2009), в фиброзных стромальных клетках снижается экспрессия рецепторов стероидных гормонов по сравнению с интактной стромой, что указывает на их дедифференцировку [195]. Однако не было обнаружено значимых различий в содержании перигландулярного коллагена в гистологических образцах эндометрия кобыл, подверженных посткоитальному эндометриту и устойчивых к нему [243], а также не выявлено связи между типом коллагена и фиброзом эндометрия [219].

Исследованиями S. W. Ricketts и S. Alonso (1991) установлена тесная связь между тяжестью хронической дегенеративной болезни эндометрия (эндометроз) и возрастом кобыл [248]. Эндометроз признан многофакторным заболеванием, и многочисленные исследования показали, что пожилой возраст является одним из основных предрасполагающих к нему факторов [179, 190, 200, 201].

В 2015 г. Н. J. Kilgenstein с коллегами была проведена микроскопическая оценка гистосрезов эндометрия кобыл закончивших спортивную карьеру. Целью данных исследований был поиск связи между субфертильностью спортивных кобыл и изменениями в эндометрии. В своем опыте авторами были обследованы 189 кобыл в возрасте 3–23 лет из них у 30 % был обнаружен эндометрит, а у 70% эндометроз различной степени тяжести. Что касается тех кобыл, у которых биопсию отбирали в течение случного сезона (n = 99), у 50% были нарушения железистой дифференциации, из них 8% кобыл с атрофией желез и 42% с нерегулярной дифференциацией желез (42%). По мнению авторов наиболее частой причиной последнего является дисфункция яичников. Результаты этого

исследования указывают на связь между железистой малдифференциацией эндометрия и клинически наблюдаемым снижением фертильности у кобыл, бывших в спорте [192].

Еще одной из причин патологических изменений в эндометрии является нарушение артериального кровоснабжения и венозного оттока, вследствие ангиоза или ангиопатии сосудов матки, что в свою очередь приводит к снижению лимфодренажа и тесно связано с началом и прогрессированием фиброза и атрофии эндометрия. Последнее может быть причиной гиподисфункции миометрия в преимплантационный или послеродовой периоды [190].

#### **2. 1. 5. 5 Взаимосвязь между фертильностью и степенью деструктивных изменений в эндометрии кобыл**

Изучением взаимосвязи между фертильностью и специфической патологией в эндометрии кобылы занимались многие авторы [168, 200, 201, 214, 248, 273]. Изучая гистологическое строение эндометрия, R. M. Kenney нашел корреляцию между фертильностью и патологическими изменениями в эндометрии у кобыл, неспособных выносить жеребенка, описал фиброз эндометрия и предложил категоризацию кобыл по степени деструктивных изменений в эндометрии. В отличие от воспаления, фиброз представляет собой постоянное, неизлечимое патологическое состояние. Перигляндулярный фиброз (ПГФ) отражает степень "рубцевания ткани" в эндометрии и определяется путем оценки степени "гнездования", а также подсчетом числа пораженных фиброзом желез. R. M. Kenney (1978г.) предложил ввести в практику классификацию кобыл, основанную на количественном определении патологических изменений внутри эндометрия, выделив три категории, согласно которым прогноз получения жеребят для категории I составлял 70 –92%; для категории II - 50 - 67%; и для категории III - <10% [200]. P. A. Doig (1981г), исследовав большую группу кобыл, предложил, в

зависимости от степени ПГФ, дополнительно разделить II категорию на две подгруппы: А и Б. В результате система категоризации кобыл стала выглядеть следующим образом [174, 201].

Категория I: Здоровый эндометрий матки, сохраняется способность вынашивать жеребят. Прогноз благополучной выжеребки 80-90%.

Категория IIА- Легкое рассеянное воспаление; незначительный фиброз; атрофия эндометрия в конце сезона размножения. Прогноз благополучной выжеребки – 50-80%.

Категория IIВ – умеренное рассеянное воспаление; умеренный фиброз. Прогноз благополучной выжеребки -10-50%.

Категория III: Тяжелые необратимые изменения, включая фиброз и воспаление. Кобылы, попадающие в данную категорию, имеют низкую вероятность вынашивания жеребёнка и относятся, как правило, к старшей возрастной группе. Прогноз благополучной выжеребки - <10% [174].

Большинство кобыл, попадающих в категорию II, могут быть подвержены консервативному или хирургическому лечению (например, операции по предотвращению попадания воздуха и фекальных масс в половые пути (операция Каслика [164], коррекция шейки матки после разрывов, пластика промежности).

Таким образом, один из наиболее информативных признаков, характеризующих функциональное состояние эндометрия у кобыл, напрямую связанный с их способностью зажеребеть и выносить здорового жеребенка — это степень фиброза эндометриальной ткани.

По данным С. Hoffman (2009г.), на начальной стадии эндометроза стромальные клетки синтезируют коллагеновые волокна и дифференцируются в миофибробласты (ответственные за отложение внеклеточного матрикса), что приводит к развитию ПГФ. Фиброзные волокна локализуются вокруг желез, расположенных в губчатом слое эндометрия [195]. С. С. Love, 2011 описывал процесс возникновения фиброзных гнезд как избыточное образование

коллагеновых волокон вокруг базальной части отдельных желез, способствующее собиранию их в пучок или гнездо. Процесс гнездования определяют путем микроскопирования на малом увеличении. Единичное количество гнезд классифицируют как незначительное (1-3) изменение, количество гнезд от 4 до 10 - как умеренное и от 10 и больше – как тяжёлую форму патологии. У старых кобыл перигландулярный фиброз считается необратимым процессом. Автор предупреждает о важности уметь дифференцировать патологическое гнездование, от физиологического, когда в период проэструса за счет начинающегося отека, можно обнаружить совокупность желез без характерных фиброзных колец ПГФ [217].

Т. J. Evans с соавторами 1998 г., используя электронную микроскопию, наблюдали увеличение плотности коллагеновых фибрилл в перигландулярной зоне эндометрия, сопровождаемое повышенным количеством фибробластов. I. Walter (2001г.) предположил, что перигландулярный фиброз и кистозная дилатация (расширение) маточных желез у кобыл связаны с эндометрозом. При изучении белков внеклеточного матрикса (коллаген типа I, III и IV, ламинин и фибронектин) с помощью иммуногистохимического метода, было отмечено, что в образцах от здоровых кобыл распределение коллагена I зависит от стадии эстрального цикла. При перигландулярном фиброзе наблюдалось отложение коллагена IV, ламинина и фибронектина вне базальной мембраны. По мнению авторов, знание факторов, отвечающих за эти фибробластические модуляции, может быть ключом к объяснению патогенеза эндометроза [273].

При оценке способности кобылы выносить жеребенка Luca Aresu et. all (2011) наиболее прогностическими факторами, считали количество фиброзных гнезд и степень фиброза. Проведенные автором исследования показали, что эти два параметра положительно коррелируют с возрастом животных [139].

По мнению ряда исследователей, возникновению дегенеративных изменений в эндометрии предшествуют повторяющиеся воспалительные

процессы, приводящие к отложению фибрина в экстрацеллюлярном (внеклеточном) матриксе (ЭЦМ). Фиброз ткани не прекращается по окончании воспаления в матке, вследствие этого авторам не удалось установить корреляцию между воспалением и степенью эндометроза [159, 178, 266].

Потеря эластичности стенки лимфатических сосудов – еще одна патология, влияющая на функционирование эндометрия. Лимфатические лакуны (ЛЛ), образующиеся из расширенных лимфатических сосудов, обычно располагаются в собственной пластинке эндометрия [217]. По данным R. M. Kenney, в эндометрии кобыл могут встречаться негландулярные кисты или лимфатические лакуны, которые представляют собой диффузно-расширенные складки, заполненные лимфоидной жидкостью. Данная патология свидетельствует о плохом дренаже матки. В случаях нарушения лимфодренажа лакуны становятся достаточно обширными, образуя «карманы» на стенках матки, напоминающие студенистые поля, что является основанием для отнесения этого типа эндометрия, согласно классификации R. M. Kenney, к категории III [200].

Общая сократимость матки у кобыл напрямую зависит от прогестин-эстрогенной регуляции [141, 259]. Эстроген в фазе диэструса воздействует на секреторную функцию желез, тогда как прогестерон, действуя на гладкую мускулатуру матки, приводит ее в тонус, тем самым увеличивая сократительную способность миометрия. В свою очередь, нарушения со стороны гормонального фона, а также возрастные изменения структуры эндометрия, отложение фибрина вокруг желез влияют на эластичность ткани, затрудняя отток жидкости и провоцируя лимфостаз. Патологические лимфатические лакуны нужно отличать от искусственных, вызванных инструментальной биопсией. Лимфатические лакуны считаются клиническими или патологическими в том случае, если они значительно увеличены в размере и ощутимо утолщение складок эндометрия. Когда лакуны становятся видны, они могут формировать достаточно большие кисты, которые в свою очередь препятствуют имплантации эмбриона, в результате чего на ранних сроках жеребости наблюдается эмбриональная гибель.

Кистозная дилатация (растяжение) желез эндометрия возникает на фоне сдавливания желез фиброзными образованиями (ПГФ) [217].

Таким образом, фертильность кобыл, способность выносить нормальное потомство непосредственно связаны со структурными характеристиками эндометрия. Определить функциональную активность и степень повреждения слизистой матки можно только с помощью гистологического исследования, которое необходимо включить в общую репродуктивную оценку кобыл, наряду с другими методами диагностики. Изучению и совершенствованию возможностей данного метода, поиску новых диагностических и прогностических критериев нормы и патологии в репродукции лошадей посвящена эта работа.

## 2. 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу проводили в течение 2018-2021 гг. на экспериментальной конюшне ФГБНУ «ВНИИ коневодства», в ООО «Старожиловский конный завод», КСК «МариАрт» и в репродуктивном центре «Хартли Хорс Хаус». В исследованиях были задействованы 43 холостых кобылы русской рысистой, буденновской, тракененской, русской верховой, голштинской, вестфальской и русской тяжеловозной пород в возрасте от 3 до 20 лет. По каждой кобыле была собрана доступная информация о всей воспроизводительной деятельности. Фазу и полноценность проявления полового цикла кобыл определяли с помощью пробы жеребцом, а также методами ректального, вагинального и ультразвукового исследования, отсчитывая начало цикла от момента овуляции (день 0). УЗ-экспертизу проводили с помощью ультразвуковых сканеров, ECHAGO (Франция) и Mindrey DP50Vet (Китай) (Рисунок-2).

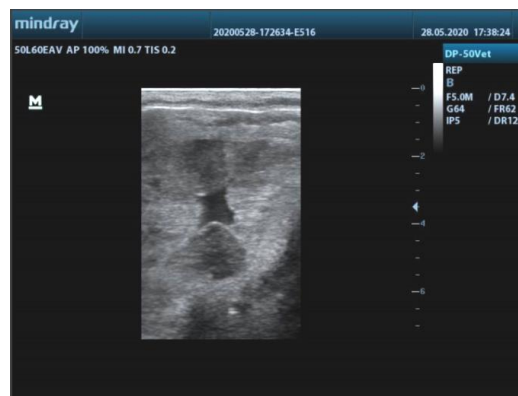
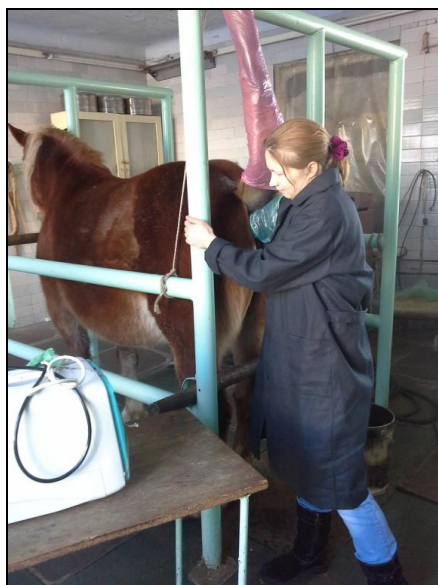


Рисунок 2- Ректальное и ультразвуковое исследование внутренних половых органов кобылы

Схема исследований представлена на рисунке 3. На основании ректального, ультразвукового, вагинального, цитологического и бактериологического исследования кобыл разделили на две группы:

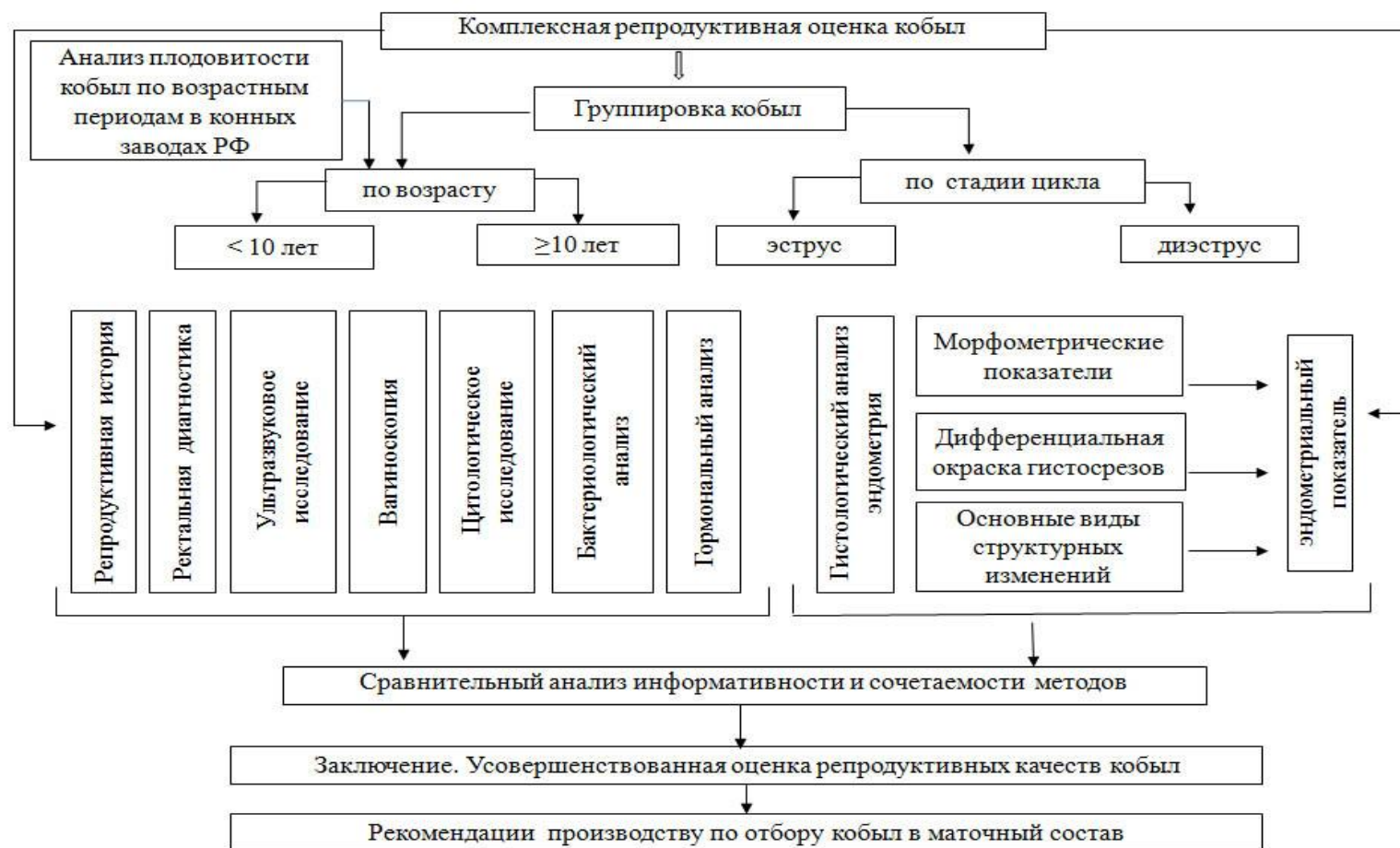


Рисунок 3- Схема исследований

1) условно гинекологически здоровые кобылы и 2) кобылы с признаками функциональных нарушений полового тракта. К числу последних относили выделения/истечения из вульвы, гиперемированную слизистую влагалища в диэструсе, наличие жидкости в просвете матки во время УЗИ, а также учитывали неоднократные прохолосты кобыл в предыдущие годы от случки с проверенным по плодовитости жеребцом. По возрасту кобыл разделили на две группы: 1) до 10 лет включительно и 2) старше 10 лет.

Материалом для исследований послужили сводные ведомости учета случки и выжеребки кобыл в конных заводах РФ и данные базы ИПС «Кони-3» (ВНИИ коневодства), эхограммы УЗИ матки и яичников кобыл, образцы цервикальной и эндометриальной слизи и маточных мазков/смывов для цитологического и бактериологического исследования и пробы биоптата эндометрия, полученные от кобыл в период эструса и диэструса. Цитологические образцы слизи с поверхности шейки матки и эндометрия получали с помощью инструментов производства Minitube (Германия) или из осадочного слоя промывной жидкости, затем наносили на предметное стекло, высушивали на воздухе и окрашивали красителем Май Грюнвальда. Цитологические мазки просматривали под иммерсией с увеличением  $\times 1000$ . Учитывали количество нормальных и с признаками дегенерации эпителиальных клеток, нейтрофильных лейкоцитов (PMN-клеток) и лимфоцитов в среднем по 6 полям зрения (ед. пз).

Материал для бактериологического анализа получали с помощью инструментов фирмы Minitube (Германия) одновременно с отбором цитологических образцов. Анализ микрофлоры в эндометриальной и цервикальной слизи делали в ГБУ РО «Рязанская областная ветеринарная лаборатория», ФГБУ «Тульская межобластная ветеринарная лаборатория». Биопсию проводили посредством биопсийных щипцов (Jackson Uterine Biopsy Forceps, США) с длиной бранш 60 см и размером корзины 4 мм  $\times$  28 мм  $\times$  3 мм (Рисунок 4 а). Инструмент для биопсии вводили в закрытом положении рукой

через влагалище и шейку в полость матки. Как только корзина инструмента попадала в полость матки, руку извлекали из половых путей, перемещали в прямую кишку и под ректальным контролем подводили к основанию рога или бифуркации. После чего снимали инструмент с предохранителя и выполняли отбор биоптата. Полученные кусочки эндометриальной ткани, извлекали из корзины для дальнейшей фиксации (Рисунок 4 в, г).



а)



б)



в)



г)

Рисунок 4 - Проведение отбора проб эндометриальной ткани для гистологического исследования: а) щипцы для биопсии, б) отработка на трупном материале (аутопсия), в) забор биоптата, г) образец биоптата в корзине инструмента непосредственно перед фиксацией

Для фиксации пробу помещали в контейнер с 10% раствором нейтрального формалина. Гистологические срезы готовили в патологоанатомической лаборатории при городской клинической больнице №11 (г. Рязань) по методике обезвоживания и заливки гистологического материала в парафин с применением изопропилового спирта. Нарезку препарата проводили на санном микротоме Slide 2003 Pfm, толщина гистосреза 5-10 нм. Для окраски гистосрезов использовали

общую методику окрашивания гематоксилин – эозином, для дифференциальной окраски пользовались методиками окрашивания по Ван Гизону и трихромным красителем по Массону с анилиновым синим.

Для микроскопирования стекол с гистосрезами использовали бинокулярные микроскопы «Nicon. Eclipse 50i» диапазон увеличений: x100–1500. и «Optitech XSP -128-30» с диапазоном увеличений x40-1000.

Для гистологической оценки материала были выбраны следующие морфометрические показатели: диаметр и плотность желез, высота поверхностного и железистого эпителия в компактном (Stratum Compactum –SC) и губчатом (Stratum Spongiosum - SS) слоях эндометрия. Средние показатели подсчитывали по десяти полям зрения (x400), для измерения использовали микрометрический окуляр WF10X DIN/18 мм. Учитывали также выраженность патологических изменений в эндометрии: растянутость и «гнездование» желез, отложение фиброзных волокон вокруг желез и сосудов, кисты, лимфатические лакуны, полипы.

При гистологической оценке материала, акцентировали свое внимание на наличие отека в строме и плотность желез в компактном и губчатом слоях, на диаметре желез в каждом слое отдельно, высоте поверхностного и железистого эпителия. Средние показатели подсчитывали по десяти полям зрения, для измерения использовали микрометрический окуляр WF10XDIN/18 мм. Статистическую обработку данных проводили методом биометрического анализа с помощью программ Microsoft Excel 2010, Statistica 10 («StatSoft, Inc.», США) с оценкой достоверности по t-критерию Стьюдента и критерию Фишера, факторного анализа по методу главных компонент, считая различия статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционные связи между показателями в группах вычисляли с помощью коэффициента ранговой корреляции по методу Спирмена.

## **2. 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **2. 3. 1 Анализ плодовитости племенных кобыл в конных заводах РФ**

#### **2. 3. 1. 1 Краткая характеристика организационно-хозяйственной деятельности 4 российских конных заводов орловского рысистого направления**

**ООО «Алтайский конный завод 39».** Алтайский конный завод – старейший конный завод Сибири (Тюменцевский район Алтайского края), был основан в 1907 году купцом А. А. Винокуровым. После революции, в 1923 году был национализирован и переименован в «Первый Сибирский государственный конный завод». На протяжении всего XX века рос и развивался. В 2006 году выделился в самостоятельное коневодческое предприятие - ООО «Алтайский конный завод 39».

На сегодняшний день в хозяйстве насчитывается около 60 племенных маток орловской рысистой породы со среднегодовым поголовьем порядка 200 голов, 1650 га пашни и необходимы набор сельскохозяйственной техники.

В числе производственных помещений на территории конного завода располагается одна маточная конюшня, одно отделение для жеребцов-производителей, два тренотделения и отдельная конюшня для жеребят. При конюшнях имеются варки для выгула лошадей в стойловый период. Вплотную к комплексу заводских построек примыкает заводской ипподром с грунтовой дорожкой длиной 1067 м.

Племенное конское поголовье завода обеспечивается зелеными грубыми кормами за счет естественных выпасов. Во второй половине лета табуны племенных лошадей выпасают по отавам сеяных многолетних трав сенокосов, а в

конце лета – по жнивью. Заготовка сена проводится по собственной технологии. Снабжение лошадей зернофуражом осуществляется за счет зернового хозяйства завода. В рацион входят также корнеплоды. Два гектара земли в хозяйстве отведены специально под выращивание моркови. Водоснабжение конюшен Алтайского конного завода производится из артезианской скважины [4].

За долгие годы работы завод оказал большое влияние на улучшение коневодства Сибири; племенной материал завода высоко ценится и пользуется спросом. В хозяйстве выращено 166 рысаков класса 2 мин. 10 сек. и резвее на дистанции 1600 м. Сегодня Алтайский конный завод является одним из лидеров России в орловском коннозаводстве [36].

На сегодняшний день «Алтайский конный завод» имеет 200 лошадей, большая часть из которых находится на предприятии. Себестоимость молодняка примерно равна 300 тыс. рублей. Часть лошадей находится на «Московском ипподроме». Их содержание заводу обходится в 2,5 млн. рублей в год. А завод продает лошадей всего на 3,5–4 млн. рублей в год. Порядка 600 тыс. рублей государственной поддержки поступает из федерального бюджета.

ООО «Конный завод «Орловский Фаворит» – конный завод нового поколения, специализирующийся на разведении орловских рысаков. Это крупнейшее коневодческое хозяйство Тюменской области. Первые лошади орловской рысистой породы поступили в хозяйство в 1997 году из Шадринского конного завода. В последующем завод комплектовался кобылами и жеребцами Алтайского конного завода, а также Пермского, Московского и Шадринского конных заводов. В 2001 году хозяйство получило статус племенной фермы по разведению орловских рысаков. В настоящее время хозяйство имеет статус племенного завода по разведению лошадей орловской рысистой породы.

Акцент в системе разведения племенных лошадей в хозяйстве поставлен на непрерывное повышение уровня кормления и содержания лошадей с применением высокотехнологичных кормов при обязательных ипподромных

испытаниях всего выращиваемого молодняка. поголовье племенных лошадей конного завода, включая проходящих ипподромные испытания, обеспечивается кормами собственного производства. Спектр выращиваемых кормовых культур непрерывно расширяется. Так, в 2020 году были впервые введены посевные площади под масличные культуры – лен, что позволяет обеспечить кормовую потребность в продуктах льноводства - семени льна, льняном масле и льняном жмыхе.

В хозяйстве введена система подготовки зерновых методом экструдирования для получения структурированного корма с высокими питательными и вкусовыми качествами, обеспечивающего рост, развитие и высокую работоспособность рысистых лошадей на современном уровне.

Племенной молодняк, выращиваемый в конном заводе «Орловский Фаворит», проходит испытания на Тюменском ипподроме, где завод имеет собственное тренерское отделение, а также на Новосибирском ипподроме. Питомцы завода высоко зарекомендовали себя на ипподромах России. Конный завод «Орловский Фаворит» удостоен статуса «Лучший конный завод нового поколения» среди племенных предприятий России, занимающихся выращиванием лошадей орловской рысистой породы, по итогам 2017 года, а также «Лучшим племенным конным заводом России 2018 и 2020 годов» по результатам экспертной оценки и выступлений на ипподромах лошадей орловской рысистой породы, выращенных в хозяйстве, был признан ООО «Конный завод «Орловский Фаворит» [81].

**ООО «Конный завод Чесменский».** Конный завод расположен в Бобровском районе Воронежской области. Время основания конного завода относится к 1776 году и связано с именем графа Орлова-Чесменского - создателя знаменитой отечественной породы орловского рысака. В 1845 г. завод был

приобретён в государственную казну, а позднее стал собственностью Великих князей Романовых.

Сегодня конный Чесменский конный завод имеет самое крупное поголовье племенных лошадей орловской рысистой породы. В настоящее время общая численность лошадей в заводе – около 300 голов, из них маточное поголовье – 80 кобыл. Помимо орловских рысаков, здесь также имеется небольшое поголовье русских тяжеловозов и русских рысаков.

При конном заводе действует ипподром, полностью реконструированный в 2008 году. Ежегодно на ипподроме проводятся бега, скачки, фестиваль орловского рысака, работает конноспортивная секция.

Отличительной особенностью хозяйства является устойчивая кормовая база, которая позволяет на протяжении многих лет выращивать полноценных племенных лошадей. В Чесменском конном заводе обрабатывается 6 тыс. га земли, из которых 5,2 тыс. га пашни. 800 га неудобий отданы под выпас животных. Однако своей земли не хватает, и в летний период дополнительно арендуется земля под выпас в соседних районах. Для того чтобы покрывать в целом убыточное производство племенных лошадей, в хозяйстве занимаются также растениеводством, а с 2012 г. разводят крупный рогатый скот, оно имеет статус племрепродуктора по абердин-ангусской породе (4,5 тыс. голов). Однако свою основную задачу – сохранение орловского рысака как российского национального достояния – Чесменский конный завод успешно выполняет [59].

**АО «Конезавод «Новотомниково».** Новотомниковский конный завод основан в 1859 году и принадлежал до революции графу Иллариону Ивановичу Воронцову-Дашкову. Расположен в селе Новотомниково Моршанского района Тамбовской области. В нем традиционно выращивают лошадей орловской рысистой породы. Созданный в заводе новотомниковский заводской тип лошадей – один из ценнейших в орловской рысистой породе. Животные обладают высоким резвостным потенциалом и приспособительными качествами.

Пережив трудные времена в 2000-х годах и пройдя через процедуру банкротства, конный завод устоял, перейдя в собственность Тамбовской области. АО «Конезавод «Новотомниково» сохранил племенное поголовье лошадей. На сегодняшний день в хозяйстве содержатся 41 конематка и 64 головы племенного молодняка лошадей орловской рысистой породы.

Предприятие обеспечено грубыми кормами и концентратами. Лошади орловской рысистой породы, выращенные в АО «Конезавод «Новотомниково» показывают хорошие результаты на ипподромах России. Затраты на выращивание одной племенной лошади в хозяйстве составляют более 300 тыс. руб. [92].

### **2. 3. 1. 2 Уровень воспроизводства племенных кобыл орловской рысистой породы**

Эффективность воспроизводства поголовья в коневодстве определяется тремя основными показателями – зажеребляемость кобыл, благополучная выжеребка и деловой выход жеребят. При этом данные показатели могут быть рассчитаны по-разному. Производственников больше интересует экономическая сторона, связанная с затратами на содержание и обслуживание животных, поэтому в первичных документах они, как правило, указывают процентными величинами, взятые от исходного количества кобыл, осемененных в случном сезоне. Так зажеребляемость характеризуется числом зажеребевших кобыл в расчете на 100 осемененных. Благополучная выжеребка – это процент благополучно ожеребившихся кобыл (за вычетом абортных, мертворожденных и слаборожденных жеребят) от числа осемененных. Эту величину можно также рассчитывать от количества жеребых кобыл. Деловой выход жеребят — это количество живых жеребят, сохраненных к отъему (6 месяцев) в расчете на 100 осемененных кобыл, либо от числа рожденных живых жеребят (благополучная выжеребка). Для подсчета этих показателей используют данные ведомости случки и выжеребки кобыл в хозяйстве, в которых указывается количество кобыл, пущенных в случку,

прохолостевших, число аборт, мертворожденных и слаборожденных (павших в первые 3 дня после выжеребки) жеребят, отход жеребят до отъема и другие данные.

