

КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО ПО РЕПРОДУКЦИИ ЖИВОТНЫХ

Крупный рогатый скот

Часть 1 и 2

ВК3Репр15R2



КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО ПО РЕПРОДУКЦИИ ЖИВОТНЫХ

Крупный рогатый скот

ЧАСТЬ 1 И 2

Рада представить вам новое, 10-е издание Руководства по репродукции животных, которое нашло свое место на книжных полках и в сердцах наших коллег, практикующих ветеринаров, преподавателей, а также студентов, изучающих ветеринарию — тех, для кого управление репродукцией домашних животных стало частью ежедневной работы, и тех, кто разделяет мою не угасающую страсть к изучению воспроизводства.

Цель этой книги — рассказать о последних научных разработках и помочь при их воплощении в конкретные решения, которые будут применяться в каждодневной работе ветеринаров и принесут пользу как ветеринарии в целом, так и нашим клиентам — владельцам домашних животных и фермерам.

Возвращение к работе над Руководством стало для меня прекрасным опытом, однако эта работа была бы невозможной без помощи моих коллег, которые с энтузиазмом посвятили свое время этому проекту. Я хотела бы выразить уважение и признательность доктору Линде Хорспул за внесение редакторских правок и изменений в главы 7, 8 и 11 и доктору Марку Мартенсу за редактирование главы 4.

Я также в долгу перед доктором Дэвидом Пеппером, который помог мне с редактурой и вычиткой текста на английском языке.

Надеюсь, что Руководство окажется для вас полезным источником информации по этому интереснейшему как с научной, так и с практической точки зрения вопросу.

*Моника Пташинская (Monika Ptaszynska),
редактор 10-го издания*

ISBN 90-801886-6-2

Издание Intervet International bv

060200.12.09

10-е издание, исправленное и дополненное, 2009 г.

Перевод: Давыдова Н.Ю., 2012 г.

1. ФИЗИОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

1.1. Введение.....	5
1.2. Нервная система, гормональная система и клеточные мессенджеры.....	5
1.3. Регулирование репродуктивной функции самки.....	8
1.5. Сезонность.....	17
1.6. Дополнительная литература.....	19

2. РЕПРОДУКЦИЯ КРС

2.1. Физиология.....	20
2.2. Управление оплодотворяемостью в стаде.....	28
2.2.1. Оценка оплодотворяемости.....	28
2.2.2. Экономические аспекты.....	29
2.2.3. Диагностика стельности.....	31
2.2.4. Эструс и выявление признаков половой охоты.....	38
2.2.5. Время осеменения.....	41
2.3. Регулирование эструса.....	43
2.3.1. Причины, по которым следует регулировать наступление эструса.....	43
2.3.2. Способы регулирования эструса.....	45
2.3.3. Факторы, оказывающие воздействие на оплодотворяемость осемененных коров.....	66
2.3.3.1. Задержка овуляции.....	67
2.3.3.2. Неблагоприятная среда в матке.....	68
2.3.3.3. Важность ранней функции желтого тела для диагностики стельности и ее сохранения.....	69
2.3.3.4. Влияние теплового стресса на эффективность репродукции у КРС.....	71
2.3.4. Улучшение показателей оплодотворяемости во время и после искусственного осеменения.....	76

2.4. Нарушения репродуктивной системы	89
2.4.1. Физиологические аспекты послеотельного периода. Сокращение матки.....	90
2.4.2. Задержание последа	92
2.4.3. Маточные инфекции	94
2.4.4. Анэструс.....	108
2.4.4.1. Лечение анэструса у КРС	110
2.4.5. Киста яичников	114
2.4.6. Потеря стельности	118
2.4.7. Корова, нуждающаяся в повторном осеменении.....	122
2.4.8. Аборты	122
2.4.9. Нежелательная стельность	137
2.5. Стимуляция отела	138
2.6. Бык-производитель	139
2.6.1. Оценка пригодности быка к осеменению	139
2.6.2. Бесплодие.....	141
2.7. Пересадка эмбриона	143
2.7.1. Подготовка коровы-донора	146
2.7.2. Подготовка коровы реципиента.....	148
2.8. Использование сексированного семени для осеменения	149
2.9. Многоплодная стельность	150
2.10. Дополнительная литература	151

1. Физиология репродукции млекопитающих

1.1. Введение

В репродуктивный процесс млекопитающих вовлекаются две регуляторные системы. Специфическую роль играет как эндокринная, так и нервная система. Тонкое взаимодействие между этими двумя системами обуславливает целый каскад событий, который в конечном итоге приводит к рождению и успешному выращиванию здорового потомства. В этой главе приводятся основы теории репродуктивных процессов и примеры регулирования размножения у коров, иллюстрирующие взаимосвязи между различными стадиями процесса. Более подробная информация о репродукции у других видов животных представлена в соответствующих главах. В кратких разделах в конце данной главы рассматриваются эндокринные процессы у самцов, а также некоторые аспекты, связанные с сезонностью размножения.

1.2. Нервная система, гормональная система и клеточные мессенджеры

Нервная система. Раздражители, продуцируемые окружающей средой, регистрируются органами чувств и передаются в головной мозг. Что касается репродуктивной системы, то примеры сенсорных сигналов включают информацию, получаемую посредством органов зрения (свет, образ других животных того же вида) и обоняния (половые запахи), а также посредством тактильных рецепторов (близость других животных), и передаваемую через зрительный нерв, обонятельный нерв и афферентные нервы в головной мозг. Мозг распознаёт информацию и, при необходимости, реагирует на нее, посылая импульсы по нервным волокнам в орган-мишень.

Гормональная система. Гормон можно определить как вырабатываемое железой или тканью организма химическое вещество, которое вызывает специфическую реакцию в ткани, чувствительной к гормону. Гормональная система осуществляет свое воздействие при помощи этих химических мессенджеров и регулируется комплексом обратных связей и импульсами, посылаемыми нервной системой и различными органами. Действие гормональной системы можно подразделить на типы в зависимости от способа, которым гормоны достигают клетки-мишени (Norman и Litwack, 1997).

Системные гормоны — гормоны эндокринной системы

В эндокринной системе гормон вырабатывается и хранится в специальных клетках анатомически обусловленной эндокринной железы. Эти гормоны вбрасываются в кровоток и транспортируются (часто при помощи специальных транспортирующих белков) к органу-мишени, во многих случаях удаленному от источника, вырабатывающего гормоны.

Эндокринная система включает выделительные железы, которые высвобождают свои гормоны в общий кровоток (напр. инсулин) или локально (напр. гонадолиберин).

Паракринные гормоны

Так называемые паракринные гормоны воздействуют на клетки или органы, находящиеся в непосредственной близости. Например, интерстициальные клетки Лейдига вырабатывают тестостерон, оказывающий воздействие на прилежащие семенные канальцы.

Аутокринные гормоны

Термин «аутокринный» используется для описания процесса, при котором выделяющая гормон клетка является одновременно и клеткой-мишенью. В качестве примера можно привести простагландины.

Нейромедиаторы

Сегодня нейромедиаторы все чаще рассматриваются как гормоны, то есть считаются гормональными мессенджерами. Нейромедиаторы, такие как ацетилхолин, могут рассматриваться в качестве паракринных гормонов.

До настоящего времени об эндокринных функциях было известно больше, чем обо всей остальной гормональной системе. В последние десять лет все большее внимание ученых привлекают аутокринные и паракринные функции, однако многие аспекты по-прежнему остаются невыясненными.

После достижения клетки-мишени гормон должен вызвать реакцию, которая активируется специфическими к гормону рецепторами клетки-мишени — расположенными внутри клетки или на их поверхности уникальными молекулярными структурами, каждая из которых обладает специфичной восприимчивостью к определенной гормональной конфигурации. Таким образом, рецепторы выполняют две важные функции:

- распознавание конкретного гормона клеткой-мишенью;
- превращение гормонального сигнала в специфическую для клетки реакцию.

Биохимическая структура гормональных рецепторов может быть различной, но в целом, каждый рецептор может распознавать только очень специфичный гормональный объект и взаимодействовать с ним (в отличие от взаимодействия ферментов с субстратом по модели «ключ-замок»).

Тем не менее, все рецепторы имеют два основных компонента:

а) лиганд-связывающий домен, который стереоспецифически связывает подходящий гормон;

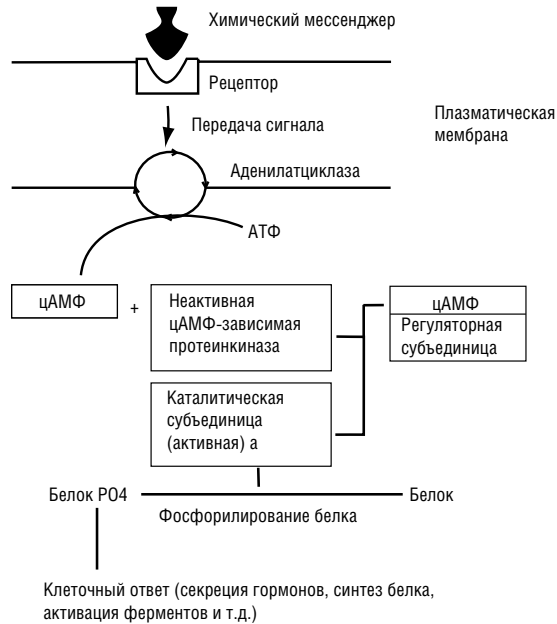
б) эффекторный домен, который распознает наличие комплекса «лиганд-связывающий домен — гормон» и активирует специфичную для данной клетки биологическую реакцию, которая обычно включает в себя активацию или инактивацию ферментов в клетках-мишенях.

Рецепторы стероидных гормонов обычно обнаруживаются в цитозоли и ядерном компартменте клетки-мишени, где они взаимодействуют непосредственно с ДНК. Рецепторы пептидных и белковых гормонов обычно располагаются на внешней мембране клетки.

Большинству рецепторов, особенно рецепторам клеточной мембраны, для передачи сигнала требуется вторичный мессенджер. Одним из наиболее известных вторичных мессенджеров является циклический АМФ (см. рис. 1). После связывания с рецептором гормон активирует аденилатциклазную систему в клеточной мембране, и аденозинтрифосфат (АТФ) преобразуется в циклический АМФ. Циклический АМФ (цАМФ), вторичный мессенджер, в свою очередь активирует неактивную цАМФ-зависимую протеинкиназу А, которая расщепляется на активную каталитическую субъединицу и регуляторную субъединицу. Активная каталитическая субъединица протеинкиназы стимулирует фосфорилирование белка или фермента, что вызывает определенные клеточные реакции, такие как, например, синтез белка, рост или гормональную секрецию. Ввиду того, что обычно концентрация циркулирующих гормонов является низкой, рецептору требуется эффективный механизм захвата соответствующего гормона.

Действие, оказываемое выбросом эндокринного гормона, может меняться в зависимости от ряда обстоятельств. Количество и тип рецепторов клетки-мишени не является постоянным, и их образование и деградация представляет собой динамический процесс. Функцией одного гормона в клетке может быть индукция и деградация рецепторов для другого мессенджера. Более того, при избытке гормонов рецепторы могут блокироваться. В таком случае дополнительная стимуляция дозой гормонов, которая в обычных условиях является в высшей степени эффективной, не приводит к необходимым результатам. Многие патологические состояния в репродуктивной сфере вызваны нарушениями на уровне рецепторов.

Рис.1. цАМФ в качестве вторичного мессенджера



1.3. Регулирование репродуктивной функции самки

Большая часть жизни типичной половозрелой самки проходит в стадии полового покоя (анэструс). Период полового созревания, а также периоды, связанные с беременностью и лактацией, в общей сложности занимают больше времени, чем относительно краткие периоды половой активности.

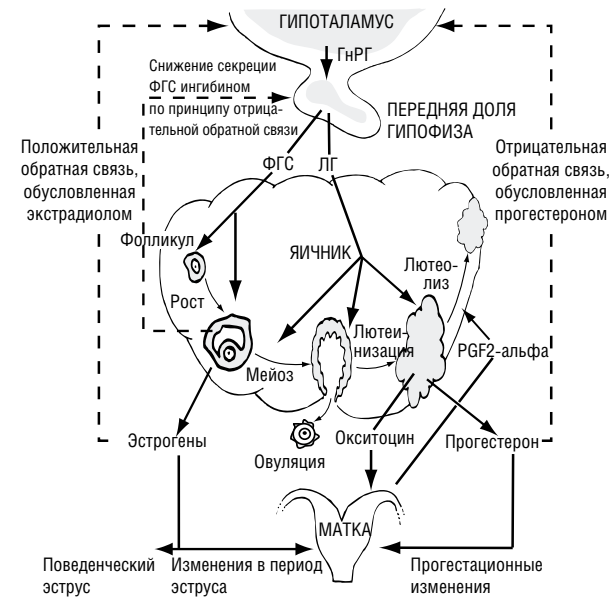
Тем не менее основное внимание уделяется именно периодам половой активности. В это время человек чаще всего вмешивается в репродуктивный процесс (допускает или не допускает размножение, делает выбор между самцом и искусственным осеменением, осуществляет управление эструсом, индукцию овуляции и т. д.). В течение этого периода также проявляется большинство проблем, связанных с разведением домашних животных.

Общий принцип гормональной регуляции репродуктивного процесса одинаков для различных видов домашних животных, однако существуют и некоторые различия. У отдельных видов животных эструс происходит не-

сколько раз в год (крупный рогатый скот, свиньи), тогда как у других видов полиэструс носит сезонный характер (лошади, овцы, кошки). У собак эструс имеет место один раз в год.

Существуют также различия в механизме овуляции. У большинства видов она спонтанна, однако у кошки, крольчихи или верблюдицы овуляция индуцируется стимуляцией сенсорных рецепторов во влагалище и шейке матки при коитусе. Специфические аспекты репродуктивного процесса у других видов млекопитающих рассматриваются в других главах, затрагивающих физиологию различных видов животных. В этом разделе приводится лишь общий обзор функций и взаимодействий наиболее важных гормонов, которые участвуют в репродукции (а также их секреторных тканей и тканей-мишеней), на примере полового цикла коровы.

Рис. 2. Взаимосвязи в рамках регулирования репродуктивной функции самки



Репродуктивный процесс у млекопитающих регулируется сложным и лишь частично изученным каскадом последовательных совокупных действий центральной нервной системы, ряда секреторных тканей, тканей-ми-

шеней и некоторых гормонов. На Рис. 2 схематически представлены самые важные органы и гормоны, вовлекаемые в репродуктивный процесс у самки млекопитающих, а также некоторые их функции и взаимодействия.

Центральная нервная система (ЦНС) получает информацию из внешней среды, окружающей животное (визуальные, обонятельные, звуковые и тактильные сигналы) и направляет эту информацию, в той степени, в которой она касается размножения, в гонады через гипоталамо-гипофизарно-яичниковую систему. Гипоталамус и гипофиз тесно связаны с вентральной частью головного мозга. Обе эти структуры не только продуцируют гормоны, но и являются органами-мишенями, образуя сложную гомеостатическую систему обратной связи, с помощью которой они регулируют скорость выделения собственных гормонов.

После получения сигналов из ЦНС эндокринные нейроны в гипоталамусе продуцируют один из рилизинг-гормонов, гонадотропин-рилизинг-гормон (гонадолиберин, ГнРГ), — относительно простой пептид, состоящий из 10 аминокислот (декапептид). Поскольку ГнРГ у млекопитающих высококонсервативен, технология регулирования фертильности на основе данного гормона нашла широкое применение у различных видов.

Этот гормон транспортируется через гипоталамо-гипофизарную портальную систему в переднюю долю гипофиза, органа-мишени. Здесь он стимулирует специальные клетки гипофиза, которые выделяют фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ). Высвобождение гормонов ГнРГ, ФСГ и ЛГ происходит не на постоянном уровне, а в виде последовательности пиков. При модулировании выделительной деятельности гипофиза решающее значение имеет амплитуда и частота пиков ГнРГ, а не постоянная концентрация гормона. Как внутренние (механизм обратной связи с гонадами), так и внешние факторы (фотопериод, феромоны, питание и метаболический статус) оказывают первичное воздействие на репродуктивную модель путем модулирования выделения ГнРГ гипоталамусом.

Как уже упоминалось, ГнРГ стимулирует выделение ФСГ и ЛГ клетками гипофиза. Гонадотропины ФСГ и ЛГ принадлежат к суперсемейству гликопротеинов. Они состоят из двух различных субъединиц, альфа и бета, которые не связаны ковалентно. ФСГ и ЛГ выделяются в организме не одновременно, поскольку регулируются независимо друг от друга. ГнРГ чрезвычайно важен для контроля выделения ЛГ. Поэтому пульсообразное выделение ЛГ гипофизом сопровождается пульсообразное выделение ГнРГ гипоталамусом. Стимуляция посредством ГнРГ немедленно включает высвобождение и биосинтез ЛГ, восполняющий его запасы. Содержание ЛГ в гипофизе у большинства млекопитающих до 10 раз выше, чем содержание ФСГ.

При этом синтез ФСГ модулируется различными гонадными факторами, а гонадотропин, как выяснилось, необходим для его поддержания. Запасы ФСГ в гипофизе малы, и его выделение отражает уровень и продолжительность его биосинтеза.

ГнРГ выделяется гипоталамусом в виде последовательности коротких выбросов, разделенных периодом покоя. Пульсообразная природа выделения ГнРГ гарантирует, что орган-мишень постоянно подвергается стимуляции гормонами: постоянная стимуляция высокой концентрацией гормонов приводит к снижению чувствительности клеток-мишеней. Экспериментально доказано, что постоянный ввод ГнРГ в высокой концентрации ведет к прогрессирующему снижению реакции гипофиза на ГнРГ. Это снижение чувствительности скорее всего вызвано уменьшением количества рецепторов ГнРГ в мембране клеток гипофиза.

На уровень ниже в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системе ФСГ стимулирует развитие фолликулов яичников. Во внутренней оболочке (theca interna) фолликула ЛГ стимулирует синтез андростендиона из холестерина. Андростендион трансформируется в тестостерон, после чего в зернистых клетках фолликула последний под влиянием ФСГ подвергается ароматизации и преобразуется в эстрадиол-17 β . По принципу положительной обратной связи эстрадиол воздействует на гипоталамус и гипофиз, повышая частоту пульсов выброса ГнРГ. При достижении определенного порогового уровня эстрадиола гипоталамус реагирует всплеском ГнРГ, что, в свою очередь, индуцирует всплеск ЛГ, который инициирует овуляцию. Таким образом, по отношению к функции яичников ФСГ стимулирует рост фолликулов, в то время как ЛГ стимулирует их созревание, выработку эстрадиола и овуляцию. ЛГ также поддерживает образование и функционирование желтого тела на раннем этапе.

Важным результатом действия эстрадиола является и индукция симптомов эструса. Эструс можно определить как поведенческие и физические симптомы, которые сигнализируют другим животным о том, что самка находится в фертильной фазе цикла и готова к спариванию.

Зернистые клетки также продуцируют ингибин. Значение данного гормона выяснено не в полной мере. Свое название он получил вследствие обеспечения отрицательной обратной связи в отношении выброса ФСГ из гипофиза, что позволяет контролировать развитие фолликула.

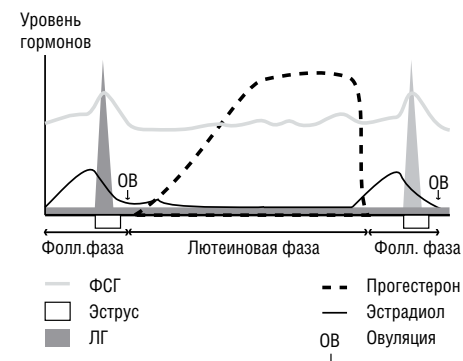
После овуляции остатки фолликула под влиянием ЛГ трансформируются в желтое тело, полость фолликула заполняется кровеносными сосудами, а зернистые клетки увеличиваются в размерах. Желтое тело является, прежде всего, секреторным органом, который продуцирует прогестерон и окситоцин.

Прогестерон — одна из важнейших составляющих, обуславливающих нормальный половой цикл коровы, а после оплодотворения яйцеклетки он становится основным гормоном, обеспечивающим сохранение стельности. Прогестерон ослабляет пульсообразные выбросы ГнРГ и, тем самым, ингибирует новую овуляцию. Кроме того, он готовит эндометрий к имплантации развивающегося эмбриона, а также угнетает неконтролируемые сокращения стенки матки, являющиеся опасными для стельности. Если яйцеклетка, выходящая из фолликула при овуляции, не оплодотворяется, то организм животного не получает сигнала о наступившей стельности от эмбриона. Примерно через 16 дней после овуляции эндометрий яловой матки начинает высвобождать простагландин F_{2α}.

PGF_{2α} инициирует рассасывание желтого тела; этот процесс называется лютеолиз. Механизм, посредством которого простагландины вызывают лютеолиз, в полной мере не изучен, однако он включает в себя снижение кровоснабжения желтого тела в результате сужения сосудов и воздействие простагландина F_{2α} непосредственно на лютеиновые клетки. Первичным звеном для инициации лютеолиза является крупная лютеиновая клетка стареющего желтого тела (Weem и соавт., 2006). Предполагается, что в лютеолизе также принимает участие окситоцин, вырабатываемый желтым телом. Связывание окситоцина с его рецептором в эндометрии матки ялового животного стимулирует пульсообразное выделение простагландина F_{2α}. Экспериментальные исследования, проведенные в течение последних 10 лет, доказывают, что эстрогены усиливают экспрессию окситоциновых рецепторов матки и снижают экспрессию прогестероновых рецепторов. Однако способ, посредством которого изменения в выделении эстрогена и прогестерона во время цикла эструса влияют на внутриклеточную динамику в клетках-мишенях матки, может оказаться гораздо более сложным, чем считалось до сих пор. Выделение эндометриального простагландина PGF_{2α} инициирует лютеолиз. Уровень PGF_{2α} в маточном венозном кровотоке начинает увеличиваться на 11-13-й день у овец, 13-14-й день у свиней и 16-17-й день после эструса у коров (обзор в Weem и соавт., 2006).

В результате рассасывания желтого тела концентрация прогестерона в крови падает, что снимает прогестероновую блокировку высвобождения ГнРГ из гипоталамуса. Это инициирует новую фолликулярную фазу и, в конечном итоге, развитие предовуляторного фолликула. Период созревания фолликула, эструс и овуляция, которая характеризуется выработкой эстрадиола, называется фолликулярной фазой цикла. Фаза, в которой преобладает прогестерон — от овуляции до лютеолиза, — называется лютеиновой фазой (см. рис. 3).

Рис. 3. Гормональный фон коровы во время эструса



Упомянутые в данной главе гормоны, участвующие в репродуктивном процессе, перечислены в таблице 1, где приводятся их основные функции, локализация выработки и химическая структура. Однако следует отметить, что в таблицу включены лишь некоторые из известных функций отдельных гормонов, и совершенно очевидно, что не все функции этих гормонов достаточно изучены. Мы описываем известное эндокринное действие, однако большинство гормонов оказывает также и паракринное действие, которое исследовано крайне мало. Репродуктивный процесс у самок и самцов регулируется точно настроенной взаимосвязью действий и реакций самых разных гормонов. За последние десятилетия в этой области, безусловно, были достигнуты существенные результаты, но, тем не менее, общее понимание этих сложнейших процессов по-прежнему нельзя назвать полным.

Таблица 1. Биологическая активность ФСГ у самок
(источник: Norman и Litwak, 1997)

Название	Локализация выработки	Основная функция	Химическая структура
Мелатонин	Шишковидная железа	Индикатор длины дня/ночи	Индоламин
ГнРГ	Гипоталамус	Стимулирует высвобождение гипофизом ФСГ и ЛГ	Пептид (10 аминокислот)
ФСГ	Передняя доля гипофиза	<u>Самки:</u> Стимулирует развитие фолликулов и их созревание в яичнике <u>Самцы:</u> Стимулирует сперматогенез	Гликопротеин (>200 аминокислот)
ЛГ	Передняя доля гипофиза	<u>Самки:</u> Стимулирует созревание фолликулов, индуцирует овуляцию, образование и сохранение желтого тела в яичнике <u>Самцы:</u> Стимулирует выработку тестостерона	Гликопротеин (> 200 аминокислот)
Эстрогены (эстрадиол-17β)	Яичник (зернистые клетки фолликула)	Индукцирует поведенческий эструс, стимулирует высвобождение ГнРГ перед овуляцией	Стероид
Ингибин	<u>Самки:</u> Яичник (зернистые клетки фолликула) <u>Самцы:</u> Яички (клетки Сертоли)	Ингибирует высвобождение ФСГ гипофизом (механизм обратной связи)	Пептид
Прогестерон	Яичник (желтое тело)	Подготавливает эндометрий к имплантации эмбриона, обеспечивает сохранение беременности, снижает высвобождение ГнРГ, тем самым ингибируя новые овуляции	Стероид
Простагландин F2α	Матка	Рассасывание желтого тела	Жирорастворимая кислота

1.4. Регулирование репродуктивной функции самца

Принцип размножения у самцов по своему характеру напоминает таковой у самок. Гормонами, обеспечивающими развитие и сохранение мужского фенотипа, также являются гонадотропины: ЛГ, который у самцов называется гормоном, стимулирующим интерстициальные клетки (ГСИК), и ФСГ, вырабатываемый гипофизом; андрогенные стероидные гормоны, включая тестостерон, вырабатываемый яичками, и ингибин. Женские стероидные гормоны, эстрадиол и эстрон, при определенных обстоятельствах также играют важную роль в управлении репродуктивной функцией самцов. На рис. 4 представлена схема регулирования репродукции у самцов.

Таблица 2. Биологическая активность ФСГ у самцов
(источник: Norman и Litwak, 1997)

Клетка-мишень	Воздействие
Незрелая клетка Сертоли	Стимуляция митотического деления
Зрелая клетка Сертоли	Инициирование сперматогенеза, инициирование синтеза ингибина, стимуляция выработки новых белков, включая андроген-связывающий белок (АСБ), ГнРГ-подобные пептиды, ингибирующее вещество Мюллера (ИВМ)*, активатор плазминогена и трансферрин.

* Ингибирующее вещество Мюллера — это гонадный пептидный гормон, вызывающий регрессию Мюллеровых протоков во время эмбрионального развития самца.

ЛГ стимулирует выработку тестостерона клетками Лейдига. Выделение ЛГ обратно пропорционально уровню тестостерона и эстрадиола в крови, поскольку тестостерон оказывает влияние на секрецию ЛГ по принципу отрицательной обратной связи, подавляя пульсообразное высвобождение ГнРГ из гипоталамуса.

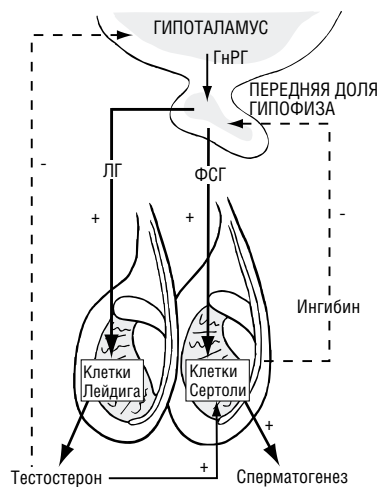
Известно, что ЛГ индуцирует биологические реакции в клетках Лейдига и Сертоли, однако ЛГ-специфичные рецепторы обнаружены только в клетках Лейдига. Это позволяет предположить, что механизм воздействия ЛГ на клетки Сертоли является паракринным. Рецепторы, специфичные к ФСГ, присутствуют в клетках Сертоли и в некоторой степени в сперматогониях.

Тестостерон (оказывающий воздействие на клетки Сертоли) также необходим для сперматогенеза. Доказано наличие функциональных андрогенных ядерных рецепторов в клетках Лейдига, Сертоли и перитубулярных клетках тканей яичек. Тестостерон и другие андрогены отвечают за обособление

и созревание репродуктивных органов самца, развитие вторичных половых признаков, а также за поведение самца, соответствующее его роли в репродуктивном процессе.

Таким образом, можно перечислить следующие основные функции клеток Лейдига: выработка тестостерона и инициирование сложных паракринных взаимодействий с семеносными тубулярными клетками и клетками Сертоли с целью оказания воздействия на сперматогенез. В ходе полового созревания клетки Сертоли созревают с точки зрения как биохимии, так и морфологии. Таким образом, формируется так называемый гематотестикулярный барьер. Клетки Сертоли задействованы в пяти важных процессах: выработка уникальных регулирующих белков, таких как андроген-связывающий белок (АСБ); питание развивающихся сперматозоидов; фагоцитоз поврежденных сперматозоидов; выработка насыщенной бикарбонатом и калием жидкости, участвующей в транспортировке зрелых клеток спермы, и выработка эстрадиола из тестостерона.

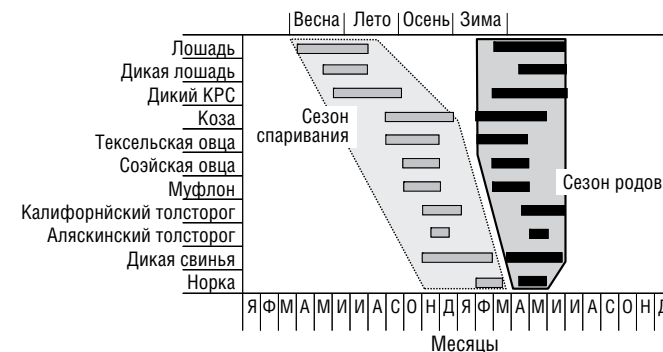
Рис. 4. Взаимосвязи в рамках процесса регулирования репродуктивной функции самца



1.5. Сезонность

В умеренных широтах животные сталкиваются с повторяющимися сезонными изменениями температуры, климата и доступности корма, что может оказать влияние на их репродуктивную деятельность. Одной из общих черт большинства диких и некоторых домашних животных является взаимосвязь репродуктивности с сезонностью. Роды предпочтительны в оптимальное время года, обычно весной, что позволяет потомству вырасти в наилучших климатических условиях и при максимальной доступности и разнообразии кормов до наступления следующей зимы (рис. 5).

Рис. 5. График сезонности спаривания и родов для некоторых видов млекопитающих (источник: Chemineau и соавт., 2008)



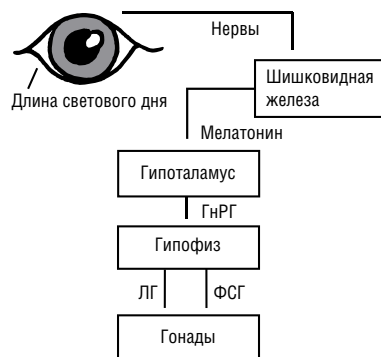
Это означает, что периоды половой активности (сезонный эструс) перемежаются периодами ее отсутствия (сезонный анэструс). Такие виды домашних животных, как овцы, козы и лошади, сохраняют строгую сезонность репродукции. Например, у овец половая активность начинается с сокращением длительности светового дня (размножение короткого дня), а у лошадей — с его удлинением (размножение длинного дня). В регионах с холодным и умеренным климатом это приводит к тому, что и овцы и лошади дают потомство весной (т. е. в период, когда достаточно корма), тем самым обеспечивая ему наилучшие шансы для выживания. Для любого вида или породы сезон спаривания остается постоянным в течение всей жизни, с относительно фиксированным временем начала и окончания активности яичников и соответствующим периодом максимальной выработки семени самцом. Этот точный и постоянный график обусловлен сложным механиз-

мом, позволяющим обоим полам синхронизировать проявление их половой активности и сезона спаривания с учетом внешних факторов.