Для репродуктологов более важным аспектом является оценка способности кобылы зачать и выносить здорового жеребенка. Потери к отъему имеют в основном отношение к технологии кормления и содержания подсосных кобыл с жеребятами, и, за исключением молочности и выраженности материнского инстинкта, не характеризуют их репродуктивных качеств. Поэтому наиболее информативными в аспекте воспроизводства будут показатели зажеребляемости и благополучной выжеребки, а также процент аборт, слабо- и мертворожденных жеребят от числа зажеребевших кобыл, которыми мы и воспользовались для статистической обработки собранного материала.

Для определения репродуктивных качеств племенных кобыл нами был проведен анализ показателей воспроизводства в 4 российских конных заводах орловского рысистого направления (ООО «Конный завод Чесменский», ООО «Алтайский конный завод», АО «Конезавод «Новотомниково» и ООО «Конный завод «Орловский Фаворит»), которые числились в маточном составе заводов на конец 2020 года. По Чесменскому конному заводу, обладающего наибольшим поголовьем племенных орловский рысистых кобыл в РФ, были дополнительно собраны сведения за период с 1993-2020годы. По каждой кобыле были собраны все данные за ее плодовую карьеру в заводе (количество плодовых лет, случек, жеребостей, аборт, слабо- и мертворожденных жеребят и благополучно ожеребившихся кобыл, то есть число полученных живых жеребят). Результаты анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели воспроизводства кобыл в 4 российских конных заводах орловского рысистого направления (с 1993-2020 гг.)

Конный завод (число кобыл)		Показатели воспроизводства кобыл			
		всего в случке (число плодовых лет)	зажеребело	аборты, с/р, м/р*	благополучная выжеребка
Чесменский (145)	п	1711	1320	47	1273
	%	100	77,1±1,0	3,6±0,5	74,4±1,1
Алтайский (95)	п	562	432	12	420
	%	100	76,7±1,8	2,3±0,7	74,7±1,8
Орл.Фаворит (56)	п	182	137	3	134
	%	100	75,3±3,2	2,3±1,3	73,6±3,3
Новотомниково (55 кобыл)	п	189	141	3	138
	%	100	74,6±3,2	2,1±1,2	73,0±3,2
<b>Всего</b> (351)	п	2644	2030	63	1967
	%	100	76,8±0,4	3,1±0,4	74,4±0,8

Примечание: с/р – слаборожденные, м/р – мертворожденные (от зажеребевших кобыл)

Анализ полученных данных выявил, что показатели воспроизводства поголовья в 4 конных заводах РФ, занимающихся разведением орловского рысака, довольно ровные как по зажеребляемости кобыл, так и по числу полученных живых жеребят. В среднем они составили, соответственно, 76,8 и 74,4% и не имели достоверных различий ни по одному из показателей.

### 2. 3. 1. 3 Динамика показателей воспроизводства кобыл по возрастным периодам

Чтобы проследить динамику показателей в связи с возрастом кобыл, на следующем этапе исследований всех кобыл разбили на возрастные группы: 1) до 10 лет и 2) 10 лет и старше. В группе 1 было дополнительно выделено 2 подгруппы: до 5 лет включительно и 6-9 лет (таблица 2).

Таблица 2- Показатели воспроизводства племенных кобыл орловской рысистой породы в разном возрасте (с 1993-2020 гг.)

Возраст кобыл	Количество кобыл (плодовых лет)	Показатели воспроизводства кобыл			
		всего в случке	зажеребело	аборты, с/р, м/р*	благопол. выжеребка
<b>&lt;10 лет, в т.ч.</b>	п	1031	866	74	792
	%	100	84,0±1,14	8,5±0,94	76,8±1,32
≤ 5 лет	п	96	70	5	65
	%	100	72,9±4,48 <sup>a</sup>	7,1±3,03	67,7±4,77 <sup>c</sup>
6-9 лет	п	935	796	69	727
	%	100	85,1±1,17 <sup>b</sup>	8,7±0,99	77,8±1,36 <sup>d</sup>
<b>≥10 лет</b>	п	1118	919	83	836
	%	100	82,2±1,14	9,0±0,92	74,8±1,30

Примечание: <sup>a,b</sup>p<0,01, <sup>c,d</sup>p<0,05, с/р – слаборожденные, м/р – мертворожденные (от зажеребевших кобыл)

Полученные данные свидетельствуют, что в группе маток с возрастом до 10 лет показатели воспроизводства, в среднем, выше по сравнению с кобылами 10 лет и старше: зажеребляемость 84% против 82,2%, выход жеребят 76,8% против 74,8%. Доля абортов, слаборожденных и мертворожденных жеребят у более молодых кобыл составляет 8,5% против 9,0% у кобыл старше 10 лет. Кроме того, молодые (как правило, пришедшие с ипподромных испытаний) кобылы в первые 1-2 года имеют достоверно более низкий процент зажеребляемости и выхода жеребят, чем кобылы в более старшем возрасте (p<0,01 и p<0,05, соответственно). Это согласуется с наблюдениями специалистов, отмечавших, что по возвращении с ипподромов в конный завод у кобыл не сразу, а лишь через 2-3 года устанавливается нормальная воспроизводительная деятельность [34, 50].

В разрезе отдельных конных заводов эта динамика несколько варьирует (таблица 3). В частности, в Чесменском конном заводе и в «Орловском Фаворите» она повторяет тенденцию пониженной плодовитости до 5-летнего возраста с

последующим нарастанием к 6-9 годам и небольшим снижением после 10 лет. В Алтайском конном заводе высокая зажеребляемость и % благополучной выжеребки у кобыл сохраняются и после 10-летнего возраста (84,1 и 79,3%, соответственно). Тогда как в «Новотомниково» наиболее высокая плодовитость отмечается у самых молодых кобыл ( $\leq 5$  лет) – 77,8% живых жеребят.

Таблица 3 – Показатели воспроизводства кобыл в 4 российских конных заводах орловского рысистого направления по возрастным периодам

Показатели воспроизводства	Возраст кобыл					
	$\leq 5$ лет		6-9 лет		$\geq 10$ лет	
	п	%	п	%	п	%
<b>ООО «Конный завод Чесменский» (99 кобыл)</b>						
Кобыл в случке*	60	100	327	100	753	100
Зажеребело	50	83,3	283	86,5	635	84,3
Аборты, с/р, м/р	4	8,0	23	8,12	49	7,7
Благ. выжеребка	46	76,7	260	79,5	575	76,4
<b>ООО «Алтайский конный завод» (95 кобыл)</b>						
Кобыл в случке	66	100	322	100	145	100
Зажеребело	49	74,2	268	83,2	122	84,1
Аборты, с/р, м/р	3	6,1	22	8,2	7	5,7
Благ. выжеребка	46	69,7	246	76,4	115	79,3
<b>ООО «конный завод «Орловский Фаворит» (54 кобылы)</b>						
Кобыл в случке	74	100	117	100	14	100
Зажеребело	60	81,1	102	87,2	12	85,7
Аборты, с/р, м/р	6	23,3	8	7,8	1	8,3
Благ. выжеребка	54	73,0	94	80,3	11	78,6
<b>АО «Конезавод «Новотомниково» (55 кобыл)</b>						
Кобыл в случке	63	100	168	100	15	100
Зажеребело	54	85,7	135	80,4	13	86,7
Аборты, с/р, м/р	5	9,3	15	11,1	2	15,4
Благ. выжеребка	49	77,8	120	71,4	11	73,3
<b>По всем конным заводам (303 кобылы)</b>						
Кобыл в случке	263	100	934	100	927	100
Зажеребело	213	81,0	788	84,4	782	84,4
Аборты, с/р, м/р	18	8,5	68	8,6	59	7,5
Благ. выжеребка	195	74,1	720	77,1	712	76,8

Примечание: \* плодовых лет

Но в среднем тенденция повышения показателей воспроизводства к 6-9 летнему возрасту у орловских рысистых кобыл сохраняется (рисунок 5)

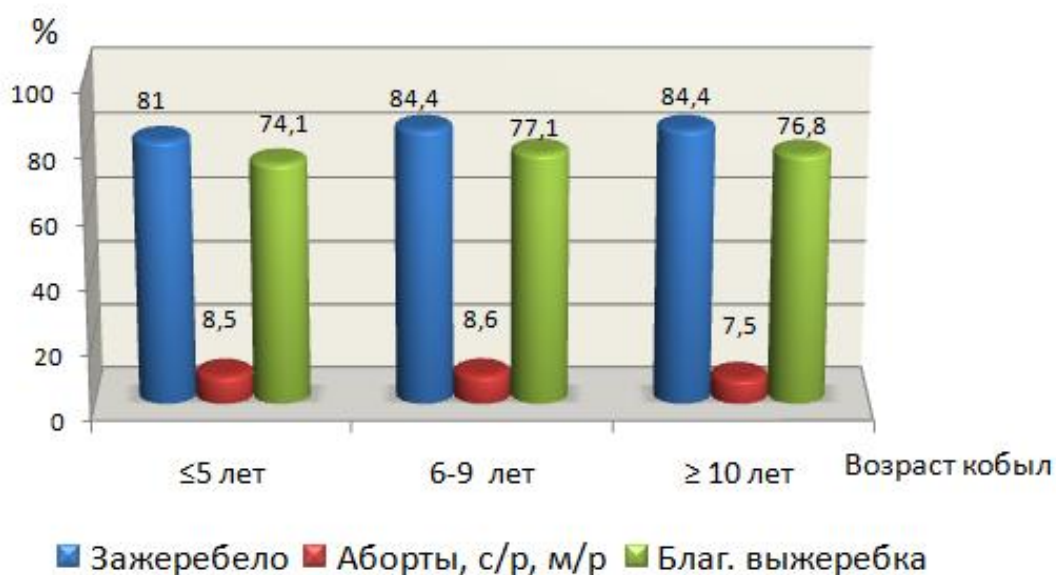


Рисунок 5 – Средние показатели воспроизводства кобыл по возрастным периодам в 4 конных заводах

Учитывая, что часть кобыл в конных заводах поступает в воспроизводство позже 5 лет, проходя испытания на ипподромах, либо продается или выранжирруется из племенного состава, не достигая 10-летнего возраста, мы выбрали из электронной базы данных ИПС «Кони-3» (ВНИИ коневодства) только тех кобыл, которые непрерывно использовались в 4 исследуемых хозяйствах более 10 лет, начиная с 3-4-летнего возраста и проследили их плодовую деятельность по возрастным периодам (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели воспроизводства кобыл, продуцирующих в конных заводах более 10 лет, по возрастным периодам

Показатели воспроизводства	Возраст кобыл						За всю плодовую карьеру	
	≤5 лет		6-9 лет		≥ 10 лет		n	%
	n	%	n	%	n	%		
<b>ООО «Конный завод Чесменский» (79 кобыл)</b>								
Кобыл в лучке*	46	100	266	100	679	100	991	100
Зажеребело	35	76,1±6,3	230	86,5±2,1	578	85,1±1,9	843	85,1±1,1
Аборты, с/р, м/р	3	8,6±4,7	19	8,3±1,8	47	8,1±1,1	69	8,2±0,9
Выход жеребят	32	69,6±6,8	211	79,3±2,5	520	76,6±1,6	763	77,0±1,3
<b>ООО «Алтайский конный завод» (44 кобылы)</b>								
Кобыл в случке	50	100	165	100	148	100	363	100
Зажеребело	35	70,0±6,5	134	81,2±3,0	125	84,4±3,0	294	81,0±2,1
Аборты, с/р, м/р	2	5,7±3,9	10	7,5±2,3	7	5,6±2,1	19	6,5±2,1
Выход жеребят	33	66,0 ±6,7	124	74,5±3,4	115	77,7±3,4	272	74,9±2,3
<b>ООО «конный завод «Орловский Фаворит» (9 кобыл)</b>								
Кобыл в случке	15	100	43	100	11	100	69	100
Зажеребело	8	53,3±12,9	39	90,7±4,4	9	81,8±11,6	56	81,2±4,7
Аборты, с/р, м/р	0	0	5	12,8±5,3	1	11,1±9,5	6	10,7±4,1
Выход жеребят	8	53,3±12,9 <sup>a</sup>	34	79,1±6,2 <sup>b</sup>	8	72,7±13,4	50	72,5±5,4
<b>АО «Конезавод «Новотомниково» (12 кобыл)</b>								
Кобыл в случке	18	100	34	100	15	100	67	100
Зажеребело	15	83,3±8,8	32	94,1±4,0	13	86,7±8,8	60	89,6±3,7
Аборты, с/р, м/р	2	13,3±8,7	3	9,4±5,1	2	15,4±10,0	7	11,7±4,1
Выход жеребят	13	72,2±10,6	29	85,3±6,1	11	73,3±11,4	53	79,1±5,0
<b>По всем конным заводам (144 кобылы)</b>								
Кобыл в случке	129	100	508	100	853	100	1490	100
Зажеребело	93	72,0±3,9	435	85,6±1,6	725	85,0±1,5	1253	84,1±0,9
Аборты, с/р, м/р	7	7,5±7,5	37	8,5±1,3	57	6,7±0,9	101	8,1±0,8
Выход жеребят	86	68,3±4,1 <sup>c</sup>	398	78,3±1,8 <sup>d</sup>	654	76,7±1,4	1138	76,4±1,1

Примечание: <sup>a,b</sup>p<0,01, <sup>c,d</sup>p<0,05; \* плодовых лет

Анализ данных показал, что выявленная ранее динамика повышения плодовитости к 6-9 летнему возрасту у кобыл, продуцирующих в конных заводах боле 10 лет, выражается более четко. Однако после 10 лет снижение показателей имеет разную интенсивность в хозяйствах, а в Алтайском конном заводе % зажеребляемости и благополучной выжеребки даже повышается (81,2-84,4% и 74,5-77,7%, соответственно). Следует также отметить в целом более высокую плодовитость за всю репродуктивную карьеру у маток-долгожительниц в сравнении со средними показателями по всему поголовью в конных заводах

(таблица 5). Логично предположить, что в числе долго используемых в маточном составе остаются наиболее ценные и плодовитые кобылы, от которых стараются получить максимум приплода.

При более тщательном рассмотрении возрастного состава кобыл маточного поголовья в этих конных заводах выяснилось, что в Чесменском конном заводе в группе  $\geq 10$  лет содержатся в наибольшем количестве возрастные матки, которые продуцировали в хозяйстве вплоть до 20-летнего возраста и старше. В Алтайском конном заводе в группе  $\geq 10$  лет кобыл старше 15 лет в маточном составе не оказалось. В «Новотомниково» самый старший возраст кобыл – 12 лет, в «Орловском Фаворите» - 11 лет. Возможно, это объясняет причину сохранения высоких показателей воспроизводства кобыл в старшей группе в трех последних конных заводах.

В то же время, если проследить динамику показателей воспроизводства в Чесменском конном заводе, разделив старшую группу кобыл по возрасту на 2 подгруппы (10-15 лет и 16-20 лет), то окажется (таблица 5, рисунок 6), что после 10-летнего возраста плодовитость кобыл начинает снижаться и, даже, несмотря на высокую зажеребляемость у старых маток (85,9%), живых жеребят в группе самых старых кобыл (16-20 лет) получено меньше, чем в двух предыдущих возрастных группах (79,6 и 78,0%, соответственно), вследствие повышения уровня потерь во время жеребости и выжеребки (9,1% против 7,5-8,3% у более молодых кобыл).

Таблица 5 – Плодовитость кобыл-долгожительниц маточного состава Чесменского конного завода по возрастным периодам

Показатели воспроизводства	Возраст кобыл							
	≤5 лет		6-9 лет		10-15 лет		16-20лет	
	п	%	п	%	п	%	п	%
(ООО «Конный завод Чесменский» (79 кобыл))								
Кобыл в случке*	46	100	266	100	410	100	269	100
Зажеребело	35	76,1±6,3	230	86,5±2,1	345	84,1±1,8	231	85,9±2,1
Аборты, с/р, м/р	3	8,6±4,7	19	8,3±1,8	26	7,5±1,4	21	9,1±1,9
Благ.выжеребка	32	69,6±6,8	211	79,3±2,5	320	78,0±2,0	200	74,3±2,7

Примечание: \* плодовых лет

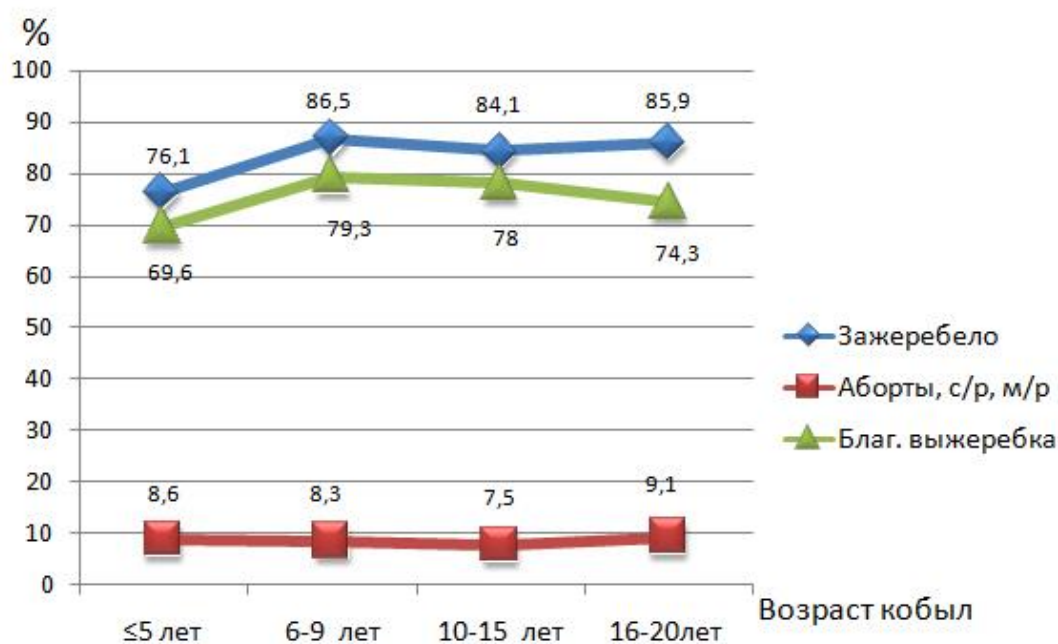


Рисунок 6- Показатели воспроизводства маток-долгожительниц в Чесменском конном заводе по возрастным периодам

### **2. 3. 1. 4 Особенности использования возрастных кобыл в маточном составе конных заводов РФ**

Таким образом, по нашим данным, наиболее продуктивным периодом использования является возраст племенных кобыл с 6 до 9 лет, после чего показатели воспроизводства начинают снижаться как за счет уменьшения процента зажеребляемости, так и роста числа абортных, слабо - и мертворожденных жеребят. Нами замечено, что в общей группе кобыл с возрастом старше 10 лет высокие показатели воспроизводства у кобыл сохраняются, по крайней мере, до 12-13-летнего возраста. Кроме того, специалистам хорошо известно, что в маточном составе остаются до старости лишь кобылы, исправно приносящие жеребят. Субфертильных кобыл, как правило, продают или выбраковывают, а с ценными матками работают более тщательно и результативно, затрачивая на них больше внимания, сил и средств. Вероятно, по этой причине снижение воспроизводительных качеств у племенных маток после 10 лет в наших исследованиях не получила достоверного подтверждения.

Исходя из результатов данного этапа, нами были сформированы две возрастных категории кобыл, включенных в экспериментальные сравнительные исследования - до 10 лет и 10 лет и старше. Как известно из опыта зарубежных коннозаводчиков, в их практике существует обязательное правило - всесторонне проверять репродуктивные качества кобыл по достижении 10-летнего возраста, поскольку содержание племенных маток в течение года без приплода весьма убыточно и неэффективно с селекционной точки зрения, как у животных с минимальным биологическим коэффициентом размножения.

### 2. 3. 2 Структура эндометрия кобыл в эструсе и диэструсе

Для определения нормального строения слизистой матки были проанализированы гистосрезы эндометриальных образцов от молодых (3-9 лет) фертильных кобыл (n=8) в двух фазах полового цикла – эструсе и диэструсе.

На гистологических препаратах эндометрия кобыл хорошо различимы два слоя: наружный – компактный (Stratum Compactum – SC) и внутренний - губчатый (Stratum Spongiosum – SS) (рисунок 7). Компактный слой SC граничит с поверхностным эпителием (ПЭ), который выстилает полость матки и выполняет секреторную функцию. В обоих слоях SC и SS расположены железы, выстланные железистым (гландулярным) эпителием (ЖЭ), присутствуют сосуды, стромальные клетки (рисунок 8).

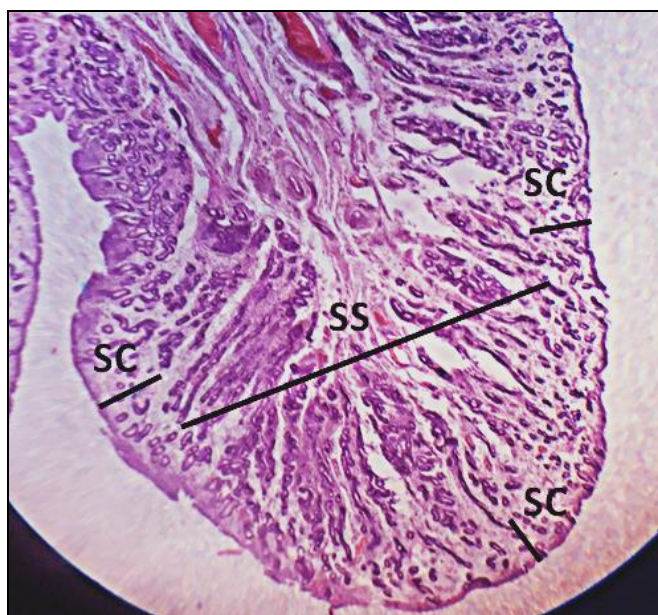


Рисунок 7- Складка эндометрия кобылы на гистосрезе. Слои эндометрия: компактный - SC (Stratum Compactum) и губчатый - SS (Stratum Spongiosum) (x400)

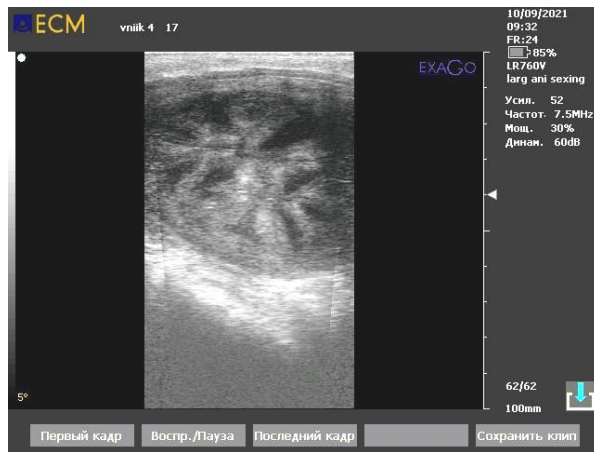


Рисунок 8- Эндометрий молодой кобылы (5 лет) в фазе диэструса. ПЭ-поверхностный эпителий, ЖЭ – железистый эпителий (x400)

В различные фазы полового цикла в результате смены гормонального фона у кобыл меняется состояние эндометрия матки. Так, в фазе эструса под действием эстрогенов возникает отек слизистой с образованием рыхлых складок, хорошо различимых с помощью УЗИ (рисунок 9 а, б), и с выделением обильного жидкого секрета. В фазе диэструса, вследствие повышения концентрации прогестерона, складки расправляются, секрет становится вязким, эндометрий как бы «подсушивается», готовясь принять эмбрион (рисунок 9 в, г).

Соответственно этим фазам изменяется и гистологическая картина эндометриальной ткани, описанная ниже.

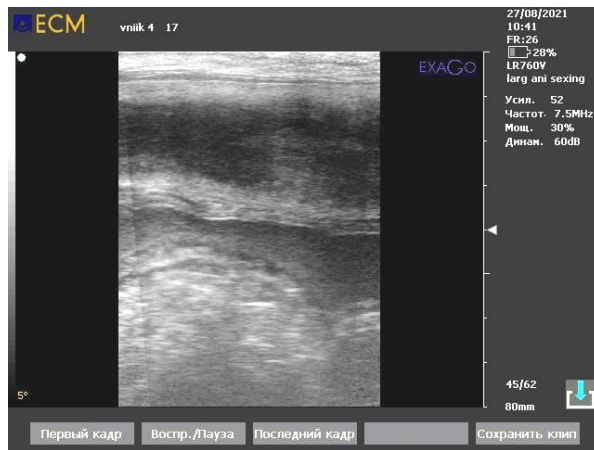
**Эструс.** В опыте показано, что у кобыл в норме поверхностный эпителий состоит из одного ряда призматических клеток. Железистый представлен кубическими, либо призматическими клетками с базальным расположением ядер. В компактном слое наблюдаются редкие, трубчатые, округлые железы, преимущественно пустые, встречаются единичные железы с эозинофильным секретом. Присутствуют тонкостенные умеренно-полнокровные сосуды. В губчатом слое железы распределяются равномерно, вытянуты по форме, с неровным апикальным краем (рисунок 10 а).



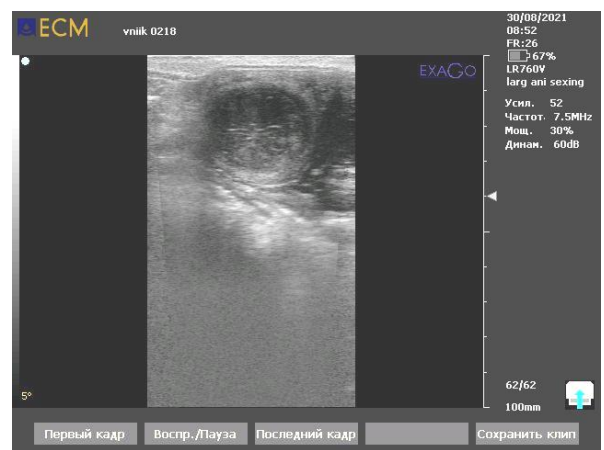
а)



б)



в)



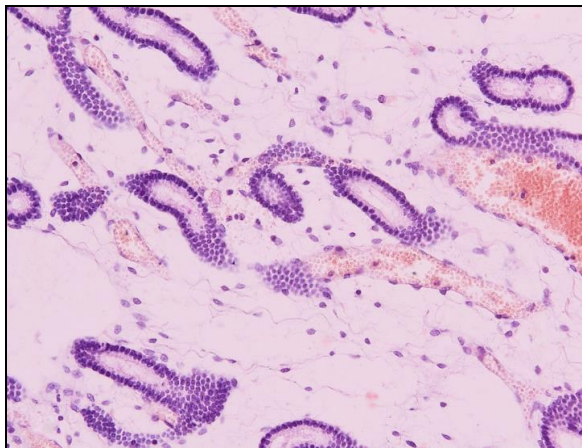
г)

Рисунок 9-Эхограммы тела (а, в) и рогов (б, г) матки кобыл в фазе эструса (а,б) и диэструса (в,г)

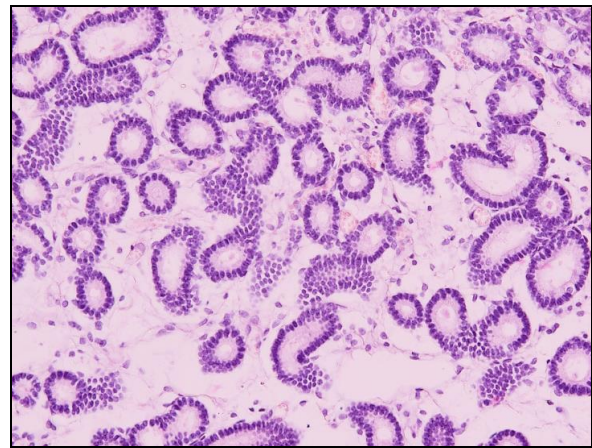
Присутствуют тонкостенные умеренно-полнокровные сосуды. В губчатом слое железы распределяются равномерно, вытянуты по форме, с неровным апикальным краем (рисунок 10 а).

**Диэструс.** В образцах эндометрия в диэструсе у кобыл в клетках поверхностного эпителия наблюдали ядра, расположенные на разных уровнях, и вакуолизацию цитоплазмы (рисунок 10 б). Данный признак описан R.M. Kenny, как физиологический, в период эструса [201]. Железы мелкие, трубчатые, извилистые. Железистый эпителий - однорядный, от низкого до высокого цилиндрического. Ядра расположены базально, цитоплазма вакуолизована.

Просветы желез преимущественно спавшиеся, в отдельных железах виден секрет. Апикальный край желез неровный, характерный для желез с мерокринным типом секреции. Железистый рисунок в губчатом слое беднее, формы желез различны: круглые, вытянутые, извилистые. Единичные железы звездчатой формы отличались более высоким эпителием. Сосуды полнокровные, пролегающие преимущественно в губчатом слое.