Эпифиз (шишковидная железа) является основным регуляторным органом сезонного размножения. Она запечатлевает продолжительность дня в результате получения сигналов от органов зрения и посредством сложных нейронных связей (см. рис. 6). Эпифиз продуцирует индоламины, самым важным из которых является мелатонин. Мелатонин вырабатывается и высвобождается в ночное время (в темноте). При укорачивании светового дня воздействие мелатонина на организм животного усиливается. Это оказывает стимулирующее действие, механизм которого в полной мере не изучен, на секрецию ГнРГ гипоталамусом животных, размножающихся при коротком световом дне, например овец. У животных, размножающихся при длинном световом дне (лошади), мелатонин, напротив, в течение длинных ночей (коротких дней) ингибирует высвобождение ГнРГ гипоталамусом. Таким образом, происходит распознавание различий в длине дня, и эта информация трансформируется в сигналы, запускающие половую активность.

В целом, можно отметить, что фотопериод, который определяет внутренний годичный ритм репродуктивной активности, влияет на репродукцию двумя различными, но дополняющими друг друга способами: путем адаптации фаз гонадного развития к изменениям в окружающей среде и путем синхронизации репродуктивного периода отдельных особей одного вида (Chemineau и соавт., 2008).

Рис. 6. Роль эпифиза и мелатонина в репродукции



1.6. Дополнительная литература

1. **Chemineau P., Guillaume D., Migaud M., Thiery JC., Pellicer-Rubio MT., Malpaux B.** Seasonality of Reproduction in Mammals: Intimate Regulatory Mechanisms and Practical Implications. *Rerod Domest Anim* 2008; 43 (Suppl. 2): 40–47.
2. **Clarke IJ., Pompolo S.** Synthesis and secretion of GnRH. *Anim Reprod Sci* 2005; 88: 29–55.
3. **Ginther OJ., Beg MA., Donadeu FX., Bergfelt DR.** Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:23 9–25 7.
4. **Herbert CA., Trigg TE.** Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Animal Reproduction Science* 2005; 88: 141–153.
5. **Mihm M., Bleach ECL.** Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* 2003; 78:21 7–237.
6. **Norman AW and Litwack G.** Hormones. 2nd Edn. Academic Press, 1997.
7. **Thiery JC., Chemineau P., Hernandez X., Migaud M., Malpaux B.** Neuroendocrine interactions and seasonality. *Dom Anim End* 2002; 23:87–100.
8. **Weems CW., Weems YS., Randel RD.** Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet J* 2006; 171: 206–228.

2. Репродукция КРС

2.1. Физиология

Влияние рациона

В ходе многочисленных исследований на коровах молочных пород было четко продемонстрировано, что резкое повышение выработки молока в начале периода лактации сопровождается появлением различных репродуктивных проблем (Grohn и соавт., 1994; Macmillan и соавт., 1996; Poso и соавт., 1994). Более того, генетически заложенная способность к выработке предельно большого количества молока у молочных коров, наряду с изменениями в рационе и увеличением поголовья на ферме, связывается с постепенным снижением фертильности.

В поздний период стельности потребность в питании молочной коровы неизменно приводит ее к катаболическому состоянию. Следующая за отелом выработка молока вызывает дополнительную потребность в глюкозе, жирных кислотах и белке.

Неспособность удовлетворить высокие потребности в энергии — как для поддержания сил, так и для выработки молока — у высокопродуктивного скота приводит в результате к отрицательному балансу энергии, особенно в первые недели после отела.

Сниженный уровень глюкозы в организме приводит к глюконеогенезу в печени и действует как потенциальный механизм запуска липолиза. Мобилизованные незатерифицированные жирные кислоты (НЖК) служат альтернативным источником энергии для молочной коровы и помогают сохранить уровень глюкозы, которая используется в основном молочной железой для выработки лактозы.

Было документально зафиксировано, что у перекормленных на момент отела коров впоследствии гораздо чаще отмечается снижение аппетита и, в конечном итоге, развивается более выраженный отрицательный энергетический баланс, чем у нормальных коров на той же ферме. У первых отмечается более выраженная мобилизация запасов жира и накопление в печени триацилглицеридов (Rukkamsuk и соавт., 1998), что приводит к липидозу печени, который, по мнению многих авторов, связан со снижением фертильности в период после отела.

Энергетический баланс в течение первых трех недель лактации тесно коррелирует с промежутком между отелом и первой овуляцией (Butler и соавт., 2000). Сообщается также о том, что ярко выраженный отрицательный энергетический баланс может увеличить интервал от отела до наступления

первой овуляции. Низкий уровень энергии, получаемой животным в первые недели лактации, ослабляет выработку гормона ЛГ, что также снижает восприимчивость яичника к стимуляции ЛГ (Jolly и соавт., 1995; Butler, 2000).

Состояние эндокринной системы высокоудойных молочных коров

Большинство доступных данных демонстрируют антагонистическую зависимость между производством молока и фертильностью. Тем не менее, вопрос о том, насколько силен этот антагонизм, остается открытым, особенно в свете того, что — как и для многих других репродуктивных показателей — четкой зависимости от выработки молока не выявлено. Однако наблюдения в полевых условиях четко свидетельствуют о том, у высокоудойных коров уровень оплодотворяемости ниже, чем у телок. Возможное отрицательное воздействие высоких удоев на функционирование репродуктивной системы высокоудойных коров можно модулировать с помощью различных аспектов репродуктивной функции.

В литературе не существует однозначного подтверждения отрицательного воздействия высоких удоев на интенсивность и продолжительность периода охоты. Однако как практикующие ветеринары, так и фермеры отмечают, что в отношении высокоудойных коров существуют трудности в выявлении эструса. В исследованиях Lopez и соавт. (2004) говорится о том, что продолжительность эструса положительно взаимосвязана с пиковой концентрацией эстрадиола и отрицательно взаимосвязана с выработкой молока. Wiltbank и соавт. (2006) предположили, что высокие удои ведут к уменьшению концентрации эстрадиола, что сокращает продолжительность и интенсивность эструса. Сниженная концентрация эстрадиола может вызывать увеличение размера фолликулов вследствие увеличения интервала до начала индуцированного эстрадиолом эструса, выброса ГнРГ-ЛГ и овуляции высокоудойных коров.

Сегодня кажется очевидным, что состояние эндокринной системы высокоудойных коров отличается от состояния эндокринной системы нелактирующих животных ввиду высокого уровня метаболизма. У коров, вырабатывающих молоко, развиваются фолликулы большего размера, однако концентрация эстрадиола в крови у этих животных остается более низкой (Lopes и соавт., 2004). Кроме того, у высокоудойных особей наблюдается больший объем лютеиновой ткани и сниженная концентрация прогестерона. Наиболее очевидное объяснение заключается в том, что метаболизм стероидных гормонов увеличивается при повышении выработки молока у молочных коров.

Wiltbank и соавт. (2006) предположили, что некоторые изменения в работе репродуктивной системы коровы в период лактации вызваны значи-

тельным ускорением метаболизма стероидов, связанным с увеличением потребления кормов и увеличением печеночного кровотока. У молочных коров в период лактации постоянный богатый рацион приводит к хроническому увеличению печеночного кровотока и приблизительно удвоению уровня метаболизма стероидных гормонов по сравнению с нелактирующими животными такого же размера и возраста. Результаты последних исследований показывают, что даже при одинаковом уровне выработки гормонов уровень концентрации стероидных гормонов в период лактации снижен (Sangsritavong и соавт., 2002; Wiltbank и соавт., 2006).

В дополнение к низкой концентрации эстрадиола в начале эструса также, по-видимому, происходит ускоренное снижение его концентрации после выброса ЛГ вследствие ускорения метаболизма данного стероида. Это приводит к сокращению продолжительности эструса у высокоудойных животных. Ускоренный метаболизм стероидов, обусловленный высоким уровнем удоев, может оказывать и более выраженное отрицательное воздействие на фертильность. Преовуляторный фолликул и яйцеклетка подвергаются более длительному воздействию усиленной пульсообразной волны ЛГ, что, в свою очередь, может привести к овуляции излишне стимулированной или незрелой яйцеклетки и тем самым уменьшить фертильность. Уменьшение скорости роста концентрации прогестерона, следующее за овуляцией, также может снизить уровень фертильности ввиду ухудшения выживаемости эмбрионов.

Более того, на яичники, рост и созревание фолликула у высокоудойных молочных коров оказывает непосредственное воздействие измененный инсулин, инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I), лептин и уровень незатерифицированных жирных кислот (НЖК). Поскольку инсулин стимулирует рост фолликула, его созревание и стероидогенез на локальном уровне, то уменьшенная концентрация инсулина после отела связана с замедленным развитием фолликула.

Важно понимать, что последствия отрицательного энергетического баланса будут наблюдаться и после того, как корова восстановит физическое состояние. Исследователи доказали наличие остаточного воздействия указанного метаболического состояния на состояние преовуляторного фолликула в течение 2-3 месяцев после отела. Такие фолликулы могут оказаться неспособными вырабатывать достаточный уровень эстрадиола, качество их яйцеклетки может быть более низким, а последующая овуляция может привести к образованию желтого тела со сниженной способностью к стероидогенезу.

Физиология эструса у КРС

Половой цикл коровы, как правило, не зависит от времени года. В среднем эструс, или «охота», наблюдается каждый 21 день (диапазон: 18-24 дня). Момент эструса называют «нулевым» днем полового цикла. Он является относительно кратковременным и длится в среднем 18 часов (диапазон: 4-24 часа). Овуляция происходит примерно через 30 часов после начала эструса, т. е. уже после окончания проявления признаков поведенческого эструса. Оплодотворение яйцеклетки происходит в яйцевоме. Блостоциста достигает матки примерно на 5-й день. Стельность длится 279-290 дней. Интервал от отела до первой овуляции сильно варьируется и зависит от породы коровы, ее питания, удоев, сезона, а также наличия при матери подсосного теленка. Первая овуляция после отела обычно не сопровождается характерным для эструса поведением, и часто ее называют «скрытой» охотой. См. также 2.4.1.

Рост фолликула у КРС

Рост и созревание фолликула жвачных животных характеризуется наличием двух или трех последовательных фолликулярных волн на цикл эструса. Появление ультразвукового исследования позволило собрать больше информации о стадиях роста фолликула и его отбора. Каждая волна включает набор когорты фолликулов из общего потока фолликулов из яичника, затем происходит выбор доминантного фолликула, который продолжает расти и созревать во время преовуляторной фазы, в то время как остальные подвергаются атрезии. В развитии фолликула различают три определенные стадии: фаза роста, фаза отбора и фаза покоя.

Каждая волна состоит из одновременной попытки трех-шести фолликулов вырасти больше 4-5 мм в диаметре. В течение нескольких дней после начала волны один из фолликулов становится доминантным. Доминантный фолликул продолжает расти и дифференцироваться, в то время как остальные фолликулы перестают расти и регрессируют. Доминантный фолликул первой волны при двухволновом цикле, а также второй и третьей волны — при трехволновом цикле, регрессирует. Однако, доминантный фолликул любой фолликулярной волны, включая первую, может овулировать при соответствующем состоянии эндокринной системы, обеспеченном индукцией лютелиоза (инъекцией простагландина F_{2α}) во время его доминирующего состояния.

Фолликулярные волны

У КРС и других видов фолликулярной волне предшествует или сопровождает ее небольшое увеличение уровня ФСГ.

Все фолликулы, растущие в виде когорты, имеют специфические рецепторы к ФСГ и нуждаются в гонадотропине, который необходим для их роста. На этой стадии растущие фолликулы не имеют достаточно рецепторов к ЛГ, чтобы ответить на стимуляцию ЛГ, поэтому такую стадию роста часто именуют ФСГ-зависимой. У КРС последующий рост ФСГ имеет ту же амплитуду, что и выброс ГнРГ, связывается с образованием новых фолликулярных волн, происходит во время цикла эструса, после отела, в период стельности и перед отелом.

Отбор доминантного фолликула

По причинам, которые на данный момент изучены недостаточно, из группы фолликулов, образовавшихся при незначительном повышении ФСГ, отбирается только один доминантный фолликул. Основной характеристикой доминантного фолликула является его высокая способность к выработке эстрадиола. Выделение эстрадиола и, возможно, андрогена связывается с прекращением роста уровня ФСГ и затем его сохранением на базальном уровне (Ginther и соавт., 2000 a,b). Будущий доминантный фолликул приобретает рецепторы ЛГ, которые позволяют ему продолжать рост в условиях низкого уровня ФСГ и растущего уровня ЛГ. Это подтверждается увеличившейся способностью к связыванию ЛГ зернистыми клетками нового доминантного фолликула.

Посредством косвенного снижения уровня ФСГ доминантный фолликул уменьшает поддержку, важную для второстепенных фолликулов, снижая содержание жизненно важного компонента для их роста и одновременно извлекая пользу из низкого уровня ФСГ и растущего уровня ЛГ. В то же время этот доминантный фолликул может обеспечивать пролиферацию клеток и усиливать выделение эстрадиола, несмотря на снижение стимуляции ФСГ. По-видимому, доминантный фолликул увеличивает или поддерживает высокий уровень экспрессии мРНК ФСГ-рецептора и обеспечивает его связывание, что позволяет ему преодолеть пороговый диаметр в 8,5 мм (Mihm и Evans, 2008).

Недавно появилась важная информация о роли других модуляторов, таких как факторы роста, ингибин и инсулин, в определении и выборе доминантного фолликула (Fortune и соавт., 2001; Mihm и соавт., 2003). Гормон роста вызывает повышение синтеза инсулиноподобного фактора роста I (IGF-I) и его основного транспортного и связывающего белков.

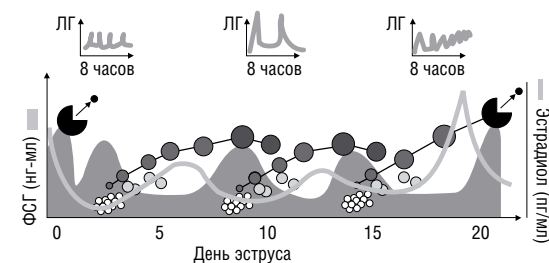
На сегодняшний день совершенно очевидно, что яичник является важной составляющей, обеспечивающей как экспрессию гена IGF-I, так и рецепцию последнего. Большинство компонентов системы ИФР (IGF) экспрессируются в фолликулах коровы. Кроме того, в недавно опубликованной работе Silva

и соавт. (2009) перечисляют следующие процессы, в которых задействован фактор IGF-I, связанный с КРС: стимуляция роста первичного и вторичного фолликулов; выработка эстрадиола вторичным и антральным фолликулами; пролиферация зернистых клеток в антральных фолликулах; жизнеспособность и созревание яйцеклетки; увеличение восприимчивости фолликулов к гонадотропинам; доминирование фолликула; множественная овуляция.

Поскольку наблюдения показывают, что фактор IGF-I увеличивает дифференциацию индуцированных ФСГ зернистых клеток и особенно приобретение рецепторов к ЛГ, увеличенная концентрация свободного IGF-I в отобранном будущем доминантном фолликуле может отвечать за преимущества ее развития.

Отобранный доминантный фолликул

Следующий за отбором рост, выделение эстрогена и продолжительность жизни доминантного фолликула контролируются пульсообразной секрецией ЛГ. Поэтому любые изменения в ГнРГ, а следовательно, и в выделении ЛГ, окажут значительное воздействие на продолжающийся рост доминантного фолликула и его овуляцию. На данный момент хорошо известно, что, например, при увеличении частоты пульсации ЛГ в результате лечения прогестероном период доминирования этого фолликула увеличивается с двух-семи до более 14-ти дней, что оказывает воздействие на созревание яйцеклетки (Diskin и соавт., 2002). Питание, условия содержания животных и даже наличие инфекций — все, что прямо или косвенно оказывает воздействие на фон ГнРГ/ЛГ у КРС, — будет иметь значительные последствия для доминантного фолликула и, следовательно, овуляции и фертильности.



Образование и функция желтого тела

На месте овулировавшего фолликула формируется особая структура, которая называется «желтое тело». Желтое тело образуется в результате процесса, именуемого лютеинизацией и включающего как структурные, так

и функциональные изменения гранулезных клеток и тека-клеток овулировавшего фолликула, что приводит к образованию временной секреторной структуры.

У коров в желтом теле существует не менее двух типов клеток со стероидогенными свойствами: большие и малые лютеиновые клетки. Большие лютеиновые клетки образуются из зернистых клеток, а малые — из тека-клеток фолликула после овуляции. Важно помнить, что желтое тело состоит не только из стероидогенных лютеиновых клеток, но и из множества других клеток, таких как эндотелиоциты сосудистой стенки, различные иммунные клетки и фибробласты.

Образование желтого тела напрямую стимулируется воздействием ЛГ. Однако совершенно очевидно, что стероидные и белковые гормоны, факторы роста, эйкозаноиды и цитокины играют важную роль в формировании функционального желтого тела (Berisha и Schams, 2005).

У КРС и других домашних животных именно ЛГ, выделяемый гипофизом, выступает в качестве основного регулятора синтеза и выделения прогестерона желтым телом (Skarzynski и соавт., 2008). ЛГ стимулирует выделение прогестерона малыми лютеиновыми клетками посредством специальных рецепторов к ЛГ. Более того, концентрация прогестерона в лютеиновой фазе, согласно новейшим исследованиям, является одним из важнейших факторов, поддерживающих функционирование желтого тела.

Вновь сформированное желтое тело остается устойчивым к воздействию внешнего PGF_{2α} до четырех-шести дней. По-видимому, восприимчивость желтого тела к экстрагональному PGF_{2α} также увеличивается к концу лютеиновой фазы.

Лютеолиз

У нестельного животного происходит регресс желтого тела — процесс, называемый лютеолизом. Этот процесс обуславливает продолжение цикла и развитие нового доминантного фолликула, что обеспечивает корове возможность нового зачатия. Лютеолиз начинается на 16-17-й день после эструса, инициированного простагландином F_{2α} (PGF_{2α}), который выделяет матка в конце лютеиновой фазы. PGF_{2α} в венозном кровотоке матки коровы изначально увеличивается на 16-17-й день после эструса.

Лютеолитический каскад может быть представлен в следующем виде: окситоцин, вырабатываемый желтым телом, связывается со специальными окситоциновыми рецепторами в эндометрии (индуцированным ограниченным количеством эстрадиола, выработанного фолликулами в конце лютеиновой фазы), стимулируя тем самым высвобождение PGF_{2α} из клеток эндометрия. Простагландин высвобождается в маточный венозный кровоток, достигает

яичника (как описывалось выше — путем переноса по яичниковой артерии) и вызывает регресс желтого тела.

Быстрый функциональный регресс желтого тела характеризуется уменьшением выработки прогестерона, за которой следует фаза структурного регресса.

Механизм подавляющего воздействия PGF_{2α} пока изучен не полностью, однако предполагается наличие двух основных механизмов.

1. Уменьшение кровотока в желтом теле

Недавно было предложено рассматривать быстрое уменьшение кровотока как основное лютеолитическое воздействие PGF_{2α}. Гистологические изменения, которые происходят во время лютеолиза, включают гипертрофию и гиперплазию клеток стенок артериол, аккумуляирование эластичных тканей в средней оболочке, мукоидную дегенерацию внутренней оболочки, проникновение некоторых эндотелиальных клеток в просветы капилляров и образование липких соединений между ними, приводящих к сужению диаметра сосудов. Недавно было также продемонстрировано, что инъекция лютеолитической дозы простагландина F_{2α}, аналогичная состоянию в середине лютеиновой фазы, увеличивает в лютеиновой фазе выработку вазоактивных веществ, которые играют важную роль в каскаде лютеолиза. Уменьшение кровотока в желтом теле через 8 часов после инъекции простагландина совпало с началом структурного лютеолиза, что привело к значительному сокращению объема желтого тела.

2. Прямое воздействие на лютеиновые клетки

Прямое воздействие простагландина на лютеиновые клетки в результате уменьшения синтеза циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), обычно вырабатываемого в виде реакции на ЛГ, а также подавление стероидогенного воздействия цАМФ. Это воздействие в дальнейшем будет только усиливаться за счет уменьшения числа рецепторов к ЛГ. Во время структурной фазы лютеолиза лютеиновые клетки подвергаются процессу апоптоза (так называемой запрограммированной гибели).

Этот тезис был еще раз подтвержден результатами исследования, показавшими, что инициированное простагландинами снижение концентрации прогестерона в плазме происходит до ощутимого уменьшения как объема желтого тела, так и кровотока в нем.

2.2. Управление оплодотворяемостью в стаде

В целях оптимальной выработки молока и прироста поголовья телят в отношении каждой коровы на ферме, как правило, ставится задача каждый год получать одного здорового теленка, т. е. интервал между отелами составляет 365 дней. Многочисленные исследования подтвердили, что если корова остается яловой в период, выходящий за рамки оптимального срока после отела, это является экономически невыгодным для фермерского хозяйства (Groenendaal и соавт., 2004; De Vries, 2006).

Многие современные профессиональные периодические издания поднимают вопрос о том, может ли более длительный период между отелами, позволяющий дольше потреблять энергетические корма и приостановить процесс воспроизводства, оказать положительное влияние на репродуктивную функцию, особенно у молочных коров. Несмотря на очевидное доказательство того, что более успешного осеменения можно достичь на 70-90-й день после отела, чем при осеменении немедленно после естественного периода ожидания, более позднее осеменение экономически не выгодно как на молочных, так и на сезонных мясных фермах (Arbel и соавт., 2001).

Регулирование репродукции в молочном стаде является лишь одним из инструментов в наборе решений по управлению фермой, который должен присутствовать в арсенале каждого ветеринара. Производительность коров напрямую определяет прибыль, зависящую от удоя на корову в день, количества ремонтных животных, имеющих в наличии, а также процента добровольной или обязательной выбраковки. Важно понимать, что выбор программы регулирования репродукции будет обусловлен уровнем затрат, наличием возможностей по содержанию и уходу, задачами фермы и стилем управления.

Согласно опросам фермеров рентабельность расходов на услуги, оказываемые ветеринаром, является основой для успеха программы по поддержанию здоровья стада.

Настоящая глава посвящена основным аспектам регулирования фертильности поголовья.

2.2.1. Оценка оплодотворяемости

В таблице 1 перечислены параметры и целевые показатели, обычно используемые для анализа и оценки оплодотворяемости на молочной ферме.

Таблица 1. Параметры и целевые показатели репродукции для молочных ферм

Параметр	Целевые показатели
Интервал от отела до оплодотворения яйцеклетки (среднее количество дней сервис-периода)	< 90 дней
Интервал от отела до первого осеменения	< 70 дней
Процент оплодотворения после первого осеменения	> 60 %
Количество осеменений на оплодотворение	< 1,5
Количество аборт (в период от 45 до 265 дней стельности)	< 3%
Выбраковка по причине бесплодия	< 5%
Возраст на момент первого отела	24 месяца

В мясном стаде с подсосным молодняком этот теленок является основным источником дохода. Основные данные по эффективности репродукции приводятся в таблице 2.

Таблица 2. Параметры и целевые показатели репродукции для мясных ферм

Параметр	Целевые показатели
Длительность периода осеменения	< 63 дней
Процент стельности (через 35 дней после окончания сезона спаривания)	> 95%
Процент телят, рожденных живыми (у коров с подтвержденной стельностью)	> 93%

Необходимо обратить внимание на то, что эти данные приводятся для молочного и мясного стада с интенсивным способом управления и умеренного климата. Сравнения уместны только для стад, содержащихся в тех же или подобных условиях.

2.2.2. Экономические аспекты

Существуют три причины экономических потерь, обусловленных проблемами фертильности:

- потери, связанные с некорректным графиком или неправильным искусственным осеменением;
- слишком длительный перерыв между отелами;
- выбраковка бесплодных животных с высоким генетическим потенциалом.

Потери, связанные с некорректным графиком искусственного осеменения

Эндокринные нарушения, неблагоприятно воздействующие на репродуктивность у КРС, часто проявляются в виде нерегулярности эструса, не выраженных признаков половой охоты или запоздалой овуляции. Результатом может стать неверно рассчитанное время для проведения искусственного осеменения, что также может быть следствием плохого управления. Повторное искусственное осеменение повышает затраты и приводит к потере спермы.

Слишком длительный перерыв между отелами

Слишком длительный период между отелами приводит в результате к более продолжительной лактации и более длительному сухостойному периоду. Общий ущерб повышается с увеличением периода между отелами (см. таблицу 3). Длительный перерыв между отелами является прямым результатом увеличения периода между отелом и оплодотворением и выражается в количестве дней так называемого сервис-периода. Общеизвестно, что увеличение сервис-периода является убыточным и выражается в сокращении общего производства молока (см. таблицу 3).

Таблица 3. Оценочный ущерб, связанный с сервис-периодом в молочном стаде (источник: Esslemont и Kossaibati, 2002)

Лактация	Чистый убыток в день в литрах молока
Средний удой молока — 6000 л/лактация (305 дней)	
1	10,88 л
5	15,03 л
Среднее	13,72 л
Высокий удой молока — 10 000 л/лактация (305 дней)	
1	16,97 л
5	21,18 л
Среднее	19,87 л

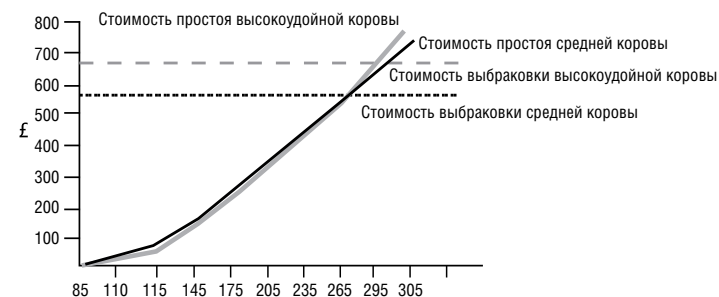
Выбраковка бесплодных животных

На сегодняшний день уровень выбраковки на больших коммерческих молочных фермах в США может достигать 34%, и он почти также высок на многих крупных фермах по всему миру. Одной из основных причин выбраковки является отсутствие стельности.

Потери, связанные с преждевременной выбраковкой по причине бесплодия, зависят от возраста и уровня производительности выбраковываемых коров (рис. 1). Эти потери представляют собой упущенную выгоду и являются максимальными у высокоудойных коров в период второй лактации, а затем снижаются с возрастом коровы и общим сокращением производительности (Dijkhuizen и соавт., 1991).

Если выбраковке подвергается молодая корова, потери включают не только ее будущие удои, но и ее генетический потенциал источника ремонтных телок.

Рис. 1. Оценочная стоимость выбраковки в стаде (источник: Esslemont и Kossaibati, 2002)



Более того, при высоком годовом уровне выбраковки возраст стада смещается в сторону увеличения количества первотелок. Превышение определенного порога в этом смысле является нежелательным как с точки зрения производства молока, так и с точки зрения репродуктивной эффективности, поскольку у первотелок чаще всего наблюдаются проблемы с репродуктивной функцией после отела.

2.2.3. Диагностика стельности

Раннее и точное выявление стельности и ее отсутствия — как на молочной, так и на мясной ферме, — представляет особую важность для

поддержания высокого уровня воспроизводства поголовья. Необходимо также выявление проблем с фертильностью на ранних стадиях у отдельных животных и у стада в целом.

Отсутствие эструса

Если примерно через три недели после спаривания или искусственного осеменения эструс у коровы отсутствует, обычно считается, что она является стельной. Однако даже если выявление эструса проводится должным образом, не всех таких коров можно считать стельными. С другой стороны, вплоть до 7% стельных коров могут обнаруживать признаки эструса при стельности. Осеменение таких коров может привести в результате к гибели эмбриона или плода.

Ректальная пальпация

Диагностика ранней стельности (1-3 месяца) основывается на совокупности следующих признаков: асимметрия рогов матки, более слабый тонус в стельном роге, флюктуирующее содержимое в стельном роге (позднее — в обоих рогах), прощупываемое желтое тело в яичнике со стороны стельного рога, скольжение оболочки и осязаемый амниотический пузырь. На более поздних стадиях стельности (более 3-х месяцев) шейка матки располагается спереди по отношению к арке таза, матку нельзя оттянуть. Матка дряблая, а карункулы (иногда и внутриутробный плод) поддаются пальпации. Средняя маточная артерия увеличивается в диаметре, и можно обнаружить вибрацию. См. таблицу 4.

Преимуществом ректальной пальпации является получение немедленного ответа на вопрос о стельности коровы, что позволяет незамедлительно производить соответствующие действия, если корова окажется яловой. В хороших условиях содержания животного для проведения ректальной пальпации требуется минимальный набор инструментов и ограниченное число работников. Квалифицированный ветеринар может определить наличие стельности у КРС на 35-й день после оплодотворения.

Таблица 4. Признаки стельности при ректальной пальпации

Стадия стельности	Смещение оболочки	Амниотический пузырь	Плод	Карункулы	Вибрация	
					Средняя маточная артерия	
					Ипсилатер.	Контралатер.
30 дней	+	+				
45 дней	+	+				
60 дней	+	+				
75 дней	+	+		+		
90 дней	+		+	+		
105 дней			+	+	+	
4 месяца			+	+	+	
5 месяцев			+	+	+	+
6 месяцев				+	+	+
7 месяцев			+	+	+	+

Обычными причинами ошибок при ректальной пальпации являются недостаточный отвод матки, аномальное содержимое матки (пиометра или мукометра) или ошибки, связанные с датой осеменения. Существует противоречивая информация о возможном риске, которому может подвергаться эмбрион/плод при проведении ректальной пальпации. Слишком ранняя или неправильно проведенная пальпация амниотического пузыря может повредить эмбрион/плод и привести к его гибели. Однако недавние исследования, опубликованные Romano и соавт. (2007), продемонстрировали, что диагностика стельности с помощью ректальной пальпации между 34 и 41-м днями после оплодотворения с применением так называемой техники смещения оболочки не оказывает отрицательного воздействия на эмбрион/плод.

Независимо от преимуществ ректальной пальпации диагностика стельности этим методом не дает информации о развитии эмбриона (уродства, жизнеспособность и т. д.), при этом между датой оплодотворения и датой диагностики проходит довольно длительный период, что не позволяет быстро повторить осеменение в случае отсутствия стельности.

Прогестероновый анализ

Прогестерон, выделяемый функционирующим желтым телом в период между 18 и 24-м днями после осеменения, является ранним показателем

стельности. Прогестерон может быть обнаружен в образце молока или плазмы. Оптимальным временем для анализа является 24-й день после осеменения, что устраняет проблему, связанную с различной длительностью полового цикла, которая обуславливает возможный ложно-положительный диагноз.

Чувствительность (т. е. точность в определении стельности) метода анализа прогестерона в молоке (тест ИФА) в ходе исследования, проведенного Pieterse и соавт. (1989), составляла 93,1%. Однако его специфичность (т. е. точность определения отсутствия стельности) составляла только 39,3%. Это означало, что достаточно большое количество коров согласно данным анализа были стельными, но на самом деле таковыми не являлись. Чаще всего причинами ошибок являются: пиометра или персистирующее желтое тело, краткий интервал между эструсом, кистозное заболевание яичников (киста желтого тела), неправильное обращение с образцами и диагностическим набором, а также ранняя гибель эмбриона.