а)

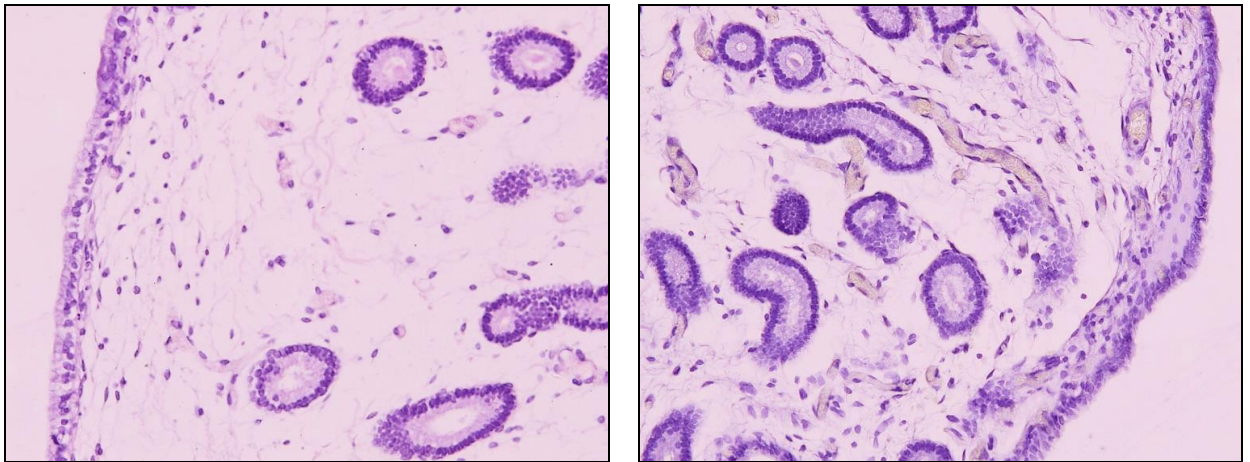


б)

Рисунок 10 - Гистологический срез эндометрия: молодая кобыла (4 года), а) в эструсе, б) в диэструсе

У кобыл старшего возраста (от 10 до 20 лет), имеющих проблемы с зажеребляемостью и вынашиванием плода (n=13), гистологическая картина эндометрия и характер ее изменений в двух фазах цикла отличались от зафиксированных у молодых фертильных кобыл.

**Эструс.** Во время эструса эндометрий имел дольчатый рисунок. Поверхностный эпителий был представлен клетками цилиндрической формы. В компактном слое наблюдали извитые железы с неровным апикальным краем. Диаметр желез в губчатом слое был вдвое шире, чем у желез компактного слоя. У большинства возрастных кобыл железистый рисунок был более скудным, присутствовали растянутые железы, а сами железы окружены одним или несколькими слоями фиброзных волокон. (рисунок 11 а).



а)

б)

Рисунок 11- Гистологический срез эндометрия: кобыла старшего возраста (14 лет), а) в эструсе, б) в диэструсе

**Диэструс.** Во время диэструса у кобыл старшего возраста (Рисунок 9 б) поверхностный эпителий - однорядный, представлен клетками с ядрами, расположенными на одном уровне. Строма эндометрия компактная, дольчатой структуры. Внутри сегментов (долек) располагаются единичные крупные железы неправильной формы, выстланные низким однорядным эпителием, часть из них - кистозно-растянутые с эозинофильным секретом. В ряде случаев вокруг желез обнаруживались два-три слоя фиброзных колец. В извитых железах эпителий оказался более вытянутым. Апикальный край желез ровный, что свидетельствует об отсутствии секреторной активности. Сосуды резко очерченные, полнокровные, местами заметно геморрагическое пропитывание стромы (рисунок 12).

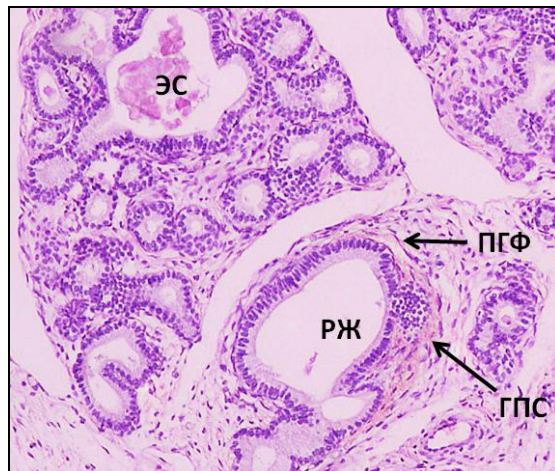


Рисунок 12- Структурные изменения в эндометрии возрастных кобыл: растянутые железы (РЖ), фиброзные кольца вокруг желез (ПГФ), эозинофильный секрет (ЭС), геморрагическое пропитывание стромы (ГПС)

На некоторых гистосрезках эндометрия возрастных кобыл, преимущественно в диэструсе, в клетках железистого эпителия обнаружена многорядность ядер и вакуолизация цитоплазмы (рисунок 13).

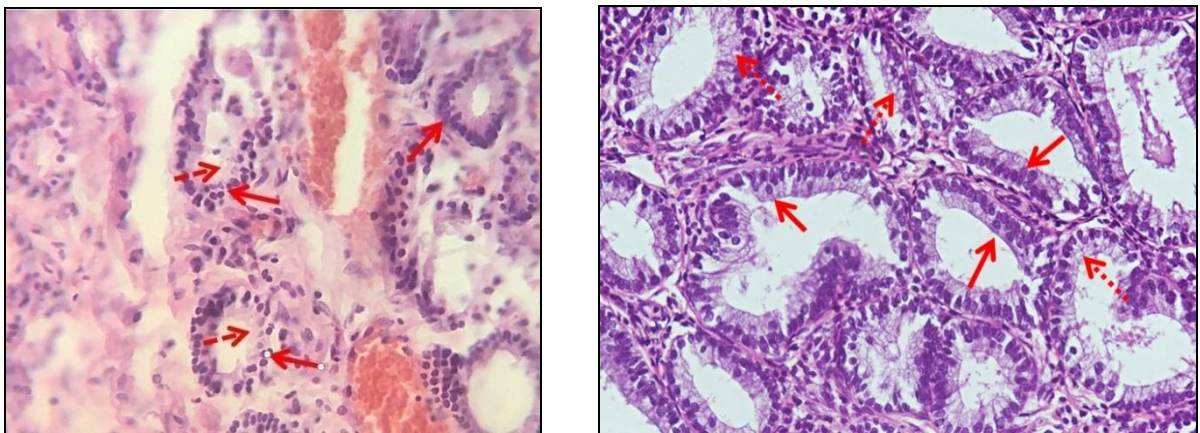


Рисунок 13-Многорядность ядер (сплошная стрелка) и вакуолизация цитоплазмы (пунктирная стрелка) в клетках железистого эпителия (x400)

### 2.3.3 Основные виды выявленных эндометриальных изменений

Данное исследование проведено на кобылах разного возраста с целью уточнения их соответствия классификационным признакам патологий эндометрия кобыл, показанными исследователями ранее. При изучении гистологических изменений в эндометрии кобыл мы опирались на описание и фотоснимки

образцов различных видов патологий из литературных источников [174, 200, 201] и соотносили их с классификацией R.M. Kenny и Doig, 1986.

Гистологическую картину воспаления определяли по наличию в субэпителиальном пространстве полиморфноядерных лейкоцитов (PMN-клеток), макрофагов, лимфоцитов (рисунок 14). В острой фазе эндометрита наблюдали инфильтрацию поверхностного слоя (субэпителиальное пространство) PMN-клетками, более 10-15 в поле зрения.

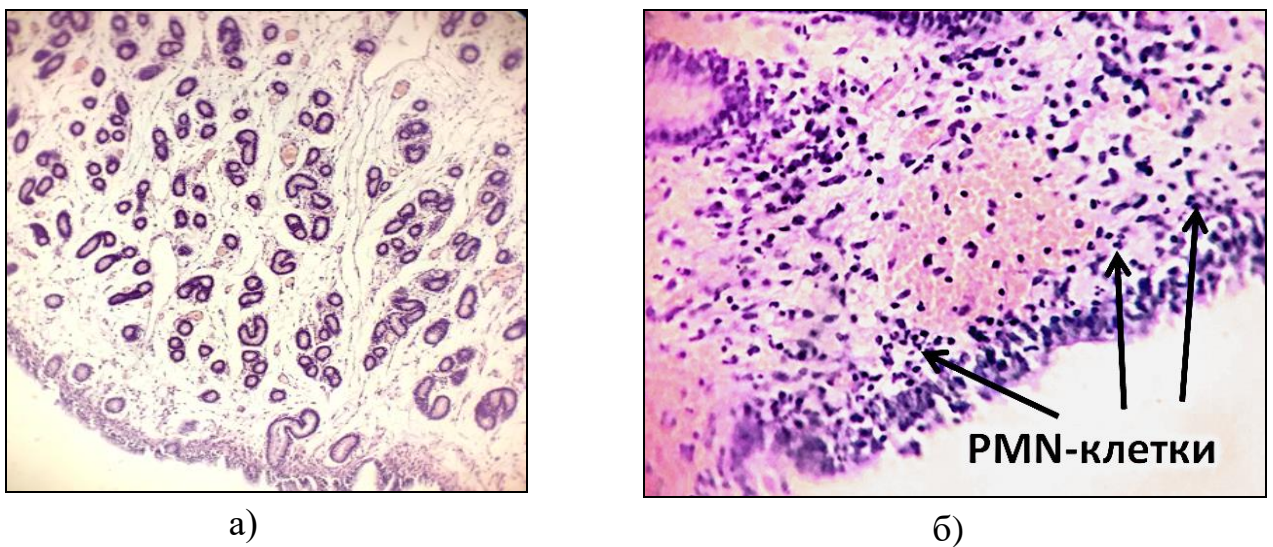
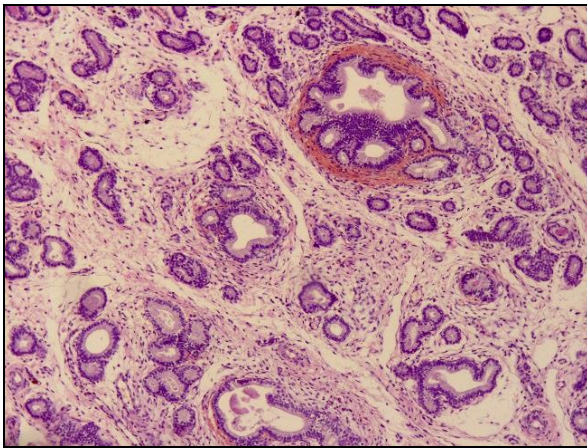
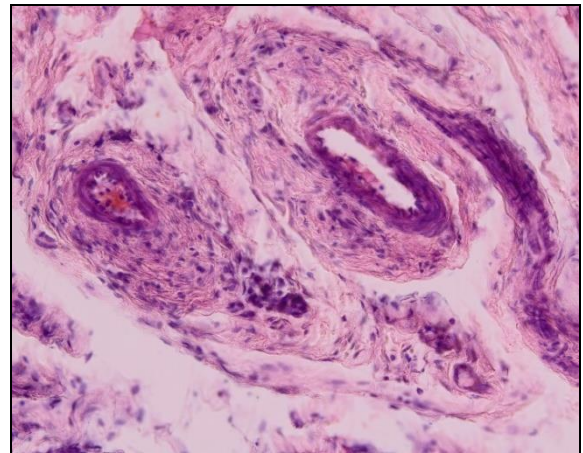


Рисунок 14- Гистологический срез эндометрия II категории ( по Кенни). Острая форма эндометрита. Окраска Гематоксилин Эозин. а) Инфильтрация субэпителиального пространства PMN-клетками (x200), б) Инфильтрация PMN-клетками межклеточного пространства (x400)

В случаях хронического эндометрита на гистосрезах выявлялась более глубокая инфильтрация эндометрия PMN-клетками и лимфоцитами, утолщение сосудистых стенок, геморрагическое пропитывание стромы (рисунок 15)



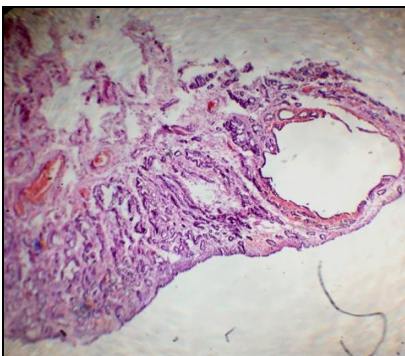
а)



б)

Рисунок 15 - Гистологический срез эндометрия, IIВ категория. Окраска Гематоксилин Эозин. а) перигландулярный фиброз, воспалительная инфильтрация стромы PMN-клетками, б) периваскулярный фиброз. (x400)

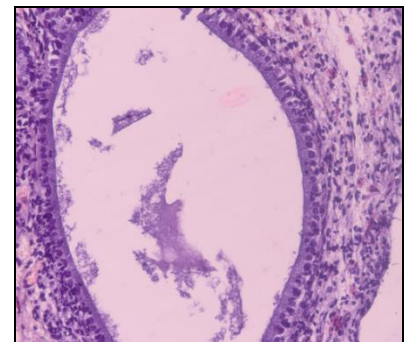
Деструктивные процессы в эндометрии характеризуются также растяжением стенок желез вплоть до кистозной трансформации (рисунок 16)



а)



б)



в)

Рисунок 16- Гистологический срез эндометрия III категории ( по R.Kenny) у кобылы 20 лет. а) Эндометриальная киста , б), в) расширение эндометриальных желез. Окраска Гематоксилин Эозин. (x400)

Наиболее характерный признак дегенеративных процессов в слизистой матки – это фиброз эндометрия. Возникновение этой патологии связано с перерождением и замещением функциональной железистой ткани фиброзными волокнами (соединительная ткань) в результате длительного (хронического) воспалительного процесса, нарушения микроциркуляции в очаге повреждения

ткани, ее «рубцевания», склеротических процессов в стенках желез и сосудов. Фиброзные кольца начинают откладываться вокруг желез и сосудов, мешая их нормальной работе, поэтому патология получила название - перигландулярный фиброз (ПГФ). Данный вид патологий встречали у кобыл, относящихся ко II и III категории по R.M. Kenny (рисунок 17).

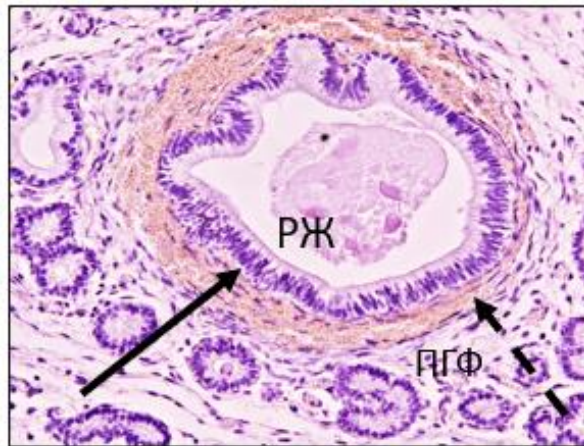
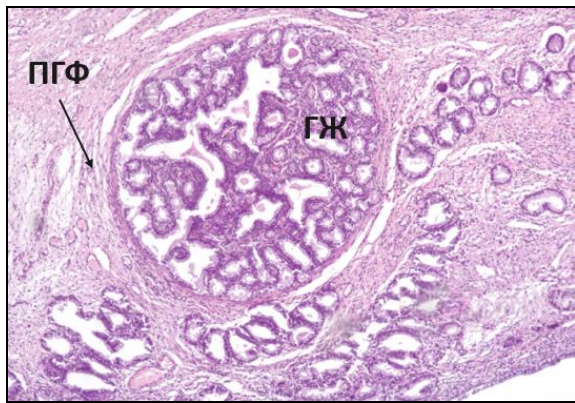
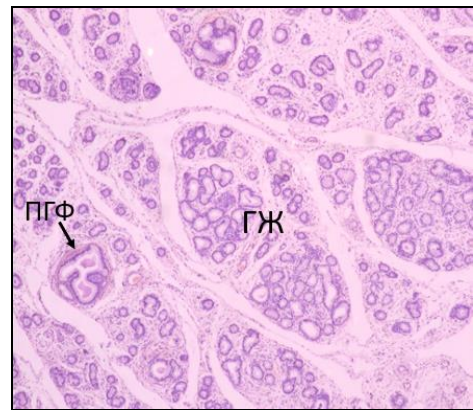


Рисунок 17- Эндометрий возрастных кобыл. Перигландулярный фиброз (ПГФ) (пунктирная стрелка). Растяжение эндометриальной железы (РЖ) (сплошная стрелка). Окраска Гематоксилин Эозин. (x400)

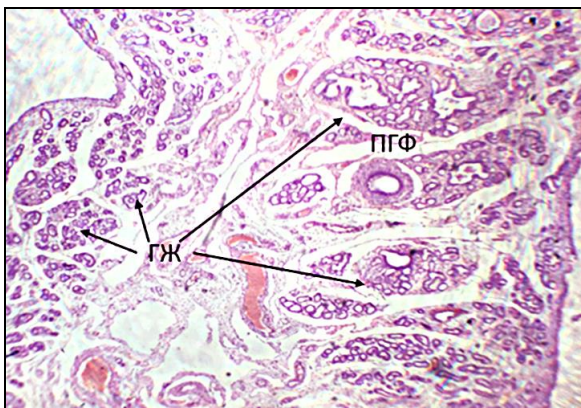
По мере прогрессирования фиброза эндометриальной ткани происходит собирание желез в «гнезда» и опоясывание их слоями фиброзных волокон (рисунок 18), что еще больше нарушает трофику эндометрия, способствуя потере его физиологической функции и перерождению в соединительную ткань. Разновидностью такого перерождения является обнаруженный нами у 20-летней кобылы фиброзный полип (рисунок 19).



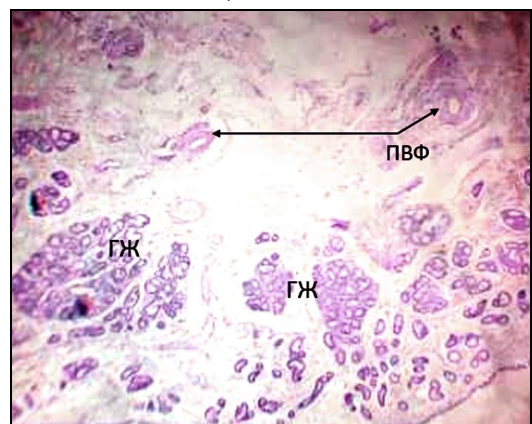
а)



б)



в)



г)

Рисунок 18 - Гистологический срез эндометрия III категории (по R.Kenny). Кобыла 20-ти летнего возраста. Перигландулярный фиброз (ПГФ), гнездование желез (ГЖ), периваскулярный фиброз (ПВФ). Окраска Гематоксилин Эозин. а), б) увеличение x200, в), г) (x400)

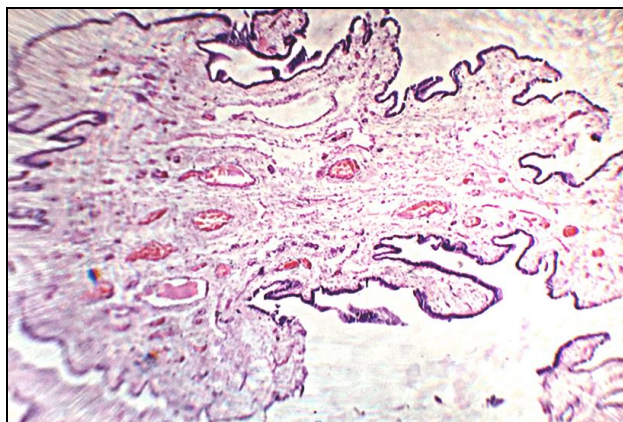


Рисунок 19- Гистологический срез эндометрия III категории (по R.Kenny). железисто-фиброзный полип (кобыла 20 лет), пронизан кровеносными сосудами, железы в минимальном количестве. Окраска Гематоксилин Эозин, (x400)

Описанные структурные изменения связаны также с нарушением работы кровеносных и лимфатических сосудов, результатом чего является затруднение лимфодренажа эндометрия, его «высушивание» в диэструсе. Это способствует появлению «лимфатических лакун», застою жидкости в матке, что создает среду для развития инфекций и препятствует нормальной реакции матки на гормональную стимуляцию, как органа-мишени (рисунок 20).

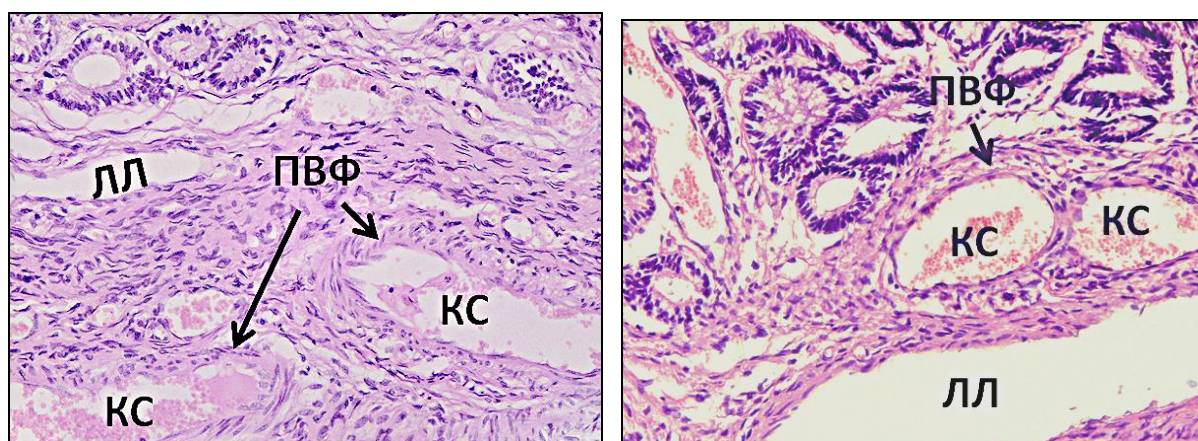


Рисунок 20- Гистологический срез эндометрия III категории (по R.Kenny) (кобыла 20 лет), лимфатические лакуны (ЛЛ), периваскулярный фиброз (ПВФ), КС- кровеносный сосуд. Окраска Гематоксилин Эозин, (x400)

Выявленные нами виды патологий затрагивают разные структурные элементы эндометриальной ткани, которые состоят из различных органических соединений, поэтому для более точной их диагностики необходимо использовать специфические красители для гистологических образцов.

#### **2.3.4 Определение различных деструктивных изменений в эндометрии с помощью трех методов окрашивания гистосрезов**

При гистологическом исследовании циклических изменений эндометрия кобыл в различные фазы репродуктивной активности с целью более четкого определения характера тканевой принадлежности и функциональной активности отдельных структур, были использованы три метода окрашивания биопсийных

образцов на стекло-препаратах: стандартным красителем гематоксилин и эозин, окраска по Ван-Гизону и окраска трихромным красителем по Массону с анилиновым синим.

Для изучения структуры эндометрия и его морфологических особенностей нами был использован краситель гематоксилин и эозин. Гематоксилин — основной краситель — окрашивает базофильные клеточные структуры в ярко-синий - фиолетовый цвет. Как правило, это структуры, содержащие нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) ядра клеток, рибосомы и богатые РНК участки цитоплазмы. Эозин — спиртовой кислый краситель — окрашивает эозинофильные структуры клеток в красно-розовый цвет. Цитоплазма является эозинофильной средой и окрашивается в розовый цвет. Эритроциты всегда прокрашивается ярко красным цветом.

В результате использования окраски по Ван-Гизону на стекло-препаратах более контрастно выглядели клетки эпителия эндометриальных желез – ядра окрашивались в черный цвет, цитоплазма в желтый. Гладкомышечная ткань стенок сосудов, окрашенная в желтый цвет, отличалась от стромальной фиброзной основы, содержащей коллаген, который определялся по яркой, пурпурно-красной окраске.

Окраска по Массону с анилиновым синим давала синий оттенок железистого секрета и коллагена в стромальной ткани, сохранялся контраст черных ядер железистого эпителия с цитоплазмой, окрашенной в красный цвет. Оценочные показатели структуры и функциональной активности эндометрия не противоречили (соответствовали) данным, полученным при стандартной окраске и окраске по Ван-Гизону.

Специальные методы окраски имеют ряд преимуществ по сравнению с окраской гематоксилин-эозином, так как по-разному окрашивают различные ткани. Интенсивность окраски зависит от зрелости коллагеновых волокон, в незрелом волокне высокая концентрация углевод-цементирующего вещества

препятствующего диффузии красителя и связи его с белком. Прокраска ткани обеспечивается за счет связи красителя с белком, в зрелых волокнах плотность расположения молекул коллагена в протофибриллах и фибриллах выше, чем в незрелых. Поэтому метод Ван Гизона и метод трехцветной окраски по Массону с анилиновым синим оказались весьма полезными для дифференциальной диагностики перигландулярного фиброза (ПГФ).

В результате окрашивания гистосреза эндометриальной ткани по методу Ван Гизона коллагеновые волокна и фибрин окрасились в ярко-красный цвет, а ядра - в черный. После окраски эндометриальной ткани трехцветной окраской по Массону с анилиновым синим ядра клеток окрасились в чёрный, цитоплазма в тёмно-фиолетовый, эластиновые волокна, ацидофильные гранулы - в розовый, коллаген, фибрин, базофильные гранулы - в ярко синий, а эритроциты в жёлтый цвет.

Ниже для удобства восприятия фотоматериалов мы приводим сводную таблицу с описанием результатов окрашивания различных клеточных структур эндометрия кобыл классическим гематоксилином и эозином, и специальными красителями по методу Ван Гизона и трихромным красителем по Массону с анилиновым синим (таблица 6).

Таблица 6- Цвет структурных элементов при дифференциальном окрашивании гистологических срезов эндометрия кобыл тремя методами

Структурные элементы ткани	Методы окрашивания гистологических образцов		
	Гематоксилин-Эозин	По Ван Гизону	Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим
ядра ЖЭ	сине-фиолетовый	черный	фиолетовые
цитоплазма клеток	розовый	розовый	серо-голубой
сосудистая стенка	фиолетовый	желтый	бордовый
фибрин и коллаген	фиолетовый	ярко пурпурный	синий
эритроциты	красный	красные	желтые
PMN -клетки	фиолетовый	черные	фиолетовые

Примечание: ЦП- цитоплазма, ЖЭ- железистый эпителий, PMN-полиморфноядерные лейкоциты

В результате микроскопического анализа стеклопрепаратов (n=98), полученных из биоптата эндометрия кобыл разных возрастных категорий, было установлено, что ПГФ обнаруживается при окрашивании гистосрезов специальными красителями по методу Ван Гизона и трихромным красителем по Массону с анилиновым синим. С помощью этих методов удалось визуализировать фиброзные отложения вокруг желез, под эпителиальным пространством и вокруг кровеносных сосудов. Причем было отмечено, что в гистосрезе у молодых кобыл фиброзные отложения отсутствовали. Наличие ПГФ наблюдали у кобыл старше десяти лет, а также кобыл, имеющих в анамнезе эндометрит и длительное бесплодие.

В гистологических срезах у молодых кобыл какие-либо патологические изменения не выявлены (рисунок 21). Однако в группе возрастных кобыл выявляются структурные изменения эндометриальной ткани.

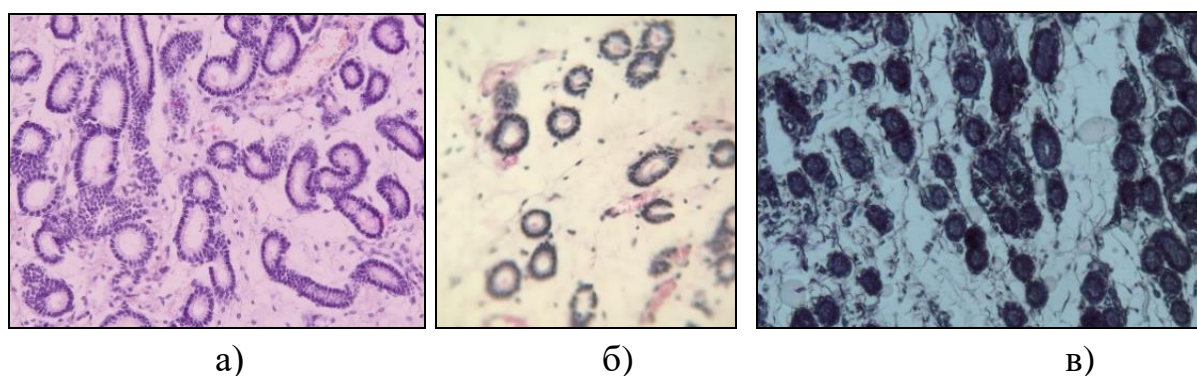


Рисунок 21 - Гистологический срез эндометрия молодой кобылы (4 года). а) Гематоксилин и Эозин, б) Ван Гизон, в) Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим (x400)

Анализируя гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, а также специальными красителями полученные в результате биопсии от кобыл, имеющих в анамнезе длительное бесплодие, аборт и эндометриты, выявили растяжение желез, кистозную трансформацию, фиброзные отложения, лимфатические лакуны, формирования гнездования (рисунок 22 а, б, в, г; рисунок 23 а, б, в). Фиброзные отложения визуализировались только на препаратах,

окрашенных специальными красителями (по методу Ван Гизона и трихром по Массону с анилиновым синим).

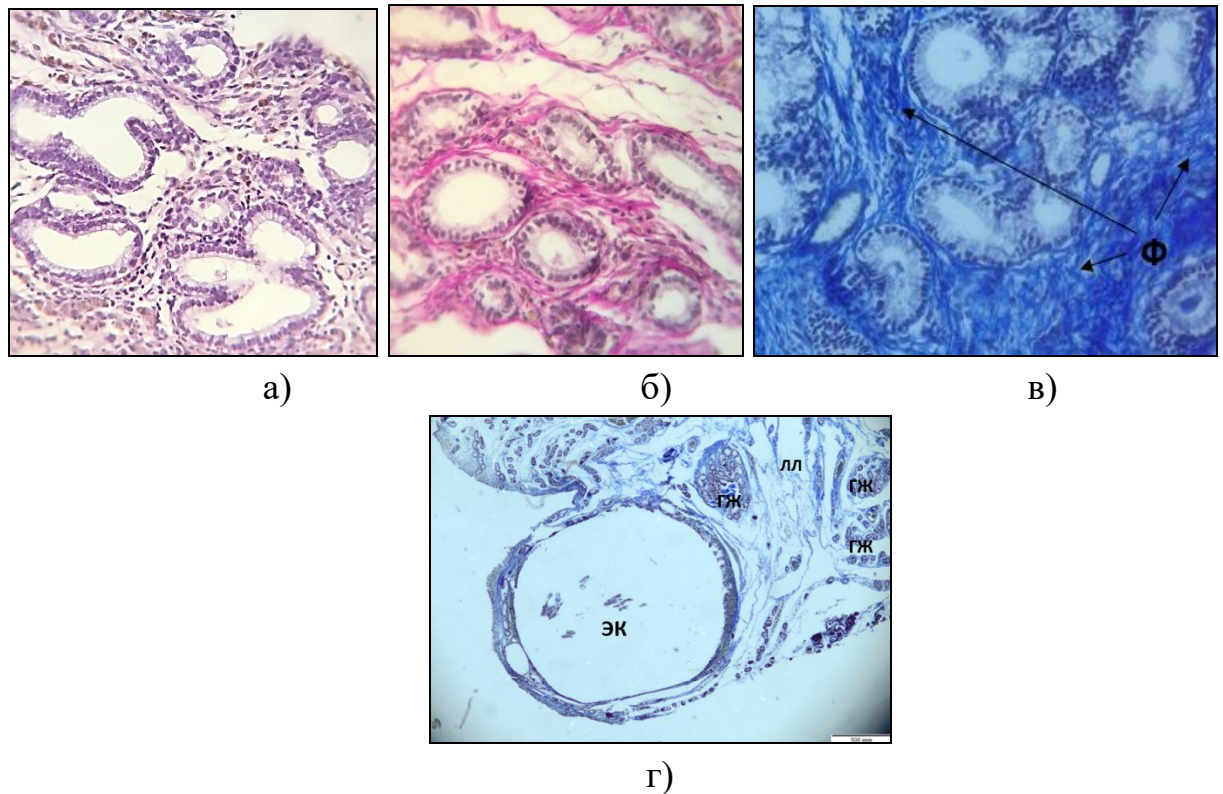


Рисунок 22 - Гистологический срез эндометрия кобылы (13 лет). а) растянутые железы (гематоксилин и эозин), б) скопление фибрина (интенсивно-розовый или пурпурно-красный цвет) вокруг желез (Ван Гизон), в) фиброзные отложения (синий), вокруг желез и в строме. (Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим) г) эндометриальная киста (трихром по Массону) (x400)

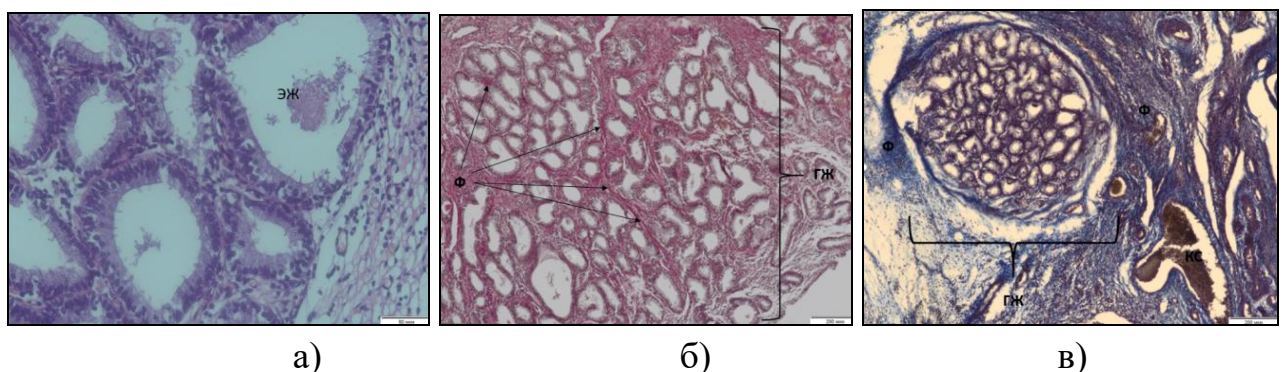


Рисунок 23- Эндометрий возрастных кобыл. а) Растянутые эндометриальные железы (ЭЖ) (Гематоксилин и Эозин, (x400), б) Фиброзное отложение вокруг желез (малиновый цвет), гнездование. (Ван Гизон, x200), в) Фиброзное отложение (Ф) вокруг желез (синий цвет), в строме и вокруг кровеносных сосудов (КС), гнездование (ГЖ). (Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим, x200)

На стекло-препаратах, окрашенных по методу Ван Гизона и Массона, у кобыл старше десяти лет на ряду с перигландулярным фиброзом обнаружили лимфатические лакуны и фиброзные отложения вокруг кровеносных сосудов (рисунок 24). Кобылы имели в анамнезе эндометрит от острого катарального до гнойной пиометры.

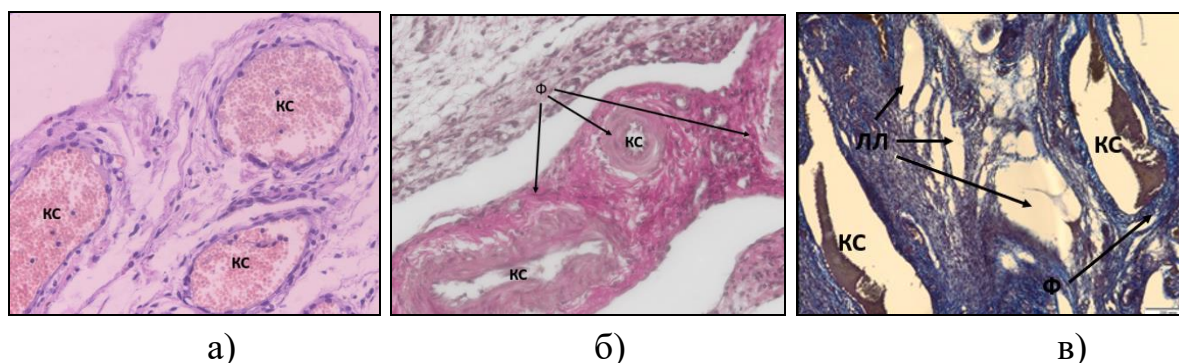


Рисунок 24- Гистосрез эндометрия кобыл (10, 13 и 20 лет). Фиброзные отложения (Ф) вокруг кровеносных сосудов (КС) а) окраска Гематоксилин Эозин, (кобыла-10 лет), б) окраска по методу Ван Гизон, (кобыла-13 лет), в) Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим, (кобыла – 20 лет). (x400)

В итоге была составлена таблица эффективности применения трех методов окрашивания гистологических образцов эндометрия для диагностики наиболее часто встречаемых эндометриальных патологий, которые непосредственно связаны с фертильностью кобыл (таблица 7).

В ходе проведенных исследований мы заключили, что окраска гистологических срезов гематоксилином и эозином применима для морфометрической оценки эндометрия, в диагностике таких патологий как расширение желез, кистозная трансформация желез, лимфатические лакуны и гнездование желез. Для диагностики фиброзных изменений в эндометрии необходимо использовать специальные красители. Нами были апробированы методы окраски специальными красителями по Ван Гизону и трихромный краситель по Массону с анилиновым синим.

Таблица 7 - Сравнительная характеристика классических и специальных методов окраски гистосрезов при различных патологиях эндометриальной ткани кобыл

Виды патологий	Методы окрашивания гистологических срезов		
	гематоксилин-эозин	по Ван Гизону	по Массону
ПГФ (перигландулярный фиброз)	Не дифференцируется, слабо визуализируется	Визуализируется, фиброзные волокна окрашены малиновым	Визуализируется, фиброзные волокна окрашены синим
ПВФ (периваскулярный фиброз)	Не дифференцируется, слабо визуализируется	Визуализируется, фиброзные волокна окрашены малиновым	Визуализируется, фиброзные волокна окрашены синим
Гнездование желез	визуализируется	визуализируется	визуализируется
Лимфатические лакуны	визуализируются	визуализируются	визуализируются
Расширение желез	визуализируются	визуализируются	визуализируются
Кистозное перерождение желез	визуализируется	визуализируется	визуализируется

По результатам анализа гисто-препаратов было отмечено, что данные красители в одинаковой степени позволяли определить локализацию фиброзной ткани в участках эндометрия, количественное содержание в фиброзной ткани коллагена, наличие и количество слизистого секрета в просветах желез. Кроме этого, контрастная окраска ядер и цитоплазмы эпителия эндометриальных желез наглядно демонстрировала количественные и качественные изменения железистого эпителия (высоту, рядность, секреторную активность). Данные методы окраски были использованы на гистологических препаратах эндометрия кобыл в возрасте 3-9 лет и кобыл в возрасте от 10 до 20 лет и старше. Полученные нами данные свидетельствует о том, что у большинства кобыл старше десятилетнего возраста на гистологическом уровне наблюдаются патологические структурные изменения в эндометрии. По мере развития деструктивных процессов функциональная железистая ткань замещается соединительной, возникают фиброзные очаги. Вокруг желез и кровеносных сосудов формируются фиброзные кольца, что приводит к сужению протоков и растяжению желез из-за застоя в них секрета. За счет ишемии сосудистого русла нарушается трофика

эндометрия, затрудняется дренаж и клиренс матки. Как следствие, ослабляется защитная функция матки и ее способность противостоять инфекции. Все эти патологии связаны со снижением репродуктивных качеств кобылы и могут привести к субфертильности, потерям жеребости и рождению нежизнеспособного потомства.

### 2.3.5 Сравнительная характеристика эндометрия у молодых и возрастных кобыл в эструсе и диэструсе на основе морфометрических параметров

На следующем этапе мы приступили к измерению структурных элементов эндометрия с целью поиска цифровых показателей, характеризующих состояние и функциональную активность слизистой матки кобыл (рисунок 25).

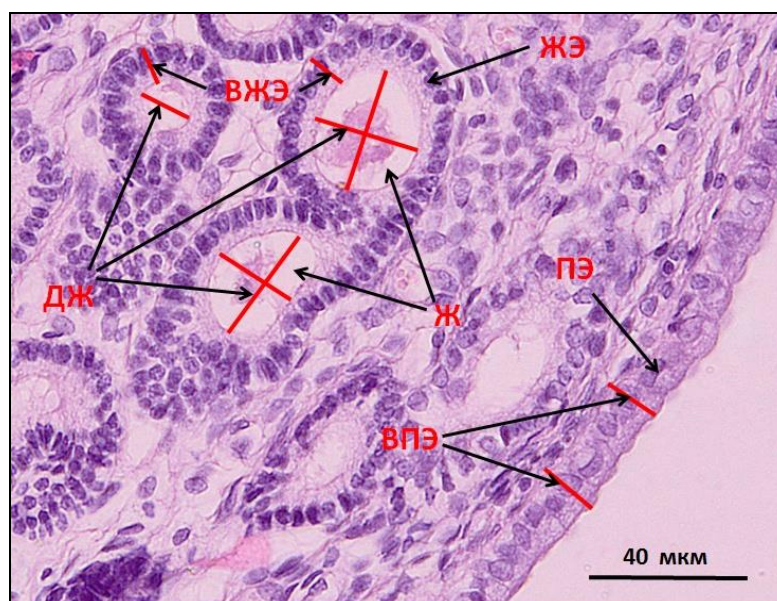


Рисунок 25- Измерение структурных элементов эндометрия: Ж- железы, ЖЭ – железистый эпителий, ВЖЭ – высота железистого эпителия, ДЖ – диаметр желез, ПЭ – поверхностный эпителий, ВПЭ – высота поверхностного эпителия. (x400)

В каждом из слоев (SC и SS) по 10 полям зрения были проведены измерения 4-х гистоморфометрических показателей: высота поверхностного и glandулярного

эпителия, диаметр и количество (плотность) желез. Диаметр желез высчитывали как полу-сумму от наибольшей и наименьшей величины просвета железы.

В разных фазах цикла гистологическая картина эндометрия отличалась. В норме эндометриальные складки в эструсе были крупнее и выглядели более рыхлыми за счет эстрального отека. В диэструсе оба слоя (SC и SS) были более компактными, и плотность желез в них увеличивалась (рисунок 26).

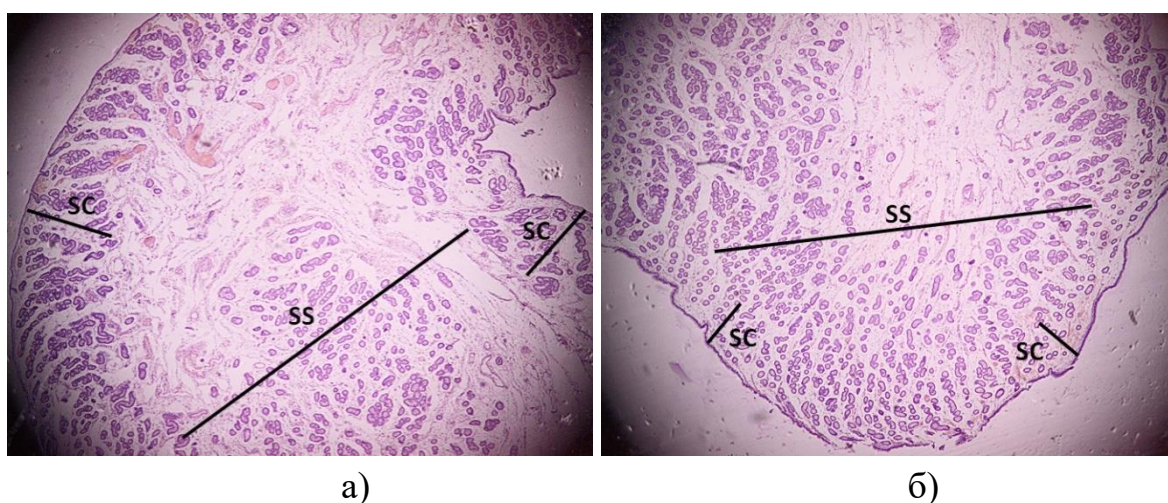


Рисунок 26- Эндометрий кобылы в фазе а) эструса и б) диэструса. (x40)

Ниже представлено описание основных признаков и структурных элементов эндометрия молодых и возрастных кобыл в двух фазах полового цикла (таблица 8).

Таблица 8- Гистоморфометрические показатели в компактном и губчатом слоях эндометрия у молодых и возрастных кобыл в эструсе и диэструсе

Возраст кобыл, лет	Высота поверхностного эпителия, мкм	Высота железистого эпителия, мкм		Диаметр желез, мкм		Плотность желез, ед.п.з.	
		компакт. слой	губчат. слой	компакт. слой	губчат. слой	компакт. слой	губчат. слой
Эструс (n=17)							
3-9	12,2±0,2	12,7±0,73	12,1±0,9	18,9±2,8	21,7±2,4 <sup>1</sup>	15,2±0,0 <sup>3</sup>	10,0±0,7 <sup>9</sup>
≥10	16,2±1,0	14,3±0,8	16,4±1,8	30,9±4,6	54,0±8,3 <sup>2</sup>	11,3±1,5 <sup>4</sup>	10,7±0,8
Диэструс (n=21)							
3-9	16,1±1,8	14,4±0,4	14,4±0,8	22,7±3,9	20,9±2,1 <sup>5</sup>	16,1±2,2	16,9±1,1 <sup>7</sup>
≥10	15,0±1,08	15,5±0,9	16,2±1,1	36,4±4,8	61,3±7,4 <sup>6</sup>	10,7±0,9	10,9±0,9 <sup>8</sup>

Примечание: <sup>1,2</sup>p<0,001; <sup>3,4</sup>p<0,05; <sup>5,6</sup>p<0,001; <sup>7,8</sup>p<0,001; <sup>7,9</sup>p<0,001

Полученные данные выявили существенные и достоверные различия в строении слизистой матки у молодых и возрастных кобыл в обеих фазах цикла.

Анализ полученных данных показал, что у молодых кобыл в эструсе, по сравнению с диэструсом, снижается высота поверхностного (16,1-12,2 мкм) и железистого эпителия в компактном (14,4-12,7 мкм) и в губчатом (14,4-12,1 мкм) слоях, что свидетельствует о секреторной функции эпителия. Можно предположить, что в диэструсе происходит процесс секретообразования, а фаза секреции совпадает с периодом эструса. При этом отмечено, что клеточный секрет выводится из клетки без нарушения целостности ее оболочки (мерокриновый тип секреции). У кобыл старшего возраста в диэструсе и эструсе эти изменения менее выражены, и в губчатом слое высота железистого эпителия практически уравниваются в двух фазах цикла. В целом, достоверность отмеченных изменений обоих показателей (высота поверхностного и железистого эпителия) не была подтверждена.

В то же время у возрастных и молодых кобыл в одинаковых фазах полового цикла диаметр и плотность желез в разных слоях эндометрия заметно различаются. При этом более существенные различия наблюдаются в губчатом слое эндометрия. У кобыл старшего возраста диаметр желез эндометрия как в эструсе, так и в диэструсе был в два-три раза больше (54,0-61,3 мкм), чем у молодых кобыл (21,7-20,9 мкм) ( $p < 0,001$ ). Плотность желез в диэструсе у молодых кобыл достоверно увеличивается с 10,0 до 16,9 ед.п.з. в губчатом слое ( $p < 0,001$ ). В то же время у возрастных кобыл эта разница нивелируется (10,7-10,9 мкм). Наши результаты согласуются с данными зарубежных исследователей, которые отмечали некоторое рассредоточение эндометриальных желез, вследствие отека в эструсе, и соответствующее уплотнение желез в диэструсе [217].

Увеличение численности желез и уменьшение их диаметра в период диэструса связано с уменьшением эстрального отека и сократимостью матки [193], которая напрямую зависит от прогестин-эстрогенной регуляции. Было

показано, что деструктивные процессы в эндометрии, связанные с образованием фиброзных очагов, приводят к изменению экспрессии рецепторов прогестерона и эстрогенов в пораженных участках стромы и железистого эпителия, в результате чего они становятся независимыми от механизмов гормонального контроля матки и имеют специфическую динамику клеточной дифференцировки [195]. Гистоморфометрические показатели (высота поверхностного и glandулярного эпителия, диаметр и плотность желез), полученные в наших исследованиях, согласуются с данными М. Herrera et al. (2018) по кобылам в фазе эструса. Авторами были отмечены увеличение этих показателей у кобыл, подверженных посткоитальному (post-breeding) эндометриту в сравнении с кобылами, устойчивыми к нему [194], аналогично нашим результатам в группах возрастных и молодых кобыл. Однако авторы не дифференцировали компактный и губчатый слои в эндометрии, и наши результаты подтверждают данные авторов, главным образом, по губчатому слою эндометрия.

Нарушения в эндометрии, в том числе возрастные, (фиброз, уменьшение общего числа желез, увеличение их диаметра), влияющие на эластичность ткани у кобыл старшего возраста, свидетельствуют о плохом дренаже матки, снижении трофики эндометрия и клиренса матки. Снижается также защитная функция матки и ее способность противостоять инфекции [265]. Такие патологии могут быть причинами субфертильности, потерь жеребости и рождения нежизнеспособного потомства.

### **2.3.6 Влияние гормонального фона на структуру эндометрия в разные фазы полового цикла**

Исследование гормонального фона у кобыл в двух фазах одного полового цикла были выполнены на 10 матках. Анализ полученных данных показал (таблица 9, рисунок 27 ), что в диэструсе концентрация прогестерона в крови

кобыл ( $7,45 \pm 3,09$  нг/мл), в среднем, достоверно выше ( $p=0,043$ ), чем в эструсе ( $1,03 \pm 0,32$  нг/мл), что логично отражает высокую гормональную активность желтого тела в этот период. Средний уровень  $17\beta$  эстрадиола в диэструсе, наоборот, ниже ( $69,63 \pm 17,02$  пг/мл), чем в эструсе ( $200,93 \pm 80,09$  пг/мл), однако индивидуальная вариабельность этого показателя оказалась довольно высокой, поэтому достоверность разности между фазами полового цикла в группах кобыл ( $n=10$ ) по эстрадиолу не подтвердилась.

Анализ морфометрических показателей эндометрия выявил непосредственную связь между уровнем половых гормонов в крови кобыл и гистологической структурой эндометрия, а именно достоверное увеличение плотности желез в губчатом слое в фазе диэструса, по сравнению с эструсом ( $9,57 \pm 1,20$  и  $13,80 \pm 1,74$  ед.п.з., соответственно).

Это можно объяснить физиологическим «высушивающим» действием прогестерона на эндометрий в диэструсе, когда фаза пролиферации, контролируемая  $17\beta$  эстрадиолом в период эструса, сменяется фазой секреции, подготавливающей матку к восприятию и питанию эмбриона [190, 259].

Таблица 9 - Влияние половых гормонов на структуру эндометрия кобыл

Фаза цикла	n	Концентрация гормона		Морфометрические показатели эндометрия (ед. в поле зрения)			
		прогестерон, ng/ml	$17\beta$ эстрадиол, pg/ml	диаметр желез, мкм		плотность желез, ед.п.з.	
				SC*	SS**	SC	SS
Эструс	10	$1,03 \pm 0,32^a$	$200,93 \pm 80,09$	$22,62 \pm 2,39$	$42,54 \pm 9,03$	$14,33 \pm 1,99$	$9,57 \pm 1,20^c$
Диэструс	10	$7,45 \pm 3,09^b$	$69,63 \pm 17,02$	$30,53 \pm 5,04$	$47,78 \pm 10,38$	$14,60 \pm 1,84$	$13,80 \pm 1,74^d$

Примечание:  $^{a,b}p=0,043$ ,  $^{c,d}p=0,050$ ; \*SC – компактный слой (stratum compactum), \* SS – губчатый слой (stratum spongiosum)

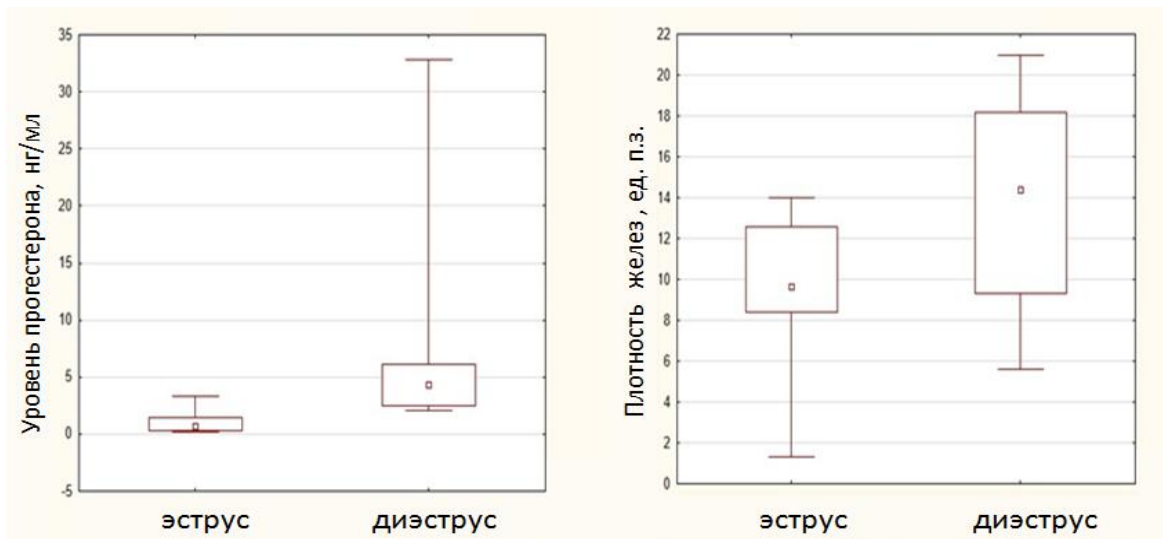


Рисунок 27- Уровень прогестерона и плотность желез в губчатом слое эндометрия у кобыл в эструсе и диэструсе

Кроме того, прогестерон оказывает сокращающее действие на миометрий, в результате чего матка приходит в тонус. В комплексе эти внутренние процессы, вероятно, имеют отражение в увеличении плотности желез эндометрия в диэструсе, по сравнению с эструсом.

Анализ корреляционных связей по методу Спирмена выявил обратную зависимость между уровнем прогестерона и  $17\beta$  эстрадиола (-0,78) (таблица 10).

Таблица 10 - Корреляционные связи по методу Спирмена между возрастом, уровнем гормонов и морфометрическими показателями эндометрия кобыл (n=10)

Сравниваемые параметры		Коэффициент корреляции	Уровень значимости, р
1	2		
<b>Эструс</b>			
Возраст кобыл	ДЖ SS	0,91794	0,00018
Возраст кобыл	ПЖ SC	-0,75610	0,01140
Прогестерон	Эстрадиол	-0,78182	0,00755
Прогестерон	ПЖ SC	0,69301	0,02629
$17\beta$ Эстрадиол	ПЖ SC	-0,65046	0,04171
<b>Диэструс</b>			
Возраст кобыл	ДЖ SS	0,91186	0,00024
Возраст кобыл	ПЖ SC	-0,85715	0,00153
Возраст кобыл	ПЖ SS	-0,68085	0,03021
$17\beta$ Эстрадиол	ДЖ SC	0,66262	0,03681

Примечание: ДЖ – диаметр желез, ПЖ – плотность желез, SC – компактный слой эндометрия, SS – губчатый слой эндометрия

Положительная корреляция (+0,69) прослеживается между уровнем прогестерона и плотностью желез в компактном слое, то есть, чем выше уровень прогестерона, тем выше плотность желез. Соответственно, наблюдается обратная зависимость (-0,65) между уровнем  $17\beta$  эстрадиола и плотностью желез в компактном слое.

Однако анализ диаметра желез в эндометриальных слоях не обнаружил связи с уровнем половых гормонов, что, по-видимому, имеет отношение к возрастным изменениям в матке кобыл. Действительно, в наших исследованиях между диаметром желез и возрастом кобыл, имеется высокая положительная корреляция (0,91). В то же время плотность желез как в компактном, так и в губчатом слоях эндометрия с возрастом у кобыл достоверно снижается (-0,85 и -0,68, соответственно), (таблица 10). Эти данные согласуются с результатами исследования многих авторов, изучавших возрастные изменения в эндометрии кобыл [175, 194, 201, 217, 221]. Потеря эластичности ткани, стенок желез и сосудов, фиброзные изменения в слизистой матки приводят к снижению количества и сократимости желез в фазу диэструса.

Таким образом, можно говорить о связи между уровнем стероидных гормонов и морфометрическими показателями на гистосрезках эндометрия кобыл.

### **2.3.7 Эндометриальный показатель**

Как показал анализ 4 морфометрических показателей эндометрия (раздел 2.3.5 таблица 4), наиболее информативными из них оказались диаметр и плотность желез, которые имеют достоверные различия в эструсе и диэструсе, а также у молодых и возрастных кобыл. При этом изменения данных показателей более выпукло выражены в губчатом слое.

У кобыл старше 10 лет как в эструсе, так и в диэструсе диаметр желез в губчатом слое эндометрия достоверно, в 2 и более раза, больше, а плотность желез меньше, чем у молодых кобыл ( $p < 0,001$ ) (рисунок 28).