Это указывает на то, что одного анализа прогестерона для определения стельности недостаточно, стельность должна подтверждаться с помощью ректальной пальпации примерно на 40-й день после осеменения. Однако при взятии нескольких образцов в период после осеменения и до 21-24-го дня точность диагностики отсутствия стельности достигает 95-100%. Таким образом, анализ на уровень прогестерона в молоке должен использоваться для выявления отсутствия стельности как можно раньше, что позволит вновь запустить животное в программу осеменения.

Обследование с применением ультразвуковой диагностики

Использование трансректальной диагностики для определения стельности на ранних сроках стоит в ряду самых практических применений УЗИ при регулировании репродукции животных (см. таблицу 5). Раннее выявление яловых коров после естественного или искусственного осеменения повышает эффективность репродуктивности и уровень стельности за счет уменьшения сервис-периода между искусственными осеменениями и увеличения количества успешных осеменений. УЗИ в реальном времени (режим «В») является надежным и относительно простым методом диагностики стельности. В условиях большинства ферм стельность может быстро и точно диагностироваться на основе УЗИ начиная с 26-го дня после искусственного осеменения.

Использование УЗИ обеспечивает точность на уровне 99%, что позволяет выявлять проблемы, связанные с репродуктивностью, мгновенно. В целом, на скорость проведения ультразвуковой диагностики на молочных фермах влияют два фактора: профессионализм оператора и фиксация коров. Если

эти факторы оптимальны, то скорость УЗИ-диагностики будет равна скорости ректальной пальпации, однако объем полученной информации будет гораздо больше. Основным преимуществом является получение точного диагноза на более ранних сроках, нежели при ректальной пальпации.

Таблица 5. День первого обнаружения признаков стельности у коров с помощью УЗИ (источник: Curran и соавт., 1986)

Характеристика	День обнаружения	
	В среднем	Отклонения
Эмбрион	20,3	19-24
Сердцебиение	20,9	19-24
Мочевой мешок	23,2	22-25
Спинной мозг	29,1	26-33
Передние конечности	29,1	28-31
Амниотическая оболочка	29,5	28-33
Глазные орбиты	30,2	29-33
Задние конечности	31,2	30-33
Карункулы	35,2	33-38
Раздвоенные копыта	44,6	42-49
Шевеление плода	44,8	42-50
Ребра	52,8	51-55

Поскольку стельность может быть обнаружена ранее, чем при ректальной пальпации, уровень потери стельности зачастую выше. Из коров, диагностированных как стельные на 28-й день после искусственного осеменения, у 10-16% к 56-му дню произойдет ранняя гибель эмбрионов (Мее и соавт., 1994; Vasconcelos и соавт., 1997). Поэтому, коровы, диагностированные как стельные на 28-й день после искусственного осеменения при помощи УЗИ, должны пройти повторное обследование примерно на 60-й день, после которого риск эмбриональной смертности снижается (Мее и соавт., 1994; Vasconcelos и соавт., 1997).

Диагностика многоплодой стельности

Точная диагностика многоплодой стельности при помощи трансректального ультразвукового исследования возможна на 40-55-й день после осеменения. При проведении раннего УЗИ, направленного на обнаружение близнецов, рога матки должны тщательно исследоваться по всей длине во избежание пропуска эмбриона. В зависимости от типа коровы (молочная, мясная, оба направления) необходимо разработать сценарий дальнейших действий по отношению к животному после обнаружения близнецов: аборт и повторное осеменение или ведение стельности до отела. Многоплодая стельность проблематична в полевых условиях, однако ее диагностика всегда приносит положительные плоды, поскольку позволяет принять дополнительные меры для обеспечения нормального отела.

Определение пола плода

Трансректальное ультразвуковое исследование может использоваться для определения пола плода путем оценки морфологии и расположения полового бугорка. Надежная и точная диагностика возможна уже на 55-60-й день стельности (Fricke 2002). Для определения пола плода требуется высокий уровень профессионализма и опыт, чем для ранней диагностики стельности и оценки структуры яичника. Следует отметить, что, несмотря на отдельные преимущества, определение пола плода должно включаться в программу управления размножением только в том случае, если полученная информация, с точки зрения управляющего фермой, принесет пользу. Информация о проценте коров, вынашивающих плод женского пола, может представлять ценность для молочной фермы при отборе ремонтных телок. При недостаточном количестве ожидаемых замен существует возможность составления планов закупки ремонтных телок у другого поставщика. С другой стороны, сведения о поле плода могут быть полезными для молочных ферм, занимающихся выращиванием бычков на продажу в центры осеменения и т. д.

Ранняя диагностика стельности на основе определения молекул, характерных для стельности

За последние 10 лет была разработана техника ранней диагностики стельности у КРС на основе определения белков, характерных для стельности.

Гликопротеины беременности

Гликопротеины беременности (ГПБ) известны под различными наименованиями, включая белок беременности В. Эти белки представляют большое

семейство гликопротеинов, находящихся во внешнем эпителиальном клеточном слое (хорион/трофобластическая оболочка) плаценты плацентарных видов. Молекулы ГПБ принадлежат к группе протеолитических ферментов, известных как аспарагиновые протеиназы (АП). Множество родственных ГПБ молекул обнаруживается в период между ранним развитием бластоцисты и отелом (Sousa и соавт., 2006). Белок беременности В был первым белком беременности, обнаруженным у КРС (Butler и соавт., 1982). Позднее выяснилось, что он имеет ту же N-терминальную аминокислотную последовательность, что и гликопротеин беременности (Xie и соавт., 1991; Lynch и соавт., 1992). Оба, белок беременности В и ГПБ, позже были переименованы в бычий ГПБ-1 (boPAG-1).

Средняя концентрация ГПБ у КРС возрастает с 15-го по 35-й день стельности. Однако различия в уровне содержания ГПБ в сыворотке коров ограничивают использование этого способа диагностики до 26-30-го дня стельности (Humblot, 2001).

Существует несколько различных способов диагностики, осуществляемых с использованием радиоиммунного (Haugejorden и соавт., 2006; Lopez-Gatius и соавт., 2007; Ayad и соавт., 2009) или иммуноферментного анализа (Green и соавт., 2005; Silva и соавт., 2007; Friedrich and Holtz 2009). Многочисленные лаборатории при университетах и научных институтах используют анализы на основе ГПБ для экспериментальной диагностики стельности, а некоторые из них предлагают тесты для практикующих ветеринаров на коммерческой основе.

Имуноферментный анализ на обнаружение белка беременности В (BioPRYN™, BioTracking, Moscow, ID, USA) используется в США, Канаде, Австралии и Венгрии. Анализ образцов сыворотки проводится лицензированными лабораториями и рекомендуется для диагностики стельности начиная с 30-го дня после осеменения у молочных и мясных коров и с 28-го дня — у телок. В целом, имеющиеся данные демонстрируют, что такой тип анализа, при его проведении на 30-й и далее день после осеменения, представляет большую диагностическую ценность. Необходимо отметить, что молекулы ГПБ остаются в организме в течение продолжительного времени после отела, поэтому коров следует подвергать диагностике на наличие ГПБ спустя более 60 дней после отела.

ФРБ/ФРО

Фактор ранней беременности (ФРБ) был впервые обнаружен у беременной мыши (Morton и соавт., 1987), а позже у овцы и КРС (Nancarrow и соавт., 1981) при помощи анализа подавления розеткообразования. Было продемонстрировано, что фактор ранней беременности имеет спе-

цифические, связанные с регуляцией роста иммуномодулирующие свойства и требуется для успешного наступления беременности и деления как нормальных, так и опухолевых клеток, как *in vivo*, так и *in vitro* (Cavanagh, 1996). Значительное различие в титрах ингибирования розеткообразования наблюдалось у стельных и яловых коров на 13-16-й и 25-й день после искусственного осеменения (Sakonju и соавт., 1993). Это позволило предположить, что измерение активности ФРБ может использоваться как способ ранней диагностики стельности. Различные публикации сообщают о противоречивых результатах лабораторных исследований на основе ФРБ/ФРО, в основном отмечая низкую степень специфичности анализа при проведении на ранних сроках после осеменения (Cordoba и соавт., 2001; Ambrose и соавт., 2007).

Недавно в коммерческую продажу поступил новый тест на стельность КРС. По имеющимся данным анализ на основе фактора раннего оплодотворения (ФРО) (Concepto Diagnostics, Ноксвилль, штат Теннесси, США) определяет наличие гликопротеина беременности через 48 часов после осеменения. Однако количество положительных результатов пока ограничено и недостаточно для того, чтобы рекомендовать этот тест для широкого применения.

2.2.4. Эструс и выявление признаков половой охоты

Репродуктивная функция — это основной фактор, влияющий на производительность и экономическую эффективность молочных и мясных стад. Для стада, в котором применяется искусственное осеменение, выявление признаков охоты и показатель отелов являются двумя основными детерминантами, определяющими единый период отела и интервал между отелами. Недостаточное и/или неверное выявление эструса приводит к задержке осеменения, снижению показателя оплодотворяемости и, соответственно, увеличению сервис-периода (см. таблицу 6).

Эструс

Эструс представляет собой целый комплекс физиологических и поведенческих признаков, проявляющихся непосредственно перед овуляцией. Продолжительность эструса варьируется от 4-х до 24-х часов. Признаками эструса являются: рефлекс стояния коровы при садке быка; распухшая вульва; гиперемированная слизистая оболочка влагалища; прозрачные и тягучие выделения из влагалища; расчесанный корень хвоста, иногда с незначительными повреждениями кожи; беспокойство; сбивание в группы; потирание подбородком; стремление лизать, толкаться, бодаться друг

с другом; попытка садок на других животных; возможно также снижение аппетита и/или удоев молока.

Признаки эструса, особенно в том случае, если одновременно в состоянии половой охоты (или непосредственно перед ее началом) находится несколько коров, часто интерпретируются неправильно. Из всех признаков наиболее надежным показателем эструса является рефлекс стояния (стояние при садке). Корова в таком состоянии находится в «стойкой охоте».

Таблица 6. Точность визуального выявления признаков охоты по отношению к числу наблюдений в день

Частота наблюдений	Эффективность
Раз в день	60%
Дважды в день	80%
Три раза в день	90%
Четыре раза в день	95-100%

Способы выявления признаков охоты

Существуют различные способы, облегчающие выявление признаков охоты.

Детекторы садок

«Детектор садок» приклеивается вдоль средней линии спины коровы непосредственно перед основанием хвоста. «Сработавший» детектор указывает на то, что, на корову делались садки. Экспериментальная оценка дает противоречивые результаты. В качестве объяснений приводятся, в частности, такие обстоятельства, как потеря детектора, слабая активность при холодной погоде, а также большая доля ложно-положительных результатов при плотном размещении животных.

Современные технологии позволили усложнить детектор садки. Некоторые детекторы показывают с помощью мигания, сколько садок было сделано и сколько времени прошло с момента последней садки. Пожалуй, наиболее сложный детектор представляет собой работающий на батарейках прибор, восприимчивый к давлению и передающий радиосигнал, принимаемый передатчиком. Сигнал затем оцифровывается и сохраняется в компьютере в совокупности с датой, временем, продолжительностью каждой садки и идентификационным номером коровы. Такой детектор широко используется в США.

Карандаш для хвоста. Полоса яркого цвета (20 см в длину и 5 см в ширину) наносится в районе основания хвоста. Животные, делающие садку, стирают полосу. Мел следует наносить в течение как минимум четырех недель. Считается, что такой способ повышает эффективность выявления эструса, однако в небольших помещениях и при плотном размещении животных количество ложно-положительных результатов повышается.

Пробники

Животные-пробники, например вазэктомированные быки или выбракованные коровы, проходящие лечение тестостероном, будут делать садку на корову в половой охоте и, тем самым, привлекать внимание животновода. Для большей эффективности возможно навешивание колокольчика или трещотки. Недостатками такой системы являются агрессивное поведение и фаворитизм (игнорирование других коров в состоянии половой охоты, кроме фаворитов). Кроме того, вазэктомированные быки могут быть переносчиками венерических заболеваний.

Шагомеры

Коровы в период охоты перемещаются почти в два раза активнее, чем до и после эструса. Так, измеряя пройденное животным расстояние при помощи шагомеров, можно определить, находится ли корова в эструсе. Однако значительная разница в двигательной активности у различных особей не позволяет вывести среднее пороговое значение, которое указывало бы на эструс. Сравнение может проводиться только для конкретного животного и требует компьютеризации и значительного увеличения расходов. Тем не менее, сочетание наблюдений, направленных на выявление охоты, и использование шагомеров дает высокоэффективный и точный результат.

Видеонаблюдение

Этот метод предполагает ведение видеонаблюдения и фиксирование поведения животных на ограниченной площади, требует внимательного анализа ежедневных видеозаписей и основывается на субъективном толковании поведения коров.

Измерение электрического сопротивления вагинальной мускулатуры — метод Драмминского

Изменения электрического сопротивления вагинальной мускулатуры измеряется при помощи так называемого аппарата Драмминского, имеющего интравагинальный зонд.

Для обеспечения надежности этого способа необходимо наличие тщательно зафиксированных результатов, полученных для каждой коровы при прошлом эструсе, и не менее двух результатов в текущем эструсе. Одиночные данные могут быть неверно истолкованы (используются стандартные значения, однако индивидуальные отклонения также имеют место).

2.2.5. Время осеменения

Оплодотворение яйцеклетки происходит в яйцевом месте соединения перешейка и ампулы маточной трубы. Срок жизни яйцеклетки составляет примерно 12-18 часов, и со временем ее жизнеспособность уменьшается. Примерно через 8 часов после оплодотворения достаточное количество сперматозоидов достигает перешейка яйцевода. Для оплодотворения требуется, чтобы сперматозоиды были функционально активными, что проявляется в их повышенной подвижности и полной акросомной реакции. Оптимальное время для осеменения по отношению к овуляции (интервал между овуляцией и осеменением) зависит в основном от срока жизнеспособности сперматозоида и от жизнеспособности яйцеклетки в половом тракте самки. Сперматозоиды сохраняют жизнеспособность в течение ограниченного периода времени, поэтому в случае слишком раннего осеменения сперматозоиды погибнут раньше, чем успеют оплодотворить яйцеклетку. Напротив, если осеменение проведено слишком поздно, яйцеклетка теряет способность к оплодотворению.

Обычно овуляция происходит через 10-15 часов после окончания эструса. Поэтому оптимальным временем для осеменения является период ближе к окончанию эструса (см. таблицу 7). На практике за коровами не осуществляется постоянного наблюдения, поэтому окончание эструса не является очевидным. Вследствие ограниченного срока жизни как яйцеклетки, так и сперматозоидов, существует «окно» примерно в 12 часов, в течение которых может быть достигнут оптимальный уровень оплодотворяемости.

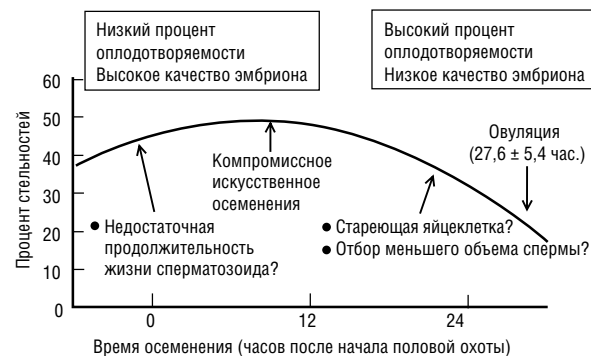
Исследования Roelofs и соавт. (2006) показали, что интервал между овуляцией и осеменением, имеющим высокую вероятность оплодотворения, довольно продолжителен (36-12 часов до овуляции). Однако интервал между овуляцией и осеменением, в течение которого у оплодотворенной яйцеклетки есть наибольшие шансы трансформации в здоровый эмбрион, является меньшим (24-12 часов до овуляции).

Таблица 7. Оптимальное время осеменения по отношению к эструсу

Оплодотворяемость:	Неуд.	Удовл.	Хорошая/Отличная	Удовл.	Неуд.		
Часы:	0	5	10	15	20	25	30
← Стойкий эструс →							

На практике оптимальным является использование правила «утро/вечер»: всех коров, у которых эструс был обнаружен утром, следует осеменять после полудня. Если на следующее утро эструс сохраняется, таких коров осеменяют повторно. Коров, у которых эструс был обнаружен после полудня или вечером, следует осеменять на следующее утро. Это представляет собой компромисс между максимальными шансами на осеменение и получением эмбриона оптимального качества с хорошим потенциалом развития (рис. 2). Другими словами, раннее осеменение дает хорошие перспективы для получения качественного эмбриона, но снижает показатели оплодотворяемости (живучесть сперматозоида, ожидающего яйцеклетку, уменьшается). С другой стороны, позднее осеменение дает лучшие показатели оплодотворяемости (большой объем свежей спермы), однако вследствие старения яйцеклетки, которая овулирует значительно раньше, существует риск снижения качества эмбриона (Saacke 2008).

Рис. 2. Рассчитанный показатель стельности в зависимости от времени осеменения (источник: Saacke 2008)



2.3. Регулирование эструса

2.3.1. Причины, по которым следует регулировать наступление эструса

Половой цикл возможно регулировать с помощью фармакологических средств, что позволяет вызывать или контролировать время наступления эструса и овуляции.

Основными причинами, по которым следует регулировать наступление эструса, являются следующие:

- борьба с отсутствием эструса/нарушением полового цикла как в молочном, так и в мясном стаде;
- индуцирование эструса в предварительно определенном промежутке времени с целью упрощения выявления эструса и других действий по управлению стадом (наличие специалистов по искусственному осеменению, сезонность осеменения);
- синхронизация донорского и реципиентного скота для пересадки эмбриона;
- лечение определенных нарушений, таких как суб-эструс, персистентное желтое тело, поликистоз яичника.

Планирование и экономическая эффективность программ по регулированию эструса

Существует несколько факторов, которые следует рассмотреть при принятии решения о применении в стаде регулирования эструса, особенно при выборе фармакологической программы. При оценке и отборе наиболее подходящей системы чрезвычайно важно понимать ситуацию, сложившуюся на ферме в сфере репродукции. Необходим тщательный анализ породы животных, возрастной структуры стада и степени производительности поголовья. Важно учитывать кадровые ресурсы, квалификацию и степень подготовки персонала на ферме, рабочие часы, в особенности если планируется использовать сложную программу регулирования эструса, поскольку точное время и дозировка препарата оказываются решающими для эффективности программы.

Всегда следует иметь в виду, что расходы на программу регулирования эструса должны быть оправданы не только с точки зрения возможно-го улучшения показателей стельности и сокращения сервис-периода, но и с точки зрения уменьшения стоимости рабочей силы, необходимой для диагностики эструса. Визуальное выявление животных в охоте требует большого количества сотрудников, это влечет за собой гораздо большие

расходы, чем использование программы синхронизации. Экономическая эффективность должна быть рассчитана для каждого конкретного стада с учетом всех преимуществ выбора программы синхронизации.

Некоторые аспекты регулирования эструса должны быть рассмотрены отдельно для мясного и молочного стада.

Мясной скот

Для разведения мясного скота часто используют экстенсивный метод на групповой основе. Поэтому выявление эструса в таких стадах является в значительно меньшей степени интенсивным и менее точным, чем в молочных. Наличие подсосного теленка и сезонные влияния могут подавлять или блокировать половую активность у мясного скота. По этим причинам признаки эструса у мясных коров не проявляются в течение 40-60 дней после отела, когда приходит время их осеменения.

На большинстве мясных ферм осеменение привязано к определенному периоду. Коровы, у которых вовремя не восстановилась активность яичников и, в силу этого, не произошло зачатия, обычно выбраковываются.

Для мясного поголовья применение искусственного осеменения имеет некоторые преимущества по сравнению с вольной случкой:

- снижается потребность в количестве быков;
- возможно использование спермы высокого качества от генетически протестированных быков, что повышает племенную ценность поголовья;
- воспроизводство телят осуществляется более единообразно — туровые отелы.

Выявление эструса у мясных коров зачастую является фактором, ограничивающим успешное использование искусственного осеменения. Решением этой проблемы может стать управление эструсом и синхронизация. Применение в начале естественного периода осеменения системы на основе прогестагена/ГСЖК стимулирует и синхронизирует активность яичников. Это ускоряет и сокращает период отела по сравнению с процессом естественного осеменения при использовании вольной случки.

Преимущества такой системы являются весьма существенными:

- более тщательный уход в течение сокращенного периода отела, что снижает потери телят, вызванные дистоцией;
- при отъеме в фиксированное время телята ко времени продажи будут более зрелыми и будут иметь больший вес;
- короткий период между отелами повышает плодовитость поголовья в целом в следующем сезоне;

- телят возможно продавать партиями одного возраста и соответствующего качества, что повышает их ценность;
- это позволяет и/или упрощает осуществление искусственного осеменения и способствует более рациональному использованию спермы.

Молочный скот

В молочных стадах, в которых практикуется отел в течение всего года, с коровами следует работать в индивидуальном порядке и более интенсивно, чем в мясном скотоводстве. При поставленной цели получения одного теленка в год интервал между отелом и зачатием ограничивается примерно 85 днями, в течение которых происходит инволюция матки, восстановление активности яичников и выявление эструса. Как правило, в период 40 дней после отела эструс выявляется примерно у 25% молочных коров.

Регулирование эструса у молочного скота применяется по следующим показателям:

- для индукции эструса и овуляции у коров с анэструсом после отела с целью сокращения интервала между отелом и первым осеменением;
- синхронизация донорского и реципиентного скота для пересадки эмбриона;
- синхронизация эструса в группах животных с целью упрощения и сокращения времени выявления эструса;
- для управления периодом отела на ферме в целом.

На многих молочных фермах проблема, связанная с выявлением животных в половой охоте, значительно ограничивает возможности репродукции. Увеличение производительности вкуче с увеличением размеров стада оказало свое влияние на способ регулирования размножения, который направлен в основном на развитие системы синхронизации эструса, позволяющей проводить искусственное осеменение в определенное время и без необходимости выявления признаков половой охоты.

С более подробным экономическим анализом можно ознакомиться в работах De Vries (2006) и Olynk и соавт. (2007, 2008).

2.3.2. Способы регулирования эструса

Основные требования, предъявляемые к любой эффективной системе управления половым циклом, — это предсказуемое с высокой степенью вероятности наступление эструса и последующая овуляция в течение 12-24 часов, за которой следует высокий процент стельности после одноразового запланированного искусственного осеменения. Ввиду меняющейся потребности фолликулов яичника в поддержке гонадотропином в течение их

роста, создать терапию на основе одного внешнего гормона для стимуляции предсказуемой новой фолликулярной волны у животного, независимо от стадии волны во время лечения, затруднительно.

Все фармакологические способы регулирования эструса должны рассматриваться как полезный инструмент, основной целью которого является повышение показателей стельности в стаде, улучшение процесса осеменения или устранение существующих организационных ошибок. В некоторых случаях системы регулирования эструса могут использоваться для лечения определенных нарушений деятельности половой системы, например «скрытой охоты», кистоза яичников.

Однако, фармакологический способ регулирования эструса не является заменой тщательно составленному рациону и соответствующему управлению осеменением в стаде.

У коров с активностью яичников половой цикл может регулироваться тремя способами:

- путем применения простагландинов для индуцирования раннего рассасывания желтого тела;
- путем последовательного применения простагландинов и аналогов ГнРГ для обеспечения синхронизированного развития фолликулов после индуцированного лютеолиза;
- путем применения прогестагенов, которые действуют как искусственное желтое тело.

Для коров, у которых отсутствует эструс (нет овуляции), должна использоваться система, индуцирующая рост фолликула и овуляцию с последующей лютеиновой фазой физиологической продолжительности:

- системы на основе прогестагенов, обычно в комплексе с ГнРГ и/или ГСЖК/еСГ (сывороточный гонадотропин жеребых кобыл/гонадотропин сывотки лошади);
- стимуляция деятельности яичника ГнРГ с последующим запуском программы типа «Овсинх» (Ovsynch).

Простагландины

В период между 6-м и 16-м днями цикла (период высвобождения природного простагландина F_{2α}) инъекция простагландина (Estrumate®) индуцирует рассасывание желтого тела, завершая лютеиновую фазу. Затем с началом новой фолликулярной фазы животное приходит в состояние половой охоты, после чего наступает овуляция. Оплодотворяемость при индуцированном эструсе остается на том же уровне, что и при естественном. Для синхронизации группы коров, имеющих половой цикл, с учетом того, что все они могут находиться на разных и неизвестных стадиях цикла, одной инъекции

недостаточно. Повторную инъекцию необходимо осуществить через 11-14 дней, поскольку к этому моменту у всех коров должно присутствовать функционирующее желтое тело.

Несмотря на быстрый лютеолиз, период до начала эструса после лечения простагландинами PGF_{2α} может варьироваться и зависеть от стадии развития фолликулярной волны у животного на момент лечения (рис. 3). У животных с функционирующим доминантным фолликулом половая охота наступит в течение 2-3 дней, поскольку доминантный фолликул овулирует во время индуцированного лютеолиза (рис. 4). Животным, у которых присутствовала преддоминантная фаза волны, потребуется 2-4 дня для формирования доминантного фолликула, следовательно, период до начала половой охоты будет длиннее.

Осеменение при выявленном эструсе обеспечивает лучшие показатели оплодотворения и рекомендуется, в частности, для ферм с возрастным поголовьем. Телки быстрее реагируют на синхронизацию, поэтому у коров и телок, имеющих устойчивый половой цикл, возможно применение запланированного осеменения на 72-й и 96-й час. Поскольку простагландины оказывают воздействие на желтое тело, они эффективны только для животных, имеющих половой цикл.

Рис. 3. Интервал между инъекцией простагландина и овуляцией у КРС

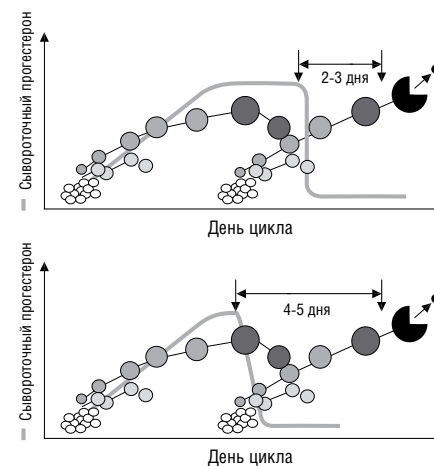


Рис. 4. Наступление эструса у коров после лечения простагландинами



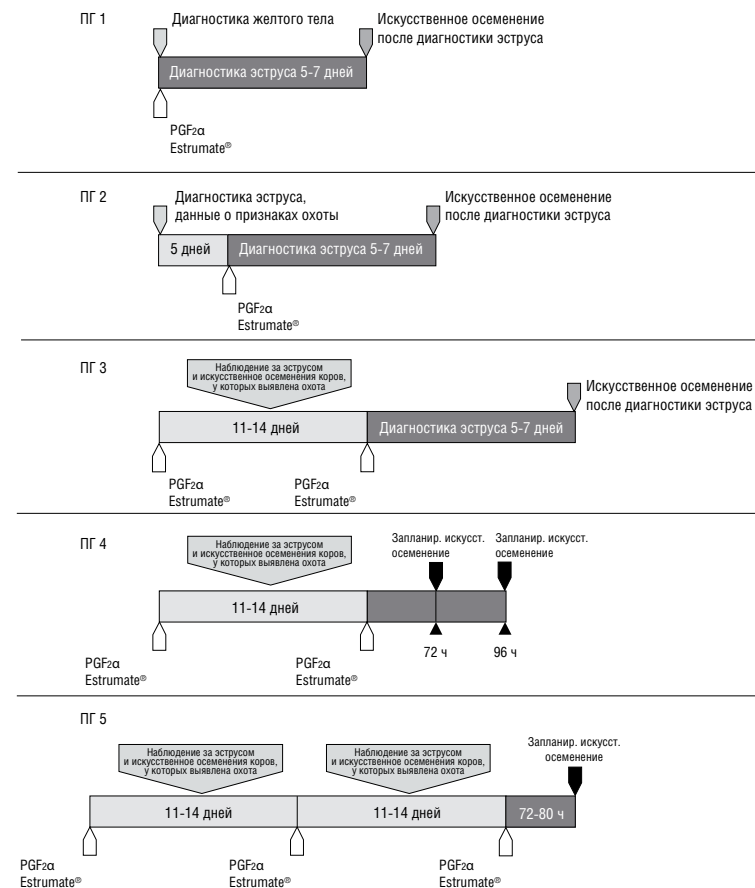
Простагландины могут использоваться также в рамках других способов управления эструсом, определяемых намерениями фермера, типом животных и условиями, сложившимися на ферме. Обзор наиболее часто используемых систем, составленный Cavalieri и соавт. (2006), см. на рис. 5.

Программы, предусматривающие ввод нескольких доз препарата, предназначены, как правило, для синхронизации эструса во всем стаде и обеспечивают начало ожидаемой половой охоты у большинства коров в течение 7 дней лечения. Существует также ряд программ, предусматривающих одноразовое введение дозы. Это снижает стоимость программы, но ограничивает гибкость по сравнению с многодозовыми программами. Такие программы основаны на стратегическом введении PGF_{2α} коровам, у которых после лечения весьма вероятно наступление лютеолиза. Затем в течение длительного периода требуется проводить выявление эструса и/или определение наличия желтого тела, что гарантирует высокий процент ответной реакции на лечение.

Так называемая программа целевого осеменения была разработана с целью повышения уровня репродуктивности на крупных молочных фермах (Nebel и Jobst 1998). В соответствии с этой системой коровы подвергаются воздействию препарата систематически в один и тот же день недели, что упрощает распределение лечения и позволяет проводить искусственное осеменение в будние дни. Животные получают инъекцию простагландина с интервалом в 14 дней и осеменяются при выявлении эструса.

Коровы, у которых после третьей инъекции простагландина эструс не наступает, осеменяются в фиксированное время через 72-80 часов после последней инъекции PGF_{2α}.

Рис. 5. Различные системы регулирования эструса на основе простагландинов



Применение программ подобного рода, предусматривающих последовательный ввод простагландинов, зарекомендовало себя в стадах, характеризующихся большим процентом маточных инфекций после отела. Простагландины вызывают сокращение матки и, как считается, оказывают положительное воздействие на иммунные клетки эндометрия. Более того, при использовании этой терапии каждая последующая лютеиновая фаза сокращается, а иммуноподавляющее воздействие прогестерона уменьша-

ется. Некоторые специалисты, однако, возражают против такой методики, поскольку полагают, что она может представлять риск для последующего оплодотворения животных. Если начало лечения следует за первой после отела овуляцией и продолжается без перерыва в течение нескольких циклов, то у коров практически не остается шансов на прохождение полной лютеиновой фазы. Такая ситуация может привести к ограничению фертильности вследствие снижения воздействия прогестерона.