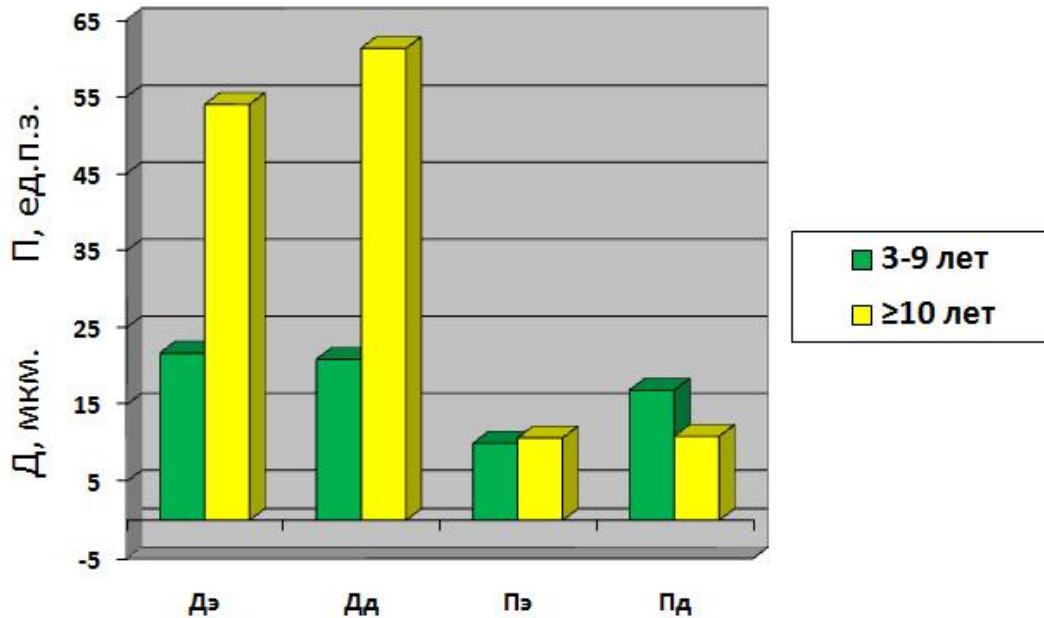


Рисунок 28- Сравнение величин диаметра и плотности желез в губчатом слое эндометрия в эструсе (Дэ, Пэ) и диэструсе (Дд, Пд) у молодых и возрастных кобыл

Этот факт говорит о снижении эластичности эндометрия и сократимости желез с возрастом у кобыл. То есть, у молодых здоровых кобыл диаметр желез должен быть небольшим и практически не должен меняться в двух фазах цикла, что отражает интенсивный дренаж слизистой матки. В то же время, при нормальном функционировании эндометрия плотность желез в диэструсе должна возрастать. Напротив, у кобыл с деструктивными процессами и повреждениями эндометриальной ткани железы могут растягиваться и плохо сокращаться в диэструсе, поэтому в совокупности их средний диаметр будет увеличенным, а плотность - более низкой, чем у здоровых кобыл. Таким образом, средний диаметр желез в эндометрии (по 10 полям зрения) будет обратно пропорционально связан с их плотностью.

На основании сделанного заключения нами предложен цифровой показатель, характеризующий функциональное состояние эндометрия по его

морфометрическим параметрам, который выражается отношением среднего диаметра желез к их средней плотности в диэструсе (по 10 полям зрения (x400)):

$$\text{ЭП} = \text{Дд} : \text{Пд}, \quad \text{где}$$

ЭП – эндометриальный показатель, мкм/ед.п.з.

Дд – средний диаметр желез в диэструсе в губчатом слое, мкм

Пд – средняя плотность желез в диэструсе в губчатом слое, единиц в поле (ед.п.з.)

Для выяснения референтных значений эндометриального показателя нами были прослежены результаты случки/осеменения кобыл (ожеребилась или прохолостела/абортировала) в текущем и следующем году после гистологического исследования эндометрия.

Факторный анализ плодовитости кобыл показал ее тесную связь с эндометриальным показателем ЭП. Он был существенно ( $p=0,0328$ ) выше у кобыл с пониженной плодовитостью, в сравнении с гинекологически здоровыми матками (Рисунок 29).

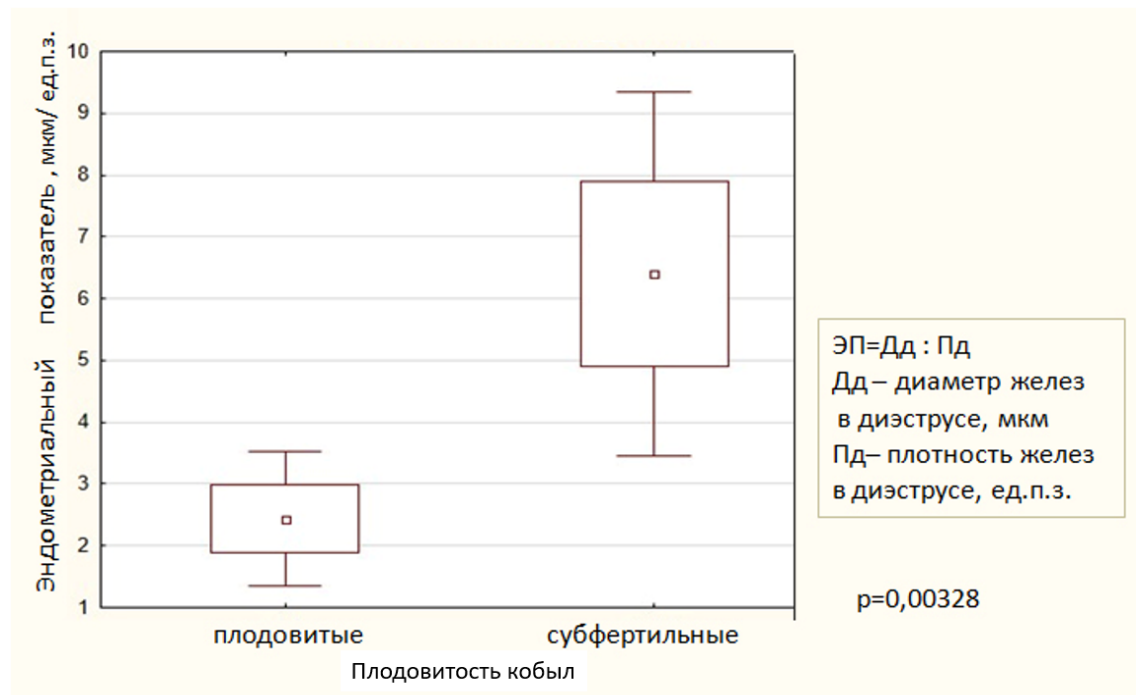


Рисунок 29 - Связь между эндометриальным показателем (ЭП) и плодовитостью кобыл

Высоко достоверным ( $p=0,0052$ ) оказалось различие данного показателя между молодыми (3-9 лет) и возрастными ( $\geq 10$  лет) кобылами (рисунок 30). Его средняя величина и вариабельность у кобыл 3-9 лет гораздо меньше, чем у маток старше 10 лет.

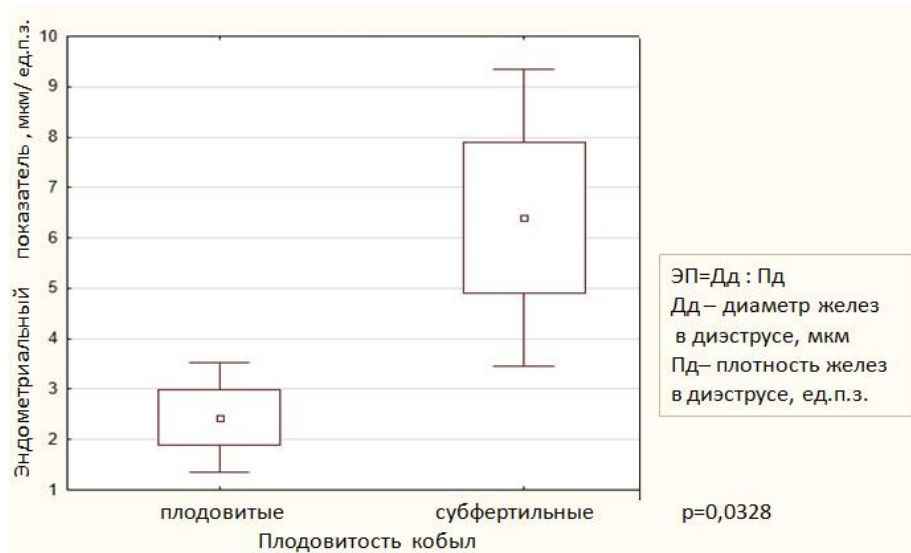


Рисунок 30 - Связь между эндометриальным показателем (ЭП) и возрастом кобыл

У возрастных кобыл эндометриальный показатель может достигать 9 мкм/ед.п.з. и, в среднем, на 5 единиц превосходит соответствующий показатель у молодых кобыл (6,50 и 1,31 мкм/ед.п.з., соответственно). Действительно, сравнительный анализ эндометриальных гистосрезов у старых и молодых кобыл показал, что с возрастом в структуре эндометрия накапливаются необратимые изменения и повреждения. В частности, были выявлены такие патологии, как расширение, кистозная трансформация и гнездование желез, лимфатические лакуны, фиброзное перерождение железистой ткани и отложение фиброзных колец вокруг стенок желез и сосудов.

Следует уточнить, что возраст кобыл не напрямую связан с плодовитостью. В группе молодых кобыл могут оказаться субфертильные животные с хроническими заболеваниями полового тракта, равно как и среди кобыл старшего возраста встречаются матки, ежегодно приносящие здоровых жеребят. Тем не менее,

общая, физиологически обоснованная тенденция снижения фертильности у кобыл с возрастом подтверждается на гистологическом уровне.

Проанализировав доверительные интервалы по группам кобыл, разделенных по признакам ( $\pm 0,95$  CI), можно заключить, что в норме эндометриальный показатель ( $\text{ЭП}=\text{Дд} : \text{Пд}$ ) не должен превышать 2-3 мкм/ед.п.з.

### **2.3.8 Сравнительный анализ информативности методов комплексной репродуктивной оценки кобыл**

На основании результатов наружного осмотра, ректального, вагинального и ультразвукового исследования из 20 кобыл в группу условно гинекологически здоровых вошло 13 гол., а в группу с признаками воспаления полового тракта – 7 гол. К числу последних относили выделения/истечения из вульвы (рисунок 31), гиперемизированную слизистую влагалища в диэструсе, наличие жидкости или воздуха в просвете матки во время УЗИ (рисунок 32 а, б, в), а также учитывали неоднократные прохолосты кобыл в предыдущие годы от случки с проверенным по плодовитости жеребцом.

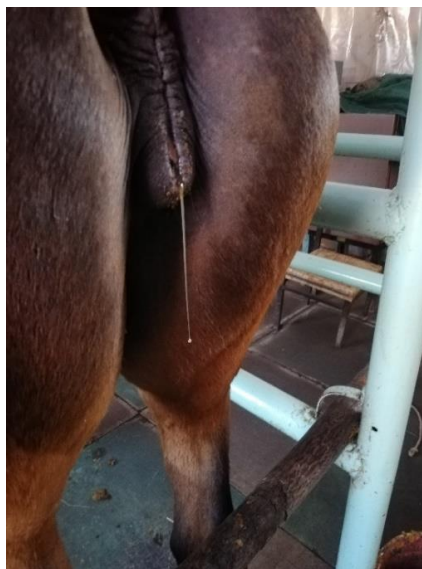
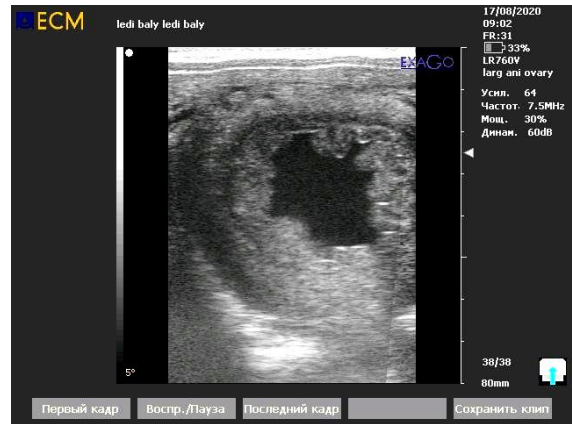


Рисунок 31- Истечения из вульвы у кобылы



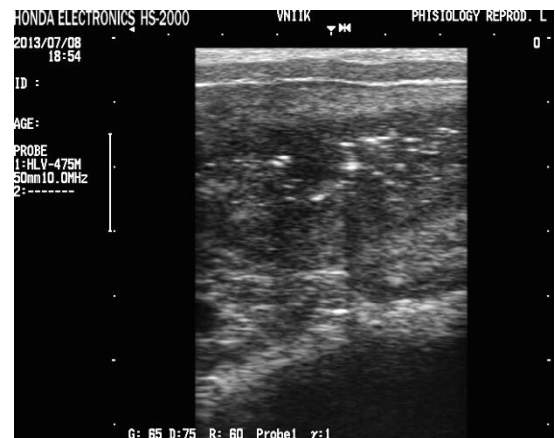
а)



б)



в)



г)

Рисунок 32- УЗИ: Жидкость (а, б, в) и воздух (г) в матке кобыл

Однако после проведения цитологического, бактериологического и гистологического анализа были внесены уточнения. Среди «условно здоровых» по числу и локализации воспалительных клеток было дополнительно выявлено 2 кобылы со скрытой формой и 1 кобыла с хронической формой эндометрита.

Цитологический анализ показал (таблица 11), что у репродуктивно здоровых кобыл (n=10) в цервикальных и эндометриальных мазках наблюдаются групповые скопления клеток плоского эпителия вытянутой формы, с базальным расположением ядра, в среднем, в количестве  $10,9 \pm 3,4$  ед. п. з. У эпителиальных клеток можно заметить «хвост» из голубой цитоплазмы (реснитчатая фаза), а слизь приобретает папоротникообразный рисунок, что характерно для фазы эструса (рисунок 33 а, б). В период диэструса цервикальные мазки

характеризовались наличием крупных ядер, частично без цитоплазмы (рисунок 34). Изредка встречались крупные вагинальные (чешуйчатые) клетки неправильной полигональной формы (рисунок 33 в), а также единичные нейтрофилы ( $1,6 \pm 0,5$  ед. п. з.) и эпителиальные клетки с признаками дегенерации ( $5,7 \pm 1,9$  ед. п. з.).

Таблица 11- Клеточный состав цервикальных мазков кобыл в норме и при различных формах эндометрита

Состояние эндометрия	n	ЗЭ ед.п.з.	ЭПД ед.п.з.	Nt ед.п.з.	Lm ед.п.з.
норма	10	$10,9 \pm 3,4$	$5,7 \pm 1,9$	$1,6 \pm 0,5^a$	$0,5 \pm 0,2^d$
воспаление	10	$5,0 \pm 1,0$	$6,3 \pm 1,9$	$10,0 \pm 1,7^e$	$2,0 \pm 0,6^f$
в том числе:					
острый эндометрит	4	$4,6 \pm 7,9$	$6,9 \pm 7,9$	$14,8 \pm 4,1^b$	$0,9 \pm 0,8$
субклинический эндометрит	4	$6,1 \pm 3,6$	$5,2 \pm 5,3$	$7,4 \pm 1,6^c$	$1,1 \pm 0,9$
хронический эндометрит	2	$3,5 \pm 2,8$	$7,2 \pm 6,5$	$4,8 \pm 3,5$	$4,7 \pm 2,8$

Примечание: <sup>a,b</sup>  $p < 0,01$ , <sup>a,c</sup>  $p < 0,01$ , <sup>a,e</sup>  $p < 0,001$ , <sup>d,f</sup>  $p < 0,05$

ЗЭ-здоровый эпителий, ЭПД-эпителий с признаками дегенерации, Nt-нейтрофилы, Lm-лимфоциты

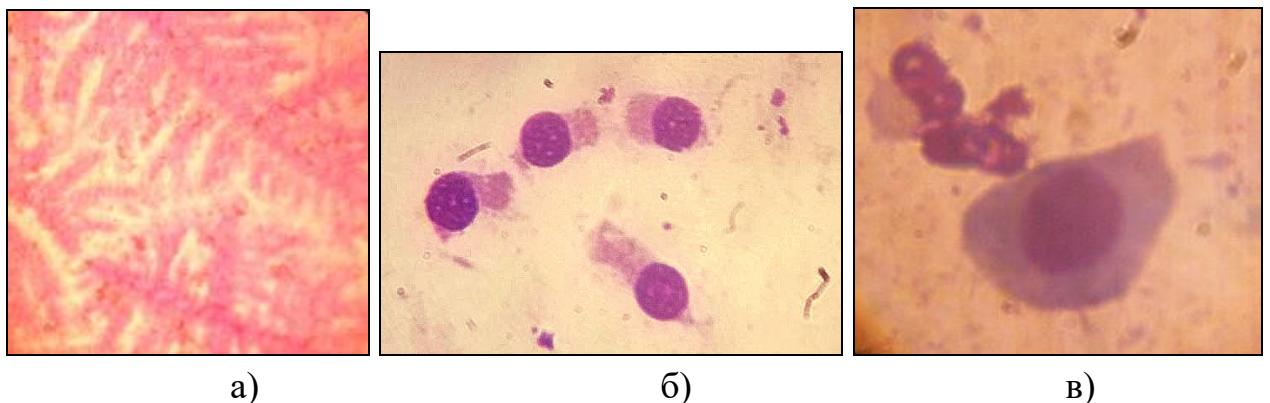


Рисунок 33- Цервикальный мазок в эстральную фазу полового цикла: (а) цервикальная слизь в эструсе, (б) эпителиальные клетки с «хвостом» цитоплазмы (в) вагинальная эпителиальная клетка. Окраска Май Грюнвальд (x900)

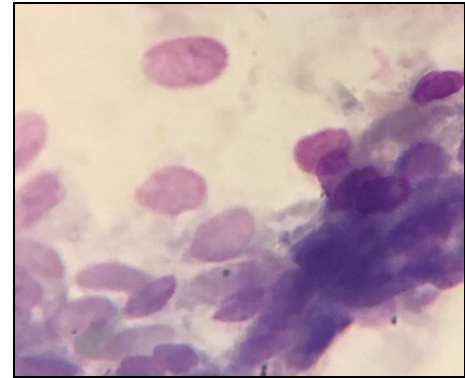
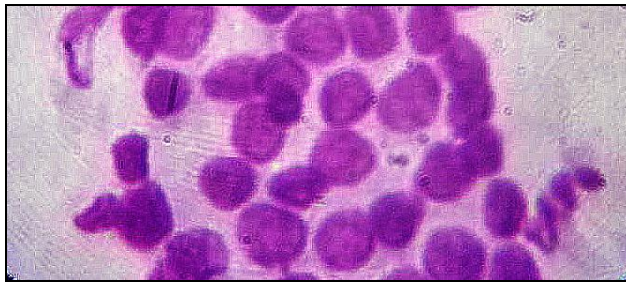
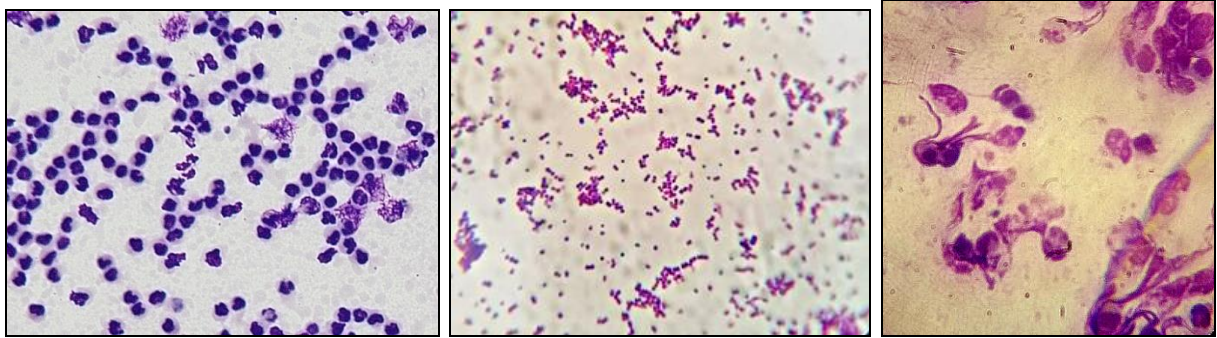


Рисунок 34- Цитологический препарат. Цервикальный мазок. Ядра эпителиальных клеток в период диэструса. Окраска Май Грюнвальд (x1000)

У кобыл с острой формой эндометрита ( $n=4$ ) было выявлено достоверное возрастание количества нейтрофилов –  $14,8 \pm 4,1$  ед. и более в поле зрения. В наиболее тяжелой форме (гнойный эндометрит) мазки представляли собой сплошное «нейтрофильное поле» (рисунок 35). Однако в цитологических мазках у кобыл со скрытым эндометритом ( $n=4$ ) количество дегенеративных форм эпителиальных клеток не превышало  $5,2 \pm 5,3$  и  $7,4 \pm 1,6$  ед. в поле зрения, соответственно. В цервикальных мазках кобыл с хроническим эндометритом ( $n=2$ ) встречали единичные клетки здорового эпителия ( $3,5 \pm 2,8$  ед.пз) и значительно больше клеток эпителия с признаками дегенерации ( $7,2 \pm 6,5$  ед.пз), а также единичное количество нейтрофилов ( $4,8 \pm 3,5$  ед.пз) и лимфоцитов ( $4,7 \pm 2,8$  ед.пз). У одной кобылы была обнаружена грибковая инфекция (дрожжи) (рисунок 36). Основная масса эпителиальных клеток была представлена полуразрушенными, часто сильно вакуолизированными ядрами без цитоплазмы, остатками нейтрофилов в поздней стадии деградации. Проведенный анализ не выявил достоверной связи между средним количеством здоровых клеток эпителия и клеток с признаками дегенерации.

Бактериологический анализ образцов маточных смывов/мазков оказался положительным только у трех кобыл с признаками эндометрита. В двух случаях острого эндометрита выделили возбудителя условно-патогенной микрофлоры *Str. faecalis*. У кобылы с хроническим течением выделили *E. Coli* и дрожжи.

Ультразвуковое исследование кобыл на момент забора образцов выявило признаки эндометрита лишь в 4 случаях. Ректальная диагностика выявила репродуктивные проблемы только у 2 кобыл.



а)

б)

в)

Рисунок 35- Цитологический препарат. а) Гнойный эндометрит. «Нейтрофильное поле», б) кокковая микрофлора в мазке, в) дегенеративная форма эпителия. Окраска Май Грюнвальд, (x1000)

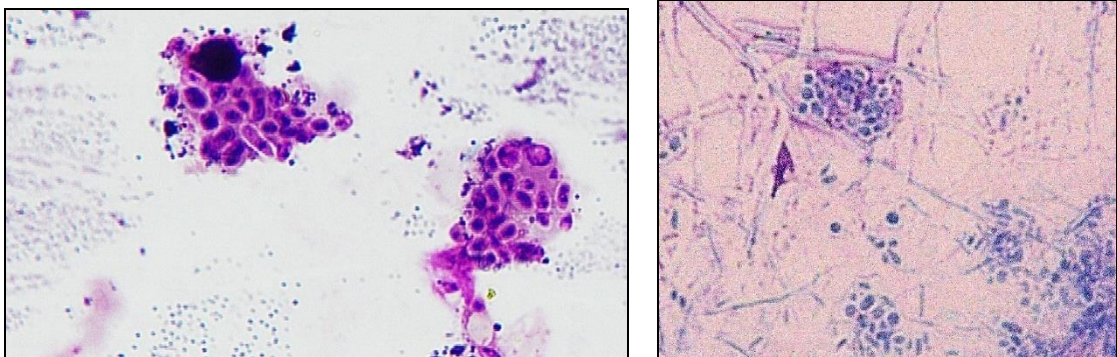


Рисунок 36- Цитологические препараты. Грибковая инфекция. Окраска Май Грюнвальд, (x1000).

При гистологическом исследовании здорового эндометрия PMN-клетки в образцах отсутствовали. Анализ гистосрезов эндометрия в разные фазы воспаления показал, что инфильтрация хронического эндометрита PMN-клетками глубже, чем в острой фазе воспалительного процесса. В компактном слое наблюдали кистозно-растянутые железы, в некоторых случаях окруженные одним или более слоями фибрина. Сосуды в подслизистом слое имели утолщенные стенки, местами наблюдалось геморрагическое пропитывание стромы.

Анализ полученных данных показал, что при острой форме эндометрита в цитологических мазках резко возрастает количество нейтрофилов ( $14,8 \pm 4,1$  ед.пз), тогда как на гистосрезе эндометрия в субэпителиальном пространстве инфильтрация PMN-клетками совсем незначительная. Напротив, при скрытой (субклинической) и хронической формах эндометрита инфильтрация PMNs-клетками на гистосрезе ярко выражена ( $>10$  ед.п.з.), а цитологический мазок имеет достаточно ровную картину (нейтрофилы  $-4,8 \pm 3,5$ , лимфоциты  $-4,7 \pm 2,8$  ед.пз.). Бактериологический анализ образцов маточных смывов/мазков оказался положительным только у трех кобыл с признаками эндометрита. Сам по себе цитологический метод является быстрым, относительно недорогим и легко доступным в полевых условиях способом оценки состояния репродуктивного тракта у кобыл, позволяющим диагностировать острый и субклинический эндометрит. Бактериологический метод позволяет выделить условно-патогенную микрофлору и подобрать антибиотик для дальнейшего лечения эндометрита. Однако в отсутствие положительного результата цитологического и бактериологического исследования при диагностике воспалительного процесса полового тракта кобыл, такие патологические состояния как субклинический и хронический эндометрит, а также более глубокие дегенеративные изменения в эндометрии можно обнаружить только с помощью гистологического метода.

В свою очередь, наиболее информативными в диагностическом отношении в случае перигландулярного (ПГФ), периваскулярного фиброза (ПВФ) показали себя красители по Ван Гизону и по Массону. Результаты случаи кобыл четко коррелировали с положительным и отрицательным диагнозом ПГФ, выявленного этими красителями в гистологических образцах эндометрия кобыл (таблица 8).

Таблица 12- Результат случки кобыл разного возраста в зависимости от степени фиброзной дегенерации эндометрия, выявленной с помощью анализа гистосрезов, окрашенных различными методами

№ кобылы	Возраст, лет	Метод окрашивания гистосрезов			Категория по Kenny и Doig	Результат случки
		по Ван Гизону	по Массону	Гематоксилин и эозин		
1	3	-	-	-	I	+/+
2	4	-	-	-	I	+
3	4	-	-	-	I	+
4	4	-	-	-	I	+
5	5	-	-	-	I	+
6	5	-	-	-	I	+
7	7	-	-	-	I	+
8	8	+++	+++	-	III	+
9	10	++	++	-	IIВ	-
10	12	+	+	-	IIА	-
11	12	-	-	-	I	+
12	13	+++	+++	-	III	-
13	15	++	++	-	IIВ	-
14	16	+++	+++	-	III	-
15	16	++	++	-	IIВ	+/+
16	16	++	++	-	II В	-
17	16	-	-	-	IIА	-
18	17	-	-	-	I	-
19	18	++	++	-	IIВ	+
20	19	+++	+++	+/-	III	-
21	20	+++	+++	+/-	III	-

Примечание: Степень ПГФ (перигландулярного фиброза). Фиброзные отложения вокруг желез «+» 1-2 кольца, «++» -3 -5 колец, «+++» - более 5 колец, формирование железистых «гнезд», «-»- фиброз не визуализируется или отсутствует

Проведенные исследования показали, что каждый из семи методов диагностики воспроизводительных качеств кобыл (наружный осмотр, ректальная ультразвуковая экспертиза, цитологический, бактериологический и гистологический анализ) имеет достаточную эффективность при использовании в разных случаях заболеваний половой сферы. Взятые в отдельности методы гинекологической экспертизы не дают абсолютно полной диагностической характеристики состояния полового тракта и возможного заболевания, а следовательно, не всегда могут быть объективно истолкованы. Комплексный метод оценки воспроизводительной системы кобылы, позволяющий взглянуть на

проблему с разных сторон, даже при неполном совпадении результатов исследования разными методами, дает наиболее точный ответ на вопрос о возможных причинах снижения плодovitости или бесплодия и обеспечивает правильный выбор метода лечения.

Полученные результаты также показали, что ректальное, ультразвуковое, цитологическое и бактериологическое исследование не полностью отражает истинную картину состояния эндометрия, и в отдельных случаях (скрытая или хроническая форма эндометрита) заболевание может быть не выявлено в отсутствие дополнительного, более глубокого морфологического и морфометрического анализа слизистой матки, о чем свидетельствуют полученные нами на основе статистических данных цифровые (референтные) значения, характеризующие функциональное состояние эндометрия. Поэтому для выявления истинных причин субфертильности и бесплодия кобыл комплексная оценка их репродуктивных качеств должна быть дополнена гистологическим анализом образцов эндометрия с использованием морфометрических параметров.

### 3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе результатов анализа плодовитости кобыл в течение 10-15-летнего срока использования в маточном составе 5 конных заводов России рысисто-го направления нами было установлено, что наиболее продуктивный период у кобыл для воспроизводства регистрируется в возрасте от 6 до 9 лет. Подтверждено, что ранее 5 лет случка кобыл имеет низкую результативность, обусловленную, по мнению многих специалистов, процессами нормализации репродуктивной функции кобыл после ипподромных испытаний [34, 50, 51, 111, 112]. После 10-и летнего возраста кобыл статистические показатели воспроизводства в конных заводах начинают постепенно снижаться на фоне уменьшения процента зажеребляемости и роста числа аборт, слабо- и мертворожденных жеребят, что свидетельствует о происходящих возрастных изменениях в репродуктивной функции маток.