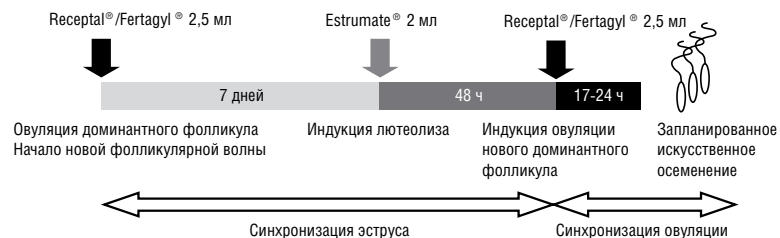
Применение у мясных коров

Поскольку у мясных коров довольно обычным является анэструс после отела, простагландины не рассматриваются как способ регулирования эструса у этого типа животных. Если все же планируется использовать эту методику, необходимо убедиться в том, что у коровы присутствует устоявшийся половой цикл и она имеет соответствующую упитанность.

Простагландины и аналоги ГнРГ

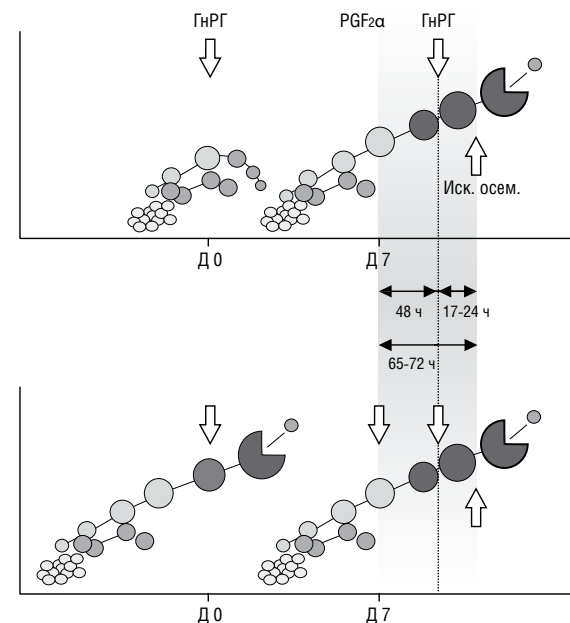
Эта программа, известная как «программа „Овсинх“ (Ovsynch)» (рис. 6), изначально была предназначена для молочных коров. Она предусматривает две инъекции аналога ГнРГ, в промежутке между которыми осуществляется однократная инъекция PGF₂α (Pursley и соавт., 1995). Поскольку в полевых условиях синхронизация, как правило, применяется у коров, находящихся на разных стадиях полового цикла, введение ГнРГ в сочетании с простагландином приводит в результате к большей гомогенности фолликулов яичника на момент индуцирования лютеолиза. Результатом является возможность более точного прогнозирования наступления эструса после вызванного простагландинами лютеолиза и улучшение синхронизации выброса ЛГ, что позволяет синхронизировать и развитие фолликулов, и регресс желтого тела.

Рис. 6. Программа «Овсинх»



Первое введение ГнРГ происходит на случайной стадии полового цикла и вызывает либо овуляцию, либо лютеинизацию доминантного фолликула (при его наличии) у 85% коров (Pursley и соавт., 1995). Введение простагландина также вызывает регресс любого дополнительного желтого тела или лютеинизированного фолликула, обусловленного действием ГнРГ, либо регресс фактически любого желтого тела, являющегося результатом предыдущей спонтанной овуляции (рис. 7). У коров с изменениями в динамике фолликулярной волны новый доминантный фолликул будет присутствовать в яичнике ко времени второй инъекции ГнРГ. У коров, получивших ГнРГ во время преддоминантной фазы цикла фолликулярной волны, не происходит изменения фолликулярной волны, и поэтому доминантный фолликул также будет наблюдаться ко времени второй инъекции ГнРГ. Овуляторная реакция у молочного скота четко синхронизируется и проявляется примерно через 26-32 часа после второй инъекции ГнРГ. Таким образом, запланированное осеменение через 17-24 часа после инъекции ГнРГ должно в результате обеспечить высокую вероятность успешного оплодотворения (Peters и соавт., 1999).

Рис. 7. Фолликулярная динамика у коров, проходящих лечение по программе «Овсинх»



Программа «Овсинх» упрощает планирование первого после отела искусственного осеменения, одновременно улучшая деятельность репродуктивной системы в период непосредственно после отела, что позволяет экономить рабочую силу ввиду отсутствия необходимости выявления эструса у животных. Coleman и соавт. (1991) и Twagirumungu и соавт. (1992) отмечают, что показатели оплодотворяемости коров, синхронизированных с помощью ГнРГ и PGF_{2α}, варьируются от 35 до 65% и равняются показателям оплодотворяемости контрольной группы животных, осемененных при первом выявленном эструсе.

Эффективность программы «Овсинх»

Эффективность программы на основе ГнРГ-PGF_{2α}, синхронизирующей эструс и овуляцию, зависит от стадии развития фолликула во время введения первой инъекции ГнРГ. Наилучшие показатели оплодотворяемости при использовании данной программы достигаются в том случае, если во время первой инъекции коровы находятся в стадии овуляции.

Vasconcelos и соавт. (1999) изучили влияние дня полового цикла, в который начинается применение программы «Овсинх», на показатели стельности у молочных коров в период лактации (таблица 8).

Таблица 8. Эффективность индуцирования эструса при помощи программы «Овсинх», начатой в различные дни полового цикла (источник: Vasconcelos и соавт., 1999)

День цикла	Первая инъекция ГнРГ Овуляция	Вторая инъекция ГнРГ Овуляция
1-4	23%	94%
5-9	96%	89%
10-16	54%	85%
17-21	77%	81%
Итого	64%	87%

Таким образом, можно сделать вывод о том, что показатели оплодотворяемости достигаются при начале применения программы «Овсинх» между 1-м и 12-м днем полового цикла. Мониторинг полового цикла с целью выбора наиболее подходящего времени для начала программы является, однако, непрактичным и в любом случае разрушает саму идею использования дан-

ной программы, предназначенной для применения на любой стадии цикла коровы.

В течение последних нескольких лет проводились многочисленные исследования, направленные на сравнение показателей оплодотворяемости при использовании программы «Овсинх» и других способов управления половым циклом, таких как введение простагландинов (Pursley и соавт., 1997; de la Sota и соавт., 1998; Keister и соавт., 1998; Stevenson и соавт., 1999, 2000; Cartmill 2001), прогестагенов (Gaery и соавт., 1998; Williams и соавт., 2002), применение различных модификаций программы «Овсинх» (Bartolome и соавт., 2002; Pancarci и соавт., 2002), а также проведение естественного осеменения (Cordoba и Fricke 2001).

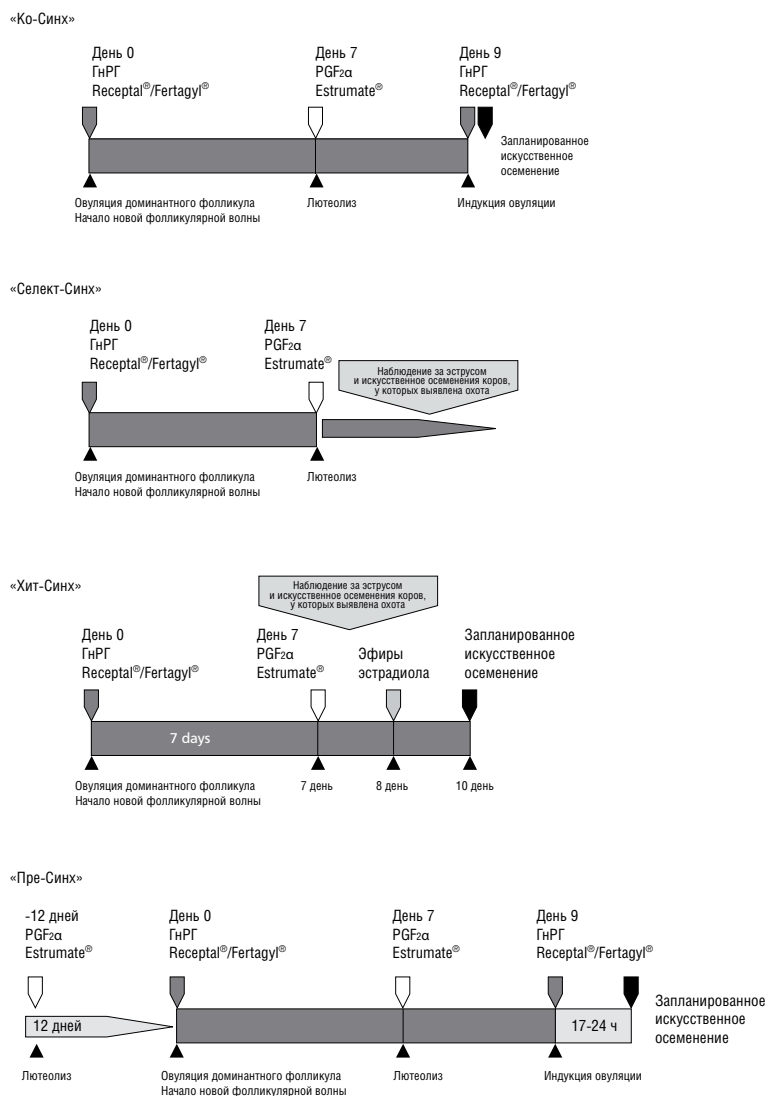
В мета-анализе, выполненном Rabiee и соавт. (2005), результаты, приведенные в многочисленных исследованиях, сравниваются с результатами, полученными в рамках использования программы «Овсинх», проведения естественного осеменения, введения одиночной, двойной или тройной инъекции простагландина, а также в рамках программ «Селект Синх» (Select Synch), «Хит Синх» (Heat Synch) или модификаций «Овсинх». Авторы пришли к выводу о том, что показатели стельности по программе «Овсинх» незначительно отличаются от результатов, полученных в результате естественного осеменения. Более того, вероятность оплодотворения и наступления стельности немногим отличается в группах коров, проходивших лечение по программе «Овсинх» и лечение простагландинами. Вероятность стельности коров, проходящих лечение по программам «Овсинх», «Хит Синх» и «Селект Синх», практически не отличается.

Модификации программы «Овсинх» (рис. 8)

Как овуляторная реакция на инъекцию ГнРГ, так и лютеиновая фаза, следующая за индуцированием овуляции инъекцией ГнРГ, зависят от размера фолликулов во время ввода ГнРГ. Предварительная синхронизация и другие модификации программы «Овсинх» направлены на повышение вероятности индуцирования овуляции после первой инъекции ГнРГ и обеспечения лютеолиза и синхронизированной овуляции после ввода простагландина и ГнРГ.

Одной из простейших модификаций классической программы «Овсинх» является так называемая программа «Ко-Синх» (Co-Synch). Разница заключается в том, что вторая инъекция ГнРГ и искусственное осеменение осуществляются в одно и то же время, т. е. через 48 часов после введения простагландина (Small и соавт., 2000).

Рис. 8. Примеры модификаций программы «Овсинх»
(источник: Cavalieri и соавт., 2006)



Хотя многочисленные исследования в рамках программы «Ко-Синх» были сосредоточены на 48-часовом интервале между инъекцией простагландина и ГнРГ с последующим искусственным осеменением, а также на промежутке до эструса, следующем за лечением, их результаты показывают, что интервал в 60-64 часа после введения простагландина (согласно программе «Овсинх») позволит более точно соответствовать времени осеменения мясного (Geary и соавт., 2000; Stevenson и соавт., 2000; DeJarnette и соавт., 2001a) и молочного (DeJarnette и соавт., 2001b) скота.

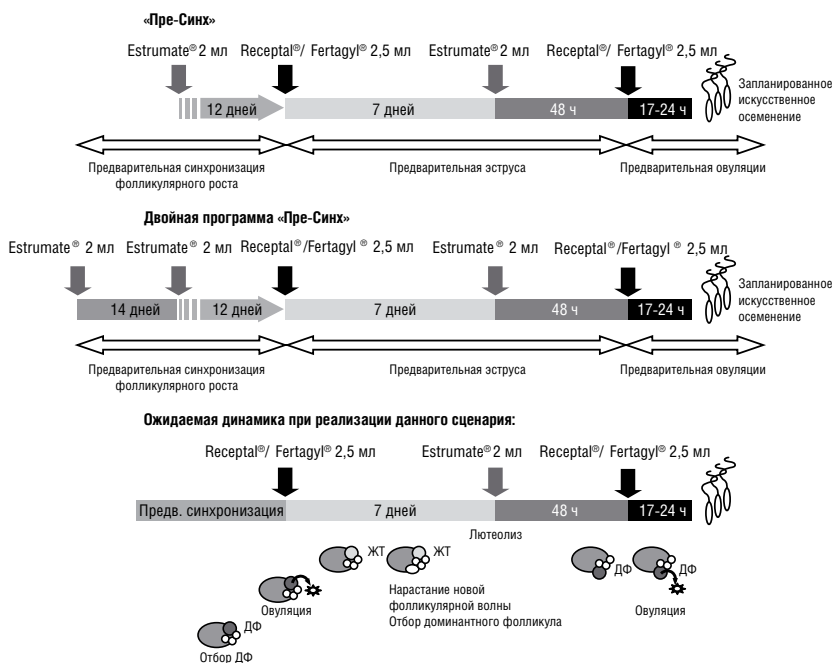
Эти результаты сравнимы или незначительно различаются с результатами, полученными в рамках применения программы «Овсинх», при этом объем работ по уходу за животными сокращается (DeJarnette и соавт., 2003). Несмотря на это, результаты стохастического анализа, опубликованные Olynn и соавт. (2009), демонстрируют, что консервативные управляющие фермами предпочитают нести затраты на дополнительный персонал, участвующий в проведении осеменения по программе «Овсинх», и тем самым избегать возможных рисков уменьшения показателей оплодотворяемости, которые предполагаются при использовании программы «Ко-Синх».

Были также предложены различные программы предварительной синхронизации, позволяющие унифицировать динамику яичников даже для тех коров, которые в обязательном порядке проходят лечение по классической программе «Овсинх» (рис. 9). Это обеспечивает большую вероятность того, что основная группа коров, охваченных финальной частью программы «Овсинх», будет иметь доминантные фолликулы, обусловленные ЛГ, к моменту первой инъекции ГнРГ.

Программа предварительной синхронизации («Пре-Синх» (Pre-Synch)), применяющаяся перед началом программы «Овсинх», заключается в введении двух инъекций простагландинов с интервалом в 14 дней, при этом вторая инъекция вводится за 12 дней до первой инъекции ГнРГ по программе «Овсинх». Как утверждают Mogueira и соавт. (2001), программа «Пре-Синх-Овсинх» на 18% (25-43%) увеличивает процент стельности у дойных коров с устоявшимся половым циклом.

Необходимо отметить, что программа предварительной синхронизации на основе простагландинов может повысить шансы на успешное осеменение после выполнения программы «Овсинх» только у коров, имеющих постоянный половой цикл, поскольку только в этом случае животные будут восприимчивы к лютеолизу во время предварительной синхронизации.

Рис. 9. Динамика фолликула у коров, проходящих лечение простагландинами по программе «Пре-Синх»



Программа предварительной синхронизации с помощью ГнРГ может применяться также после отела — за 7 дней до начала программы «Овсинх». Преимущество такого подхода состоит в том, что метод может использоваться как для коров, имеющих половой цикл, так и для коров, находящихся в анаэструсе (Thompson и соавт., 1999; Stevenson и соавт., 2000). Этот способ также доказал свою эффективность при использовании у телок (Stevenson и соавт., 2008).

Комбинация простагландинов и ГнРГ в качестве средства предварительной синхронизации, предшествующего классической программе «Овсинх» или программе «Ко-Синх», также применялась с переменным успехом, однако приводила к определенному улучшению показателей стельности после выполнения программы «Овсинх» и искусственного осеменения (DeJarnette и соавт., 2003).

Программа «Хит Синх», более широко применяемая в США, заключается в замене второй инъекции ГнРГ на введение эфира эстрадиола (Geary

и соавт., 2000; Stevenson и соавт., 2004). Сторонники этой программы утверждают, что эстрадиол более точно синхронизирует овуляцию доминантного фолликула и увеличивает признаки проявления половой охоты у коров. Усиливающиеся сомнения в безопасности применения эстрогенов у животных, производящих продукты питания, обуславливают практическую невозможность использования этих гормонов в Европе. Таким образом, реализация программы ограничена по географическому признаку. Тем не менее, следует отметить: несмотря на то, что большая часть исследований в рамках программы «Хит Синх» происходит в США, на сегодняшний день на американском рынке не существует эстрадиол-содержащей продукции, лицензированной для использования на молочных фермах.

При замене второй инъекции ГнРГ в программе «Овсинх» для инициирования овуляции использовались инъекции ХГЧ или импланты, содержащие потенциальный агонист ГнРГ — деслорелин. Результаты применения ХГЧ были сопоставимы по показателям стельности на число осеменений с результатами искусственного осеменения при использовании ГнРГ (De Rensis и соавт., 2002), но реализация программы с деслорелином приводит к удлинению периода между овуляциями (Bartolome и соавт., 2004) вследствие уменьшения чувствительности гипоталамуса (Padula и соавт., 2002; 2005) и снижению показателей стельности при увеличении дозы деслорелина (Santos и соавт., 2004).

Применение ХГЧ вместо второй инъекции ГнРГ при выполнении классической программы «Овсинх» представляется многообещающим. Многочисленные авторы (Rajamehendran и соавт., 1992; Schmitt и соавт., 1996s, 1996b) описывают эффективность ХГЧ для индукции овуляции и образования желтого тела. В классической программе «Овсинх» ХГЧ используется для синхронизации и индукции овуляции (De Rensis и соавт., 2002).

Предварительные данные, приведенные в последних публикациях, позволяют предположить, что у высокоудойных коров, а также в стадах, подвергающихся тепловому стрессу, такой способ имеет явные преимущества перед программой «Овсинх», основанной исключительно на введении ГнРГ. De Rensis и соавт. (2008) исследовали группы дойных коров, проходящих по классической программе «Овсинх» и программе на основе ХГЧ поздней весной и летом. Средний уровень прогестерона в плазме в группе ХГЧ был выше на 3, 6 и 9-й дни после осеменения. Результаты этих исследований показывают, что применение ХГЧ для инициирования овуляции в рамках программы с установленным временем искусственного осеменения вызывает повышение уровня прогестерона в плазме и улучшает оплодотворяемость у молочных коров в теплое время года. Исследования Schmitz и соавт.

(2008), представленные на 16-й конференции ICAR, освещают подобный положительный эффект замены второй инъекции ГнРГ в классической программе «Ко-Синх» на инъекцию ХГЧ у молочных коров.

Положительные результаты применения ХГЧ в рамках программы типа «Овсинх» могут объясняться в основном лютеотрофическим действием ХГЧ и его длительной активностью. В течение некоторого времени тот факт, что индукция овуляции при помощи ХГЧ может привести к образованию желтого тела с большим стероидогенным потенциалом (Schmitt и соавт., 1996а, б), оспаривался. Более того, применение ХГЧ у овец и коров приводит к увеличению количества больших лютеиновых клеток и, соответственно, уменьшению малых лютеиновых клеток, сопровождающемуся увеличением концентрации прогестерона в плазме.

Программа «Овсинх» и дозировка ГнРГ

Первые фундаментальные исследования использования ГнРГ в программе «Овсинх» и для индукции овуляции проводились с применением 8 мкг сильнодействующего аналога ГнРГ, бузерелина. В более поздних исследованиях использовался гонадорелин, но в дозировке 100 мкг. Такая дозировка ГнРГ является стандартной в США и вызвала большой интерес во многих других странах, поскольку позволяет снизить стоимость лечения.

Однако уменьшенная доза гонадорелина влечет за собой существенное сокращение биологической активности, поскольку активность бузерелина примерно в 40-200 раз выше, чем активность гонадорелина. (Chenault и соавт., 1990). Поэтому многие авторы подвергали сомнению эффективность сниженной дозы гонадорелина для индукции овуляции, особенно в сложной программе синхронизации типа «Овсинх», в рамках которой индукция овуляции у большого процента коров определяет как точность синхронизации, так и ее эффективность. Меньшая доза гонадорелина (25 мкг и 100 мкг) лишь частично способна (100 мкг) или совсем не способна (25 мкг) вызвать овуляцию доминантного фолликула (Mihm и соавт., 1998). Согласно данным Cartmill и соавт. (2001) при использовании 100 мкг гонадорелина в рамках программы «Овсинх» синхронизация овуляции произошла только у 68% коров, имеющих половой цикл. В то же время Vasconcelos и соавт. (1999) и Fricke и соавт. (1998) продемонстрировали сопоставимые результаты показателей овуляции при применении низких и стандартных доз гонадорелина.

Однако некоторые недавние исследования указывают на то, что большинство овуляций, инициированных низкой дозой гонадорелина, не приводят к образованию нормального желтого тела. Что, в свою очередь, оказывает негативное воздействие на последующее течение и показатели стельности.

Cordoba и Fricke (2002) и Shephard (2002) сообщили об увеличении случаев сокращения полового цикла, уменьшения лютеиновой фазы и отсутствия зачатия у коров, проходивших лечение гонадорелином (соответственно 50 или 100 мкг) по программе «Овсинх». Сокращение циклов наблюдалось как у коров, находившихся в эструсе, так и при анэструсе животных. Таким образом, образование аномального желтого тела можно с наибольшей вероятностью связать с инъекцией малой дозы ГнРГ, оказывающей ограниченное воздействие на атрезию фолликула, овуляцию и формирование желтого тела.

В самых последних исследованиях, описанных Colazo и соавт. (2009), проверялось воздействие трех доз ГнРГ (50, 100 и 250 мкг гонадорелина) на высвобождение ЛГ у коров, подвергнутых овариэктомии. Средняя концентрация ЛГ в плазме была обусловлена дозой ГнРГ у особей, которым вводились такие дозы при дозах 50 или 100 мкг. Период повышенной концентрации ЛГ при дозе 250 мкг был длиннее, чем при введении 50 мкг ГнРГ.

Прогестагены

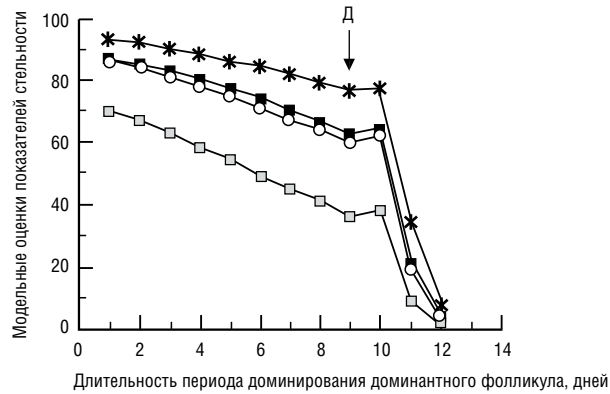
Лечение прогестагенами типа Crestar® имитирует лютеиновую фазу полового цикла. Для получения нормального фертильного цикла длительность лечения должна составлять 10-12 дней.

Отличительной особенностью современных программ на основе прогестагенов является введение эстрадиола в начале лечения с целью:

- сокращения жизненного цикла желтого тела;
- прекращения существующей фолликулярной волны и инициирования появления нового фолликула.

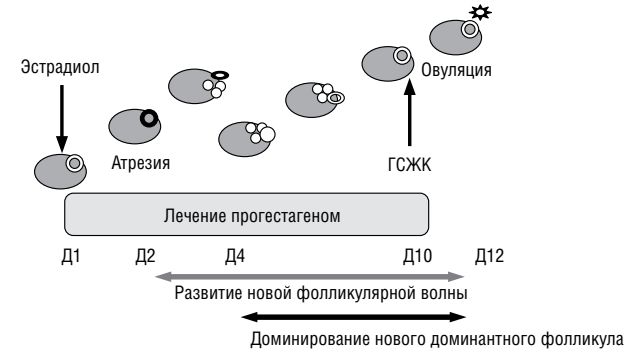
Вторая функция эфиров эстрадиола, используемых совместно с прогестагенами, особенно важна, поскольку все системы высвобождения прогестерона/прогестагена создают в организме животного более низкий, чем в лютеиновой фазе, уровень прогестерона. Эти уровни достаточно высоки для того, чтобы вызвать отрицательную обратную связь и предотвратить предовуляторный выброс ЛГ, овуляцию и половую охоту. Однако они не достаточно высоки для того, чтобы полностью блокировать высвобождение ЛГ, поэтому сохраняется небольшое пульсообразное выделение гормона, которое обеспечивает существование доминантного фолликула, если он присутствует в яичнике к началу лечения. Известно, что если продолжительность доминирования фолликула превышает 4 дня (персистентный фолликул), то отмечается прогрессирующее ухудшение фертильности, вызванное снижением активности яйцеклетки, а также увеличение эмбриональной смертности (рис. 10; Diskin и соавт., 2002).

Рис. 10. Оценка показателей стельности при увеличении продолжительности доминантного периода преовуляторного фолликула (источник: Diskin и соавт., 2002)



Экзогенный эстрадиол, вводимый вместе с прогестероном, подавляет образование или уменьшает диаметр доминантного фолликула при введении до или во время возникновения фолликулярной волны, предположительно вследствие подавления ФСГ и, возможно, ЛГ. Если отбор фолликула произошел, применение эстрадиола вызывает уменьшение диаметра доминантного фолликула, не изменяя значительно время наступления следующей волны (рис. 11). Лечение коров, у которых отсутствует овуляция, низкими дозами прогестагенов в течение 6-8 дней, редко инициирует образование персистентного фолликула, что следовало бы ожидать у коров, имеющих половой цикл, но не имеющих желтого тела (McDougal и соавт., 2004). Cerrí и соавт. (2009) выяснили, что лечение высокоудойных коров голштинской породы, которым внутривагинально был установлен прогестерон-высвобождающий аппарат (CIDR®), обуславливает меньшую, чем в лютеиновой фазе, концентрацию прогестерона, однако у высокоудойных коров в анаэструсе подобное лечение усиливает индуцирование полового цикла без какого-либо влияния на результаты оплодотворяемости во время первого осеменения.

Рис. 11. Динамика развития фолликула у коров, проходивших лечение эстрадиолом в начале программы синхронизации, основанной на применении прогестагенов



Применение эстрадиола в начале синхронизации прогестероном, даже если продолжительность лечения увеличивается до 12 дней, не всегда гарантирует, что регресс желтого тела завершится у всех животных к моменту отмены прогестерона или спустя 24 часа после нее. Следовательно, настоятельно рекомендуется вводить PGF_{2α} во время или до отмены прогестерона, что будет гарантировать регресс желтого тела у животных, не проявлявших реакции на эстрадиол.

Одним из преимуществ таких препаратов на основе прогестагена, как Crestar®, является их способность инициировать половой цикл у коров с анаэструсом. Прогестаген оказывает воздействие на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось животных с отсутствием полового цикла и гарантирует нормальную продолжительность существования желтого тела. Введение ГСЖК после удаления прогестагенов продолжает стимулировать созревание фолликула и процесс овуляции. Показатели успешного применения Crestar® и других препаратов на основе прогестагенов при лечении анаэструса могут быть различными (50-70%), в зависимости от времени, прошедшего от отела до начала лечения, упитанности коровы и причин возникновения анаэструса. Однако Crestar® и другие системы на основе прогестагенов можно рассматривать как оптимальный способ регулирования эструса у мясных коров, поскольку он позволяет проводить осеменение компактно в начале сезона и обеспечивает высокий уровень оплодотворяемости во время первого синхронизированного эструса. Это, в свою очередь, упрощает незамедлительное проведение повторного искусственного осеменения у коров, не

оплодотворенных во время первого эструса, сокращая период между отелами. Половая охота и овуляция после лечения прогестагенами имеют место раньше и предсказать срок их наступления можно точнее, чем при лечении с помощью инъекций постагландинов. При использовании Crestar® рекомендуется единое, заранее установленное время осеменения (таблица 9).

Таблица 9. Использование Crestar® в различных программах для телок и коров

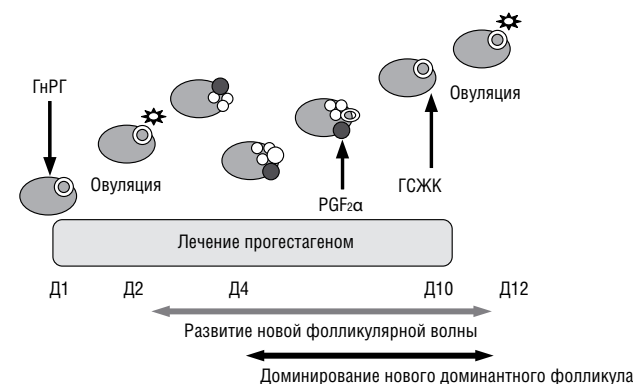
Тип животного	День 0	48 часов перед удалением импланта	День 9-10	Искусственное осеменение
Мясные телки	Имплант и инъекция Crestar®	x	Удаление импланта, инъекция 400-600 ед. ГСЖК (Folligon®)	48 часов после удаления импланта
Молочные телки	Имплант и инъекция Crestar®	x	Удаление импланта	48 часов после удаления импланта
Мясные коровы	Имплант и инъекция Crestar®	x	Удаление импланта, инъекция 500-700 ед. ГСЖК (Folligon®)	56 часов после удаления импланта
Молочные коровы	Имплант и инъекция Crestar®	Инъекция простагландина (Estrumate®)	Удаление импланта, инъекция 300-400 ед. ГСЖК (Folligon®)	56 часов после удаления импланта

Последние исследования представляют программы, в рамках которых инъекция эстрадиола заменяется введением ГнРГ в начале лечения (Thompson и соавт., 1999; Stevenson и соавт., 2000; Garcia и соавт., 2004). Эти изменения связаны с запретом использования в Европе эфиров эстрадиола для лечения животных, производящих продукты питания (Lane и соавт., 2008). Более того, эти ограничения действуют и за пределами Европейского союза. Например, они повлекли за собой изменения в Новой Зеландии и Австралии. В Новой Зеландии по всем ветеринарным показа-

ниям запрещено применение бензоата эстрадиола, а в Австралии существует добровольное соглашение о неприменении бензоата эстрадиола для молочных коров в период лактации.

Механизм воздействия программы, объединяющей ГнРГ и прогестагены, немного отличается от программы на основе эстрадиола и прогестагенов, поскольку ГнРГ инициирует овуляцию доминантного фолликула и способствует образованию дополнительного желтого тела (рис. 12) (Cavaliere и соавт., 2006).

Рис. 12. Динамика развития фолликула у коров, проходящих лечение ГнРГ, в начале программы синхронизации полового цикла, основанной на применении прогестагенов



При использовании такой системы необходимо учитывать несколько важных моментов.

При замене эстрадиола гонадолиберином можно получить дополнительные преимущества, такие как стимуляция роста фолликула (особенно важно для лечения коров, у которых отсутствует овуляция) и формирование дополнительного желтого тела, что приводит к увеличению концентрации прогестерона и оказывает положительное воздействие на фертильность при индуцированном эструсе. Поскольку введение ГнРГ должно инициировать образование дополнительного желтого тела у значительного процента коров, а фактор, способствующий лютеолизу (эстрадиол в традиционной программе) при этом не учитывается, необходимо вводить всем животным, проходящим лечение, аналог простагландина PGF2α, желательно за 48 часов до удаления источника прогестерона (рис. 13).

Рис. 13. Пример программы синхронизации полового цикла, основанной на применении прогестагенов и введении ГнРГ в начале программы



Это подход нашел применение в виде все более и более популярной комбинации введения прогестагена/прогестерона с одновременным осуществлением полной классической программы «Овсинх». Эта программа предполагает установку прогестерон-высвобождающего препарата (PRID® — прогестерон-высвобождающий внутривагинальный препарат) во время первой инъекции ГнРГ по программе «Овсинх». После удаления препарата производится инъекция простагландина, а через 48 часов — вторая инъекция ГнРГ. Эта система достоверно повышает потенциал классической программы «Овсинх» на молочных фермах (El-Zarkouny и соавт., 2004; Ambrose и соавт., 2005; Stevenson и соавт., 2006), но может эффективно применяться и у мясных коров.

Несомненно, добавление прогестерона во время развития фолликулярной волны и будущего овуляторного фолликула оказывает очевидное положительное воздействие на качество яйцеклетки, а также уменьшает вероятность сокращения лютеиновой фазы после осеменения при лечении коров с анэструсом. Melendez и соавт. (2006) продемонстрировали, что у коров, которым вводились препараты по программе «Овсинх» и дополнительный экзогенный прогестерон, показатели стельности и концентрация прогестерона после искусственного осеменения были выше, чем у коров, проходящих по программе «Овсинх», но не подвергавшихся инъекциям дополнительного прогестерона.

Повторная синхронизация эструса у коров, вернувшихся в охоту

Для повторной синхронизации вернувшихся в охоту и ранее синхронизованных коров применяются различные стратегии, позволяющие увеличивать количество особей, направляемых на повторное осеменение в определенный период. Данные стратегии включали использование прогестерон-высвобождающих препаратов или возвращение ранее осемененных коров в программу «Овсинх».

Программы, которые считаются пригодными для повторной синхронизации, можно классифицировать следующим образом.

1. Подбор вслепую

Повторная синхронизация начинается до выявления в осемененной группе яловой особи. Программа основана на использовании ГнРГ для осемененных животных, что указывается в инструкциях к некоторым аналогам ГнРГ во многих странах. ГнРГ обычно вводится на 23-24-й день после искусственного осеменения, с последующей ультразвуковой диагностикой семь дней спустя (Chebel и соавт., 2003). Яловые коровы получают инъекцию PGF_{2α} и могут продолжать лечение по полной программе «Овсинх». Повторное осеменение проводится приблизительно через 32 дня после предыдущего искусственного осеменения. Хотя период до повторного осеменения значительно короче, чем при запланированном осеменении, использование этой программы приводит к тому, что многие коровы, уже будучи стельными, получают ненужное лечение.

2. Целевой подбор

Программа повторной синхронизации начинается сразу после выявления в группе яловых коров. Данная система основана на использовании ранней ультразвуковой диагностики (на 27-28-й день после искусственного осеменения) или тестов на стельность на ранних сроках (см. раздел 2.2.3). Яловые коровы получают инъекцию PGF_{2α} и могут быть осеменены при последующем выявлении охоты или включены в программу повторной синхронизации «Овсинх» (Bartolome и соавт., 2005a, b, c). Такое повторное осеменение может осуществляться приблизительно на 30-31-й день после предварительного искусственного осеменения (с инициированным простагландином эструсом и искусственным осеменением по выявлению охоты) или даже спустя 49 дней (если используется полная программа предварительной синхронизации «Овсинх»).

Период между осеменением, выявлением яловых коров и повторным осеменением является более продолжительным, чем при повторном осеменении «вслепую», однако эта программа гарантирует, что лечение проходят только не осемененные животные, что гораздо экономичнее и соответствует рекомендациям о целенаправленном использовании медикаментов.

Применение других различных комбинаций прогестагенов и эстрадиола также характеризуется различными результатами (Galvaio и соавт., 2007; Calavaliere и соавт., 2008). Более того, возможный побочный эффект воздействия на функцию желтого тела эстрадиола, примененного после искусственного осеменения, требует дальнейшего изучения.

2.3.3. Факторы, оказывающие воздействие на оплодотворяемость осемененных коров

У молочных коров показатели оплодотворяемости в период лактации и отсутствия лактации являются одинаковыми и составляют в среднем 76,2% (от 55,3 до 87,8%) и 78,1% (от 58,0 до 98,0%) соответственно (Santos и соавт., 2004). У мясных коров средние показатели равны 75,0%, разброс — от 60 до 100%.

Humbolt (2001) продемонстрировал, что отсутствие оплодотворяемости и ранняя гибель эмбрионов являются причиной потери стельности в 20-45% случаев, поздняя гибель эмбрионов/гибель плода — в 8-17,5% случаев, поздний аборт — в 1-4% случаев. Существуют также две дополнительные причины потери стельности, помимо проблем осеменения, неудачного оплодотворения и потери плода. Таким образом, факторы, обуславливающие потерю стельности после осеменения, могут быть сгруппированы следующим образом.

1. Факторы, обуславливающие отсутствие оплодотворяемости:

а. недостаточная деятельность эндокринной системы, вызывающая замедление роста фолликула и ухудшение качества яйцеклетки:

- тепловой стресс,
- отрицательный энергетический баланс,
- инфекции, такие как ВД КРС и ИРТ;

б. задержка овуляции и/или ее отсутствие:

- тепловой стресс,
- отрицательный энергетический баланс;

с. факторы, оказывающие влияние на качество сперматозоидов:

- факторы, влияющие на сперматогенез: инфекции, такие как ВД КРС, ИРТ, *Brucella spp.*, тепловой стресс, повышенная температура тела,
- факторы, оказывающие влияние на выживание спермы до помещения ее в половые пути коровы: техника сохранения семени, внесение семени.

2. Факторы, оказывающие влияние на ранние стадии развития эмбриона, диагностику стельности и имплантацию:

а. замедление динамики лютеиновой фазы на раннем этапе:

- высокая степень метаболизма у молочных коров,
- инфекции, такие как ВД КРС и ИРТ,
- недостаточность прогестерона во время первого цикла после отсутствия эструса,

- лютеотоксические факторы, вызывающие преждевременный лютеолиз: микотоксины, бактериальные токсины, вызывающие маститы;
- б. замедленная функция эндометрия и неблагоприятная среда в матке:
- повышение уровня мочевины и азота в плазме,
- субклинические эндометриты.

3. Факторы, вызывающие позднюю гибель эмбрионов/гибель плода:

а. инфекции, причиняющие вред непосредственно плоду или ухудшающие деятельность плаценты:

- вирусные инфекции: ВД КРС, ИРТ.
- бактериальные инфекции: *Brucella spp.*, *Chlamydia spp.*,
- протозойные инфекции: *Neospora caninum*, *Trichomonas spp.*;

б. неинфекционные факторы, оказывающие прямое воздействие на плод или ухудшающие деятельность плаценты:

- микотоксины,
- токсичные вещества, такие как поливинилы, свинец и т. д.

2.3.3.1. Задержка овуляции

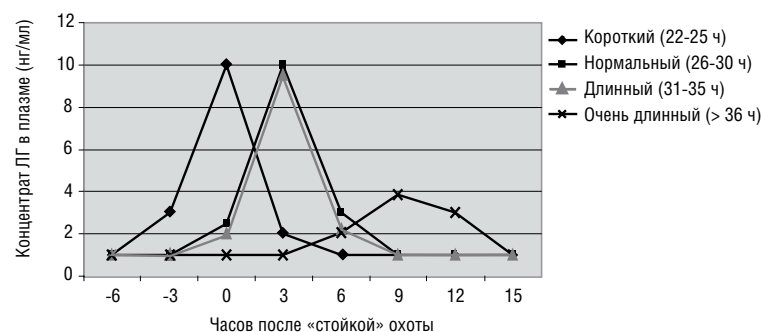
Различие в продолжительности эструса и проблемы в выявлении эструса могут привести к некорректному планированию времени осеменения и отсутствию успешных показателей стельности. С другой стороны, у высокоудойных коров на успех оплодотворяемости может влиять как задержка овуляции, так и атрезия фолликула. Эти факторы являются причиной так называемой «асимптомической» неоплодотворяемости, которая имеет место весной.

Овуляция происходит примерно через 30 часов после начала эструса, т. е. по окончании проявления признаков половой охоты. Однако на фактическое время наступления овуляции по отношению к пику эструса (максимальное проявление признаков половой охоты) могут оказывать влияние различные факторы. Как отмечалось в других главах, замедление лютеинизации вследствие дефицита метаболизма либо излишний метаболизм или воздействие высоких температур (тепловой стресс) могут вызвать задержку овуляции. Задержка овуляции после окончания эструса сводит шансы на успешное оплодотворение к минимуму. Ввиду относительно короткого жизненного цикла сперматозоидов в замороженной сперме успех искусственного осеменения во многом зависит от правильно выбранного времени осеменения по отношению ко времени овуляции. Оплодотворяемость яйцеклетки значительно увеличивается в течение 8-12-ти часов после овуляции, а проведение осеменения за 25-40 часов до овуляции вызывает существенное снижение уровня оплодотворяемости.

Более того, пролонгированное доминирование фолликула ассоциируется с нарушением жизнеспособности яйцеклетки и увеличением количества случаев гибели эмбриона (Diskin и соавт., 2004).

Недавние исследования, опубликованные Bloch и соавт. (2006), были посвящены описанию состояния эндокринной системы коров, имеющих различный интервал между эструсом и овуляцией. Результаты подтвердили существование связи между предовуляторным снижением концентрации эстрадиола и небольшим отсроченным предовуляторным выбросом ЛГ с одной стороны и увеличенным интервалом между эструсом и овуляцией с другой стороны (рис. 14).

Рис. 14. Концентрация предовуляторного уровня ЛГ у коров с различным интервалом между эструсом и овуляцией (источник: Bloch и соавт., 2006)



Более того, данное исследование обнаружило низкую концентрацию прогестерона после овуляции в середине лютеиновой фазы у животных с длинным или очень длинным интервалом между эструсом и овуляцией по сравнению со средним или коротким промежутком. Эти результаты дают ключ к пониманию возможной связи между задержкой овуляции, увеличенным интервалом между эструсом и овуляцией и ранней гибелью эмбрионов, вызванной недостаточной концентрацией прогестерона.

2.3.3.2. Неблагоприятная среда в матке

Другим фактором, снижающим способность к оплодотворению в молочном стаде, является скопление токсинов мочевины и азота у коров, получающих в рационе грубый белок на фоне неадекватного энергетиче-

ского баланса. При разрушении аминокислот увеличивается концентрация аммиака и мочевины в крови. Считается, что это в свою очередь приводит к неблагоприятным изменениям кислотно-щелочного баланса эндометрия, что может сказаться на имплантации. Кроме того, было доказано, что повышенная концентрация аммиака и мочевины как в кровотоке, так и в среде эндометрия, может оказывать влияние на жизнеспособность эмбриона и его способность к дальнейшему развитию. Самые значительные изменения среды матки происходят в середине лютеиновой фазы, являющейся критическим периодом для раннего развития эмбриона, определяющим его выживание в долгосрочной перспективе. Недавняя работа Rhoads и соавт. (2006) продемонстрировала, что высокое содержание мочевины в плазме крови у молочных коров в период лактации уменьшает жизнеспособность эмбриона путем воздействия на яйцеклетку и эмбрион еще до имплантации его в матку через семь дней после осеменения.

Достаточная информация о возможном воздействии субклинических эндометритов и необратимых морфологических изменений эндометрия, вызванных продолжительным воспалительным процессом, на успешность имплантации эмбриона у КРС отсутствует. Существующие данные о кобылах, однако, ясно указывают на то, что подобные изменения могут оказывать негативное влияние на диагностику стельности и замедлять процесс имплантации, приводя к ранней гибели эмбриона. Более того, Hill and Gilbert (2008) обнаружили ухудшение качества эмбрионов КРС, выращенных в среде, имитирующей воспаленный эндометрий. Это может указывать на то, что изменение качества эмбриона запускает раннюю эмбриональную смертность у коров с субклиническими эндометритами.

2.3.3.3. Важность ранней функции желтого тела для диагностики стельности и ее сохранения

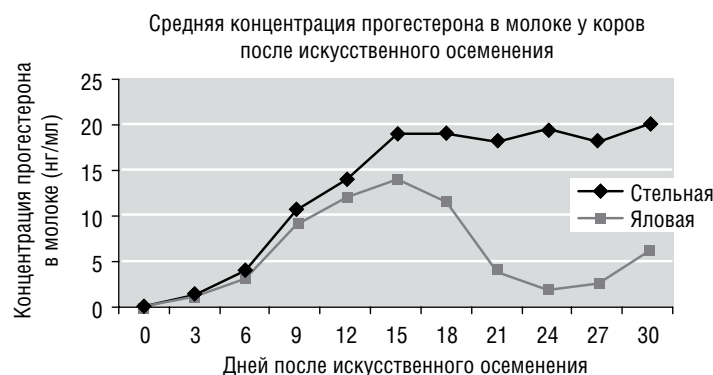
Уже в течение многих лет считается, что концентрация прогестерона на ранних стадиях стельности оказывает значительное воздействие на ее исход.

Как недавно отметили Robinson и соавт. (2008), образование функционирующего желтого тела и подъем уровня прогестерона после овуляции имеют критическое значение для развития эмбриона. Периферийная концентрация прогестерона начинает увеличиваться примерно на четвертый день после овуляции и достигает максимального уровня к 8-10-му дню. Именно быстрое снижение концентрации эстрадиола и последующее увеличение концентрации прогестерона гарантирует согласованное по времени функционирование эндометрия и яйцевода, обуславливающее выживание и развитие

эмбриона. Уровень концентрации прогестерона как в железах эндометрия, так и в субэпителиальной строме достигает максимума на 4-10-й день после овуляции. Железы эндометрия синтезируют, выделяют и транспортируют комплекс из аминокислот, глюкозы, транспортных белков и факторов роста, именуемый гистотрофом. Гистотроф является важным источником питания и регуляторных молекул для развивающейся бластоцисты до прикрепления эмбриона к слизистой матки.

Многочисленные исследования отмечают низкую концентрацию прогестерона в молоке (Lamming и соавт., 1989; Mann и соавт., 1995) и плазме (Mann и соавт., 1995, 1996; Buttler и соавт., 1996; Mann и соавт., 2001) коров, у которых произошел срыв стельности (рис. 15).

Рис. 15. Диаграммы уровня прогестерона у животных, оказавшихся стельными и яловыми



Эмбрионы коров с повышенной концентрацией прогестерона демонстрируют более активное развитие уже на пятый день после овуляции (Green и соавт., 2005).

Давно установлено, что оплодотворяемость и производство молока имеют у молочных коров отрицательную взаимосвязь. Lopez и соавт. (2005) указывали на то, что высокоудойные коровы демонстрируют сниженную концентрацию прогестерона по сравнению с низкоудойными. Такое положение, возможно, связано с более высоким уровнем метаболизма у высокоудойных особей и соответственно повышенными показателями разложения прогестерона (Wiltbank и соавт., 2006).

Многочисленные исследования диагностики и вынашивания стельности у КРС показывают, что два этих фактора тесно взаимосвязаны, поскольку

достаточный потенциал развития эмбриона является предпосылкой для пролонгированной функции желтого тела у КРС. В исследовании Mann и соавт. (2001) было продемонстрировано, что степень развития эмбриона тесно взаимосвязана с материнским прогестероном. В этом исследовании также было отмечено, что даже один день задержки в росте концентрации прогестерона после овуляции значительно замедляет дальнейшее развитие эмбриона.

Плохое обеспечение прогестероном развивающегося эмбриона очевидно оказывает влияние на его способность синтезировать и выделять интерферон-τ — эмбриональный сигнал о наличии стельности, широко распространенный у жвачных животных (Mann и соавт., 1999).

Удлинение бластоцисты инициирует выделение интерферона-τ, который определяется в моче с 12-го по 25-й день после овуляции. Коровы, имеющие плохо развивающийся эмбрион к 16-му дню после первого осеменения и не выделяющие или выделяющие незначительное количество интерферона-τ, демонстрируют задержку в повышении концентрации прогестерона после овуляции и сниженную активность лютеиновой фазы по сравнению с коровами, имеющими хорошо развивающийся эмбрион.

2.3.3.4. Влияние теплового стресса на эффективность репродукции у КРС

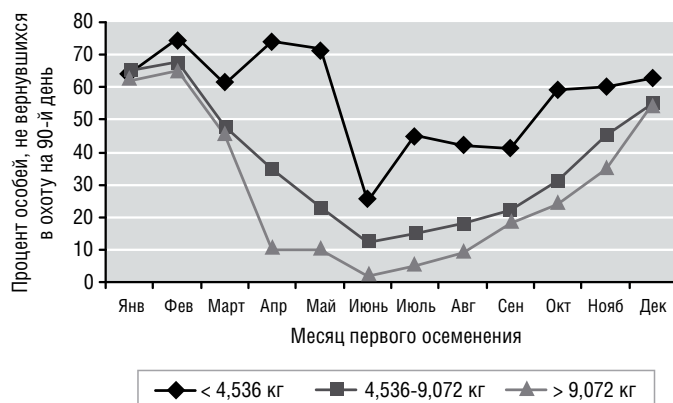
Влияние теплового стресса считается основным фактором ухудшения фертильности молочных коров, осемененных в последние летние месяцы. Уменьшение показателей стельности в теплое время года может на 20-30% отличаться по сравнению с зимними месяцами (Wolfenson и соавт., 2000; Rensis и соавт., 2003).

Постоянное увеличение производства молока в последние годы только усилило летний синдром отсутствия оплодотворяемости, поскольку высокий уровень удоев повышает метаболизм коровы и приводит к увеличению температуры ее тела. Верхний предел температуры окружающей среды, при котором молочные коровы в период лактации имеют нормальную температуру тела (на верхней границе нормы), составляет 25-27 °С. Проблема отрицательного воздействия теплового стресса касается не только тропиков и значительно влияет на прибыльность молочной промышленности.

Доказано также пролонгированное воздействие теплового стресса на фертильность животных и в осенние месяцы (Wolfenson и соавт., 1997; 2002). Это негативное влияние на оплодотворяемость сохраняется в течение одного-двух первых месяцев осени даже в том случае, если коровы уже не подвержены воздействию высоких температур (рис. 16). По-видимому, такое

влияние — результат воздействия летней жары на фолликулы, которые станут доминантными 40-50 дней спустя (Roth и соавт., 2000; 2001a; Wolfenson и соавт., 2002).

Рис. 16. Сезонные изменения при 90-дневном невозвращении в охоту у голштинской породы коров в Южной Джорджии и Флориде в группах животных с различными удоями (источник: Wolfenson и соавт., 1997)



Механизм отрицательного воздействия теплового стресса на репродуктивную функцию у КРС

Негативное влияние высокой температуры окружающей среды на репродуктивные процессы у молочных коров подробно зафиксировано и включает:

- отрицательное воздействие на половое поведение;
- замедленную работу эндокринной системы;
- изменения в модели развития фолликула;
- ухудшение качества яйцеклетки и эмбрионов;
- отрицательное воздействие на питание и энергетический баланс.

Воздействие теплового стресса на поведенческие модели

Под влиянием повышенной температуры продолжительность и интенсивность эструса уменьшаются, что сопровождается явным снижением моторной активности и других проявлений признаков половой охоты. Nobel и соавт. (1997) обнаружили, что коровы голштинской породы в течение лета имеют 4,5 покрытия быком во время эструса, в отличие от 8,6 покрытия на эструс в зимнее время.

Более высокие показатели скрытой охоты и анэструса являются одним из последствий воздействия высоких температур.

Влияние теплового стресса на эндокринную систему и развитие фолликула

Механизм воздействия теплового стресса на деятельность гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси остается не полностью понятным. Выделение ФСГ гипофизом у животных, подверженных воздействию повышенной температуры, не замедляется. Наоборот, коровы, подверженные тепловому стрессу, демонстрировали значительное уменьшение как частоты, так и амплитуды пульсации ЛГ. Таким образом, можно сделать вывод о том, что при высоких температурах доминантный фолликул развивается на пониженном фоне ЛГ. Это приводит к уменьшению выделения эстрадиола, которое, в свою очередь, обуславливает слабое проявление эструса и снижение фертильности (Rensis и соавт., 2003). Кроме того, снижение пульсации ЛГ (частоты и амплитуды) вызывает удлинение периода существования персистентного фолликула, задержку овуляции и образование постоянного доминантного фолликула, что связывается с заметным ухудшением качества яйцеклетки и уменьшением показателей стельности (Diskin и соавт., 2002; Bridges и соавт., 2005). Изменения стероидогенного потенциала фолликулов влияет на их окончательное развитие, вызывая сокращение выработки адростендиона тека-клетками и снижение концентрации эстрадиола в фолликулярной жидкости, отобранной из доминантного фолликула.

Появление большого количества крупных фолликулов с низкой выработкой эстрадиола, по-видимому, влечет за собой также увеличение случаев двойной овуляции и многоплодой стельности (Wolfenson и соавт., 2000).

Низкая концентрация циркулирующего прогестерона у коров связывалась с соответствующим ухудшением репродуктивной функции и снижением показателей стельности (Butler и соавт., 1996; Lamming и соавт., 1989; Mann и соавт., 1995; 2001). Ведутся многочисленные споры о том, является ли недостаточная выработка прогестерона желтым телом возможной причиной низкого уровня фертильности у КРС, подверженных воздействию повышенной температуры окружающей среды. Недавняя работа, опубликованная Wolfenson и соавт. (2002), анализирует выработку прогестерона *in vitro* тека-клетками и гранулезными клетками, полученными от коров в холодный и жаркий периоды, а также концентрацию прогестерона в системном кровотоке. Это исследование показало, что в стабильно жаркие летние месяцы выработка прогестерона значительно уменьшается, особенно это касается лютеиновых тека-клеток. Результаты указывают на летнее снижение концентрации прогестерона в плазме КРС на 25% по сравнению с зимой. Авторы

утверждают, что ухудшение фолликулярной функции, вызванное повышенной температурой окружающей среды, сказывается и на желтом теле. В последних опубликованных исследованиях Kornmatitsuk и соавт. (2008) обнаружили, что в жаркое время года основными проблемами стада являются высокий процент нарушений функции желтого тела у коров, причем чаще всего сообщалось о задержке деятельности желтого тела и ановуляции.

Влияние теплового стресса на качество и развитие эмбриона

Доказано, что образование гамет и развитие эмбриона на ранних стадиях во многом зависит от температуры.

Повышенная температура вызывает гипертермию мошонки и яичек, что приводит к ухудшению качества семени как с морфологической, так и с функциональной точки зрения. Hansen (1997) описал нарушение фертильности быка, вызванное воздействием повышенной температуры воздуха в летние месяцы. Жара оказывает менее серьезное воздействие на качество семени быков породы зебу, нежели быков европейских пород. Этот феномен обусловлен не только более эффективной терморегуляцией, характерной для представителей вида зебу, но и видовой адаптацией, выражающейся в местном охлаждении крови, поступающей в яички (Brito и соавт., 2004).

Тепловой стресс становится причиной задержки овуляции и образования персистентного фолликула, что может привести к овуляции старой яйцеклетки плохого качества и повлечет за собой низкую фертильность и гибель эмбриона (Sartori и соавт., 2000; Al-Katanani и соавт., 2001; Roth и соавт., 2001). Aroyo и соавт. (2007) продемонстрировали, что индуцированное химической реакцией деление яйцеклетки КРС, взятой в жаркое время года, на два и четыре blastomeres было замедленно по сравнению с яйцеклетками, отобранными в холодное время года. Таким образом, время начала деления клетки оказывает основное и длительное воздействие на последующий потенциал развития эмбриона, что объясняет недоразвитие эмбрионов коров, подверженных воздействию повышенной температуры воздуха.

Высокая температура окружающей среды оказывает отрицательное воздействие на эмбрионы, готовящиеся к прикреплению (Ryan и соавт., 1993; Ealy и соавт., 1993), однако сопротивляемость эмбриона увеличивается с его развитием (Ealy и соавт., 1993; Sartori и соавт., 2002, Hansen и соавт., 2001).

Недавние исследования, проведенные Garcia-Ispuerto и соавт. (2006), показали, что тепловой стресс во время перимплантационного периода может до такой степени нарушить успешное осеменение, что индекс температур и влажности на 21-30-й день после осеменения может рассматриваться как фактор риска потери плода на ранних стадиях стельности.

Заметное различие в силе воздействия высокой температуры воздуха на потенциал развития и качество яйцеклетки и эмбрионов было отмечено между представителями видов *bos taurus* и зебу. Высокая сопротивляемость эмбриона коров вида зебу воздействию повышенной температуры была продемонстрирована Paula-Lopes и соавт. (2003) и Hernandez-Ceron и соавт. (2004) и обобщена Hansen (2004).

Тепловой стресс также оказывает негативное воздействие на среду матки, уменьшая маточный кровоток и повышая температуру матки, что может привести к срыву имплантации и гибели эмбриона. Это воздействие объясняется выработкой эндометрием в стрессовый период белков теплового шока и снижением продуцирования интерферона- τ оплодотворенной яйцеклеткой. Кроме того, тепловой стресс может оказывать влияние на выработку простагландина эндометрием, вызывая преждевременный лютеолиз и гибель эмбриона. Malayer и Hansen (1990) также обнаружили явное различие в реакции эндометрия на культуры при повышенной температуре между коровами породы брахман и голштинская.

Однако следует признать, что, хотя сопротивляемость воздействию повышенной температуры у представителей вида зебу выше, чем у представителей *bos taurus*, она имеет ограничения. Как показали последние исследования, проведенные Torres-Junior и соавт. (2008), продолжительное воздействие повышенной температуры на коров вида зебу оказывает отрицательный разрушительный эффект на динамику фолликула и жизнеспособность яйцеклетки.

Отрицательное воздействие на пищевой статус и энергетический баланс

Совершенно очевидно, что отрицательное воздействие повышенной температуры окружающей среды на репродуктивную функцию может быть результатом как прямого влияния на репродуктивную систему и развитие эмбриона, так и непрямого воздействия путем изменения энергетического баланса. У молочных коров в жаркую погоду наблюдается снижение потребления сухого вещества корма, что усиливает отрицательный энергетический баланс и оказывает негативное воздействие на концентрацию инсулина, IGF-I и глюкозы в плазме крови (Jonsson и соавт., 1997; Ronchi и соавт., 2001). Это является причиной слабого развития фолликула, скрытой охоты и образования яйцеклетки плохого качества.

Помимо этого, недавние исследования Kornmatitsuk и соавт. (2008) доказали снижение упитанности на пятой неделе после отела у коров в жаркое время года, что очевидно ассоциируется со снижением потребления кормов. В ходе того же эксперимента наблюдалось большее число случаев

аномальной активности желтого тела у коров, что приводило к задержке лютеиновой фазы и к ановуляции и являлось наиболее частой причиной нарушения функции яичников.

2.3.4. Улучшение показателей оплодотворяемости во время и после искусственного осеменения

Меры по повышению репродуктивности молочных коров в период лактации требуют понимания биохимических и физиологических принципов управления репродукцией и лактацией. Программы питания, производства молока и воспроизводства на ферме должны быть соответствующим образом модифицированы.

Попытки при помощи фармакологических средств улучшить оплодотворимость у осемененных животных сосредоточены на трех аспектах:

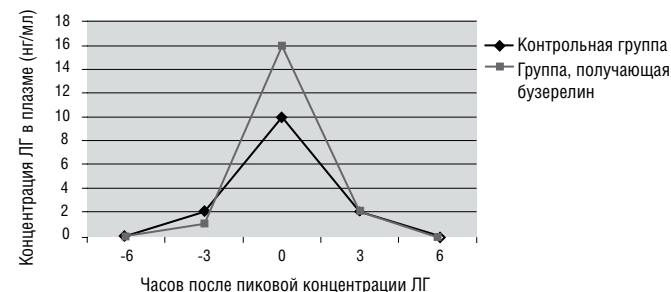
- индукция овуляции к определенному времени;
- предотвращение ранней гибели эмбриона путем увеличения концентрации прогестерона в организме в целом и предотвращения преждевременного лютеолиза (см. главу, посвященную ранней гибели эмбрионов);
- сведение к минимуму отрицательного воздействия повышенной температуры окружающей среды.

Предотвращение задержки овуляции — гарантия своевременной овуляции по отношению к сервис-периоду

Одним из способов получения хороших показателей оплодотворяемости является обеспечение овуляции в течение 7-18-ти часов после искусственного осеменения. Одной из методик является введение ГнРГ во время осеменения. В зависимости от размера и зрелости доминантного фолликула, предовуляторный выброс ЛГ и овуляция обычно происходят в течение 24-х часов после инъекции ГнРГ, что равняется времени между началом эструса и овуляцией (рис. 17).

Считается, что введение аналогов ГнРГ во время осеменения может изменить функцию и характеристики предовуляторных фолликулов и секреторную функцию растущего желтого тела (Мее и соавт., 1993). Результаты, полученные этими авторами, позволяют предположить, что ГнРГ усиливает или изменяет тека-лютеиновую или гранулезно-лютеиновую дифференциацию пред- или пост-овуляторного фолликула или растущего желтого тела и может оказывать на растущее желтое тело воздействие, инициирующее превращение малых лютеиновых клеток в большие и усиливающее при этом выделение прогестерона.

Рис. 17. Влияние введения ГнРГ (бузерелин, Recceptal®) на периферическую концентрацию ЛГ у коров (источник: Kaim и соавт., 2003)



Время введения ГнРГ

С учетом временной зависимости между выделением эндогенного ЛГ, продолжительностью половой охоты и овуляцией, а также сроком жизнеспособности сперматозоида и яйцеклетки, оптимальным будет введение ГнРГ во время искусственного осеменения или за шесть часов до него (Rosenberger и соавт., 1991). Многочисленные исследования показывают, что инъекция ГнРГ на ранних стадиях эструса с последующим искусственным осеменением в течение 5-10-ти часов дает наилучшие результаты как с точки зрения времени овуляции, так и с точки зрения улучшения показателей стельности. На практике, однако, ГнРГ чаще всего вводится во время искусственного осеменения и с весьма удовлетворительными результатами.

Результаты лечения

Rosenberger и соавт. (1991) оценили влияние инъекции ГнРГ во время эструса (10 мкг Recceptal®, «Интервет»; 250 мкг Fertagy®, «Интервет») на содержание ЛГ в плазме и успешность зачатия по отношению ко времени проведения лечения и осеменения. В группах с низким уровнем оплодотворяемости после первого следующего за отелом осеменения лечение ГнРГ улучшило результаты искусственного осеменения. Предполагалось, что введение ГнРГ может снизить вариативность времени овуляции или не допустить ее отсутствия. Многочисленные исследования, проведенные ранее, доказали, что инъекция ГнРГ при повторном осеменении улучшает показатели стельности (Stevenson и соавт., 1988, 1989; Lee и соавт., 1983; Phatak и соавт., 1986; Kharche и соавт., 2007).

Исследования Morgan и Lean (1993) представили развернутый анализ возможного воздействия лечения с помощью ГнРГ во время осеменения на показатели оплодотворяемости у КРС. Статья сравнивает многочисленные предыдущие исследования, в рамках которых ГнРГ или его аналог вводились во время искусственного осеменения, а результаты затем были исследованы в мета-анализе.