Результаты наших исследований репродуктивных органов кобыл с использованием гистологического анализа эндометрия матки свидетельствуют о том, что у большинства кобыл старше десятилетнего возраста наблюдаются патологические структурные изменения в эндометрии. По мере развития деструктивных процессов функциональная железистая ткань замещается соединительной, возникают фиброзные очаги. Вокруг желез и кровеносных сосудов формируются фиброзные кольца, что приводит к сужению протоков и растяжению желез из-за застоя в них секрета. Нарушается трофика эндометрия, затрудняется дренаж и клиренс матки. Как следствие, ослабляется ее защитная функция и способность противостоять инфекции. Все эти патологии связаны со снижением репродуктивных качеств кобылы и могут привести к субфертильности, потерям жеребости и рождению нежизнеспособного потомства.

Наши исследования подтвердили данные зарубежных авторов [194], что морфометрические показатели эндометрия в различные фазы полового цикла изменяются. Однако использованная нами методика отдельного подсчета желез и их диаметра в каждом из двух эндометриальных слоев (SC и SS) позволила заключить, что эти изменения более выражены в губчатом (внутреннем - SS) слое эндометрия. Было установлено, что характер этих изменений отличался у кобыл двух возрастных категорий ( $<10$  лет и  $\geq 10$  лет). Из четырех выбранных для изучения параметров - высота поверхностного и glandулярного (железистого) эпителия, диаметр и плотность желез – первые два имели тенденцию увеличения в диэструсе, в сравнении с эструсом (12,2-16,1 мкм, 12,1-14,4 мкм, соответственно), хотя эти изменения были незначительны и статистически не достоверны. Более значимыми и информативными оказались два других показателя – диаметр и плотность желез, которые имели выраженные существенные различия в двух фазах полового цикла, особенно в связи с возрастом кобыл.

У молодых фертильных кобыл наблюдалось увеличение плотности желез в период диэструса, что, по-видимому, связано с уменьшением эстрального отека. У кобыл старше 10 лет как в эструсе, так и в диэструсе диаметр желез в губчатом слое эндометрия был достоверно (в 2 и более раза), шире, а плотность желез в компактном слое меньше, чем у молодых кобыл ( $p < 0,001$ ). При этом у старых кобыл разница в плотности желез в обоих слоях эндометрия (SC и SS) в эструсе и диэструсе нивелируется, тогда как у молодых кобыл в диэструсе в SS она достоверно ( $p < 0,001$ ) возрастает. Поэтому двойная биопсия, проведенная в эструсе и диэструсе у кобыл в период случной кампании, по нашему мнению, может служить косвенной характеристикой эластичности эндометриального слоя матки, связанной с ее клиренсом.

Одной из основных причин прогрессирования деструктивных изменений в матке кобыл считаются воспалительные процессы, переходящие в хроническую

форму и вызывающие необратимые патологические преобразования в структуре слизистой [194, 195, 200, 210, 214, 255, 274]. Присутствие нейтрофилов и лимфоцитов на гистосрезе в эндометриальных слоях является очевидными признаками хронического воспалительного процесса в матке. Анализ полученных данных показал, что при острой форме эндометрита в цитологических мазках резко возрастает количество нейтрофилов ( $14,8 \pm 4,1$  ед.п.з), тогда как на гистосрезе эндометрия в субэпителиальном пространстве инфильтрация PMN-клетками совсем незначительная. Напротив, при скрытой (субклинической), хронической формах эндометрита инфильтрация PMNs-клетками на гистосрезе ярко выражена ( $>10$  в поле зрения), а в цитологической мазке количество нейтрофилов и лимфоцитов незначительно ( $4,8 \pm 3,5$ , и  $4,7 \pm 2,8$  ед.п.з., соответственно). Поэтому комплексная оценка репродуктивных качеств кобыл, должна быть дополнена гистологическим анализом образцов эндометрия для выявления истинных причин субфертильности и бесплодия кобыл.

Изучение уровня стероидных половых гормонов в крови кобыл на момент взятия биоптата из матки позволило установить корреляционные связи между структурой эндометрия и гормональным фоном в организме кобылы. Наши исследования показали, что влияние прогестерона на эндометрий выражается в увеличении количества желез в диэструсе, что можно объяснить физиологическим «высушивающим» действием прогестерона на эндометрий в диэструсе. Этот факт необходимо учитывать при расшифровке материалов, полученных в данную фазу полового цикла. Концентрация эстрадиола колебалась, в среднем, в противофазе с уровнем прогестерона ( $r = -0,78$ ), но индивидуальная вариабельность данного параметра была высокой. Полученные нами данные также показали, что уровень прогестерона не связан с диаметром эндометриальных желез в конкретной фазе цикла, поскольку диаметр желез в большей степени зависит от возрастных изменений в слизистой матки кобыл.

Проведенный нами сравнительный анализ результатов окрашивания гистосрезов эндометрия тремя методами (гематоксилин-эозин, по Ван-Гизону,

трихромный краситель по Массону с анилиновым синим) свидетельствует о том, что окраска гистологических срезов гематоксилином и эозином применима для морфометрической оценки эндометрия в диагностике таких патологий, как расширение желез, кистозная трансформация желез, лимфатические лакуны и гнездование желез. Для диагностики фиброзных изменений в эндометрии необходимо использовать специальные красители по Ван Гизону и трихромный краситель по Массону с анилиновым синим. По результатам анализа гистопрепаратов было отмечено, что данные красители в одинаковой степени хорошо прокрашивают фиброзные волокна.

Факторный анализ показал тесную связь плодовитости кобыл с морфометрическими показателями. На основании этого нами был обоснован и предложен цифровой эндометриальный показатель (ЭП), характеризующий функциональное состояние эндометрия по его морфометрическим параметрам в губчатом слое - отношение среднего диаметра желез к их средней плотности в диэструсе – ( $ЭП = Дд : Пд$ ). Анализ доверительных интервалов по группам кобыл, разделенных по признакам ( $\pm 0,95 CI$ ), позволяет заключить, что в норме эндометриальный показатель ЭП не должен превышать 2-3 мкм/ед.п.з.

В результате включения гистологического анализа эндометрия в предложенную ранее комплексную оценку репродуктивных качеств кобыл, основанную на 6 диагностических методах исследования (осмотр наружных половых органов, ректальная пальпация, УЗИ, вагиноскопия, цитологический, бактериологический анализы) [67], были получены новые сведения о состоянии эндометриальной ткани, уточняющие диагноз и выявляющие причины снижения фертильности кобыл. В частности, было показано, что такие патологические состояния, как субклинический и хронический эндометрит, а также более глубокие дегенеративные изменения в эндометрии (фиброз, растянутость и кистозность желез, лимфостаз, полипы) можно обнаружить только с помощью гистологического метода. В наших исследованиях было установлено, что степень

фиброзной дегенерации эндометрия, выявленной с помощью анализа гистосрезов, окрашенных различными методами, имеет прямую связь с плодовитостью кобыл. Это позволяет прогнозировать перспективность работы с кобылой в воспроизводстве и давать более точные рекомендации по лечению выявленных патологий.

Таким образом, результатом нашей работы является экспериментально доказанная необходимость дополнения уже существующей в отечественном племенном коневодстве системы репродуктивной оценки кобыл гистологическим методом исследования эндометрия. В особенности это касается конематок, перешагнувших 10-летний возрастной рубеж, поскольку их содержание без приплода в течение года обходится хозяйству весьма дорого и экономически неэффективно.

### 3.1 Выводы

1. При анализе показателей воспроизводства поголовья лошадей в конных заводах Российской Федерации, проведенном на статистическом материале из актуальных информационных источников и первичных данных зоотехнической отчетности племенных хозяйств, выявлены тенденции снижения показателей по зажеребляемости и благополучной выжеребке на фоне увеличения доли аборт, слаборожденного и мертворожденного приплода в группе кобыл старше 10 лет, в сравнении с матками 6-9 летнего возраста.

2. На примере орловской рысистой породы подтверждено, что молодые ( $\leq 5$  лет) кобылы после ипподромных испытаний, имеют достоверно более низкий процент зажеребляемости ( $p < 0,01$ ) и благополучной выжеребки ( $p < 0,05$ ), чем кобылы в более старшем возрасте.

3. Отсутствие достоверной разности у кобыл 6-9 летнего возраста и маток старше 10 лет в уровне зажеребляемости (85,1 – 82,2%) и благополучной

выжеребки (77,8 – 74,8%) объясняется тем, что в маточном составе хозяйств остаются либо наиболее плодовитые кобылы, регулярно приносящие здоровых жеребят, либо наиболее ценные с селекционной точки зрения матки, к которым проявляется больше внимания.

4. Тенденция снижения плодовитости с возрастом у кобыл подтверждается на уровне структурных изменений в эндометрии. По результатам морфометрического анализа образцов эндометрия кобыл из двух возрастных групп ( $<10$  и  $\geq 10$  лет) было показано, что у кобыл старше 10 лет на гистосрезках чаще наблюдаются деструктивные изменения. Выявлено, что основными видами нарушений в эндометрии у маток являются: растянутость желез и их гнездование, образование кист, фиброзное перерождение эндометриальной ткани, лимфатические лакуны, полипы.

5. Наиболее существенные различия в структуре эндометрия наблюдаются в его губчатом слое, а наиболее информативными морфометрическими показателями могут служить диаметр и плотность желез. В норме плотность желез в губчатом слое в период диэструса достоверно увеличивается по сравнению с эструсом ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует об уплотнении эндометрия за счет отсутствия эстрального отека. Растяжение стенок и застой секрета в просвете желез у кобыл старше 10 лет вызывает существенное ( $p < 0,001$ ) увеличение их диаметра как в эстресе (54,0 мкм), так и в диэстресе (61,3 мкм), по сравнению с молодыми кобылами (21,7 мкм и 20,9 мкм, соответственно).

6. Снижение фертильности кобыл с возрастом объясняется физиологическим старением матки на фоне снижения и потери эластичности эндометриальной ткани, которая выражается в существенном уменьшении плотности желез в диэстресе ( $p < 0,001$ ), а также в отсутствии достоверной разницы в плотности желез в диэстресе и в эстресе у кобыл старше 10 лет, по сравнению с более молодыми кобылами ( $p < 0,001$ ).

7. Предложенный эндометриальный показатель (ЭП), рассчитанный, как отношение среднего диаметра к средней плотности желез в губчатом слое эндометрия в диэструсе (Дд : Пд), имеет высокую достоверную связь с плодовитостью ( $p=0,0328$ ) и возрастом ( $p=0,0052$ ) кобыл и может использоваться для оценки и прогноза их воспроизводительных качеств. В норме эндометриальный показатель не должен превышать 2-3 мкм/ед.п.з. (единиц в поле зрения).

8. Присутствие нейтрофилов и лимфоцитов на гистосрезках эндометрия является признаком воспалительного процесса в матке кобылы.

9. Циклические изменения в структуре эндометрия тесно связаны с гормональным фоном у кобыл. Эстрадиол и прогестерон оказывают противоположное действие на состояние эндометрия ( $r = -0,78$ ). Установлена положительная корреляция ( $r= 0,69$ ) между уровнем прогестерона и плотностью желез эндометрия, что отражает характер доминирующего действия прогестерона в диэструсе. Также показано, что уровень прогестерона не связан с диаметром эндометриальных желез в конкретной фазе цикла, поскольку этот показатель в большей степени зависит от возрастных изменений в слизистой матки кобыл.

10. Большинство выявленных эндометриальных изменений достаточно хорошо визуализируется и дифференцируется с помощью окрашивания классическим красителем гематоксилин и эозин. Однако в сравнительном исследовании установлено, что для диагностики фиброзных изменений в эндометрии необходимо использовать специальные красители по Ван Гизону и трихромный краситель по Массону с анилиновым синим, которые в одинаковой степени хорошо прокрашивают фиброзные волокна.

### **3.2 Практические предложения**

При оценке состояния воспроизводительной функции у племенных кобыл с гинекологическими проблемами и пониженной фертильностью перед началом случной компании рекомендуется проводить гистологический анализ эндометрия матки, позволяющий объективно оценить перспективы их использования в воспроизводстве. Данный метод является более информативным в сравнении с традиционными исследованиями половых органов у маток, в особенности в отношении кобыл старше 10 лет, с нарушениями полового цикла и жеребости. Предложенный нами эндометриальный показатель (ЭП) может быть использован для определения состояния эндометрия в комплексной системе оценки воспроизводительных качеств кобыл.

Для выявления степени фиброзных изменений в эндометрии кобыл рекомендуется использовать методики окрашивания гистологических препаратов по Ван Гизону и трихромным красителем по Массону с анилиновым синим.

### **3.3 Перспективы дальнейших исследований**

В дальнейшем основным направлением исследований будет использование гистохимических методов для углубленного изучения причин и предпосылок возникновения различных морфологических изменений в эндометрии у кобыл.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

GE-гlandулярный эпителий

LE-поверхностный эпителий

Lm-лимфоциты

Nt-нейтрофилы

PGR-рецепторы прогестерона

PMNs– (Polymorphonuclear leukocytes) полиморфноядерные лейкоциты

SC (stratum compactum)-компактный слой

SS-(Stratum spongiosum) губчатый слой

ДНК-дезоксирибонуклеиновая кислота

Ед.пз- единиц в поле зрения

ЗЭ-здоровый эпителий

ЛГ-лютеинизирующий гормон

ЛЛ - лимфатические лакуны

ПВФ- периваскулярный фиброз

ПГФ- перигландулярный фиброз

ПЦ-половой цикл

ПЦР-полимеразно-цепная реакция

рДНК- рибосомальная дезоксирибонуклеиновая кислота

УЗИ-ультразвуковой метод исследования

ФЛГ -фолликулостимулирующий гормон

ФСГ - фолликулостимулирующего

ЭПД-эпителий с признаками дегенерации

ЭП-эндометриальный показатель

ЭЦМ- экстрацеллюлярный (внеклеточный) матрикс

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Александровская, О. В. Цитология, гистология, эмбриология / О.В. Александровская, Т. Н. Радостина, Н. А. Козлов. - М.: Агропромиздат, 1987.- 448с.
2. Алексеев, Н. Д. Биологические основы повышения продуктивности лошадей: монография / Н. Д. Алексеев, М. П. Неустроев, Р. В. Иванов. - Якутск: Изд-во ГНУ ЯНИИСХ, 2006.- 280 с.
3. Алтухов, Ю. П. Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов. - Изд. 3-е. - М.: Академкнига, 2003. - 431с
4. Алтайский конный завод [Электронный ресурс]. -2011-2021- Режим доступа: <http://fourhoofs.ru/?id=180&r=studfarm>
5. Антипов, Г. П. Генетика с биометрией / Г. П. Антипов, А. П. Лисицин, В. В. Лавровский. - М.: Изд-во МСХА, 1995. - Ч.1. Биометрия. - 166 с.
6. Баймухамбетов, К. Гистологическое строение рогов и шейки матки у жеребых кобыл казахской породы /К. Баймухамбетов //Всесоюз. конференция по анатомии, гистологии и эмбриологии с.-х. жив-х: тез. докладов. – М., 1972. - Ч. 2. - С. 24-25.
7. Баймухамбетов, К. Материалы по структурным и гистологическим изменениям в эндометрии у жеребых кобыл / К. Баймухамбетов // Научные труды /Алма-Атин.. зоо-вет. ин-т. -1975.- Т. 36. - С. 89-93.
8. Баймухамбетов, К. Морфологические изменения в эндометральных чашах слизистой оболочки матки у жеребых кобыл / К. Баймухамбетов //Вестник с.-х. науки Казахстана. - 1978. - № 9. - С. 82-83.
9. Баймухамбетов, К. Морфофункциональные особенности репродуктивных органов кобыл и ранний эмбриогенез лошади: автореф. дис. ... д-

ра ветер. наук: К. Баймухамбетов /Москов. Ветер. акад. им. К. И. Скрыбина — Москва, 1990. 31 с.

10. Бакай, А. В. Генетика / А. В. Бакай, И. И. Кочиш, Г. Г. Скрипниченко. — М.: Колос, 2007. — 448 с.

11. Баковецкая, О. В. Структурно-функциональная характеристика вагинальной слизи кобыл в динамике полового цикла: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.02.05 / О.В. Баковецкая; ВНИИ коневодства. — Дивово, 1998. — 16 с.

12. Баковецкая, О. В. Гормональный контроль функционирования половой системы у кобыл / О. В. Баковецкая // Перспективы коневодства России в XXI веке: тез. докладов науч.- практ. конференции и координационного совещания, посв. 70-л. ВНИИК. — Дивово, 2000. - Ч. I. - С. 222-225.

13. Балашов, Н. Г. К вопросу о строении и функциональном состоянии яичников у лошадей в онтогенезе: авт. дис. ... канд. биол. наук / Н. Г. Балашов - М., 1960. - 27 с.

14. Барминцев, Ю. Н. Продуктивное коневодство / Ю. Н. Барминцев, В. С. Ковешников. - М.: Колос, 1980. - 207 с.

15. Барулин, К. И. Бесплодие кобыл и методы лечения /К.И. Барулин // Проблемы животноводства. — 1935. - №7. — С. 110-118.

16. Басс, С. П. Влияние метода подбора конематок русской тяжеловозной породы на воспроизводительные качества / С. П. Басс, С. В. Спешилова //Учен. записки Казанской гос. академии ветер. медицины им. Н. Э. Баумана. — Казань, 2014. - Т. 220, № 4. - С. 36-38.

17. Беляев, А. Искусственное осеменение в табунном коневодстве / А. Беляев //Коневодство. — 1938.- №3.- С. 26-28

18. Блохина, Н.В. Влияние степени гомозиготности STR- локусов на плодовитость лошадей чистокровной верховой породы / Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева // Генетика и разведение животных. - 2021.-№2.-С.22-27.
19. Буйко–Рогалевич, А. Н. Искусственное осеменение и племенная работа в коннозаводстве / А.Н. Буйко–Рогалевич //Коневодство. -1952. - №2. С.21-28.
20. Буйко–Рогалевич, А. Н. Половая цикличность у кобыл русской тяжеловозной породы / А. Н. Буйко-Рогалевич, П. Н. Скаткин //Коневодство. - 1940.- №3. - С. 12-16.
21. Буш, В. Нарушения плодовитости крупного рогатого скота в условиях промышленного производства и методы их устранения /В. Буш // Теория и практика воспроизведения жив-х.- М, 1984, - С.68-105.
22. Визнер, Э. Ветеринарная патогенетика /Э. Визнер, З. Виллер. -М.: Колос, 1979. – 424 с.
23. Витт, В. О. Некоторые вопросы возрастной физиологии размножения лошадей / В. О. Витт // Научная конференция ТСХА по вопросам значения возраста при разведении с.-х. жив-х: сб. материалов. - М., 1953. -С.66-84.
24. Волосков, П. А. Клинико-цитологический метод определения фаз полового цикла кобыл / П. А. Волосков // Советская ветеринария. – 1939. - №4. –С. 59-64.
25. Волосков, П. А. Охота у кобыл и методы определения овуляции / П.А. Волосков // Коневодство. – 1936. - №10. – С. 47-55.
26. Волосков, П. А. Этиология и лечение заболеваний полового аппарата кобыл / П.А. Волосков // Советская ветеринария. - №3. – 1939.- С.100-106.

27. Гончаров, В. П. Влияние длительности спортивных испытаний кобыл на их плодовитость / В. П. Гончаров // Актуальные проблемы ветеринарной науки: тез. докладов / МГАВМ и Б им. К. И. Скрябина. - М., 1999. - С. 21-22.
28. Гончаров, В. П. К изучению формирования половых циклов молодых кобылок / В.П. Гончаров // Доклады ТСХА. -1970.- Вып. 157. - С. 217 - 220.
29. Гончаров, В. П. Профилактика бесплодия лошадей / В.П. Гончаров. - М.: Россельхозиздат, 1984. - 158 с.
30. Датт, Р. Х. Воспроизводство. Факторы, влияющие на плодовитость / Р.Х. Датт // Продуктивное животноводство США. - Пер. с англ. - М.: Колос., 1968. - С. 293.
31. Дегай, В. Ф. Морфофункциональная характеристика органов размножения в норме и при некоторых формах патологии эндокринного происхождения у крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра. ветер. наук / В.Ф. Дегай; Бурят. гос. с.-х. акад. им. В.Р. Филиппова. - Улан-Удэ, 2000. – 39с.
32. Дегай, В. Ф. Эндокринные аспекты физиологии и патологии размножения крупного рогатого скота / В. Ф. Дегай. – Владивосток, 1992. — 120 с.
33. Дорофей, Г. В. Курс лекций по дисциплине: Гистология с основами эмбриологии / Г. В. Дорофей. - Гродно: УО «Гродненский ГАУ», 2011.- 161 с.
34. Дубровская, Е.Б. Воспроизводительные функции кобыл русской рысистой породы / Е. Б. Дубровская // Пути повышения эффективности коневодства и коннозаводства: тезисы докладов. – ВНИИК, 1984.- С.4-7.
35. Дубровская, Е. Б. Параметры плодовитости заводских маток шетлендских пони /Е. Б. Дубровская// Новые селекционные, физиологические, биотехнологические методы в коневодстве: сб. науч. тр. /ВНИИ коневодства. – Дивово, 1999. - С. 131-133.

36. Евгений Куковицкий рассказал о перспективах племенного коневодства на Алтае [Электронный ресурс]. -2012- Режим доступа: <https://altapress.ru/ekonomika/story/evgeniy-kukovitskiy-rasskazal-o-perspektivah-plemennogo-konevodstva-na-altae-93195>

37. Елин, В. М. Морфология половых органов свиньи в онтогенезе и особенности их развития при гиподинамии / В.М. Елин // Новое в морфологии, физиологии и биохимии дом. жив.-х в условиях крупных ферм. - Ульяновск,1983. – С.50.

38. Животков, Х. И. Бывает ли рассасывание плодов у жеребых кобыл / Х.И. Животков // Коневодство. - 1951. - №2. - С. 26-29.

39. Животков, Х. И. К вопросу о выбраковке кобыл из плодового состава по гинекологическим данным /Х.И. Животков // Коневодство. – 1949. - №3. – С.16-19.

40. Животков, Х. И. Основы осеменения лошадей / Х.И. Животков. - М.: Сельхозгиз, 1952. - 368 с.

41. Животков, Х. И. Аборты кобыл в ранней стадии жеребости / Х. И Животков. // Ветеринария. -1952. - №11. - С. 55 – 57.

42. Животков, Х. И. Гинекологический контроль случки и искусственного осеменения лошадей/ Х. И. Животков// Коневодство. – 1950. - №5. – С.21-25.

43. Животков, Х. И. Зоотехническая и ветеринарная гинекология кобыл / Х.И. Животков // Коневодство. – 1937. - №5. - С.47-49.

44. Завадовский, М. М. Основы методики гормональной стимуляции многоплодия овец и заготовки сыворотки жеребых кобыл (СЖК) / М.М. Завадовский. - Ташкент: Узгиз, 1941. - 48 с.

45. Иванов, Р. В. Научные основы совершенствования технологии кормления и содержания лошадей якутской породы: дис... д-ра с.-х. наук: 06.02.04 /Реворий Васильевич Иванов. – Дивово, 2000. - 368 с.
46. Игнатов, А. В. Особенности воспроизводства лошадей орловской рысистой породы в условиях интенсивной селекции на резвость: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.04 / Алексей Валентинович Игнатов. – Дивово, 2009.- 120 с.
47. Ильин, П. А. Морфология и гистохимия матки свиней ко времени полового созревания / П. А. Ильин, А. М. Коган //Науч. исследования по животноводству, птицеводству и рыборазведению. – Омск, 1979. - С. 93-97.
48. Калашников, В. В. Современная система племенного коневодства России и перспективы ее развития /В. В. Калашников, А. М. Зайцев, А. В. Дубровин, Н. В. Блохина, Р. В. Калашников //Коневодство и конный спорт. -2021. - №5. –С. 4-9.
49. Калашников, В. В. Научные основы повышения воспроизводительной функции табунных лошадей Якутии: монография / В. В. Калашников, А. М. Зайцев, В.С. Ковешников, Л.Ф. Лебедева, Р. В. Иванов, У. В. Хомподоева, П. Ф. Пермякова, А. Н. Ильин. – Новосибирск: «СибАК», 2019. – С. 61-69.
50. Калашников, В. В. Проблемы плодовитости в призовых породах лошадей / В.В. Калашников, Е. Л. Фомина [и др.] // Новые селекционные, физиологические, биотехнологические методы в коневодстве: сб. науч. трудов / ВНИИ коневодства. - Дивово, 1999. - С. 190 – 191.
51. Каптильный, В. А. Методика взятия биологического материала для бактериологического исследования в акушерско-гинекологической практике // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. - 2016.- Т.3, № 4. –С.198-202.
52. Карпушкина Т. В. Изучение воспроизводительных качеств свиней с учетом генетических вариантов по генам CTSD, CCKAR, HMGA1 и DMD / Т.В.

Карпушкина, М. С. Форнара, Н. В. Бардуков, О. В. Костюнина, Н. А. Зиновьева, Н. А. Свеженцева// Повышение конкурентоспособности животноводства и задачи кадрового обеспечения: материалы XXVI междунар. науч.- прак. конференции. – Быково, 2020.- С.220-223.

53. Кассесинова, Е. В. Роль кобыл высокого класса резвости в микроэволюции орловской рысистой породы лошадей: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.07 / Екатерина Владимировна Кассесинова. – Дивово, 2013.-140 с.

54. Керов, М. А. Ранняя диагностика жеребости кобыл ректально-вагинальным методом / М. А. Керов. – Пятигорск, 1948. – 10 с.

55. Керов, М. А. Сравнительная оценка ректального и вагинального методов диагностики жеребости / М. А. Керов // Коневодство. – 1940.- №2. - С. 16-24.

56. Коновалова, Г. К. Плодовитость кобыл русской рысистой породы / Г.К. Коновалова, Л.А. Храброва, С. А. Терешина // Новые селекционные, физиологические, биотехнологические методы в коневодстве: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – Дивово, 1999.- С. 119-124.

57. Кононов, Г. А. Биопсия эндометрия и ее значение для дифференциальной диагностики и терапии бесплодия у коров: автореф. дис. ... д-ра ветер, наук / Геннадий Александрович Кононов. - Л., 1968. -34 с.

58. Кононов, Г. А. Циклические изменения эндометрия у коров/ Г. А. Кононов // Сб. работ Ленинград. вет. ин-та. -1965. - Вып. 27. - С. 236-242.

59. Конезавод «Чесменский» [Электронный ресурс]. -2011-2016- Режим доступа: [http://konezavod-vrn.ru/home\\_1\\_2/#show1\\_2](http://konezavod-vrn.ru/home_1_2/#show1_2)

60. Котельникова Е. В. Особенности раннего эмбриогенеза лошадей: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.02.05 / Елена Владимировна Котельникова. - Дивово, 1998. - 18 с

61. Кривенцов Ю. М. Роль систем групп крови в селекции крупного рогатого скота / Ю. М. Кривенцов [и др.] // Зоотехния. - 2006. - № 8. - С. 9-11.
62. Лебедев, С. Г. Освоение УЗИ-диагностики состояния половых органов кобыл / С. Г. Лебедев, Н. В. Сидорова, Е. В. Котельникова // Новые селекционные, физиологические, биотехнологические методы в коневодстве: сб. науч. тр. /ВНИИ коневодства. – Дивово, 1999. - С. 158-171.
63. Лебедев, С. Г. Проблема двойнёвности в коневодстве / С. Г. Лебедев. – Дивово, 2001. – 28 с.
64. Лебедева, Л. Ф. Значимость комплексного подхода к оценке воспроизводительных качеств кобыл / Л. Ф. Лебедева, А. Б. Дубровская// Коневодство и конный спорт. - 2010. - №6. - С. 13-15.
65. Лебедева, Л.Ф. Использование доплерографии в гинекологии кобыл. Часть II. Исследование сосудов матки и яичников холостых кобыл / Л.Ф. Лебедева, Е.В. Солодова// Коневодство и конный спорт. - 2020. - № 3. – С. 11-15.
66. Лебедева, Л. Ф. Использование доплерографии в гинекологии кобыл. Часть III. Исследование эмбриональных, маточных и овариальных сосудов у кобыл в период ранней жеребости / Л. Ф. Лебедева, Е. В. Солодова // Коневодство и конный спорт. - 2020. - №5. С.18-21.
67. Лебедева, Л. Ф. Методы оптимизации технологии воспроизводства в племенном коневодстве: дис. ... д-ра с.-х. наук / Людмила Федоровна Лебедева. – Дивово, 2017. - С.140-199.
68. Лебедева, Л. Ф. Основные проблемы репродукции в коневодстве. Часть I. Патологии воспроизводительной системы кобыл / Л. Ф. Лебедева // Коневодство и конный спорт. – 2018.- №5. - С. 32-35.
69. Лебедева, Л. Ф. Ультразвуковая диагностика репродуктивной системы кобыл в норме и патологии, руководство / Л.Ф. Лебедева. – Рязань, 2016.- 92 с.

70. Лебедева, Л. Ф. Цитологическая характеристика генитального тракта кобыл в различные фазы полового цикла / Л. Ф. Лебедева // Коневодство и конный спорт. - 2015. - №6. - С.29-31.
71. Лопырин, А. И. Биология размножения овец / А. И. Лопырин. - М.: Колос, 1971.- С. 214-215.
72. Мамин, К. И. Морфологические изменения половых органов у жеребых кобыл в период появления и накопления в крови гонадотропного гормона: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.00 / Кемаль Исхакович Мамин. – Дубровицы, 1970. - 24 с.
73. Мартыненко, Н. А. Эмбриональная смертность сельскохозяйственных животных и ее предупреждение / Н.А.Мартыненко. - Киев: Урожай, 1971. - 298 с.
74. Милованов, В. К. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных / В.К. Милованов. – М.: Сельхозгиз, 1938. - 368 с.
75. Милованов, В. К. Методы искусственного осеменения / В. К. Милованов //Милованов, В. К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных: биолого-зоотехническая монография / В.К. Милованов. - М., 1962. - С.581-615.
76. Мюйрсепп, И. Я. Значение биопсии матки у коров при бесплодии / И.Я. Мюйрсепп //Ветеринария. -1968. - № 8. - С. 82- 83.
77. Науменков, А. П. Повышение плодовитости кобыл / А. П. Науменков // Резервы развития и повышение эффективности коневодства: сб. науч. тр. - ВНИИК, 1979. - С.22 - 27.
78. Недашковский, И. С. Влияние уровня геномного инбридинга, оцененного по ROH- паттернам, на воспроизводительные качества и молочную продуктивность дочерей, а также спермопродукцию голштинских быков производителей / И.С. Недашковский, А.А. Сермягин, О.В. Костюнина, И.Н.

Янчуков, Н.А. Зиновьева // Достижения науки и техники АПК. - 2021.- Т.35, №3. - С.39-45.

79. Николаева, Л. К. Плодовитость кобыл орловской рысистой породы в зависимости от их резвости и возраста / Л. К. Николаева // Научные основы сохранения и совершенствования пород лошадей: Сб. науч. трудов / ВНИИ коневодства. - Дивово, 2002.- С. 12 - 19.

80. Обухов, Б. М. Особенности течения гриппа лошадей / Б. М. Обухов, К. П. Юров, Н. А. Барков Н.А., Н. Е. Яценко // Труды ВИЭВ. – 1974.- Т.42. - С.293-298.

81. ООО «Конный завод «Орловский Фаворит» [Электронный ресурс]. - 2021- Режим доступа: <https://konny-zavod.ru/about/>

82. Орлова, Ю. А. Влияние ярко выраженного типа породы на племенные качества орловского рысака: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.01 / Юлия Александровна Орлова. - Дивово, 2008. - 111 с.

83. Орловская рысистая порода [Электронный ресурс]. -2017- Режим доступа: <http://www.ruhorses.ru/horse/orlov/articles.html>

84. Паршутин, Г. В. Искусственное осеменение и случка лошадей / Г. В. Паршутин, П.Н. Скаткин. – Изд. 3-е, допол.– М.: Сельхозгиз, 1953. – 127 с.

85. Паршутин, Г. В. О переживаемости сперматозоидов в матке кобылы / Г. В. Паршутин // Коневодство. – 1952. - №9. – С. 12-19.

86. Патент № 2102009 С1 Российская Федерация, МПК А61В10/00 Способ диагностики эндометритов у кобыл: заявл. 28.09.1995: опубл. 20.01.1998 / Л.А. Храброва; заявитель ВНИИ коневодства. – 4с.

87. Патрушев, В. И. Искусственное осеменение лошадей / В. И. Патрушев // Коневодство. – 1935. - №5. - С.19-25.

88. Петухов, В. Л. Генетические основы селекции животных / В. Л. Петухов, Л. К. Эрнст. – М.: Агропромиздат, 1989. – 448 с.
89. Печкуренко, А. Л. Метод обезвоживания и заливки гистологического материала в парафин и окраска срезов с применением изопропилового спирта / А.Л. Печкуренко, И.В. Куликов // Избранные вопросы судебно-медицинской экспертизы. - Хабаровск, 1998. -Вып.1. -С. 69-70.
90. Преображенский, О. Н. Вариации количество спермиев в дозах спермы быков, баранов и хряков / О. Н. Преображенский // Научные основы профилактики и лечения патологии воспроизводительной функции сельскохозяйственных животных: тезисы докладов Всеросс. науч. - практ. конференции – Воронеж. -1988. – С. 88-89.
91. Прокофьев, М. И. Регуляция размножения сельскохозяйственных животных / М.И. Прокофьев. — Л.: Наука, 1983.— 263 с.
92. Развитие племенного коневодства обсудили в Новотомниково [Электронный ресурс]. — 2019—Режим доступа: <https://tamlife.ru/informaciya/obshhestvo/2019081613322135590.html/razvitie-plemennogo-konevodstva-obsudili-v-novotomnikovo/>
93. Растяпин, И. Т. Ранняя диагностика жеребости /И. Т. Растяпин, Н. М. Рязанцева // Коневодство и конейиспользование: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. - М.: Сельхозиз, 1936. – Вып. 1. – С.385-395.
94. Рекомендации по технологиям выращивания высококлассных лошадей чистокровной верховой породы в конных заводах СССР. - М.: «Колос»,1973.- 40с.
95. Рекомендации по технологиям выращивания высококлассных рысистых лошадей в конных заводах СССР. - М.: Изд. «Колос», 1973.- 50с.

96. Рекомендации по технологиям выращивания высокоценных племенных лошадей донской породы в конных заводах СССР. - М.: «Колос», 1983.- 31с.
97. Рекомендации по технологиям выращивания лошадей полукровных верховых пород в конных заводах СССР. - М.: «Колос», 1979.- 50с.
98. Рекомендации по технологиям выращивания племенных лошадей советской и русской тяжеловозной породы в конных заводах СССР. - М.: «Колос»,1977.- 34с.
99. Рябов, Н. И. Клинико - морфологические изменения в половых органах у коров при эндометритах / Н.И. Рябов, Л.А. Громова, Л.Д. Журавлева // Организация лечебно - профилактических и ветеринарно-санит. мероприятий в животноводстве. — Ульяновск. 1987. - С. 49-51.
100. Селоустьева, А. М. Цитологическая характеристика маточных выделений у больных эндометритом коров при использовании различных лечебных средств / А. М. Селоустьева, А. И. Афанасьев// Сб. науч. тр. Донского СХИ. - Т. 7, вып. 3. — Персиановка, 1972. - С. 54-58.
101. Скаткин, П. Н. Плодовитость лошадей и методы ее повышения /П. Н. Скаткин // Коневодство. – 1947. - №1. – С.5-9.
102. Сорокина, И. И. Племенная работа с русской тяжеловозной породой / И. И. Сорокина // Государственная племенная книга лошадей русской тяжеловозной породы. - М.: Колос, 1980. - Т. 6. - 375 с.
103. Сорокина, И. И. Племенная работа с русской тяжеловозной породой лошадей /И. И. Сорокина // Государственная племенная книга лошадей русской тяжеловозной породы. - М.: Колос, 1975. - Т.5. – С.5-36.

104. Сорокина, И. И. Характеристика лошадей владимирской тяжеловозной породы /И. И. Сорокина, М. И. Морозова, С. В. Веселов //Государственная племенная книга лошадей владимирской породы, - М.: Колос, 1980. - Т.5. – С.5-40.
105. Студенцов, А. П. Диагностика беременности и бесплодия сельскохозяйственных животных /А. П. Студенцов. - Изд.2-е испр. - М.: Сельхозгиз, 1950. – 134 с.
106. Студенцов, А. П. Аборты лошадей и других сельскохозяйственных животных / А.П. Студенцов. - Казань: Татгосиздат, 1947. -54 с.
107. Сулейманов, О. И. Влияние испытаний на плодовитость кобыл чистокровной верховой породы / О. И. Сулейманов, И. Н. Круглова // Перспективы коневодства России в 21 веке: тез. докладов науч. – практ. конференции и координац. совещания, посвящ. 70-л. ВНИИ коневодства. - Дивово, 2000. - С. 16 – 18.
108. Тарасевич, А. Ю. К вопросу об определении жеребости у кобыл по данным топографической анатомии /А. Ю. Тарасевич // Практическая ветеринария и коневодство. – 1924. - №2. – С.31-37.
109. Терехина, О. Инбридинг на кобыл в чистокровном коннозаводстве / О. Терехина // Коневодство и конный спорт. — 1989. — № 3. — С. 8-10.
110. Флегматов, Н. А. Диагностика ранней жеребости, овуляции и бесплодия кобыл / Н. А. Флегматов // Коневодство. – 1937. - №4. – С. 5-16.
111. Фомин, А. Б. Отбор по резвости и плодовитости лошадей русской рысистой породы / А. Б. Фомин, Е. Л. Фомина, А. М. Ползунова // Коневодство и конный спорт. - 1982. - №11. - С. 9- 10.
112. Фомина, Е. Л. Воспроизводительная функция орловских и русских кобыл в условиях Дубровского конного завода / Е.Л. Фомина, К.И. Мирошникова,

И.А. Валк // Интенсификация селекции и технологии выращивания лошадей: сб. науч. тр. - ВНИИК, 1988. - С. 190-201.

113. Хохлова, Н. А. Эффективность использования инбридинга в чистокровной верховой породе / Н. А. Хохлова // Научные основы сохранения и совершенствования пород лошадей: сб. науч. трудов / ВНИИ коневодства. - Дивово, 2002. — С. 306-322.

114. Хохлова, Н. А. Пути увеличения делового выхода жеребят лошадей полукровных верховых пород в условиях культурно-табунного содержания: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.04 / Нина Анатольевна Хохлова. - Дивово, 1994. - 17 с.

115. Храброва, Л. А. Использование ДНК- технологий в коневодстве / Л. А. Храброва // Эффективное животноводство. - 2015. - №6(115). - С. 13-17.

116. Храброва, Л. А. Методические рекомендации по цитологической диагностике эндометритов у кобыл / Л.А. Храброва. - Дивово, 1995. – 16 с.

117. Храброва, Л. А. Воспроизводительные качества и работоспособность чистокровных верховых лошадей в зависимости от гомозиготности по STR-локусам / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева // Научное обеспечение инновационного развития животноводства: сб. науч. тр. по материалам науч. - практ. конференции. – Жодино, 2013. - С.185-187.

118. Храброва, Л. А. Инбридинг и степень гомозиготности микросателлитных локусов у лошадей (*Equus caballus*) орловской рысистой породы / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева // С.-х. биология. Сер. Биология животных. – 2014. - №4. – С.35-41.

119. Цыганок, И. Б. Дифференциация хозяйственно полезных признаков лошадей в тяжеловозном коневодстве в динамике эволюции породы / И. Б. Цыганок // Доклады ТСХА. - 2009. - Вып. 281. - С. 455–457.

120. Цыганок, И. Б. Плодовитость кобыл русской и владимирской тяжеловозных пород / И. Б. Цыганок, Е. В. Уторова // Иппология и ветеринария. - 2011. - № 1. - С. 34–36.

121. Цыганок, И. Б. Показатели воспроизводительной деятельности лошадей владимирской породы / И. Б. Цыганок, О. В. Евтеева // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства: науч. труды. - Брянск: Изд-во БГСХА, 2010.- Вып.3. - С. 38–41.

122. Чиргин, Е. Д. Использование инбридинга в молочном коневодстве/ Е. Д. Чиргин, А. В. Онегов // Ученые записки Казанской гос. академии ветер. медицины им. Н.Э. Баумана. - Казань, 2015. - С. 255-259.

123. Чиргин, Е. Д. Особенности лактации кобыл тяжеловозных пород и селекционно-генетические показатели их отбора по молочной продуктивности: автореф. дис.... канд. биол. наук: 06.02.01 / Евгений Дмитриевич Чиргин, - Казань, 1998. - 18 с.

124. Шаталов, П. И. К вопросу о половом цикле у лошадей и коров при микроскопической картине влагалищного деления / П.И. Шаталов // Ветеринарно-зоотехнический вестник. - 1930. - 2/10. - С. 18-26.

125. Эрнст, Л. К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке: монографии / Л. К. Эрнст, Н. А. Зиновьева. – Дубровицы, 2008.- 508с.

126. Эрнст, Л. К. Крупномасштабная селекция и инбридинг/ Л. К. Эрнст, А. И. Жигачев, Ю. Н Григорьев // С.-х. биология. Сер. Биология животных. - 1992. - № 4. - С. 3-9.

127. Юров, К. П. Биологические свойства штаммов вируса ринопневмонии лошадей и особенности течения этой инфекции / К. П. Юров // Труды ВИЭВ. - 1979. -Т. 49. - С. 64-68.

128. Юров, К. П. Выделение латентного герпетического вируса лошадей / К. П. Юров, В. К. Сологуб // Ветеринария. -1974. -№ 4. С. 49-50.
129. Юров, К. П. Инфекционная анемия / К. П. Юров, В. Е. Садиков// Вирусные болезни лошадей. - М.: Колос,1973.- С. 105-138.
130. Юров, К. П. Инфекционные и паразитарные болезни лошадей / К. П. Юров, В. Т. Заблоцкий, Н. Е. Косминков. – М.: Колос, 2010. –256 с.
131. Юров, К. П. Ринопневмония лошадей / К. П. Юров, Н. Н. Крюков// Коневодство и конный спорт.- 1969.- №12. - С.31.
132. Юров, К. П. Результаты экспериментального изучения ринопневмонии лошадей /К.П. Юров // Proceedings of 20th World Veterinary Congress, -Thessalonike: G. Parageorgiou Pub. Co, 1976. - Vol. 3. - P. 2137.
133. Юрьева, И. Б. Использование инбридинга при совершенствовании мезенской породы лошадей / И. Б. Юрьева, Н. В. Вдовина // Аграрная наука Евро-Северо-Востока, 2010.- № 2 (17). - С. 36-39.
134. AboEl - Maaty, A. M. Stress and its effects on horses' reproduction / Amal M. AboEl-Maaty // Veterinary Science Development. – 2011. - Vol. 1(1). - P. 13.
135. Adams, G. P. Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare / G. P. Adams, J. P. Kastelic, D. R. Bergfelt, O. J. Ginther // J. Reprod. Fertil. - 1987. - Vol. 35. Suppl. - P. 445–454.
136. Aguilar, J. Importance of using guarded techniques for the preparation of endometrial cytology smears in mares / J. Aguila, M. Hanks, D. J. Shaw, R. Else, E. Watson // Theriogenology. -2006.- Vol. 66. - P. 423–430.
137. Albihn, A. Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems / A. Albihn, V. Båverud, U. Magnusson // Acta Vet. Scand. - 2003.- Vol. 44. - P.121–129.

138. Amorim, M. Comparison of Clinical Signs, Endometrial Culture, Endometrial Cytology, Uterine Low-Volume Lavage, and Uterine Biopsy and Combinations in the Diagnosis of Equine Endometritis / M. Amorim, C.J. Gartley, R.A. Foster, A. Hill, E.L. Scholtz, A. Hayes // *J. Equine Veter. Science.* - 2016. - Vol.44. - P. 54–61.
139. Aresu, L. The role of inflammation and matrix metalloproteinases in equine endometriosis / L. Aresu, S. Benali, D. Giannuzzi, R. Mantovani, M. Castagnaro, M.E. Falomo // *J. Vet. Sci.* - 2012. - Vol. 13, №2. - P.171-177.
140. Armstrong, D. T. Effects of maternal age on oocyte developmental competence / D.T. Armstrong // *Theriogenology.* – 2001. - Vol.55. - P.1303–1322.
141. Aupperle, H. Cyclical, endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare / H. Aupperle, S. Özgen, H.-A. Schoon, D. Schoon, H.O. Hoppen, H. Sieme, A. Tannapfel // *J. Equine Vet.* - 2000.- Vol. 32. - P.228–232.
142. Aurich, C. Effects of stress on reproductive functions in the horse / C. Aurich, J.E. Aurich // *Pferdeheilkunde.* - 2008. - Vol. 24.- P. 99-102.
143. Aurich, C. Reproductive cycles of horses / C. Aurich // *Anim. Reprod. Sci.* - 2011.- Vol. 124. - P. 220–228.
144. Badi, A. M. An analysis if reproductive in thoroughbred mares / A. M. Badi // *J. Equine Vet.* - 1981. - Vol. 35. -№1. - P. 18 - 20.
145. Bain, A. M. The role of infection in infertility in the Thoroughbred mare/ A. M. Bain // *Vet. Rec.*-1966. - Vol. 78. - P.168–173.
146. Ball, B. A. Embryonic loss and early pregnancy loss in the mare / B. A. Ball, G. L. Woods // *Compend. Contin. Educ. Pract Vet.* -1987.- Vol. 9. - P. 459–470/

147. Ball, B. A. Survival of equine embryos transferred to normal and subfertile mares / B. A. Ball, R. B. Hillman, G. L. Woods // *Theriogenology*. -1987. - Vol. 28. - P. 167–174.
148. Ball, B. A. Histopathologic examination of the oviduct and endometrium of fertile and subfertile mares / B. A. Ball, S. P. Brinsko, D. H. Schlafer // *Pferdeheilkunde*. – 1997.-Bd.13. - P.548–549.
149. Ball, B. A. Viability of Day 4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares / B. A. Ball, T. V. Little, J. A. Weber, G. L. Woods // *J. Reprod. Fertil.* -1989.- Vol. 85. - P. 187–194.
150. Blanchard, T. L. Investigation of the Representativeness of a Single Endometrial Sample and the Use of Trichrome Staining to Aid in the Detection of Endometrial Fibrosis in the Mare / T. L. Blanchard, M. C. Garcia, L. D. Kintner, R. M. Kenney // *Theriogenology*. – 1987. - Vol. 28, №4. - P. 445-450,
151. Bracher, V. Transvaginal Ultrasound-guided twin reduction in the mare / V. Bracher, J. M. Parlevliet, M. C. Pieterse, P. L. Vos, P. Wiemer, M. A. Taverne, B. Colenbrander // *Vet. Rec.* - 1993. - Vol. 133, № 19. - P. 478–479.
152. Bramer, S. A. Hexokinase 2 drives glycogen accumulation in equine endometrium at day 12 of diestrus and pregnancy / S.A. Bramer, A. Macedo, C. Klein // *Reproductive Biology and Endocrinology*. - 2017- Vol. 15, № 1. - P.4.
153. Brinsko, S. P. Chapter 4. Breeding Soundness Examination of the Mare / S. P. Brinsko, T. R. Blanchard, D. D. Varner, J. Schumacher [et al.] // *Manual of equine reproduction*. - 3rd ed. - Maryland Heights: Mosby, 2011. - P. 39-53.
154. Brinsko, S. P. In vitro development of day two embryos obtained from young, fertile mares and aged, subfertile mares / S.P. Brinsko, B.A. Ball, P.G. Miller, P.G.A. Thomas, J.E. Ellington // *J. Reprod. Fertil.* -1994. - Vol. 102. - P. 371–378.

155. Brook, D. Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium / D. Brook // *J. Equine Veter. Science.* - 1985. – Vol. 5. – P.16–22.
156. Brunckhorst, D. Morphologische, enzyme- and immunhistologische Charakteristika des endometrialen Zyklus der Stute Fertilität/D. Brunckhorst, H.-A. Schoon, H. Bader, H. Sieme// - 1991.-V. 7. P. 44–51
157. Buczkowska, J. Endometrosis – significance for horse reproduction, pathogenesis, diagnosis, and proposed therapeutic methods / J. Buczkowska, R. Kozdrowski, M. Nowak, A. Raś, J. Mrowiec // *Polish J. Veter. Sciences.* - 2014. - Vol. 17, № 3. - P. 547-554.
158. Buczkowska, J. Relationship between uterine biopsy score, endometrial infection and inflammation in the mare / J. Buczkowska, R. Kozdrowski, M. Nowak, M. Sikora // *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere.* – 2016. - Vol. 44, №3. – P.158-163.
159. Cadario, M. E. Uterine expression of fibrogenic cytokines in the mare / M. E. Cadario, L. Losinno, S. Giguere, J. Aguilar, M. MacPherson, C. Fitzpatrick, E. Uhl // *Theriogenology.* - 2002. - Vol. 58. - P. 449-452.
160. Carnevale, E. M. Aging effects on follicular activity and concentrations of FSH, LH, and progesterone in mares / E. M. Carnevale, D. R. Bergfelt, O. J. Ginther // *Anim. Reprod. Sci.* -1993. - Vol. 31. P. 287–299.
161. Carnevale, E. M. Defective oocytes as a cause of subfertility in old mares / E. M. Carnevale, O. J. Ginther // *Biol. Reprod.* - 1995. - Mono.1. - P. 209–214.
162. Carnevale, E. M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer / E. M. Carnevale, R. J. Ramirez, E. L. Squires, M. A. Alvarenga, D. K. Vanderwall, P. M. McCue // *Theriogenology.* -2000. - Vol. 54. - P.965–979.

163. Carnevale, E. M. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares / E. M. Carnevale, O. J. Ginther // *Theriogenology*. -1992.- Vol. 37.- P.1101–1115.
164. Caslick, E. A. The vulva and the vulval-vaginal orifice and its relationship to genital health of Thoroughbred mares / E. A. Caslick // *Cornell Veterinarian*. - 1937. - Vol. 27. - P.178-187.
165. Christoffersen, M. Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis / M. Christoffersen, E. Woodward, A. Bojesen, S. Jacobsen, M. Petersen, M. Troedsson, H. Lehn-Jensen // *BMC Vet. Res.* - 2012. - Vol. 8, № 1. - P.41.
166. Clarke, C. L. Progestin regulation of cellular proliferation / C. L. Clarke, R. L. Sutherland // *Endocrinology Rev.* -1990. - Vol. 11. - P.266–301.
167. Collins, S. A study of the incidence of cervical and uterine infection in Thoroughbred mares in Ireland / S. Collins // *Vet. Rec.* -1964. - Vol. 66. - P. 673–676.
168. Concha-Bermejillo, A. Prognostic value of endometrial biopsy in the mare: a retrospective analysis / A. Concha-Bermejillo, P. C. Kennedy // *J. Am. Vet. Med. Assoc.* – 1982. – Vol. 181. – P.680.
169. Cotran, E. G. In breeding and reproductive performance in standardbred horses / E. G. Cotran, J. W. Maccluer, L.R. Weitkamp, D.W. Pfenning// *Boyce the Journal of Heredity*. -1984. - V. 75. - № 3. - P. 220 - 224.
170. Dascanio, J. How to Perform and Interpret Uterine Cytology / J. Dascanio, W. Ley, J. Bowen // 43rd Annual Convention of the AAEP. - Phoenix (Arizona, USA), 1997- P. 182-186.
171. Dascanio, J. Speculum Examination of the Vagina / J. Dascanio, P. McCue // *Equine Reproductive Procedures*. - First Edit. - New York: John Wiley & Sons, 2014. - P. 35-37.

172. Dascanio, J. Ultrasound examination of the pregnant mare / J. Dascanio, P.M. McCue // *Equine Reproductive Procedures - First Edit.* - New York: John Wiley & Sons, 2014.- P.3-5.

173. Digby, N. J. W. Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice / N. J. W. Digby, S. W. Ricketts // *J. Reprod. Fertil. Suppl.* – 1982. - Vol. 32. - P.181–185.

174. Doig, P. A. The use of endometrial biopsy in the infertile mare / P. A. Doig, J. D. McKnight, R. B. Miller // *Can. Vet. J.* – 1981.- Vol. 22. - P.72–76.

175. Dubrovskaya, A. B. Comparative histomorphological characteristics of the endometrium of young and aged mares in estrus and diestrus [Электронный ресурс] / A. B. Dubrovskaya, L. F. Lebedeva, K. A. Schukis // *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* – 2019. - Vol. 341. – P.012067. – Режим доступа: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/341/1/012067/pdf>.

176. Evans, M. J. Clearance of bacteria and non-antigenic markers following intra-uterine inoculation into maiden mares: effect of steroid hormone environment/ M. J. Evans, J. M. Hamer, L. M. Gason, C. S. Graham, A. C. Asbury, C. H. Irvine // *Theriogenology.* -1986. - Vol. 26. - P. 37–50.

177. Ferreira, J. C. Uterine vascular perfusion and spectral-Doppler measurements during earlygestation in mares: new concepts of evaluation / J. C. Ferreira, F. S. Ignácio, C. Meira // *Anim. Reprod. Sci.* - 2010. - Vol. 121, № 1/2, sup. - P. 281-283.

178. Fiala, S. M. Endometrial fibrotic changes. Is one biopsy enough to diagnose degenerative changes / S. M. Fiala, A. Esmeraldino, M. I. M. Jobim, P. Garbade, C. A. Wolf, [et al.] // *Anim. Reprod. Sci.* – 2010. - Vol. 121, № 1/2, sup. - P. 89-90.

179. Flores, J. M. Endometrosis in mares: incidence of histopathological alterations / J. M. Flores, A. Rodríguez, J. Sánchez, C. Gómez-Cuétara, F. Ramiro // *Reprod. Domest. Anim.* - 1995. - Vol. 30. - P. 61-65.

180. Fumuso, E. A. Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-breeding endometritis: effects of immunomodulation / E.A. Fumuso, J. Aguilar, S. Giguere, M. Rivulgo, J. Wade, D. Rogan // *Vet. Immunol. Immunopathol.* - 2007. - Vol. 118. - P. 30–39.

181. Ginther, O. J. Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology / O.J. Ginther, D.R. Bergfelt, G.S. Leith, S.T. Scraba // *Theriogenology.* – 1985. - Vol. 24. - P.73–86.

182. Ginther, O. J. *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography* / O.J. Ginther. - Book 4. - Cross Plains: Equiservices Publishing, 2007. - 258 p.

183. Ginther, O. J. *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects* / O. J. Ginther. - 2nd Edit. - Cross Plains: Equiservices, 1992. – 71p.

184. Gómez, M.D. Phenotypic and genetic analysis of reproductive traits in horse populations with different breeding purposes / M.D. Gómez, M.J. Sánchez, E. Bartolomé, I. Cervantes, J. Poyato-Bonilla, S. Demyda-Peyrás, M. Valera // *J. Animal.* - 2020.- Vol. 14. - P. 1351–1361.

185. Grueninger, B. Incidence and morphology of endometrial angiopathies in mares in relationship to age and parity / B. Grueninger, H.A. Schoon, D. Schoon, S. Menger, E. Klug // *J. Comp. Path.* – 1998. - Vol. 119, № 3. - P. 293–309.

186. Hadek, R. Age change studies of the ovary of the domesticated pig / R. Hadek, R. Getty // *Vet. Rec.* -1959.- Vol. 20. - P.578-584.

187. Hamann, H. A. Polymorphism within the equine CRISP3 gene is associated with stallion fertility in Hanoverian warm blood horses / H. Hamann [et al.] // *Animal Genetics*. - 2007. - Vol. 38, № 3. - P.259-264.
188. Hanada, M. Equine endometrial gland density and endometrial thickness vary among sampling sites in Thoroughbred mares / M. Hanada, Y. Maeda, M. Oikawa // *J. Equine Sci.*- 2012.- Vol. 23, №3. – P.35–40.
189. Hanada, M. Equine Endometrial Gland Density and Endometrial Thickness Vary among Sampling Sites in Thoroughbred Mares / M. Hanada, Y. Maeda, M. Oikawa // *J. Equine Sci.*- 2014.- Vol. 25, №2. - P. 45–52.
190. Hartt, L. S. Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares / L. S. Hartt, S. J. Carling, M. M. Joyce, G. A. Johnson, D. K. Vanderwall, T. L. Ott // *Reproduction*. – 2005. - Vol. 130. - P. 241–250.
191. Heidrun, H. Morphological and immunohistochemical investigations of endometrial biopsies in mule mares / H. Heidrun, C. Ellenberger, C.-P. Bartmann, J. Rass, H.-O. Hoppen, H.-A. Schoon et al// - 1997
192. Helen, J. Microscopic examination of endometrial biopsies of retired sports mares: an explanation for the clinically observed subfertility / J. Helen, S. S. Kilgenstein, D. Schoon, H.-A. Schoon // *Res. Veter. Sci.* -2015. - Vol. 99. - P. 171-179.
193. Henneke, D. R. Body condition during pregnancy and lactation and reproductive efficiency of mares /D. R. Henneke, G. D. Potter, J. L. Kreider // *Theriogenology*. - 1984. - Vol. 21. - P. 897–909.
194. Herrera, M. Comparative histomorphological study of endometrium in mares / M. Herrera, J.M. Herrera, S. Cantatore, J. Aguilar, A. Felipe, E. Fumuso // *Anat. Histol. Embryol.* – 2018. - Vol. 47, №2. - 153-158.