Было отмечено значительное увеличение вероятности стельности у коров, получивших аналог ГнРГ во время первого осеменения после отела, во время второго осеменения после отела и во время повторного осеменения, если лечение проводилось во время осеменения. Коровы, подвергавшиеся повторному осеменению, лучше реагировали на лечение, чем другие группы животных. Это подкрепляет гипотезу о том, что часть животных, направленных на повторное осеменение, не смогла зачать ранее вследствие неверного времени введения или концентрации ГнРГ, ЛГ или ФСГ во время эструса.

Neuwieser и соавт. (1994) в большом исследовании, проведенном на 2437 коровах, проанализировали связь между введением ГнРГ, состоянием упитанности животного и фертильностью. Показатели стельности улучшались при введении ГнРГ во время первого после отела осеменения коровам, состояние упитанности которых было ниже коэффициента 3,0, независимо от количества предыдущего потомства.

Ullah и соавт. (1996) оценили эффект введения ГнРГ коровам голштинской породы, подверженным тепловому стрессу в период лактации, и обнаружили, что введение ГнРГ во время эструса улучшило результаты оплодотворяемости по сравнению с группой, не проходившей лечения. Исследования, представленные Kaim и соавт. (2003) и включавшие введение бузерелина (Resceptal®), продемонстрировали, что использование ГнРГ устранило различия в показателях стельности для животных, осемененных раньше или позже по отношению к началу эструса, и повысило эффективность осеменения коров, у которых были зафиксированы нарушения деятельности половой системы после отела. Авторы исследования пришли к выводу о том, что введение ГнРГ во время начала эструса увеличило выброс ЛГ, предотвратило задержку овуляции, и, возможно, увеличило последующую концентрацию прогестерона. Применение бузерелина во время исследования увеличило процент оплодотворяемости первотелок в летнее время и коров с низким показателем упитанности.

Поддержание функции желтого тела и предотвращение преждевременного лютеолиза

Были предприняты многочисленные попытки предотвращения ранней гибели эмбриона у высокоудойных коров, особенно у тех, кто подвергался тепловому стрессу, а также у реципиентов при пересадке эмбрионов.

Были испробованы различные способы увеличения процента оплодотворяемости путем повышения концентрации прогестерона в плазме во время лютеиновой фазы, что достигается иницированием образования дополнительного желтого тела, которое происходит при лечении ХГЧ в среднем на 4-6-й день после осеменения (Binelli и соавт., 2001). Считается, что, помимо индукции образования дополнительного желтого тела, такое лечение обеспечивает дополнительное выделение ЛГ, поддерживающего жизнеспособность желтого тела, появившегося при овуляции доминантного фолликула.

Santos и соавт. (2001) вводили ХГЧ высокоудойным коровам на пятый день после осеменения и заметили, что лечение индуцировало образование дополнительного желтого тела, увеличило концентрацию прогестерона в плазме и улучшило показатели стельности при диагностике на 28, 45 и 90-й день, особенно у коров со сниженным показателем упитанности в течение месяца, следующего за искусственным осеменением. Аналогично Breuel и соавт. (1989); Sianangama и соавт. (1992); Rajamahedran и Sianangama (1992) отметили значительное увеличение процента стельности при вводе ХГЧ на седьмой день после осеменения. Keneda и соавт. (1981) и Kerbler и соавт. (1997) достигли увеличения процента стельности путем введения 1500 ед. ХГЧ после искусственного осеменения.

Ранняя гибель эмбрионов, являющаяся одной из причин низких показателей успешной пересадки эмбрионов, находится в центре внимания ученых, особенно ввиду дороговизны данной процедуры. В качестве факторов, оказывающих влияние на раннюю гибель эмбрионов после пересадки, рассматривались следующие:

- пересадка эмбриона морфологически низкого качества;
- неправильная синхронизация эструса у донора и реципиента;
- тепловой стресс;
- субклинические эндометриты;
- низкий пищевой статус реципиента;
- недостаточность функции желтого тела у реципиента.

Введение прогестерона, ХГЧ и ГнРГ применялось с целью предотвращения ранней гибели пересаженного эмбриона, вызванной недостаточностью функции желтого тела, а также для улучшения показателей стельности при пересадке эмбриона в целом.

На пятый день цикла эструса гранулезные клетки доминантного фолликула содержат рецепторы к ЛГ, таким образом ХГЧ будет инициировать овуляцию и образование дополнительного желтого тела. Поэтому ввод ХГЧ на пятый день после искусственного осеменения может увеличить выделение прогестерона в ранний период стельности. Положительное воздействие ХГЧ на показатели стельности характеризуется уменьшением случаев ранней гибели эмбрионов. Помимо этого, наиболее явное положительное влияние введения ХГЧ наблюдалось у лактирующих молочных коров, потерявших упитанность во время периода осеменения. Поскольку высокоудойные коровы имеют ускоренный метаболизм прогестерона (Wiltbank и соавт., 2006), их реакция на лечение ХГЧ более вероятна.

Хорионический гонадотропин человека обычно вводится в дозе 1500 ед. в день пересадки эмбриона. Было доказано, что введение ХГЧ в это время непосредственно поддерживает развитие и функционирование желтого тела, образовавшегося в результате овуляции, а также индуцирует овуляцию/лютеинизацию восприимчивых фолликулов первой волны последующего фолликулярного развития. Это приводит к образованию индуцированного желтого тела, повышению концентрации прогестерона и снижению концентрации эстрадиола. Small и соавт. (2002) оценили действие ХГЧ (Chorulon®, «Интервет»; 2500 ед. на корову) при введении его на седьмой день реципиентам эмбриона и осемененным коровам. Обнаружено, что лечение ХГЧ в момент пересадки эмбриона, через семь дней после искусственного осеменения, улучшает показатели стельности после запланированного искусственного осеменения у коров с многоплодной стельностью и первотелок. Авторы утверждают, что лечение ХГЧ на седьмой день после искусственного осеменения может применяться для улучшения показателей стельности у коров, имеющих проблемы с метаболизмом, и первотелок.

Nishigai и соавт. (2002) вводили ХГЧ на шестой день после эструса реципиентам при пересадке эмбриона. Результаты эксперимента показали, что введение ХГЧ (1500 ед. на корову) на шестой день после эструса повышает показатели стельности при нехирургической пересадке замороженных эмбрионов на седьмой день после эструса, усиливая функцию желтого тела и подавляя выделение эстрадиола. Недавние исследования, представленные Chagas и Silva и соавт. (2008), оценили влияние введения ХГЧ высокоудойным коровам в день пересадки эмбриона при крайне неблагоприятных исходных условиях (двойной эмбрион). Лечение 1500 ед. ХГЧ повышало живучесть слабых эмбрионов (в двойне) и увеличивало концентрацию прогестерона, вызывающую образование дополнительного желтого тела.

Хотя причины введения ГнРГ и ХГЧ в день пересадки эмбриона одинаковы, немногочисленные исследования отмечают положительные результаты

повышения уровня стельности у реципиентов эмбрионов после лечения ГнРГ. Ellington и соавт. (1991) оценили эффективность применения бузерилина в момент пересадки эмбриона и на 4-7-й день после пересадки, но не обнаружили значительных улучшений показателей стельности по сравнению с коровами, не проходившими лечение.

Предотвращение преждевременного лютеолиза

Большое количество современных исследований посвящено анализу воздействия лечения ГнРГ в середине цикла (обычно на 11-14-й день после осеменения) на выживание эмбриона и показатели стельности. Целью лечения ГнРГ является повышение живучести эмбриона путем подавления механизма лютеолиза, который запускается в случае отсутствия положительного сигнала о стельности. В зависимости от стадии развития фолликула лечение аналогами ГнРГ во время лютеиновой фазы вызывает лютеинизацию или овуляцию существующих и восприимчивых фолликулов лютеиновой фазы, которые продолжают рост после овуляции доминантного фолликула предыдущего цикла. Таким образом, повышается концентрация прогестерона и снижается концентрация эстрадиола, поскольку фолликулярный цикл уменьшает выработку эстрадиола. Это приводит к невозможности регулировать рецепторы к окситоцину и, тем самым, блокирует выделение PGF_{2α}. Этот тезис был подтвержден исследованиями Matsui и соавт. (2008), которые обнаружили, что выделение эстрадиола доминантным фолликулом первой фолликулярной волны после осеменения оказывает отрицательное воздействие на уровень оплодотворяемости.

Maup и соавт. (1995) пришли к выводу о том, что ГнРГ ослабляет сигнал запуска лютеолиза, предоставляя эмбриону больше времени для повышения его способности подавлять лютеолиз. В зависимости от стадии развития фолликула лечение аналогами ГнРГ во время лютеиновой фазы вызывает преждевременную атрезию, лютеинизацию или овуляцию, сопровождаемую лютеинизацией соответствующего фолликула. Введение ГнРГ между 11 и 13-м днями после осеменения дает значительное увеличение процента стельности (MacMillan и соавт., 1986; Мее и соавт., 1990; Peters и соавт., 1992; Stevenson и соавт., 1990; Ryan и соавт., 1994). Peters (2000) обобщил результаты различных исследований, анализируя воздействие ГнРГ, введенного между 11 и 13-м днями эструса, на показатели стельности у коров, и отметил широкие различия как в отношении схем эксперимента, так и в отношении степени повышения показателей стельности. По результатам этого анализа можно предположить, что при определенных обстоятельствах лечение ГнРГ после осеменения может принести положительные результаты.

Этот тезис нашел поддержку в исследованиях Sterry и соавт. (2006), которые выяснили, что лечение ГнРГ на пятый день после запланированного осеменения у молочных коров повысило показатели стельности у коров, не имевших полового цикла. У коров с нормальным половым циклом улучшений не зафиксировано.

Lopez-Gatius и соавт. (2006) продемонстрировали, что лечение ГнРГ во время осеменения и 12 дней спустя увеличивает процент стельности у высокоудойных коров в теплое время года. Менее эффективное, чем при использовании двойной дозы, но несомненное улучшение было получено после ввода единичной дозы ГнРГ во время осеменения.

Подобное положительное воздействие лечения ГнРГ после осеменения было также отмечено Besh-Sabat и соавт. (2009) у определенных целевых групп животных.

С другой стороны, два эксперимента, описанных Franco и соавт. (2006а, б), потерпели неудачу и не смогли доказать значительного повышения процента стельности у коров, получивших ГнРГ после искусственного осеменения или пересадки эмбриона. Эти результаты обращают внимание на тот факт, что лечение ГнРГ после осеменения может иметь смысл у отдельных групп животных, однако ввиду сложной этиологии смертности эмбрионов у КРС не всегда дает постоянное повышение показателей стельности.

В ряде недавних публикаций сообщалось об использовании у молочных коров в период после осеменения нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), таких как флуниксин меглумин. Метод основывается на способности НПВП вступать в синтез с различными провоспалительными молекулами арахидоновой кислоты, включая простагландины. Таким образом у коров с задержкой развития эмбриона и/или выработкой недостаточного количества интерферона- τ может подавляться преждевременный синтез PGF $_{2\alpha}$. Guzeloglu и соавт. (2007) описал увеличение процента стельности у телок, проходивших лечение флуниксин меглумином на 15-16-й дни после осеменения, по сравнению с животными, не получавшими лечения. Аналогично, Merrill и соавт. (2007) выявили, что лечение осемененных коров флуниксин меглумином повышает показатели стельности, независимо от того, подвергались ли животные стрессу при перевозке. И наоборот, введение флуниксин меглумина на 11-16-й день после искусственного осеменения мясным коровам не повысило процент стельности (Lucasin 2008). Кетопрофен, используемый в подобном эксперименте Guzeloglu и соавт. (2008), не привел к сколь-либо значительным улучшениям показателей стельности по сравнению с контрольной группой животных.

В случае если эти выводы будут подтверждены дополнительными экспериментами, такой метод может стать довольно привлекательным в ситуации

ях, когда причиной ранней гибели эмбрионов становится преждевременный лютеолиз. На сегодняшний день это лечение считается многообещающим, но рассматривается как пробное, поскольку число проведенных исследований ограничено, а условия регистрации продуктов, содержащих НПВП, обычно не подразумевают использования их в программах лечения молочных коров после искусственного осеменения с целью улучшения оплодотворяемости.

Стратегии уменьшения отрицательного воздействия теплового стресса на репродукцию молочного скота

Меры, направленные на уменьшение отрицательного воздействия теплового стресса на репродуктивность молочного скота, должны в обязательном порядке включать сокращение времени пребывания животных в условиях повышенных температур, а также биотехнические или фармацевтические средства, имеющие непосредственной целью повышение фертильности.

Возможные меры

- Изменение системы производства
- Отбор пород, устойчивых к воздействию высоких температур (зебу и скрещенные с ними виды)
- Пересадка эмбрионов
- Гормональная терапия

Изменение системы производства

Наиболее направленной и чаще всего применяемой мерой является контроль температуры и влажности при помощи водораспылителей, вентиляторов, тентов или оросителей. Younas и соавт. (1993) продемонстрировали, что охлаждение и использование вентиляторов в целом обуславливает повышение предовуляторного уровня концентрации ЛГ и, соответственно, процента коров в эструсе, однако эти меры следует вводить за несколько недель до предполагаемого осеменения, поскольку значительные изменения в репродуктивной системе требуют времени. Эти исследования были подтверждены Bucklin и соавт. (1991) и Armstrong (1994). В исследовании Morton и соавт. (2007) приведены данные, подтверждающие явное снижение процента оплодотворяемости при подверженности коров воздействию высоких температур начиная с дня оплодотворения и в течение шести дней после него, а также за неделю до осеменения. Высокая температура, воздействующая на животных за 3-5 недель до осеменения, также становилась одной из причин снижения процента зачатий. Таким образом, мероприятия, направленные на снижение отрицательного воздействия теплового стресса на репродукцию, необходимо начинать не менее чем за пять недель до предполагаемой даты осеменения и продолжать не менее недели после него.

В рамках другого исследования Roth и соавт. (2001b) обнаружили, что для восстановления после теплового стресса и появления жизнеспособной яйцеклетки потребуется период, состоящий из двух-трех циклов эструса.

Некоторые улучшения были также обнаружены при добавлении в рацион минералов, витамина Е и бета-каротина, особенно в сочетании с охлаждением и обдувом, а также наряду с регулированием эструса при помощи фармакологических средств. Arechiga и соавт. (1998) отметили, что запланированное осеменение в сочетании с добавлением бета-каротина увеличивает процент стельности у молочных коров в жаркий период. Добавление селена и витамина Е, согласно наблюдениям Arechiga и соавт. (1998), оказывает положительное действие на оплодотворяемость коров в жару. С другой стороны, Ealy и соавт. (1994) сообщают, что охлаждение лишь незначительно повышает процент стельности у коров, подверженных тепловому стрессу, а использование витамина Е не дает заметных положительных результатов.

Отбор пород, устойчивых к воздействию высоких температур

Совершенно точно установлено, что представители вида зебу более успешно сопротивляются негативному воздействию высокой температуры как на репродукцию, так и на производительность.

В условиях повышенной температуры воздуха скот зебу проявляет менее заметное снижение потребления кормов, роста и удоев. Таким образом, в жарком климате, несмотря на относительно низкую производительность и относительно медленный рост, представители вида зебу являются наилучшей породой как мясного, так и молочного направления, однако они, безусловно, не подходят молочным фермам с интенсивным ведением хозяйства.

Пересадка эмбриона

Пересадка эмбрионов, полученных в лаборатории или взятых у доноров, не подверженных тепловому стрессу, используется как средство уменьшения отрицательного воздействия высоких температур на оплодотворяемость и дает многообещающие результаты (Drost и соавт., 1999; Rutledge 2001; Al Katanani и соавт., 2002).

Однако к этим результатам необходимо относиться с осторожностью, поскольку пересадка эмбриона осуществляется реципиенту, подверженному тепловому стрессу, а следовательно, имеющему нарушения эндокринной системы и среды матки.

Более того, процедура пересадки эмбриона часто неприемлема для стран с жарким климатом по экономическим и техническим соображениям.

Гормональная терапия

Гормональная терапия не направлена против отрицательного воздействия высокой температуры. Ее цель — создание эндокринного баланса, что помогает уменьшить отрицательное влияние теплового стресса на репродуктивную функцию животных в течение лета и ранней осени.

На гормональную терапию никогда нельзя полагаться как на единственное средство борьбы с тепловым стрессом. До применения любых фармакологических средств необходимо реализовать очевидные меры по улучшению содержания животных.

Для улучшения результатов репродукции в жаркое время может применяться следующая стратегия:

- синхронизация эструса к запланированному времени искусственного осеменения;
- введение ГнРГ во время эструса;
- введение ГнРГ или ХГЧ после искусственного осеменения.

Синхронизация эструса к запланированному времени искусственного осеменения

Отрицательное воздействие теплового стресса на репродуктивную систему коров проявляется также в слабовыраженных признаках половой охоты, выявляющихся, как правило, только в ночное время. Это значительно сужает возможности по осеменению после выявления эструса, а также увеличивает количество случаев неудачного осеменения вследствие неверно определенного времени искусственного осеменения. Управление половой охотой при помощи фармакологических средств позволяет проводить запланированное по времени осеменение и устраняет необходимость выявления признаков охоты, повышая, таким образом, общие показатели стельности. Однако различные программы индукции и синхронизации эструса должны непременно сочетаться с другими мерами, такими как охлаждение или орошение животных, уменьшающими воздействие высоких температур.

Предпочтительным способом управления эструсом в стаде, подверженном воздействию высоких температур, является так называемая программа типа «Овсинх». В рамках этой программы овуляция фолликула индуцируется при помощи инъекции ГнРГ или ХГЧ; спустя семь дней вводится доза PGF_{2α}, вызывающая лютеолиз, а затем — спустя 47 часов — повторная доза ГнРГ или ХГЧ, индуцирующая овуляцию нового доминантного фолликула. По результатам последних исследований можно предположить, что основным преимуществом данной программы является индукция овуляции и устранение необходимости выявления охоты во время летних месяцев. Некоторые авторы полагают, что лечение ГнРГ или ХГЧ во время эструса

способствует образованию нормального и полностью функционирующего желтого тела, предвестника хорошей оплодотворяемости (Rensis и соавт., 2003, 2008).

De la Sota и соавт. (1998) оценили действие программы синхронизации «Овсинх» и запланированного осеменения во время жарких летних месяцев у лактирующих молочных коров. Авторы пришли к выводу о том, что программа «Овсинх» улучшила репродуктивную деятельность группы животных, проходившей лечение.

Показатели стельности у коров, осемененных в запланированное время (группа «Овсинх» — $13,9\% \pm 2,6$; контрольная группа — $4,8\% \pm 2,5$), а также общие показатели стельности к 120-му дню после отела (группа «Овсинх» — $27\% \pm 3,6$; контрольная группа — $16,5\% \pm 3,5$), были выше. Авторы отмечают также сокращение сервис-периода у коров, оплодотворенных к 120-му дню после отела (группа «Овсинх» — $77,6 \pm 3,8$ дн.; контрольная группа — $90,0 \pm 4,2$ дн.), и сокращение периода до первого осеменения (группа «Овсинх» — $58,7 \pm 2,1$ дн.; контрольная группа — $91,0 \pm 1,9$ дн.).

Кроме того, экономическая оценка программы, предусматривающей первое осеменение в летние месяцы, демонстрирует увеличение чистого дохода на корову.

В своей недавней публикации De Rensis (2008) отметил, что использование ХГЧ вместо второй инъекции ГнРГ в классической программе «Овсинх» повышает концентрацию прогестерона в плазме и улучшает оплодотворяемость у молочных коров в теплое время года.

Управление эструсом при помощи фармакологических средств дает дополнительные преимущества при комбинировании с другими мерами, такими как добавление в рацион животных витаминов и минералов. Arechiga и соавт. (1998) оценили эффективность запланированного осеменения и использование добавки бета-каротина на репродуктивную деятельность и выработку молока у молочных коров, подверженных тепловому стрессу. В рамках программы «Овсинх» было выявлено, что показатели стельности после первого осеменения были одинаковыми у животных, проходивших и не проходивших лечение в холодные и теплые месяцы. Однако, в теплые месяцы процент коров, стельных к 90-му дню после отела, был выше у животных, проходивших лечение по программе «Овсинх» с фиксированным временем осеменения, нежели у коров, осемененных по выявлению эструса ($16,5\%$ против $9,8\%$ и 34% против $14,3\%$). Авторы пришли к выводу о том, что запланированное осеменение позволит улучшить показатели стельности во время воздействия высоких температур, а добавки в виде бета-каротина могут повысить показатели стельности и увеличить удои в летние месяцы.

Фертильность в период после отела в зимние и летние месяцы, следующая за синхронизацией эструса при помощи протокола ГПГ (ГнРГ+PGF_{2α}+ГнРГ) или ХПХ (ХГЧ+PGF_{2α}+ХГЧ) была проанализирована Rensis и соавт. (2002). Регулирование эструса при помощи любой из этих систем повышает показатели стельности, которые приближаются к результатам, полученным у животных, не проходивших лечение в зимние месяцы. Кроме того, синхронизация эструса уменьшает период между отелом и оплодотворением и зимой, и летом.

Преимущества управления эструсом при помощи программы «Овсинх» у молочных коров, подверженных тепловому стрессу, были также подтверждены Almier и соавт. (2002) и Cartmil и соавт. (1999).

Введение ГнРГ во время искусственного осеменения

Считается, что введение ГнРГ на ранних стадиях эструса индуцирует и усиливает выброс ЛГ и улучшает синхронизацию периодов между эструсом, выбросом ЛГ, овуляцией и осеменением. Более того, индукция овуляции при введении ГнРГ во время эструса сокращает число случаев задержки овуляции и пролонгации жизнедеятельности доминантного фолликула, которые являются следствием воздействия высоких температур.

Лечение лактирующих коров ГнРГ во время эструса в летние месяцы повышает показатели оплодотворяемости с 18 до 29% (Ullah и соавт., 1996). Как предполагают некоторые авторы, улучшение оплодотворяемости после лечения ГнРГ или ХГЧ во время искусственного осеменения, помимо гарантированной по времени овуляции и лучшего качества яйцеклетки, является также следствием улучшения функции желтого тела и, соответственно, большей концентрации прогестерона в течение первых 30-ти дней после искусственного осеменения. В исследованиях, описанных Ullah и соавт. (1996), средняя концентрация прогестерона у коров, пролеченных ГнРГ во время эструса, была выше, чем у особой контрольной группы. Кроме того, при повторной диагностике стельности после 45-ти дней у коров из контрольной группы наблюдалось значительное снижение показателей стельности по сравнению с результатами более ранней диагностики, в отличие от коров, прошедших лечение ГнРГ во время эструса, что позволяет сделать вывод о более высоком уровне выживания эмбрионов у пролеченных коров. Авторы заключают, что лечение ГнРГ во время искусственного осеменения увеличивает выделение прогестерона в лютеиновой фазе и повышает выживаемость эмбриона у коров, подверженных тепловому стрессу (Ullah и соавт., 1996).

Это предположение было подтверждено результатами, полученными Kaim и соавт. (2001), которые обнаружили увеличение процента стельности

приблизительно на 16,6% по сравнению с контрольной группой у пролеченных ГнРГ (бузерелин, Reseptal®) коров при проявлении первых признаков скрытой охоты в летние и осенние месяцы в Израиле. Более того, в первом эксперименте, описанном Ka'im и соавт. (2001), лечение ГнРГ во время эструса значительно повысило показатели оплодотворяемости у коров с плохой упитанностью в момент искусственного осеменения, а также у коров с хорошей упитанностью в летнее время. Воздействие лечения было особенно очевидным у коров с плохой упитанностью, поскольку введение ГнРГ во время эструса значительно улучшило их показатели оплодотворяемости как в летнее, так и в зимнее время. Довольно интересен и следующий факт: авторы также обнаружили, что лечение ГнРГ во время эструса увеличивает показатели оплодотворяемости более чем в два раза у коров с нарушениями репродуктивной функции после отела.

Введение ГнРГ или ХГЧ после искусственного осеменения

Некоторые исследования также посвящены использованию лютеотрофических гормонов для более успешной подготовки эндокринной системы к развитию эмбриона и его выживанию в условиях воздействия повышенных температур.

Считается, что лечение ГнРГ или ХГЧ после осеменения приводит к устранению доминантного фолликула первой волны лютеиновой фазы, и, таким образом, снижает концентрацию эстрадиола и предотвращает начало каскада лютеолиза.

Более того, овуляция фолликула ранней стадии лютеиновой фазы также приводит к образованию дополнительных желтых тел и, соответственно, увеличивает концентрацию прогестерона, что обуславливает повышение показателей оплодотворяемости (Butler и соавт., 1996; Lamming и соавт., 1989; Mann и соавт., 1995; 2001; Lopez-Gatius и соавт., 2006).

Хорошо известно, что введение инъекций ХГЧ (на 4-6-й день) и ГнРГ (на 11-12-й день) после осеменения направлено на улучшение показателей стельности у молочного скота, однако существует и небольшое количество исследований, изучающих влияние введения ХГЧ и ГнРГ после осеменения коровам, подверженным воздействию теплового стресса.

Влияние введения ГнРГ после осеменения на уровень прогестерона в сыворотке и показатели стельности у молочных коров, подверженных воздействию средневысоких температур, было оценено Willard и соавт. (2003). Авторы отметили, что введение ГнРГ на 5 или 11-й день после осеменения инициировало более динамичный подъем концентрации прогестерона, который достигал максимума на 8-15-й день по сравнению с непролеченными коровами. У непролеченной контрольной группы животных был более низкий

показатель стельности, чем у коров, пролеченных ГнРГ (на 5 или 11-й день после искусственного осеменения), причем более значительные улучшения наблюдались после более позднего лечения.

Принимая во внимание положительное воздействие введения ХГЧ у коров на 4-6-й день после осеменения и у реципиентов после пересадки эмбрионов (Greve и соавт., 1982; Kaneda и соавт., 1981; Lewis и соавт., 1990; Nishigai и соавт., 2001, 2002; Santos и соавт., 2001; Sianangama и соавт., 1992) и инъекции ГнРГ на 11-12-й дни после осеменения (Peters и соавт., 2000), следует отметить, что возможности применения подобного лечения как средства сокращения отрицательного воздействия высокой температуры на репродуктивную систему у молочного скота требуют дальнейшего изучения.

2.4. Нарушения репродуктивной системы

Бесплодие может стать серьезной проблемой, особенно для высокоудойных коров. В период после отела должно произойти быстрое, неосложненное сокращение матки и раннее восстановление активности яичников с последующим точным выявлением эструса и высоким процентом оплодотворяемости. В то же время, от коровы требуется выработка большого количества молока, несмотря на то, что непосредственно после отела у животного сохраняется отрицательный энергетический баланс. Поэтому неудивительно, что проблемы репродуктивной системы — весьма распространенное явление. Для получения хороших результатов оплодотворяемости необходима ранняя диагностика и лечение таких нарушений.

Нарушения репродуктивной системы отдельных коров можно разделить на следующие группы:

- задержание последа;
- инфекции матки;
- анэструс;
- кистоз яичников;
- гибель эмбриона;
- необходимость повторного осеменения;
- аборт.

Все эти нарушения будут рассматриваться в следующих главах, начиная с физиологических аспектов послеперодического периода.

2.4.1. Физиологические аспекты послеперинатального периода. Сокращение матки

Инволюция матки

Обычно для того, чтобы матка вернулась к нормальным размерам, характерным для периода до наступления стельности, требуется три недели. Время, необходимое для полной физиологической инволюции (включая регенерацию эпителия эндометрия), варьируется от 40 до 50-ти дней.

В течение первых 7-23-х дней после отела повышается эндогенный уровень метаболитов $\text{PGF}_{2\alpha}$, который способствует быстрой инволюции матки.

Инволюция матки включает физическое сокращение, некроз и выход остатков маточных карункулов и регенерацию эндометрия. Вслед за выходом послета происходит некроз карункулов, которые обычно отторгаются и выходят к 12-му дню после отела. Отторжение карункулов во многом является причиной быстрой потери веса матки в стадии инволюции после отела, который составляет от 13 кг при отеле до примерно 1 кг через три недели. Лохии образуются из карункулов, остатков плодной жидкости и крови, обусловленной разрывом пуповины. Выделение лохий вызывает значительную потерю жидкости и тканей в течение первых 7-10-ти дней после отела. Объем может колебаться от 500 мл у первотелок до 1000-2000 мл у коров.

Несмотря на то, что взаимосвязь между инволюцией матки и активностью яичников в ранний период после отела в полной мере не изучена, имеются явные доказательства того, что такая взаимосвязь существует и может влиять на оплодотворяемость в будущем. Известно, что раннее восстановление нормальной активности яичников ускоряет инволюцию матки. Более того, заметное усиление тонуса матки и уменьшение ее размеров в период с 10-го по 14-й дни после отела, в норме происходящие у коров, обычно совпадают по времени с началом первого эструса и выработкой эстрогена. В то же время известно, что эстрогены оказывают благоприятное воздействие на защитные механизмы матки и сокращение волокон гладкой маточной мускулатуры (Hussain, 1989). С другой стороны, влияние инволюции матки на восстановление активности яичников в основном обусловлено обильным послеперинатальным высвобождением $\text{PGF}_{2\alpha}$ эндометрием (Kindahl и соавт., 1992). Был сделан вывод о том, что у коров с нормальным протеканием послеперинатального периода, а также у коров, имеющих большую длительность периода высвобождения простагландина после отела, инволюция матки заканчивалась быстрее, а первая овуляция, за которой следовала лютеиновая фаза нормальной длительности, происходила раньше. У коров

с аномальным послеперинатальным периодом и задержкой инволюции восстановление активности яичников также заметно запаздывало.

Активность яичников

Было однозначно продемонстрировано, что в период после отела, когда овуляции не происходит, у большинства коров можно наблюдать специфическую картину фолликулярной активности. Яичники характеризуются присутствием нескольких небольших или среднего размера фолликулов, результатом чего в течение весьма короткого периода времени после отела становится появление первого доминантного фолликула (Opsomer и соавт., 1996). Однако интервал между отелом и первой овуляцией у коров на коммерческих фермах сильно варьируется в зависимости от породы, питания, уродов, времени года и наличия при корове подсосного теленка.

У молочных коров в период лактации фолликулы среднего размера обнаруживаются к пятому дню после отела, а первый доминантный фолликул овулирует в период между 15 и 27-м днем после отела. К 40-му дню после отела половая активность должна восстанавливаться у большинства коров. Однако в условиях фермы у многих коров не наступает половой охоты.

У мясных коров с подсосными телятами первая овуляция происходит позднее, причем со значительными различиями как между особями внутри одной фермы, так и между стадами разных ферм. В период после отела часто отмечаются короткие половые циклы (лютеиновая фаза менее 10-ти дней). У мясных коров с подсосными телятами фолликулы среднего размера обнаруживаются к 5-7-му дню после отела, а доминантные фолликулы — в период между 10 и 21-м днем после отела. Однако ввиду отсутствия пульсообразной волны ЛГ эти доминантные фолликулы не проходят полного цикла развития до зрелых фолликулов, овуляция не происходит, и фолликулы подвергаются атрезии. Отсутствие пульсообразных выбросов ЛГ в ранний период после отела связывают с истощением запасов ЛГ в передней доле гипофиза вне зависимости от присутствия теленка при матери (Yavas и Walton, 2000). После восполнения запасов ЛГ между 15 и 30-м днем после отела отсутствие пульсообразных выбросов ЛГ становится зависимым от присутствия или отсутствия теленка при матери. Стимулы, вызываемые сосанием, подавляют пульсообразное высвобождение этого гормона путем ингибирования секреции ГнРГ гипоталамусом. Эстрогены яичника модулируют это ингибирующее воздействие. Сосание вымени теленком повышает чувствительность гипоталамуса к негативной обратной связи со стороны эстрогенов, вырабатываемых яичниками, приводя в результате к подавлению высвобождения ЛГ из гипофиза (Yavas и Walton, 2000). Пульсообразное высвобождение ЛГ обнаруживается на 25-32-й день после

отела, восстановление половой активности у коров происходит на 29-67-й день после отела.

Осложнения послепериметального периода

Медленное восстановление репродуктивной функции после отела является основным препятствием успешного выполнения программ по регулированию репродукции в стаде.

2.4.2. Задержание последа

Высвобождение плодных оболочек (плаценты) после отела является физиологическим процессом, который представляет собой потерю связи между плодом и матерью и одновременное сокращение миометрия.

Отторжение плодных оболочек определяется сложным иммунологическим процессом. Материнское иммунологическое распознавание белков главного комплекса гистосовместимости класса 1, выделяемых клетками трофобласта плода, запускает иммунную/воспалительную реакцию, которая становится причиной отторжения плаценты во время отела (Davies и соавт., 2004).

Обычно послед изгоняется в пределах 6-8-ми часов после отела. Если плацента не выходит в течение 24-х часов после отела, говорят о «задержании последа» или задержке выхода плодных оболочек. Частота случаев задержки плаценты варьируется от 4,0 до 16,1%, однако среди проблемного поголовья такие случаи могут встречаться чаще.

Задержание последа происходит в основном вследствие неспособности иммунной системы успешно разрушить карункулы в конце стельности. Davies и соавт. (2004) представили доказательства, собранные на основе различных опубликованных работ и подтверждающие, что нарушения иммунных процессов являются причиной отсутствия своевременного отторжения плодных оболочек. Карункулы у коров с нормальным отторжением плаценты содержат хемотактический фактор для лейкоцитов, который отсутствует в карункулах коров с задержкой плаценты. Лейкоциты и нейтрофилы у коров, имеющих задержание последа, в меньшей степени реагируют на хемотактическую стимуляцию, нежели у коров с нормальным отторжением плаценты.

Важно понимать, что неспособность матки изгнать послед не играет или играет незначительную роль в задержке плаценты (Eiler, 1997); коровы с задержанием последа могут иметь как обычную, так и повышенную активность матки в течение нескольких дней после отела (Frazer, 2005).

Существует четкая взаимосвязь между метаболизмом коров и их способностью к отторжению плодных оболочек. У коров с явно выраженным

отрицательным энергетическим балансом после отела вероятность задержание последа составляет 80%; коровы с недостатком витамина Е в организме, также подвержены риску задержки плаценты (LeBlanc и соавт., 2004; LeBlanc 2008).

Задержка плодных оболочек является распространенным нарушением, которое оказывает влияние на репродуктивную деятельность коровы, обуславливая риск возникновения инфекционных заболеваний матки после отела и задержку восстановления функции яичников.

Установлено, что процент стельности у таких коров уменьшается приблизительно на 15% по сравнению с коровами, не имеющими подобных нарушений, однако, вероятнее всего, снижение репродуктивной функции происходит только в тех случаях, когда задержка плаценты приводит к развиту метритов и эндометритов.

Было установлено, что на задержку плаценты у КРС влияют различные генетические, кормовые, иммунологические и патологические факторы, тем не менее этиология задержания последа в полной мере не установлена.

Удаление последа вручную может травмировать матку и затормозить возвращение коровы в нормальное репродуктивное состояние (Bolinder и соавт., 1988). Представляется, что оптимальным вариантом было бы естественное отторжение плаценты или аккуратное удаление ее из матки через 7-10 дней после отела.

Лечение должно быть направлено на предотвращение побочных эффектов послепериметального эндометрита. Местная терапия с помощью различных форм внутриматочных антибиотиков хорошо известна, но до сих пор приносит мало пользы. Более того, результаты некоторых экспериментов показывают, что лечение задержания последа антибиотиками парентерально, без проведения внутриматочных манипуляций и терапии, может быть столь же эффективным, как и стандартное лечение, включающее отделение последа и местную антибиотикотерапию (Drillich и соавт., 2001). Многочисленные исследования доказывают, что приблизительно у 50-80% коров с нелеченной задержкой плаценты температура тела как минимум в течение одного дня в 10-дневный период после отела составляет более 39,5 °C (Drillich и соавт., 2003, 2006). Однако не ясно, требуется ли в данном случае общее лечение антибиотиками. Дальнейшие исследования коров, имеющих повышенную температуру тела (Drillich и соавт., 2006), подтвердили, что ни внутриматочное лечение антибиотиками, ни удаление плодных оболочек вручную, ни совокупность этих мер не приводят ни к снижению процента коров, нуждающихся в лечении, ни к повышению показателей репродуктивности во время текущей лактации по сравнению с коровами, к которым применялось общее лечение антибиотиками. Общая терапия антибиотиками была эффективной

при повышении ректальной температуры и позволила сократить использование препаратов по сравнению с внутриматочной антибиотикотерапией.

Одним из фармакологических способов предотвращения и лечения задержания последа является введение простагландинов немедленно после отела (Stevens и соавт., 1995). Эффективность этого способа трудно оценить вследствие недостаточности проведенных экспериментов. Препараты, повышающие мобильность матки — окситоцин, вытяжки спорыньи, кальций — в лучшем случае показывают ограниченные улучшения.

Уменьшение случаев задержания последа при применении витамина Е и селена, по отдельности или в совокупности, позволяет предположить, что одной из причин возникновения данного нарушения является окисление (Campbell и соавт., 1998; Gupta и соавт., 2005). На сегодняшний день профилактика этого явления ограничивается общими рекомендациями касательно санитарно-гигиенических условий отела, надлежащего рациона (Са, Se, витамин Е и т. д.) и борьбы с инфекционными заболеваниями.

Какое бы лечение ни было выбрано, необходимо контролировать температуру тела и клинические проявления у животных с задержанием последа, поскольку обычно у 25-50% коров развивается метрит.

2.4.3. Маточные инфекции

Бактериальные маточные инфекции представляют значительную опасность, поскольку нарушают не только деятельность матки, но и яичников, а также центров управления в гипоталамусе и гипофизе. Бактериальная маточная инфекция и соответствующая иммунная реакция оказывают отрицательное воздействие на фертильность и здоровье животного. Поэтому, по мнению практикующих ветеринаров, точная диагностика и своевременное лечение болезней матки является основным компонентом всех программ управления репродукцией животных.

У 25-40% животных клинические метриты обычно наблюдаются в течение первых двух недель после отела; у 20% животных они развиваются в клинические эндометриты. Различные факторы, напрямую связанные с деятельностью репродуктивной системы и общим состоянием здоровья коровы и косвенно — с условиями ее содержания, являются предпосылками для возникновения маточных инфекций (таблица 10).

Таблица 10. Факторы риска возникновения бактериальных заболеваний матки у КРС (источник: Sheldon и Dobson (2004))

Факторы риска возникновения бактериальных заболеваний матки у КРС
Повреждение матки: <ul style="list-style-type: none"> • мертворожденный плод, многоплодная стельность, дистоция, кесарево сечение; • задержание последа; • субинволюция матки.
Нарушения метаболизма: <ul style="list-style-type: none"> • маститы, кетозы, смещение сычуга.
Нарушение баланса между патогенными факторами и иммунитетом: <ul style="list-style-type: none"> • нейтрофильная дисфункция; • тип бактериальной флоры в полости матки; • введение прогестерона или глюкокортикоидов, раннее образование желтого тела; • гигиенические условия содержания; стойла для отела могут представлять меньшую важность.

Определение

В течение многих лет как ученые, так и практикующие ветеринары понимали необходимость создания точных определений для описания различных состояний матки. Одна из самых популярных классификаций разграничивает острые эндометриты (вагинальные выделения, увеличенная матка и клинические признаки), возникающие до 14-го дня после отела, и субклинические хронические эндометриты (скудные выделения, отсутствие клинических признаков), возникающие 14 дней спустя после отела.

Недавно Sheldon и соавт. (2006; 2008) предложили четкие определения, позволяющие описать и определить наиболее важные заболевания матки.

Метриты

Острое общее заболевание, вызываемое бактериальной маточной инфекцией и возникающее обычно в течение первых десяти дней после отела. Клинические признаки: коричневые водянистые выделения и, как правило, гипертермия. В особо тяжелых случаях: снижение удоев, вялость, отсутствие аппетита, учащенное сердцебиение и, впоследствии, вероятное обезвоживание.

Послеродовые метриты зачастую возникают при задержании последа, патологических родах (дистоции), мертворождении или рождении близнецов. Предлагается классифицировать животных с аномально увеличенной маткой, слизистыми выделениями из матки, определяемыми во влагалище

в течение 21-го дня после отела, и отсутствием клинических признаков заболевания как имеющих клинические эндометриты.

Клинические эндометриты

Клинические эндометриты характеризуются наличием гнойных (>50% гноя) или слизисто-гнойных (прибл. 50% гноя и 50% слизи) выделений из матки во влагалище и отсутствием общих клинических признаков через 21 и более дней после отела.

Субклинические эндометриты

Воспаление эндометрия в отсутствие гнойных выделений во влагалище обычно диагностируется по цитологии. Предлагается диагностировать у коров субклинический эндометрит при наличии >18% нейтрофилов в цитологических образцах, взятых из матки на 21-33-й день после отела, или >10% нейтрофилов на 34-47-й день (при отсутствии клинических эндометритов).

По сообщениям различных исследователей количество случаев субклинических эндометритов может варьироваться в диапазоне от 19 до 90%, в зависимости от применяемых способов диагностики и времени обследования после отела. У больных животных проявляется заметное снижение репродуктивной функции (Linske и соавт., 2007).

Иммунологические аспекты заболеваний матки у КРС

Бактерии окружающей среды попадают в матку большинства коров после отела. Объем поражения зависит от инволюции матки, регенерации эндометрия и защитного механизма матки.

Иммунная система матки животного активна в период стельности и играет значительную роль в сохранении стельности, поддержке роста плода и предотвращении развития инфекции.

Защитная система отвечает за уничтожение болезнетворных бактерий, попавших в матку, при помощи анатомических, физиологических, фагоцитных и воспалительных механизмов. Нейтрофилы являются первыми и наиболее важными фагоцитами, которые выводятся из системного кровотока и направляются в матку для борьбы с болезнетворными бактериями.

Гормональные изменения и изменения иммунного защитного механизма в период перед отелом вызывают повышенную чувствительность к инфекциям матки, вымени и других тканей. При нормальном развитии фагоцитные способности нейтрофилов в периферическом кровотоке у КРС остаются достаточно высокими в период до и после отела, однако бактерицидный потенциал и оксидативные свойства нейтрофилов во время отела значительно снижаются (Singh и соавт., 2008). Эти способности усиливаются

в течение периода после отела, что приводит к спонтанному излечиванию инфекций матки.

В период перед отелом повышается уровень кортизола, что вызывает периферический лейкоцитоз. За ним, в течение первой недели после отела, следует периферическая лейкопения, обусловленная миграцией нейтрофилов к полости матки непосредственно после отела.

На сегодняшний день совершенно очевидно, что как при метритах, так и при эндометритах снижается потребление кормов, создается более ярко выраженный отрицательный энергетический баланс и имеет место пониженная иммунная активность; все эти явления наблюдаются за две недели до отела, т. е. за 3-7 недель до диагностирования заболевания (Le Blanc 2008).

Zerbe и соавт. (2000) продемонстрировал, что метаболическая болезнь, и особенно — повышенное содержание в крови триацилглицеролов, были взаимосвязаны со снижением цитотоксической активности в нейтрофилах, отобранных как из общего кровотока, так и со стенок матки, что может считаться предрасполагающим фактором к заболеваниям матки.

Роль прогестерона, эстрадиола и простагландинов

Состояние иммунной системы после отела оказывает значительное воздействие на защитный механизм матки. Общеизвестно, что высокое содержание прогестерона подавляет выработку слизи шейкой матки, сокращение миометрия, выделения из матки и фагоцитную активность нейтрофилов матки. Lewis (2003) продемонстрировал, что концентрация прогестерона во время лютеиновой фазы подавляет защитную реакцию, делая матку более восприимчивой к воздействию болезнетворных бактерий. После многочисленных экспериментов Lewis пришел к выводу о том, что восприимчивость матки к инфекциям связана с увеличением концентрации прогестерона, уменьшением выработки PGF_{2α} и уменьшением уровня лимфоцитов *in vitro*.

Очевидно, что иммунная функция матки восстанавливается под действием эстрогенов. Не ясно, однако, вызывает ли эстрадиол абсолютное повышение фагоцитной и бактерицидной активности защитных клеток эндометрия или обнаруженное повышение относится исключительно к ситуации, которая складывается при доминировании прогестерона (Le Blanc 2008). Sheldon и соавт. (2004) обнаружили, что ввод эстрадиола в полость ранее беременного рога матки не приводит к быстрому устранению послеотельных бактериальных инфекций.

Физиологическая роль PGF_{2α} в первый месяц после отела не ясна, но, возможно, он способствует сокращению матки и поэтому вносит свой вклад в ее инволюцию. С иммунологической точки зрения, простагландины провоспалительно стимулируют выработку цитокинов, которые усиливают

функцию фагоцитов и лимфоцитов. Если PGF_{2α} вырабатывается в достаточном количестве, он может усилить защитный механизм, компенсируя иммуноподавляющее действие прогестерона.

Бактериология маточных инфекций

Острые эндометриты с одинаковой вероятностью характеризуются присутствием коли-форм, грамм-отрицательных анаэробных бактерий, *Arcanobacterium pyogenes* и других бактерий (включая пептострептококки). Эндотоксины и липо-полисахариды, выделяемые колиформными бактериями, являются основными вирулентными факторами, приводящими к развитию осложнений при патологических родах и задержании последа. Эти эндотоксины обладают непосредственным цитотоксическим действием, которое, возможно, способствует инфекциям, вызванным *A.pyogenes*. Zerbe и соавт. (2001) показали длительную связь между фрагментами или растворами *E. coli* и *A.pyogenes* и нейтрофилами КРС, приводящими к функциональной депрессии данных клеток. То же действие на нейтрофилы было отмечено при воздействии выделений матки коров, инфицированных *A.pyogenes* и *E. coli* (Zerbe и соавт., 2002). Таким образом, можно заключить, что сильная степень поражения эндометрия *E. coli* в период после отела оказывает отрицательное воздействие на функционирование защитного иммунного механизма эндометрия и способность матки противостоять инфекциям.

У коров с подострыми/хроническими эндометритами наиболее часто изолируемыми из матки бактериями являются *Arcanobacterium pyogenes* и грамм-отрицательные анаэробные бактерии. Эти оппортунистические грамм-положительные анаэробы обычно присутствуют в смешанной культуре при наличии нескольких организмов, но чаще всего они соседствуют с *Fusobacterium necrophorum* и *Prevotella melaninogenicus*, *E. coli* или *Streptococcus spp.*

Представляется, что существует синергизм между *Arcanobacterium pyogenes* и грамм-отрицательными анаэробами. *Bacteroides melaninogenicus* и *B. fragilis* вырабатывают и выделяют определенные вещества, которые могут ослабить фагоцитоз бактерий иммунных клеток. Доказано, что *F. necrophorum* вырабатывает лейкотоксины, которые оказывают свое цитотоксическое воздействие на фагоцит иммунных клеток. *A. pyogenes* способна выделять подобные фактору роста вещества, стимулирующие деление *F. necrophorum*.

Недавние исследования in vitro (Donofrio и соавт., 2007) позволили предположить, что герпесвирус КРС 4 может играть свою роль в развитии эндометритов.

Влияние здоровья матки на фертильность

Отрицательное воздействие болезнетворных бактерий матки обусловлено как собственно наличием бактерий и их токсинов, так и вредом, наносимым воспалительными процессами, происходящими в ответ на присутствие инфекции. Наличие *A. pyogenes* или анаэробных бактерий приводит к снижению оплодотворяемости. Особенно важно сознавать, что эндометриты становятся причиной бесплодия во время развития болезни, но даже после успешного выздоровления животного они остаются причиной нарушений репродуктивной функции. Доказано, что у коров с эндометритами уровень оплодотворяемости на 20% ниже, а период между отелами — на 30 дней длиннее. Это приводит к выбраковке 3% животных по причине бесплодия (LeBlanc и соавт., 2002).

Недостаточность репродуктивной функции, вызванная маточными инфекциями, включает также и нарушение функции яичников. Opsomer и соавт. (2000) предположили, что повреждение матки нарушает механизм лютеолиза, пролонгируя лютеиновую фазу. Эти эпидемиологические исследования также показывают, что маточные инфекции вызывают задержку овуляции. Sheldon и соавт. (2002) продемонстрировали, что нарушение функции яичников происходит у животных, имеющих большее бактериальное поражение после отела, что выражается в замедленном росте доминантного фолликула и снижении выработки эстрадиола.

Инфекции матки также являются причиной снижения удоев, особенно если они связаны с задержанием последа (Esslemont и Kossaibati 2002; Sheldon и соавт., 2004).

Данные, касающиеся распространенности эндометрита в молочных стадах, колеблются от 7,5-8,9% до 40% (Gilbert и соавт., 2006). Однако в рамках недавних исследований авторы обнаружили, что количество цитологически диагностированных эндометритов на 40-60-й день после отела составляет 37-74%. Независимо от механизма, лежащего в основе недостаточности репродуктивной функции, вызванной маточными инфекциями, ветеринар должен вовремя диагностировать и эффективно пролечить болезни матки.

Диагностика маточных инфекций

В целом, диагностика состояния матки представляет собой подробное клиническое обследование, подтверждаемое дополнительными лабораторными исследованиями образцов, собранных во время осмотра (таблица 11). Данные, касающиеся анамнеза репродуктивной деятельности животного, могут и не давать точного диагноза, однако они вносят значительный вклад в выявление как факторов и причин возникновения заболевания, так и его продолжительности, а также могут быть полезны при принятии решения

о выборе средств лечения (т. е. выбор подходящего лечения для коров, имеющих и не имеющих половой цикл).

Таблица 11. Фазы диагностики при оценке состояния матки у КРС

Фаза диагностики	Полученная информация
Анамнез репродуктивной деятельности	Период после отела. История осеменения после отела. Лечение, имевшее место в недавнее время (общее и/или репродуктивной системы).
Общее клиническое обследование	Общий вид животного: поза, возбудимость, мобильность. Наличие вагинальных выделений, наличие засохших выделений в области промежности и ног. Положение хвоста (поднятый у основания, закинутый в одну сторону). Температура тела.
Подробное клиническое обследование репродуктивной системы	Пальпация стенок влагалища и визуальное исследование вагинальных выделений: наличие выделений во влагалище, наличие слизи на стенках влагалища. Характер вагинальных выделений: цвет, запах, консистенция. Ректальная пальпация: положение и размер шейки матки и матки, тонус матки, наличие жидкости в полости матки, наличие желтого тела и других структур яичника. Вагиноскопия: внешний вид цервикального канала: степень закрытия; наличие, характер и количество выделений: вагинальная слизь. Ректальное ультразвуковое обследование репродуктивного тракта: матка: положение, размер, толщина стенок. Наличие жидкости в полости матки. Яичники: наличие желтого тела, структура яичников.
Лабораторные исследования	Цитология: оценка наличия и типа клеток в образце эндометрия (процент полиморфоядерных клеток). Микробиологическая культура выделений из матки: вид бактерий и их чувствительность к антибиотикам. Биопсия эндометрия: гистологическая оценка образцов биопсии эндометрия: наличие и степень воспаления, степень морфологических изменений эндометрия

Диагностика метритов в течение первых десяти дней после отела относительно проста. Они сопровождаются гипертермией, гнойными выделениями из матки и влагалища, выделениями из вульвы и замедленной инволюцией

матки. Необходимо с особой осторожностью проводить обследование полового тракта после отела с целью проверки наличия метритов. Наличие красно-коричневых лохий в течение первых двух недель после отела считается нормальным. Кроме того, в течение 1-2-х дней первой недели после отела возможна повышенная температура тела, которая, как правило, не связывается с инфекциями матки (Sheldon и соавт., 2004a).

Диагностика эндометритов, особенно субклинических, представляет собой более сложную задачу. Исследования, проведенные компанией «Интервет», продемонстрировали, что только у 51% коров с субклиническими/хроническими эндометритами наблюдаются видимые вагинальные выделения.

Ректальная пальпация позволяет оценить размер, содержимое и положение матки. Обнаружить жидкость возможно в том случае, если определенное ее количество собрано в полости матки, однако получить информацию о характере этой жидкости или состоянии стенок матки не удастся.

Использование УЗИ позволяет более объективно оценить диаметр рогов матки и ее шейки и определить наличие слизистых и гнойных выделений в полости матки.

Вагиноскопия может проводиться с использованием влагалищного зеркала из пластика, металла или картона, армированного фольгой, что позволит оценить содержимое влагалища. Это простая и быстрая процедура, но, поскольку диагностика основывается на наличии цервикальной слизи, существует опасность ошибочной диагностики и получения неверных данных о количестве животных с патологиями матки. Вагиноскопия является более предпочтительной методикой диагностики эндометрита, чем ректальная пальпация матки, однако практикующие ветеринары применяют ее неохотно, поскольку переоценивают время и усилия, необходимые для проведения такой диагностики, а также стоимость оборудования.

Точная диагностика эндометритов осуществляется на основе гистологического исследования образцов биопсии эндометрия, что также позволяет определить уровень фертильности животного (Bonnet и соавт., 1993). Однако эта техника является дорогостоящей, требует больших временных затрат и трудноосуществима в полевых условиях. Более того, есть данные о том, что сбор образцов для проведения биопсии отрицательно влияет на плодотворность.

Цитология содержимого матки дает более ценную информацию, позволяя диагностировать даже субклинические случаи (Gilbert и соавт., 2004; Kasimanickam и соавт., 2004, Sheldon и соавт., 2004b, 2006, 2008). Полиморфоядерные нейтрофилы являются доминирующим типом воспалительных клеток, обнаруженных в собранной в матке жидкости, а вычис-

ление относительной доли этих клеток позволяет оценить репродуктивную деятельность коровы после отела.

Образцы могут быть собраны либо при помощи ватного тампона, который вставляется в матку, либо при помощи цитощетки.

Недавние исследования Varlund и соавт. (2008) были посвящены сравнению диагностики эндометритов при проведении вагиноскопии, ультразвуковой оценки объема жидкости в матке, ультразвуковой оценки толщины эндометрия, цитологии образцов эндометрия, собранных цитощеткой, и цитологии эндометрия, полученных при смывах с матки. Было обнаружено, что наиболее надежным способом диагностики эндометрита у КРС является цитологическое исследование образцов, собранных цитощеткой.

Ни один из этих методов широко не используется в полевых условиях, поэтому диагностика заболеваний матки, как правило, всецело зависит от клинического обследования.

Наиболее точным способом диагностики эндометритов в клинических условиях является исследование влагалища на наличие гноя. Поэтому настоятельно рекомендуется использование вагиноскопии. Влагалище также может быть обследовано вручную с забором слизи на анализ из шейки матки. Преимущество последнего способа состоит в том, что он является малозатратным и быстрым и позволяет определить запах выделений (Sheldon и соавт., 2006). В рамках процедуры проводится очистка вульвы бумажным полотенцем, затем рука в чистой смазанной перчатке вводится через вульву во влагалище и изымает некоторое количество слизистого содержимого влагалища для исследования. Исследование вручную не вызывает бактериального загрязнения матки или повышенного выделения белка в качестве реакции на воспаление, а также не влияет на диаметр рога матки.

Для забора содержимого влагалища также может использоваться новое приспособление, которое называется «метричек» (Metricheck®, Simcro, Новая Зеландия). Инструмент представляет собой стержень из нержавеющей стали с резиновым ковшем. При использовании этого простого, но очень эффективного инструмента, необходимо учитывать следующее:

- инструмент должно быть чист и продезинфицирован перед использованием для каждого животного (это значит, что при проведении диагностики в большом стаде необходимо иметь определенное количество данных инструментов);
- промежность должна быть тщательно очищена, чтобы избежать попадания фекалий во влагалище;
- животное должно быть отделено от стада и зафиксировано, чтобы обеспечить безопасность и комфорт как животному, так и оператору.

Диагностика эндометрита производится на основе состояния матки и характера вагинальных выделений. Система оценки выделений по баллам широко применяется для оценки степени воспаления (таблица 12).

Таблица 12. Оценка клинических эндометритов (источник: Sheldon и Dobson, 2004)

Вагинальные выделения оцениваются по характеру и запаху в соответствии со следующими описаниями. Сумма двух баллов составляет диагностику эндометрита.	
Описание	Баллы
Характер выделений	
Чистая или прозрачная слизь	0
Чистая или прозрачная слизь с хлопьями белого гноя	1
< 50 мл содержит < 50% белого или кремового гноя	2
> 50 мл содержит > 50% белого, кремового гноя или гноя с примесью крови	3
Запах выделений	
Отсутствие неприятного запаха	0
Неприятный запах	3

Принятые на сегодняшний день общие инструкции по лечению маточных инфекций у скота

При лечении послеотельных метритов следует обращать внимание на три основных цели: устранение бактериальных инфекций, лечение общих клинических признаков токсемии и мероприятия, направленные на поддержание гомеостаза животного и сведения к минимуму ущерба, нанесенного воспалительным процессом и токсемией. Антибактериальное лечение должно проводиться с использованием антибиотиков широкого спектра действия (особенно против *E.coli*). Можно использовать внутриматочные препараты, однако на практике ветеринары предпочитают выбирать парентеральные антибиотики ввиду наличия у коров повышенной температуры тела. Более того, поскольку заболевание может быть как средней, так и тяжелой степени, обычно вопрос об использовании антибиотиков системного действия не обсуждается. Сегодня применяются инъекционные формы цефалоспоринов, такие как цефтиофул (Sheldon и соавт., 2004d; Drillich и соавт., 2006).

Состояние здоровья животных и очевидность деструктивного воздействия воспалительного процесса на эндометрий заставляет многих практикующих ветеринаров использовать для лечения острых метритов нестероидные противовоспалительные препараты. Однако на сегодняшний день не существует достаточных доказательств того, что эта практика оказывает какое-

либо положительное воздействие на репродуктивную функцию, снижение температуры или улучшение клинической картины (Drillich и соавт., 2007). Перед принятием решения об использовании или не использовании НПВП следует помнить о том, что эти продукты подавляют выработку внутренних простагландинов из арахидоновой кислоты и могут привести к задержке инволюции матки. В этих случаях всегда следует вводить экзогенные простагландины PGF_{2α}.

Возможные преимущества использования простагландинов при лечении инфекций матки в ранний период после отела остаются спорными. Существует мало доказательств положительного использования PGF_{2α} до трех недель после отела (LeBlanc, 2008), хотя многие практикующие ветеринары отмечают высокий процент положительных результатов.

Антибиотики, выбираемые для лечения эндометритов, должны устранять бактериальные инфекции, оставаясь активными в анаэробной среде матки. Более того, они должны давать минимальное присутствие лекарства в молоке или мясе.

Препарат Metricure® был специально разработан для таких случаев, отвечает всем изложенным требованиям и устраняет бактериальное поражение матки у коров, что ведет к улучшению репродуктивной деятельности (Kasimanickam и соавт. 2005; LeBlanc и соавт., 2002; McDougall и соавт., 2001).

В исследованиях, проведенных McDougall и соавт. (2001) в Новой Зеландии, внутриматочное лечение препаратом Metricure® привело к улучшению репродуктивной деятельности молочного скота, особенно тех животных, у которых наблюдались задержания последа, мертворожденный плод или выделения из вульвы.

Одним из наиболее важных свойств данного препарата является способность обеспечивать нужную концентрацию активного вещества, цефапирина, не только в матке, но и в эндометрии (таблица 13). Это позволяет активно уничтожать бактерии в эндометрии.

Таблица 13. Концентрация цефапирина в эндометрии и плазме спустя 4, 8, 24 и 75 часов после ввода Metricure® (источник: «Интервет», досье препарата)

Часов после ввода Metricure®	4 часа	8 часов	24 часа	72 часа
Концентрация цефапирина в эндометрии (мкг/г)	9,62 (> 38МИК)	23,08 (> 92 МИК)	4,9 (> 19 МИК)	0,8 (> 3МИК)
Концентрация цефапирина в плазме (мкг/г)	0,06	0,02	< 0,01	< 0,01

МИК₉₀ для *A. pyogenes* = 0,25 мкг/мл

Порог выявления — 0,01 мкг/мл

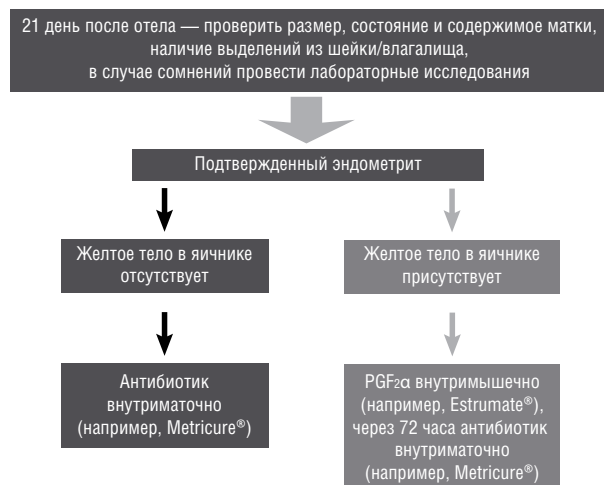
Лечение антибиотиками, которое приводит к быстрому и эффективному устранению таких инфекций, как *A. pyogenes*, также связывается с восстановлением репродуктивной функции у скота. Цефапирин весьма эффективен против большинства патогенов, вызывающих эндометрит у КРС (Sheldon и соавт., 2004d).

Очень важно гарантировать, чтобы любая внутриматочная терапия, используемая для лечения инфекций матки, не оказывала раздражающего действия и не ухудшала функцию защитного механизма матки. Некоторые противомикробные субстанции были проверены в контрольных исследованиях. Цефапирин в клинических дозах оказывает отрицательное воздействие на функцию нейтрофилов и их способность к уничтожению бактерий (Dosogne и соавт., 1998).

Иногда хроническое/подострое состояние выявляется только при обнаружении небольших хлопьев гноя в вагинальной слизи или на конце пипетки, используемой при осеменении. Нередко эти хлопья появляются в вагинальной слизи через 2-3 часа после искусственного осеменения, поскольку количество экссудата попадают во влагалище из полости матки. В таких случаях, тем не менее, возможно проведение осеменения и внутривагинального лечения (например, путем введения однократной дозы Metricure®) на следующий день после искусственного осеменения. Таким образом эмбрион, находящийся в яйцевом, будет защищен и приблизительно на пятый день попадет в уже пролеченную матку.