195. Hoffmann, C. The equine endometrosis: new insights into the pathogenesis / C. Hoffmann, C. Ellenberger, R. C. Mattos, H. Aupperle, S. Dhein, B. Steif, H.A. Schoon // *Anim. Reprod. Sci.* – 2009. - Vol. 111. - P. 261-278.
196. Huth, H. Morphological and immunohistochemical investigations of endometrial biopsies in mule mares / H. Huth, C. Ellenberger, C. P. Bartmann, J. Rass, H-O. Hoppen, H-A. Schoon// *Pferdeheilkunde.* - 2008. - Vol. 24, № 1. - P.38-43.
197. Impact and risks of reproductive health [Электронный ресурс]. – 2020. - Режим доступа: <http://www.partners-in-reproduction.com>
198. Katila, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis / T. Katila // *Reprod Biol.* -2016. - Vol. 16, №3. - P.189-196.
199. Kenney, R. M. *Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Small and large Animals* /R. M. Kenney, P. A. D. Doig, D. A. Morrow. - Philadelphia: WB Saunders, 1986. –1143 p.
200. Kenney, R. M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death /R. M. Kenney // *J. Am. Vet. Med. Assoc.* - 1978. – Vol. 172. – P. 241–262.
201. Kenney, R. M. Equine endometrial biopsy / R.M. Kenney, P.A. Doig, D.A. Morrow // *Current Therapy in Theriogenology.* - Philadelphia: WB Saunders, 1986. - P.723–729.
202. Killisch, R. Seasonal or pathological findings. Morphofunctional characteristics of the equine endometrium during the autumn and spring transition / R. Killisch, D. Böttcher, T. Theuß, H.-A. Schoon // *Reprod. Domestic Animals.* - 2017. - Vol. 52, № 6. - P. 1011-1018.
203. Knottenbelt, D. C. *Equine Stud Farm Medicine and Surgery* / D. C. Knottenbelt, R. R. Pascoe, M. Leblanc, Ch. Lopate. - Philadelphia: Saunders, 2003. – 403 p.

204. Kozdrowski, R. Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares // R. Kozdrowski, M. Sikora, J. Buczkowska, M. Nowak, A. Ras, M. Dziecioł // *Animal Reprod. Sci.* – 2015. – Vol.154. - P. 56–62.
205. Lantz, K, Possible significance of cells within intraluminal collagen masses in equine oviducts/K. Lantz, A. Enders, I. Liu // *Anat. Rec.*-1998.- Vol. 252, № 4. - P. 568–579.
206. Lear, T. L. The mare: techniques in reproductive examination – cytogenetic evaluation of mares and foals /T.L. Lear, D. Villagomez // *Equine Reproduction*, - 2nd edn. - Ames, IA: Wiley Blackwell, 2011.- P. 1951–1962.
207. Lear, T. L. Three autosomal chromosome translocations associated with repeated early embryonic loss in the domestic horse (*Equus caballus*) / T. L. Lear, J. Lundquist, W.W. Zent, W.D. Fishback, A. Clark // *Cytogenet Genome Res.* - 2008. - Vol. 120, № 1-2. - P.117–122.
208. Lebedev, S. G. Fertility effects of crossing thoroughbreds with don mares /S. G. Lebedev, N. A. Khokhlova // *J. Equine Veter. Science.* – Vol. 16, Issue 12. – P. 569–573.
209. Lebedeva, L. Double ovulations and twin pregnancies in mares / L. Lebedeva, E. Solodova // *Reprod. Dom. Anim.* - 2019. - Vol. 54, Suppl. 3. - P. 14.
210. LeBlanc, M. M. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares / M. M. LeBlanc, J. Magsig, A. J. Stromberg // *Theriogenology.* – 2007. – Vol. 68. - P. 403–412.
211. LeBlanc, M. M. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility / M. M. LeBlanc, R. C. Causey // *Reprod. Domest. Anim.* - 2009, - Vol. 44, Suppl. 3. - P.10–22.

212. LeBlanc, M. M. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis / M. M. LeBlanc, L. Neuwirth, A. C. Asbury, T. Tran, D. Mauragis, E. Klapstein // *J. Equine Vet.* -1994. - Vol. 26. -P.109–113.
213. LeBlanc, M. M. *The Mare* / M. M. LeBlanc, C. Lopate, D. Knottenbelt, R. Pascoe // *Equine Stud Farm Medicine and Surgery.* - London: Elsevier, 2003. - P.113-212.
214. Lehmann, J. Morpho-functional studies regarding the fertility prognosis of mares suffering from equine endometrosis / J. Lehmann, C. Ellenberger, C. Hoffmann, F. W. Bazer, J. Klug, W. R. Allen, H. Sieme, H.A. Schoon // *Theriogenology.* – 2011.- Vol. 76, № 7. - P.1326-1336.
215. Liu, I. K. Uterine defense mechanisms in the mare /I. K. Liu // *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.* -1988. - Vol. 4. - P. 221–228.
216. Loomis, P. Heat Stress and Equine Reproduction [Электронный ресурс] / P. Loomis, - 2014.- Режим доступа: <http://info.selectbreeders.com/>
217. Love, C. C. Endometrial biopsy / C. C. Love, A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, D. D. Varner // *Equine Reproduction.* - 2nd Edit. - Blackwell Publishing Ltd., 2011. - P. 1929–1939.
218. Love, C. C. Ovarian abnormalities/A.O. McKinnon, E.L. Squires, W.E. Vaala, D.D. Varner// *Equine Reproduction.* 2 Edition. Blackwell Publishing Ltd.-2011.- P. 27-28
219. Lunelli, D. Collagen types in relation to expression of estradiol and progesterone receptors in equine endometrial fibrosis / D. Lunelli, S. M. Cirio, S. C. Leite, C. E. Camargo, L. E. Kozicki // *Bioscience and Biotechnology.* - 2013. - Vol. 4. - P. 599-605.

220. Mansour, G. D. Histomorphometry of epithelial structures of the mare's endometrium / G. D. Mansour, A. M. R. Ferreira, F. Tavares, M. Henry // *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. - 2004.- Vol. 11, №1/2. - P. 44–48.
221. Mansour, G. D. Immunohistochemical study of equine endometrial extracellular matrix during the oestrous cycle / G.D. Mansour, L. Moreira, A.M.R. Ferreira // *J. Comparative Pathology*. – 2003. - Vol. 129, №4, - P.316-319.
222. Mansour, G. D./ Expression of proliferating cell nuclear antigen in the endometrium of mares during estrus and at early diestrus / G. D. Mansour, L. Moreira, A. M. R. Ferreira // *Brazilian J. Veter. Research Animal Sci*. - 2015. - Vol. 52 No. 4. - P. 356-362.
223. McCue, P. M. Endometrial Biopsy/ P. McCue // *Diplomate American College of Theriogenologists*.
224. McCue, P. M. Microbiology: Microbial Culture / P. McCue, J. Bishop, // *Equine Reproductive Procedures*. - John Wiley & Sons, 2014. - P.47-50.
225. McCue, P. M. Granulosa cell tumors of the equine ovary/ P. M. McCue, J. F. Roser, C. J. Munro [et al.] // *Vet. Clin. North Am. Equine Pract*. - 2006. - Vol. 22, № 3. - P.799–817.
226. McCue, P. M. Chapter 222. Ovarian abnormalities / P. M. McCue, A. O. McKinnon // *Equine reproduction*. - 2nd Edition. - Ames. Iowa: Wiley-Blackwell publishing, 2011. – P. 2123-2136.
227. McCue, P. M. Palpation of the Reproductive Tract of the Non-Pregnant Mare / P. McCue // *Equine Reproductive Procedures*. – John Wiley & Sons, 2014. - P.22-25.
228. McCue, P. M. Ultrasound Evaluation of the Non-Pregnant Mare / P. M. McCue // *Equine Reproductive Procedures*. - John Wiley & Sons, 2014. - P.26-31.

229. McKinnon, A. O. Chapter 223. Uterine Abnormalities / A. O. McKinnon, P. M. McCue // *Equine reproduction*. - 2nd Edition. - Ames. Iowa: Wiley-Blackwell publishing, 2011. –P. 2137-2161.
230. McKnight, J. D. The use of endometrial biopsy in the infertile mare / J. D. McKnight, R. B. Miller // *Can. Vet. J.* -1981. - Vol. 22, №3. - P.72-76.
231. Merkt, H. Abortions and twin pregnancies in Thoroughbreds: Rate of occurrence, treatment and prevention / H. Merkt, W. Jochle // *J. Equine Vet. Sci.* -1993. - Vol. 13. - P. 690–694.
232. Mortensen, C. Effects of exercise on embryo recovery rates and embryo quality in the horse / C.C. Mortensen, Y.H. Choi, K. Hinrichs, N. Ing, D. Kraemer, S. Vogelsang, M. Vogelsang // *Anim. Reprod. Sci.* – 2006. - Vol. 94. - P. 395–397.
233. Nagel, C. Road Transport of Late-Pregnant Mares Advances the Onset of Foaling / C.Nagel, M. Melchert, G.E. Aurich, C. Aurich // *J. Equine Veter. Sci.*-2019. - Vol. 86. - P.102894.
234. Newcombe, J.R. Age, body weight, and pregnancy loss / J. R. Newcombe, M.C. Wilson// *J Equine Vet Sci.* – 2005. - Vol. 25. - P.188–194.
235. Newcombe, J.R. Embryonic loss and abnormalities of early pregnancy / J.R. Newcombe // *J. Equine Vet. Educ.* - 2000. - Vol. 12. - P. 88–101.
236. Nielsen, J.M. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy / J.M. Nielsen // *Theriogenology*. - 2005. – Vol. 64, №2. - P.510-518.
237. Overbeck, W. Comparison of cytological and histological examinations in different locations of the equine uterus-an in vitro study / W. Overbeck, K. Jäger, H.-A. Schoon, T.S. Witte // *Theriogenology*. - 2013.- Vol. 79, №9. - P. 1262-1268.

238. Overbeck, W. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares / W. Overbeck, T.S. Witte, W. Heuwieser // *Theriogenology*. – 2011. – Vol. 75, №7. – P. 1311-1318.
239. Oxender, W.D. Photoperiod initiation of estrus and ovulation in seasonality anestrus mares / W.D. Oxender, P.A. Noden // *Proc. 8th Intern. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem.* - Krakow, 1978. - Vol. 3. The physiology of reproduction - P. 190-195.
240. Palmer, E. Use ultrasonic echography in equine gynecology / M. A. Draincourt, E. Palmer, M. A. Draincourt // *Theriogenology*. – 1980. - Vol.13. - P.203-216.
241. Pascoe, D. R. Pregnancy diagnosis and management of twins / D. R. Pascoe // *Proc. Bain-Fallon Memorial Lectures.* - Sydney: AEVA, 1997. – Vol.19. *Equine Reproduction.* - P.103-115.
242. Pascoe, R. R. Methods for the treatment of twin pregnancy in the mare. *Equine/ R. R. Pascoe // Vet. J.* -1983. - Vol.15. - P.40–42.
243. Perez-Martin, C. C., / C. C. Perez-Martin, G. Vizquete, C. Borge and J. J. Galisteo // *Acta Veter. Hungarica.* -2018.- V. 66(3). -P.462-473
244. Potter, J. T. Embryo survival during early gestation in energy deprived mares / J. T. Potter, J. L. Kreider, G.D. Potter, D.W. Forrest, W. L. Jenkins, J.W. Evans // *J. Reprod. Fertil.* - 1987.- Vol.35 Suppl.- P. 715–16.
245. Quartuccio, M. Endometrial Cytology During the Different Phases of the Estrous Cycle in Jennies / M. Quartuccio, S. Cristarella, P. Medica // *Animals.* -2020. - Vol.10, №6. - P.1062.
246. Raudsepp, T. Ten years of the horse reference genome: Insights into equine biology, domestication and population dynamics in the post-genome era/ T. Raudsepp, C. J. Finno, R. R. Bellone, J. L. Petersen//*Anim. Genet.* - 2019. - Vol.50. - P. 569–597.

247. Renaudin, C. D. Transrectal ultrasonographic diagnosis of ascending placentitis in the mare: a report of two cases / C.D. Renaudin, I. K.M. Liu, M.H.T. Troedsson, M. D. Schrenzel // *Equine Vet. Educ.* - 1999. - Vol.11. - P. 69–74.
248. Ricketts, S.W. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease / S.W. Ricketts, S. Alonso // *Equine Vet. J.*-1991.- Vol.23, №1. - P. 185-188.
249. Ricketts, S. W. The technique and clinical application of endometrial biopsy in the mare / S. W. Ricketts // *Equine Vet. J.* -1975. – Vol.7, №2. - P.102-108.
250. Ricketts, S.W. Uterine and clitoral cultures / S.W. Ricketts, A. Young, E.B. Medici// Mc. Kinnon, A.O. *Equine reproduction* / A. O. Mc. Kinnon, J.L. Voss. - Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. - P.234-245.
251. Roberts, C. J. Termination of twin gestation by blastocyst crush in the broodmare / C.J. Roberts // *J. Reprod. Fertil.* -1982. - Vol.32 Suppl. - P.447–449.
252. Roth, Z. Effects of heat stress on ovarian functions and embryonic development: mechanism and potential strategies to alleviate these effects in dairy cows / Z. Roth // *Bioscientifica Proceedings.* - 2019. – Vol.8. – P.15-33.
253. Sawyer, C. H. *Endocrinology and physiology of reproduction* / C. H. Sawyer. - New York: Plenum Press, 1987. - 359 p.
254. Schlafer, D. H. Equine endometrial biopsy: enhancement of clinical value by more extensive histopathology and application of new diagnostic techniques / D.H.Schlafer // *Theriogenology.* - 2007. - Vol.68, №3. - P.413-22.
255. Schoon, H.-A.; Schoon, D.; Klug, E. Uterusbiopsien als Hilfsmittel für Diagnose und Prognose von Fertilitätsstörungen der Stute / H.-A. Schoon, D. Schoon, E. Klug // *Pferdeheilkunde.* – 1992. – Bd. 8. – S.355–362.
256. Seaborn, E. The estrous cycle in the mare and some associated phenomena / E. Seaborn// *Anat. Rec.* - 1925.- Vol.30.- P. 277–287.

257. Sertich, P. L. Intrauterine diagnostic procedures /P. L. Sertich, J. C. Samper, J. F. Pycock, A. O. McKinnon // Current therapy in equine reproduction. – Saunders: Elsevier, 2007.- P. 36-43.
258. Sheerin, P. C. Diagnostic efficiency of transrectal ultrasonography and plasma progesterin profiles in identifying mares at risk for premature delivery/ P.C. Sheerin, S. Morris, A. A. Kelleman, R. Stawicki, B. R. Sheerin, M. M. LeBlanc // Proc. American Association Equine Pract. Focus in Equine Reproduction. – 2003.- P. 22–23.
259. Silva, E. S. M. Expression of receptors for ovarian steroids and prostaglandin E2 in the endometrium and myometrium of mares during estrus, diestrus and early pregnancy / E. S. M. Silva, K. E. Scoggin, I. F. Canisso, M. H. T. Troedsson, E. L. Squires, B. A. Ball, // Anim. Reprod. Sci. – 2014. - Vol.151. - P.169-181.
260. Silva, L. A. Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares / L. A. Silva, E. L. Gastal, M.O. Gastal, M. A. Beg, O.J Ginther // Anim. Reprod. – 2006. - Vol.3. - P.339-346.
261. Sitters, S. Digital Examination of the Vagina/Cervix / S. Sitters, J. Dascanio, P. M. McCue // Equine Reproductive Procedures. - New York: John Wiley & Sons, 2014. - P. 38-40.
262. Snider, T. A. Equine endometrial biopsy reviewed observation, interpretation, and application of histopathologic data/T. A. Snider, C. Sepoy, G. R. Holyoak// Theriogenology. - 2011. - Vol.75, №9. - P. 1567–1581.
263. Troedsson, M. H. T. Transrectal ultrasonography of the placenta in normal mares and mares with pending abortion: a field study / M. H. T. Troedsson, C.D. Renaudin, W. W. Zent, J. V. Steiner // Proceedings of the American Association of Equine Practitioners. - 1997. - P. 256–258.

264. Troedsson, M.H.T. Clinical ultrasonographic evaluation of the equine placenta as a method to successfully identify and treat mares with placentitis / M. H. T. Troedsson, W.W. Zent // Proc. Workshop on the Equine Placenta. – 2004.-P. 66–67.
265. Troedsson, M. H. T. Correlations between histologic endometrial lesions in mares and clinical response to intrauterine exposure with *Streptococcus zooepidemicus* / M. H. T. Troedsson, J. D. M. Marcos, K. M. L. Irwin // J. Am. Vet. Res. - 1993. - Vol.4. - P.570–572.
266. Troedsson, M.H.T. Diseases of the uterus / M. H. T. Troedsson, N.E. Robinson(ed.) // Current Therapy in Equine Medicine. - 4th ed. - Saunders, 1997. - P. 517-523.
267. Troedsson, M.H.T. Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen / M. H. T. Troedsson, K. Loset, A. M Alghamdi, B. Dahms, B. G. Crabo //Anim. Reprod. Sci.– 2001. - Vol.68. - P. 273–278.
268. Van Raden P. M. Effects of nonadditive genetic interactions, inbreeding, and recessive defects on embryo and fetal loss by seventy days / P. M. Van Raden, R. H. Miller // J. Dairy Sci. - 2006. - Vol.89. - P. 2716–2721.
269. Vanderwall, D. K. Early embryonic loss in the mare / D. K. Vanderwall // J. Eq. Ve.t Sci. - 2008. - Vol.28.- P. 691–702.
270. Vasquez, J. J. Influence of environmental temperature, exercise, semen type and ovulation characteristics on reproductive performance in a commercial embryo transfer program /J. J. Vasquez, A. Garcia, P. H. Kass, I. K. M. Liu, B. A. Ball // Anim. Reprod. Sci. - 2010. - Vol.121. - P. 284-285.
271. Vogelsang, S. G. Influence of donor parity and age on the success of commercial equine embryo transfer / S. G. Vogelsang, M. M. Vogelsang // Equine Vet. J. -1989. - Vol.8 Suppl. - P.71–72.

272. Waelchli, R. O. Endometrial biopsy in mares under nonuniform breeding management conditions: Prognostic value and relationship with age / R. O. Waelchli // *J. Can. Vet.* - 1990. - Vol.31, №5. - P. 379-384.
273. Walter, I. Association of endometriosis in horses with differentiation of periglandular myofibroblasts and changes of extracellular matrix proteins. / I. Walter, J. Handler, M. Reifinger, C. Aurich // *Reproduction.* - 2001. - Vol.121. -P.581-586.
274. Walter, I. Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and tissue transglutaminase (TG 2) are expressed in periglandular fibrosis in horse mares with endometriosis / I. Walter, J. Handler, I. Miller, C. Aurich // *Histol Histopathol.* -2005. - Vol.20. - P. 1105-1113.
275. Watson, E. D. Post-breeding endometritis in the mare / E. D. Watson // *Anim. Reprod. Sci.*– 2000. - Vol.60–61. - P.221–232.
276. Watson, E.D. Progesterone and estrogen receptor distribution in the endometrium of the mare / E. D. Watson, S. B. Skolnik, H. G. Zanecosky // *Theriogenology.* – 1992. - Vol.38. - P. 575–580.
277. Woods, G. L. Recovery and evaluation of embryos from normal and infertile mares / G. L. Woods, R. B. Hillman, D. H. Schlafer // *Cornell. Vet.* - 1986. - Vol.76. - P. 386–389.
278. Woodward, E. M. Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis / E. M. Woodward, M. Christoffersen, J. Campos, A. Betancourt, D. Horohov // *Reproduction.* –2013. - Vol.145. - P.289–296.
279. Wordinger, R. J. Influence of undernutrition on the histology and histochemistry of the bovine endometrium / R. L. Wordinger, J. F. Dickey, J. R. Hill // *J. Anim. Sd.* - 1972. - Vol.34, №3. - P. 453-459.

280. Zent, W. W. Post breeding uterine fluid accumulation in a normal population of Thoroughbred mares: a field study / W. W. Zent, M. H. T. Troedsson, J-L. Xue // Proc. annual convention of the American Association of Equine Practitioners. – 1998. - Vol.44. - P. 64-65.

## СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

## Перечень рисунков

Рисунок 1 - Поперечный срез стенки матки кобылы [200]. -С. 38.

Рисунок 2 - Ректальное, ультразвуковое исследование внутренних половых органов кобылы. -С. 51.

Рисунок 3- Схема исследований. – С.52.

Рисунок 4 - Проведение отбора проб эндометриальной ткани для гистологического исследования. а) щипцы для биопсии б)- отработка на трупном материале (аутопсия), в)-забор биоптата, г)- извлечение биоптата из корзины инструмента непосредственно перед фиксацией. - С. 54.

Рисунок 5- Средние показатели воспроизводства кобыл по возрастным периодам в 4 конных заводах. С.-65.

Рисунок 6- Показатели воспроизводства маток-долгожительниц в Чесменском конном заводе по возрастным периодам. - С.68.

Рисунок 7 - Складка эндометрия кобылы на гистосрезе. Слои эндометрия: компактный - SC (Stratum Compactum) и губчатый - SS (Stratum Spongiosum) (x400). -С. 70.

Рисунок 8 - Эндометрий молодой кобылы (5 лет) в фазе диэструса. ПЭ-поверхностный эпителий, ЖЭ – железистый эпителий (x400). С. 71.

Рисунок 9 -Эхограммы тела (а, в) и рогов (б, г) матки кобыл в фазе эструса (а,б) и диэструса (в,г). -С. 72.

Рисунок 10- Гистологический срез эндометрия: молодая кобыла (4 года), (а)-эструс, (б)-диэструс. - С. 73.

Рисунок 11 - Гистологический срез эндометрия: кобыла старшего возраста (14 лет), а) в эструсе, б) в диэструсе - С. 74.

Рисунок 12 – Структурные изменения в эндометрии возрастных кобыл: растянутые железы (РЖ), фиброзные кольца вокруг желез (ПГФ), эозинофильный секрет (ЭС), геморрагическое пропитывание стромы (ГПС). -С. 75.

Рисунок 13 - Многорядность ядер (сплошная стрелка) и вакуолизация цитоплазмы (пунктирная стрелка) в клетках железистого эпителия (x400). -С. 75.

Рисунок 14- Гистологический срез эндометрия II категории ( по Кенни). Острая форма эндометрита. Окраска Гематоксилин Эозин. а) Инфильтрация субэпителиального пространства PMN-клетками. (x200), б) Инфильтрация PMN-клетками межклеточного пространства (x400). - С.76.

Рисунок 15 - Гистологический срез эндометрия IIВ -категория. Окраска Гематоксилин Эозин. а) перигландулярный фиброз, воспалительная инфильтрация стромы PMN-клетками, б) периваскулярный фиброз (x400). -С. 77.

Рисунок 16 - Гистологический срез эндометрия III категории ( по R.Kenny) у кобылы 20 лет. а) Эндометриальная киста, б), в) расширение эндометриальных желез. Окраска Гематоксилин Эозин. (x400). -С.77.

Рисунок 17 - Эндометрий возрастных кобыл. Перигландулярный фиброз (ПГФ) (пунктирная стрелка). Растяжение эндометриальной железы (РЖ) (сплошная стрелка). Окраска Гематоксилин Эозин (x400). -С. 78.

Рисунок 18 - Гистологический срез эндометрия III категории (по R.Kenny). Кобыла 20-ти летнего возраста. Перигландулярный фиброз (ПГФ), гнездование желез (ГЖ), периваскулярный фиброз (ПВФ). Окраска Гематоксилин Эозин. а), б) увеличение x200, в), г) (x400) - С 79.

Рисунок 19 - Гистологический срез эндометрия III категории (по R.Kenny). железисто-фиброзный полип (кобыла 20 лет), пронизан кровеносными сосудами, железы в минимальном количестве. Окраска Гематоксилин Эозин, (x400) - С. 79.

Рисунок 20 - Гистологический срез эндометрия III категории (по R.Kenny) (кобыла 20 лет), лимфатические лакуны (ЛЛ), периваскулярный фиброз (ПВФ), КС- кровеносный сосуд. Окраска Гематоксилин Эозин, (x400)-С. 80.

Рисунок 21 - Гистологический срез эндометрия молодой кобылы (4 года). а) Гематоксилин и Эозин, б) Ван Гизон, в) Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим (x400)-С. 83.

Рисунок 22 - Гистологический срез эндометрия кобылы (13 лет). а) растянутые железы (гематоксилин и эозин), б) скопление фибрина (интенсивно-розовый или пурпурно-красный цвет) вокруг желез (Ван Гизон), в) фиброзные отложения (синий), вокруг желез и в строме. (Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим) г) эндометриальная киста (трихром по Массону) (x400) - С. 84.

Рисунок 23 - Эндометрий возрастных кобыл. а) Растянутые эндометриальные железы (ЭЖ) (Гематоксилин и Эозин, (x400), б) Фиброзное отложение вокруг желез (малиновый цвет), гнездование. (Ван Гизон, x200), в) Фиброзное отложение (Ф) вокруг желез (синий цвет), в строме и вокруг кровеносных сосудов (КС), гнездование (ГЖ). (Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим, x200) - С. 84.

Рисунок 24- Гистосрез эндометрия кобыл (10, 13 и 20 лет). Фиброзные отложения (Ф) вокруг кровеносных сосудов (КС) а) окраска Гематоксилин Эозин, (кобыла-10 лет), б) окраска по методу Ван Гизон, (кобыла-13 лет), в) Трихромный краситель по Массону с анилиновым синим, (кобыла – 20 лет). (x400) - С.85.

Рисунок 25 - Измерение структурных элементов эндометрия: Ж- железы, ЖЭ –железистый эпителий, ВЖЭ – высота железистого эпителия, ДЖ – диаметр желез, ПЭ – поверхностный эпителий, ВПЭ – высота поверхностного эпителия. (x400) - С. 87.

Рисунок 26 - Эндометрий кобылы в фазе а) эструса и б) диэструса. (x40) - С. 88

Рисунок 27 - Уровень прогестерона и плотность желез в губчатом слое эндометрия у кобыл в эструсе и диэструсе - С. 92.

Рисунок 28 - Сравнение величин диаметра и плотности желез в губчатом слое эндометрия в эструсе (Дэ, Пэ) и диэструсе (Дд, Пд) у молодых и возрастных кобыл – С.94.

Рисунок 29 - Связь между эндометриальным показателем (ЭП) и плодовитостью кобыл - С.95.

Рисунок 30 – Связь между эндометриальным показателем (ЭП) и возрастом кобыл - С. 96.

Рисунок 31 - Истечения из вульвы у кобылы - С.97.

Рисунок 32 - УЗИ: Жидкость (а,б,в) и воздух (г) в матке кобыл.– С. 98.

Рисунок 33 - Цервикальный мазок в эстральную фазу полового цикла: а) цервикальная слизь в эструсе, б) эпителиальные клетки с «хвостом» цитоплазмы (стрелки) в) вагинальная эпителиальная клетка. Окраска Май-Грюнвальд (x900) - С. 99.

Рисунок 34- Цитологический мазок. Цервикальный мазок. Ядра эпителиальных клеток период диэструса. Окраска Май-Грюнвальд (x1000) -С.100.

Рисунок 35 - Цитологический препарат. а) Гнойный эндометрит. «Нейтрофильное поле», б) кокковая микрофлора в мазке, в) дегенеративная форма эпителия. Май-Грюнвальд, (x1000) - С.101.

Рисунок 36 - Цитологический препарат. Грибковая инфекция. Окраска Май-Грюнвальд, (x1000). -С. 101.

#### Перечень таблиц

Таблица 1 - Показатели воспроизводства кобыл в 4 российских конных заводах орловского рысистого направления. – С.62.

Таблица 2- Показатели воспроизводства племенных кобыл орловской рысистой породы в разном возрасте. – С.63.

Таблица 3 – Показатели воспроизводства кобыл в 4 российских конных заводах орловского рысистого направления по возрастным периодам. – С.64.

Таблица 4 – Показатели воспроизводства кобыл, продуцирующих в конных заводах более 10 лет, по возрастным периодам. – С.66.

Таблица 5 – Плодовитость кобыл-долгожительниц маточного состава Чесменского конного завода по возрастным периодам. – С.68.

Таблица 6 – Цвет структурных элементов при дифференциальном окрашивании гистологических срезов эндометрия кобыл тремя методами -С.82.

Таблица 7- Сравнительная характеристика классических и специальных методов окраски гистосрезов при различных патологиях эндометриальной ткани кобыл - С. 86.

Таблица 8 - Гистоморфометрические показатели в компактном и губчатом слоях эндометрия у молодых и возрастных кобыл в эструсе и диэструсе -С. 88.

Таблица 9 - Влияние половых гормонов на структуру эндометрия кобыл. -С. 91.

Таблица 10 - Корреляционные связи по методу Спирмена между возрастом, уровнем гормонов и морфометрическими показателями эндометрия кобыл (n=10) - С. 92.

Таблица 11- Клеточный состав цервикальных мазков кобыл в норме и при различных формах эндометрита - С. 99.

Таблица 12 - Результат случки кобыл разного возраста в зависимости от степени фиброзной дегенерации эндометрия, выявленной с помощью анализа гистосрезов, окрашенных различными методами - С.103.