Стратегия лечения маточных инфекций во время позднего послеотельного периода (более 21-го дня после отела) должна основываться на оценке тяжести клинических признаков и активности яичников (рис. 18).

Рис. 18. Предполагаемая схема лечения эндометритов у КРС



В случае наличия желтого тела при лечении эндометритов лечение представляет собой комбинацию инъекции простагландина и внутриматочных антибиотиков. Индуцированный лютеолиз устраняет иммуноподавляющее действие прогестерона и повышает тонус матки. Внутриматочный ввод антибиотиков широкого действия не только устраняет бактериальное загрязнение, вызывающее воспалительный процесс, но также не позволяет некоторым бактериям оставаться в матке и размножаться во время следующей лютеиновой фазы, вызывая возобновление эндометритов (Lewis, 2004).

Обычное применение простагландинов для лечения и профилактики заболеваний матки

Простагландины в течение десятилетий использовались в качестве средства для лечения метритов и эндометритов, а также как профилактическое средство после отела. Как известно, экзогенный PGF_{2α} инициирует лютеолиз, который снижает концентрацию прогестерона и устраняет его иммуноподавляющее воздействие, позволяя матке самой избавиться от инфекции (Murray и соавт., 1990; Lewis 1997; Heuwieser и соавт., 2000). Результаты клинических испытаний использования PGF_{2α} для лечения клинических эндометритов при отсутствии активного желтого тела непоследовательны (Sheldon и Noakes 1998; LeBlanc и соавт., 2002; Mejia Lacau-Mengido 2005). Lewis (2004) предположил, однако, что введение простагландинов даже при

наличии эндометритов без активного желтого тела может дать определенные преимущества ввиду положительного воздействия PGF_{2α} на функционирование защитного механизма матки.

Как уже упоминалось, комбинация простагландина с внутриматочными антибиотиками, является наилучшим решением для устранения инфекции и предотвращения рецидива во время последующих лютеиновых фаз (Lewis 2004; Kasimanickam и соавт., 2005; Sheldon и соавт., in 2006, LeBlanc 2008).

Однако существуют противоречия в отношении использования заявленного количества простагландинов в период непосредственно после отела при отсутствии функционирующего желтого тела. Сведения об эффективности использования экзогенных простагландинов для ускорения инволюции матки, вывода бактерий и выделений из матки, а также улучшения уровня оплодотворяемости, по-прежнему разнятся. Простагландины оказываются более эффективными при наличии желтого тела. У большинства практикующих ветеринары считают, что лютеолиз после лечения внешними простагландинами в определенное время после отела восстанавливает нормальную концентрацию прогестерона за более короткий период, одновременно уменьшая чувствительность матки к бактериальным инфекциям. Многие опубликованные исследования не смогли доказать очевидного преимущества подобного лечения (Burton и Lean 1995 (мета-анализ Hendricks и соавт., 2005)), в то время как другие продемонстрировали уменьшение нарушений и повышение оплодотворяемости (Etherington и соавт., 1994; Nakao и соавт., 1997; Fernandes и соавт., 2008a,b).

Пиометра может рассматриваться как специфическая форма хронического эндометрита, характеризующегося наличием персистентного желтого тела и закрытой шейки. Во время фазы доминирования прогестерона в матке снижается сопротивляемость инфекциям:

- кислотно-щелочной баланс является пониженным, что создает благоприятные условия для развития общих патогенных организмов в матке;
- активность лейкоцитов замедлена и ослаблена;
- секрет матки не обладает антитоксичным действием.

При наличии пиометры простагландина F_{2α}, выделяемого маткой, оказывается недостаточно для индукции лютеолиза. В этой ситуации может использоваться инъекция простагландина. Желтое тело рассасывается, затем происходит созревание нового фолликула. Сокращаемость матки растет, шейка расслабляется, выделяется гной. Изменение гормонального баланса (рост концентрации эстрогена/снижение концентрации прогестерона) стимулирует защитный механизм матки. Следует упомянуть, однако,

что результат лечения в значительной степени зависит от времени его проведения. За коровами необходимо тщательное наблюдение, поскольку возможны осложнения. Настоятельно рекомендуется, чтобы эти животные получили вторую инъекцию простагландина 12-14 дней спустя. Осеменение можно начинать после восстановления эндометрия, которое обычно занимает 4-8 недель. Дополнительно может применяться внутриматочное лечение антибиотиками (Metricure®).

В свете разрушающей природы пиометры любое внутриматочное вмешательство не должно быть раздражающим, чтобы не допустить еще более сильного разрушения эндометрия.

Вагиниты

Вагинит является довольно обычным у молодых телок после естественной случки и, как правило, не требует лечения. У взрослых коров вагинит может быть следствием инфекции из окружающей среды и может легко перейти в эндометрит. Зачастую провести различие между этими двумя заболеваниями затруднительно. У нестельных коров оптимально проводить лечение, принимая в качестве основного диагноза эндометрит. Профилактика должна основываться на санитарно-гигиенических мероприятиях. Вагинитом и/или эндометритом сопровождается целый ряд специфических инфекций (см. также «Аборты», глава 2.4.8).

2.4.4. Анэструс

Если молочные коровы не возвращаются в эструс в течение 60-ти дней после отела (как фактически имеющие половой цикл, так и не имеющие его), такое состояние называется «послеотельный анэструс» (ПОА).

Приведем некоторые определения во избежание расхождений в терминологии.

Анэструс — у коровы не наблюдается эструс либо потому, что она не возвращается в половую охоту (отсутствие полового цикла), либо потому, что эструс остался незамеченным (корова с устоявшимся половым циклом).

Истинный анэструс — корова не возвращается в половую охоту потому, что ее яичники не функционируют.

Подэструс — у коровы нормальная половая активность, но эструс не наблюдается ввиду слабого проявления признаков охоты или их отсутствия, либо вследствие невыявления таких признаков.

Коровы, имеющие половой цикл

Подэструс

Подэструс, или невыявление эструса, является основной причиной послеродового анэструса. Сюда включаются животные, демонстрирующие нормальное проявление половой охоты, слабое проявление половой охоты или отсутствие последнего. Провести различия между ними практически невозможно. Действия должны основываться, прежде всего, на повышении качества выявления эструса, т. е. понимании того, на что следует обратить внимание, выделении достаточного времени и проведении достаточно частых наблюдений, четкой идентификации отдельных коров, надлежащем ведении журнала записей, а также возможном использовании наборов для определения прогестерона в молоке. См. пункт «Выявление эструса» (2.2.4).

Регулирование эструса и овуляции с помощью простагландинов, гонадолиберина и прогестагенов может способствовать решению некоторых проблем выявления эструса, помогая животноводу обнаружить эструс в рамках определенного периода времени. См. главу «Регулирование эструса» (2.3).

Коровы не имеющие полового цикла

Истинный анэструс

На восстановление половой активности после отела влияют такие факторы, как питание, состояние упитанности, присутствие теленка при корове, лактация, дистоция (патологические роды), порода и возраст коровы, месяц отела, патологии матки и ослабляющие заболевания. На большинстве молочных ферм с хорошими условиями содержания в течение 40 дней после отела овуляция не происходит менее чем у 10% коров. У мясных коров эта цифра может достигать 60% ввиду угнетающего действия сосания теленка, питания, сезона и т. д. Продолжительность послеотельного анэструса определяется не фолликулярной волной, а, скорее, ее отклонениями и/или поведением доминантного фолликула.

Используя преимущества ультразвукового исследования и более полные знания о динамике развития фолликула Wiltbank и соавт. (2002) предложили следующую классификацию состояний, при которых отсутствует овуляция.

1. Отсутствие овуляции при росте фолликула до переходной фазы.

При этой форме анэструса, у коров образуются очень маленькие фолликулы, которые растут только до фазы перехода и далее не развиваются. Авторы полагают, что эта форма анэструса бывает вызвана относительным дефицитом ФСГ.

2. Отсутствие овуляции при росте фолликула до фазы покоя.

При этой форме отсутствия эструса происходит рост фолликула и дальнейшее его развитие до переходной фазы и фазы покоя, но овуляции не происходит. Эта самая распространенная форма отсутствия эструса. Она случается у всех животных в период перед отелом и часто имеет место в период после отела у лактирующих коров и у мясных коров с подсосными телятами. Характерным признаком являются небольшие яичники без желтого тела или фолликулов овуляторного размера, несмотря на то, что последние продолжают постоянно расти в рамках динамической волны до фазы покоя. Основная физиологическая проблема заключается в подавляющем воздействии эстрадиола на пульсообразное выделение ГнРГ/ЛГ, что препятствует росту доминантного фолликула или выработке им эстрадиола.

3. Отсутствие овуляции при изменении, росте фолликула и образовании доминантного фолликула, который не овулирует, а превращается в персистентную фолликулярную структуру.

Персистентная фолликулярная структура может преобразоваться в кисту или лютеинизироваться (лютеиновая киста). См. главу 2.4.5

2.4.4.1. Лечение анэструса у КРС

Новейшие сведения о физиологической основе различных типов отсутствия овуляции у КРС позволяют применять более точное лечение, которое направлено на восстановление деятельности эндокринной системы.

Улучшения энергетического статуса молочной коровы путем сбалансирования рациона в переходный период и период ранней лактации может уменьшить период анэструса, который вызван отсутствием пульсообразного выделения ЛГ. У мясных коров улучшение энергетического баланса и/или уменьшение количества раз, когда теленок сосет корову, могут усилить пульсацию ЛГ и сократить время до первой овуляции. Для стимуляции неовулирующих коров может использоваться гормональное лечение, особенно эффективное при одновременном восстановлении энергетического баланса молочных коров и уменьшении времени нахождения подсосного теленка с матерью.

При ановуляции, когда рост фолликула доходит только до стадии перехода (тип 1), возможности фармакологического лечения ограничены. Чаще всего этот тип нарушения встречается у коров, находящихся на выпасе, особенно у зебу, в тропических зонах. Такие коровы обычно имеют рацион плохого качества, а также содержатся в очень сложных климатических условиях. Полевой опыт показывает, что лечение аналогами ГнРГ обычно не

дает результатов, а лечение ФСГ может усилить рост фолликула. Препараты на основе ФСГ обычно используются для стимуляции множественной овуляции в яйцеклетке/эмбрионе донора и являются довольно дорогостоящими. Тщательная дозировка ГСЖК/еСГ (например, Folligon®) может использоваться для стимуляции дальнейшего роста фолликула у коров с этим типом анэструса. Следует отметить, что без радикального улучшения рациона коров шансы на успех остаются низкими.

Тип ановуляции при росте фолликула до фазы покоя (тип 2) распространен среди высокоудойных коров и коров с довольно хорошей упитанностью, имеющих подсосных телят. Независимо от фармакологических способов, в качестве первейшего средства уменьшения периода ановуляции, вызванного недостатком ЛГ, должно рассматриваться улучшение энергетического статуса путем создания сбалансированного рациона в переходный период, а также в период ранней лактации. Кроме того, необходимо свести к минимуму случаи заболеваний. Неовулирующая корова в период лактации может успешно лечиться по программе «Овсинх», поскольку у такого животного присутствует фолликул соответствующего размера и овуляторная активность, позволяющая реагировать на фармакологическое стимулирование выброса ЛГ. Мясных коров, с другой стороны, предпочтительнее лечить прогестагенами с временным отъемом подсосных телят. Vasconcelos и соавт. (2009) описали исследования, сравнивающие результаты временного отъема телят и использования прогестерон-высвобождающего препарата при анэструсе пород, скрещенных с зебу/*bos taurus*. Результаты показали, что даже просто отъем телят увеличивает случаи наступления эструса, в то время как использование одного прогестерон-высвобождающего препарата повышает оплодотворяемость. Сочетание обоих способов улучшает процент успешности, вызывая наступление эструса и оплодотворения.

Лечение ановуляторного состояния, приводящего к образованию персистентного доминантного фолликула или фолликулярной кисты, описано в разделе 2.4.5.

Применение прогестагенов у коров с анэструсом

Лечение с применением прогестагенов/прогестерона считается сегодня предпочтительнее инициирования половой цикличности и управления эструсом у коров с отсутствием охоты, особенно у мясных пород (Yavas и соавт., 200a,b; Peter и соавт., 2009).

Применение прогестерона или прогестагенов для лечения анэструса является более предпочтительным, поскольку это позволяет инициировать половой цикл без овуляции и создает последующую лютеиновую фазу нормальной продолжительности. Наилучшие результаты были получены

при использовании прогестерона или прогестагенов, таких как норгестомет (Crestar®), в совокупности с инъекцией эстрадиола в начале лечения.

Инъекция ГСЖК/еCG (Folligon®) может быть сделана по окончании прогестеронового лечения, и это составляет неотъемлемую часть программы Crestar®, направленной на инициирование эструса и овуляции у коров с ановуляцией и анэструсом.

Использование ежедневной ректальной ультразвуковой диагностики показало, что у животных с анэструсом, пролеченных небольшой дозой прогестерона, персистентный фолликул не развивается, в отличие от коров, пролеченных до того, как половой цикл уже начался. Поэтому получение удовлетворительных результатов в группе животных, пролеченных только прогестероном или прогестагеном, должно быть возможным.

Аналог ГнРГ также может применяться в начале прогестеронового лечения, для того чтобы вызвать регресс доминантного фолликула и синхронизировать появление новой когорты фолликулов. Эта программа оказывает и дополнительное воздействие, вызывая овуляцию и образование желтого тела у большинства особей, что приводит к увеличению уровня прогестерона в плазме по сравнению с коровами, не пролеченными ГнРГ (Хи и соавт., 2000а). В целях обеспечения отсутствия лютеиновой фазы после удаления прогестерон-высвобождающего препарата в программу обычно вводятся простагландины. Для стимуляции овуляции и проявлений эструса, следующих за лечением прогестероном, используется эстрадиол (особенно в Новой Зеландии). Однако при сегодняшнем запрете на использование данных гормонов эту практику придется прекратить.

Для коров с подсосными телятами и продолжительным анэструсом требуется временное отнятие телят (разделение матери и потомства на 48 часов) во время удаления прогестерона/прогестагена, что обеспечивает дополнительную стимуляцию яичников.

Аналоги ГнРГ в комбинации с простагландинами

Способность аналогов ГнРГ инициировать овуляцию во время ановуляторного периода анэструса после отела позволяет применять программу «Овсинх» для лечения анэструса у КРС, с учетом того, что фолликулы, реагирующие на стимуляцию ЛГ, присутствуют в яичниках. Использование этой программы, а также разделение коровы и теленка, сравнивается с применением имплантантов норгестомета и инъекцией эстрадиола при анэструсе у мясных коров и у коров, с возобновившимся эструсом. Показатели стельности были одинаковыми у коров, имевших анэструс и подвергавшихся лечению в рамках любой программы, и коров, у которых половой цикл восстановился до начала программы «Овсинх» (Geary и соавт., 1998).

У молочных коров с анэструсом применение программы «Овсинх» дает те же показатели оплодотворяемости в первое осеменение и тот же средний период до оплодотворения, что и у коров, пролеченных CIDR® и бензоатом эстрадиола и осемененных по выявлению охоты (McDougall и соавт., 2001). Однако результаты позволяют предположить, что программа «Овсинх» может иметь преимущества при лечении анэструса у коров в тех ситуациях, когда выявление эструса является проблемой, хотя результаты стельности будут ниже чем у коров с восстановившимся половым циклом (Cartmill и соавт., 2001).

Гормональная терапия может эффективно уменьшить интервал до первой овуляции и синхронизировать эструс на любой физиологической стадии. Однако реакция на лечение неоднозначна как между стадами, так и внутри одного стада, и зависит от таких факторов, как продолжительность анэструса, возраст, упитанность животного и интервал между отелами. При послетельном анэструсе у коров с плохой упитанностью как реакция возникновения эструса, так и процент стельности улучшаются незначительно, вне зависимости от используемой программы.

С учетом того факта, что маточные инфекции замедляют восстановление активности яичников (Opsomer и соавт 2000; Sheldon и соавт., 2004a,b), следует проверять коров, у которых отсутствует половой цикл, на наличие эндометритов.

Персистентное желтое тело/пиометра

Наличие персистентного желтого тела обычно сопровождается заболеваниями матки, не позволяющими вырабатывать достаточно простагландина для лютеолиза. Как уже упоминалось, недостаточная активность желтого тела, часто связанная с инфекциями матки, — распространенное явление в стаде с высокими удоями (Shrestha и соавт., 2004), особенно в теплое время года (Kornmatitsuk и соавт., 2008). Лечение в первую очередь предполагает введение экзогенного простагландина, вызывающего регресс желтого тела. Эту инъекцию можно объединить с введением ГнРГ, что вызовет овуляцию доминантного фолликула новой фолликулярной волны, следующей за осеменением.

Киста яичников

Отсутствие эструса может быть возможным симптомом кисты яичников. Более подробную информацию см. в главе «Киста яичников», п. 2.4.5.

2.4.5. Киста яичников

Традиционно, кисты определяются как неовулирующая фолликулярная структура (диаметр >25 мм), существующая 10 и более дней при отсутствии функционирующего желтого тела, сопровождаемая аномальным проявлением признаков половой охоты (нерегулярные промежутки между эструсом, нимфомания или анэструс). Однако последние данные на основе ультразвуковой диагностики указывают на то, что обычно фолликул овулирует будучи 17 мм в диаметре, поэтому фолликулы, не овулирующие при таком или большем диаметре, могут рассматриваться как «кистовые» (Vanholder и соавт., 2006а), отсюда возник термин «кистозные фолликулы яичников», используемый чаще, чем «киста яичников».

Фолликулярная киста яичников — самое распространенное заболевание половой системы молочных коров, которое случается приблизительно у 6-19% этого класса животных (Garverick, 1997). В период непосредственно после отела количество случаев даже выше, поскольку около 60% из тех животных, у которых присутствует киста до первой овуляции, восстанавливают цикл яичников спонтанно (Ijaz и соавт., 1987). Экономический ущерб, наносимый кистой яичников, заключается в ее влиянии на продолжительность сервис-периода и соответственно его стоимость. Было подсчитано, что каждый случай кистозного заболевания оценивается как 22-64 дополнительных дня к сервис-периоду и 137 долларов США вследствие расходов на лечение и снижения производства молока и (Silvia и соавт., 2002).

Определить единую причину возникновения кисты яичников затруднительно, однако высокие удои, сезонность спаривания/осеменения, стресс и отрицательный энергетический баланс рассматриваются как предрасполагающие факторы. Послеотельные проблемы, такие как задержка плаценты, мастит и эндометриты, увеличивают риск развития кистозного заболевания. Существует предположение о том, что кистозное заболевание имеет генетическую основу. Более того, наряду с генетической предрасположенностью к образованию кисты, была установлена генетическая взаимосвязь между кистообразованием и выработкой молока, указывающая на то, что, продолжая отбирать коров по принципу производительности, мы увеличиваем шансы развития кисты. Влияние фактора питания заключается в дефиците бета-каротина и фитоэстрогенов.

Проблемы скудности рациона (отрицательный энергетический баланс) считаются одним из самых важных факторов, вносящих свой вклад в образование фолликулов яичников в ранний период после отела. Более того, обнаружена связь между случаями образования кисты с масштабом и продолжительностью отрицательного энергетического баланса (Vanholder

и соавт., 2006а). Несмотря на то, что увеличение концентрации кетонов в сыворотке увеличивает риск образования кисты после отела у молочных коров, их отрицательное воздействие на фолликулярные клетки в лабораторных исследованиях обнаружено не было (Vanholder и соавт., 2006b). Таким образом, концентрация кетонов у молочных коров в период после отела — при отсутствии отрицательного энергетического баланса — не является индикатором вероятности возникновения кисты.

Образование кисты может быть результатом функциональных нарушений как на уровне яичника/фолликулов, так и на уровне гипоталамуса/гипофиза. Наиболее широко распространена гипотеза, объясняющая образование кисты недостаточным выбросом ЛГ из гипоталамуса-гипофиза: предовуляторное высвобождение ЛГ либо отсутствует, либо недостаточно или происходит не вовремя в ходе созревания доминантного фолликула.

Считается, что измененный механизм воздействия эстрогена на гипоталамус-гипофиз по принципу обратной связи может привести к недостаточному выбросу ГнРГ/ЛГ, отсутствию овуляции и образованию кисты. Выброс ГнРГ/ЛГ, происходящий постоянно во время роста фолликула, т. е. когда в яичнике нет фолликула, способного овулировать, может снизить чувствительность гипоталамуса к воздействию эстрадиола в рамках механизма обратной связи, что приведет к образованию кисты.

Изменение механизма обратной связи и высвобождение ГнРГ/ЛГ могут быть связаны с факторами, нарушающими деятельность гипоталамуса/гипофиза.

Основываясь на этих открытиях, Silvia и соавт. (2002) предложили новую модель происхождения фолликулярной кисты у КРС. Фолликулярная киста яичников развивается вследствие отсутствия предовуляторного выброса ЛГ и происходит в качестве реакции на предовуляторный рост концентрации эстрадиола. Первичная причина — гипоталамус, не высвобождающий ГнРГ в ответ на стимуляцию эстрадиолом. Отсутствие чувствительности гипоталамуса к эстрадиолу может быть вызвано средней (меньшей, чем в лютеиновой фазе) концентрацией прогестерона в кровотоке. Если прогестерон вводится в средней концентрации (0,5-2 нг/мл), это блокирует высвобождение ЛГ, предотвращает овуляцию и приводит к образованию персистентного фолликула большего диаметра по сравнению с нормальными доминирующими фолликулами (Hatler и соавт., 2003). Эта концепция была подтверждена открытием того факта, что лечение небольшими дозами прогестерона, например использование прогестерон-высвобождающего препарата для синхронизации эструса, может привести к образованию персистентного доминантного фолликула.

Первичное нарушение на уровне фолликула может нарушить гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось, вызвав образование кисты. Изменения в экспрессии и содержимом рецепторов к ЛГ могут стать причиной отсутствия овуляции фолликула. Кроме этого, изменения в стероидогенезе доминантного фолликула также могут играть роль в дегенерации кисты.

С макроскопической точки зрения, киста может быть или фолликулярной или лютеиновой, однако считается, что это разные формы одного заболевания. Лютеиновые кисты развиваются при наличии концентрации ЛГ, недостаточной для иницирования овуляции, но способной вызвать лютеинизацию стенок фолликула. Лютеиновые кисты ассоциируются с анэструсом, но провести различие между фолликулярной и лютеиновой кистами исключительно на основе поведения не представляется возможным. Лютеиновая киста имеет более толстые стенки, и диагностировать ее методом пальпации могут лишь очень немногие опытные специалисты. Повышенный уровень прогестерона в молоке или плазме указывает на лютеиновую кисту. Необходимо соблюдать осторожность и не путать лютеиновую кисту с полым желтым телом, не являющимся патологией.

Клинические признаки, соответствующие кисте яичника, значительно различаются. Анэструс является наиболее распространенным симптомом, особенно в период после отела. Нерегулярные промежутки между эструсом, нимфомания, расслабление широкой тазовой связки и развитие у самки физических черт самца представляют собой другие признаки наличия эстрогенно-активных кист, особенно в период поздней лактации. Лютеиновые кисты практически всегда сопровождаются анэструсом.

Лечение кистообразных заболеваний яичников

В свете относительно высокого процента самоизлечения развитие кисты яичника, не леченное даже после диагностики, может увеличить период между отелом и стельностью до 64-х дней, приводя к экономическим потерям в размере от 55 до 160 долл. США на лактацию (Bartolome и соавт., 2005d).

Применение ГнРГ (Receptal®, Fertagyl®; 5,0 мл) является предпочтительным способом лечения. Этот препарат действует путем стимуляции гипофиза на высвобождение ЛГ и ФСГ. Индуцированный подъем ЛГ приводит к лютеинизации кистозного фолликула. В зависимости от типа кисты и, возможно, дозы ГнРГ, можно заставить некоторые кистозные фолликулы овулировать. Более того, индуцированное ГнРГ увеличение ФСГ возобновляет фолликулярную волну, что обычно позволяет восстановить цикл. Через 18-23 дня после инъекции в состоянии эструса приходят 60-80% коров.

Необходимо сознавать, что это стимуляция нормальной фолликулярной волны и иницирование овуляции на новой фолликулярной волне, а не физи-

ческое устранение фолликула с кистой. По этой причине ручное разрушение кисты зачастую не помогает восстановить цикл. Кроме того, ректальное удаление кисты влечет за собой существенный риск поражения деликатных тканей яичника и их отторжение.

Поскольку и фолликулярная, и лютеиновая кисты одинаково реагируют на подобное лечение, их разграничения не требуется, и авторы в основном согласны с тем, что введение ГнРГ остается наилучшей терапией для большинства животных, имеющих кисту яичников. Внутривенное введение ХГЧ (Chorulon®; 3000 ед.) представляет собой еще одно средство. ХГЧ — это гонадотропин с сильной активностью ЛГ. Период его полураспада у КРС составляет около двух дней, что оказывает продолжительное лютеотрофическое воздействие непосредственно на кисту и часто используется для повторных случаев.

Различные исследования показали, что предварительное воздействие на клетки нервных окончаний фолликула достаточного уровня прогестерона необходимы для их подготовки к последующей стимуляции ГнРГ. Поэтому применение прогестерона или прогестагена является местным лечением фолликулярной кисты и дает хорошие результаты — как отдельно, так и в комбинации с ГнРГ (Calder и соавт., 1999; Todoroki и соавт., 2001; Ambrose и соавт., 2004).

Система на основе ГнРГ/простагландин, направленная на сокращение сервис-периода и уменьшение числа случаев возникновения кист, была предложена White и соавт. (1996) и протестирована Lopez-Gatius и соавт. (2002). Эта система может использоваться между 30 и 90-м днем после отела и включает введение ГнРГ (Receptal®, Fertagyl®) при обнаружении кисты, а затем введение PGF_{2α} (Estrumate®) девять дней спустя.

После того как лютеинизация кисты индуцируется ГнРГ, лютеиновая ткань развивается в течение девяти дней. Полученное желтое тело затем реагирует на лечение простагландинами, и начинается новый цикл эструса.

В качестве альтернативы для лечения кисты яичника у молочных коров в период лактации может использоваться классическая программа «Овсинх». Этот способ описан Bartolome и соавт. (2000), которые продемонстрировали, что синхронизация овуляции и запланированное осеменение дают те же показатели стельности, что и полученные при синхронизации эструса и осеменении во время индуцированного эструса в течение семи дней. Дальнейшие исследования Bartolome и соавт., (2005), De Vries и соавт. (2006) и De Rensis и соавт. (2008) подтвердили возможность использования программы «Овсинх» для лечения молочных коров с кистой яичников.

Коровы, не вернувшиеся в охоту в течение 23-х дней после ввода ГнРГ или ХГЧ, должны быть обследованы и при необходимости пролечены. То же

касается и животных, вернувшихся в охоту в течение 14-ти дней, поскольку это указывает на то, что они не отреагировали на первую инъекцию.

Профилактика образования кисты заключается в выявлении и устранении факторов, способствующих ее появлению (стресс перед отелом, нарушения рациона, маточные инфекции). Кроме того, введение ГнРГ на 14-й день после отела уменьшает вероятность возникновения кисты (Britt и соавт., 1977). Более раннее введение не является эффективным, поскольку гипофиз не способен высвободить ЛГ в ответ на ГнРГ до 12-14-го дня после отела.

Для лечения коров с кистой лютеинового типа также используются простагландины. Однако реакция и степень излечения зависят от наличия лютеиновой ткани и точности диагностики, а также уверенности в том, что киста действительно является лютеиновой. Поскольку пальпация характеризуется как ненадежный способ разграничения между лютеиновой и фолликулярной кистой, диагностика должна основываться на концентрации прогестерона в плазме и молоке или использовании ультразвуковой диагностики.

2.4.6. Потеря стельности

Период от зачатия до 45-го дня стельности называется эмбриональной стадией. За ней следует стадия плода, которая длится вплоть до отела. Гибель эмбриона рассматривают в качестве одной из основных причин репродуктивных проблем у КРС, приводящих в результате к снижению показателей стельности, замедлению генетического развития, а также существенным финансовым потерям на мясных и молочных фермах.

Недавние исследования показали, что средние показатели прибыли от стельности составляли 278 долл. США в высокоудойном стаде в США, при этом стоимость потери стельности была значительно выше (De Vries, 2006).

Общеизвестно, что показатели оплодотворяемости обычно составляют 90%, а эмбриональная смертность является причиной 29-39% потерь после оплодотворения, большинство из которых (приблизительно 70-80%) происходит между 8 и 16-м днем после оплодотворения (Roche и соавт., 1981; Dunne и соавт., 2000; Diskin и Morris 2008).

С появлением УЗИ стала возможна точная диагностика стельности на 25-й день после искусственного осеменения, что упростило изучение эмбриональной гибели после выявления стельности. Частота случаев поздней эмбриональной гибели составила приблизительно 7%. Несмотря на то, что поздняя гибель эмбриона случается гораздо реже, чем ранняя, это, тем не менее, влечет за собой большие экономические потери. Эти потери могут быть особенно заметны при сезонном осеменении скота, когда коровы те-

ряют эмбрион в конце сезона и, таким образом, не могут быть осеменены вновь и выбраковываются вследствие бесплодия.

Эмбриональная смертность относится к потерям, которые имеют место в период между оплодотворением яйцеклетки и окончанием стадии деления примерно на 42-й день.

Ранняя эмбриональная смертность, т. е. до 15-го дня, не влияет на длительность полового цикла. Если эмбрион погибает после этого момента, корова возвращается в половую охоту, когда рассасывается желтое тело и, в силу этого, длительность цикла увеличивается.

Гибель эмбриона на поздней зародышевой стадии (после 35-45-го дня после осеменения) может быть диагностируемой. Хотя в некоторых случаях эмбрион и оболочки abortируются, остатки часто рассасываются. Желтое тело может персистировать в течение длительного времени, тем самым задерживая возвращение в половую охоту. Обычно единственным очевидным признаком является возвращение в эструс на 30-50-й день после осеменения.

Некоторые факторы, влияющие на эмбриональную смертность:

- генетические особенности — как быка-производителя, так и коровы;
- хромосомные аномалии эмбриона;
- возраст коровы;
- аномалии матки (например, эндометрит);
- повреждение эмбриона при ректальной пальпации (например, при диагностике стельности);
- заболевания, вызывающие повышение температуры тела;
- тепловой стресс;
- задержка оплодотворения (сниженная фертильность яйцеклетки);
- недостаточность функции желтого тела

Механизм диагностирования стельности у КРС

При нормальном половом цикле механизм, задействующий окситоцин и простагландин F_{2α}, гарантирует нормальный лютеолиз желтого тела и начало нового полового цикла. Окситоцин, вырабатываемый желтым телом, связывается со специальными окситоциновыми рецепторами в эндометрии, стимулируя высвобождение простагландинов клетками эндометрия (Silvia и соавт., 1991; Wathes и соавт., 1995; Mann и соавт., 2001). Простагландин выбрасывается в кровоток, достигает яичника и вызывает регресс желтого тела. Увеличение уровня эстрогенов, происходящее при росте фолликулов, стимулирует экспрессию окситоциновых рецепторов.

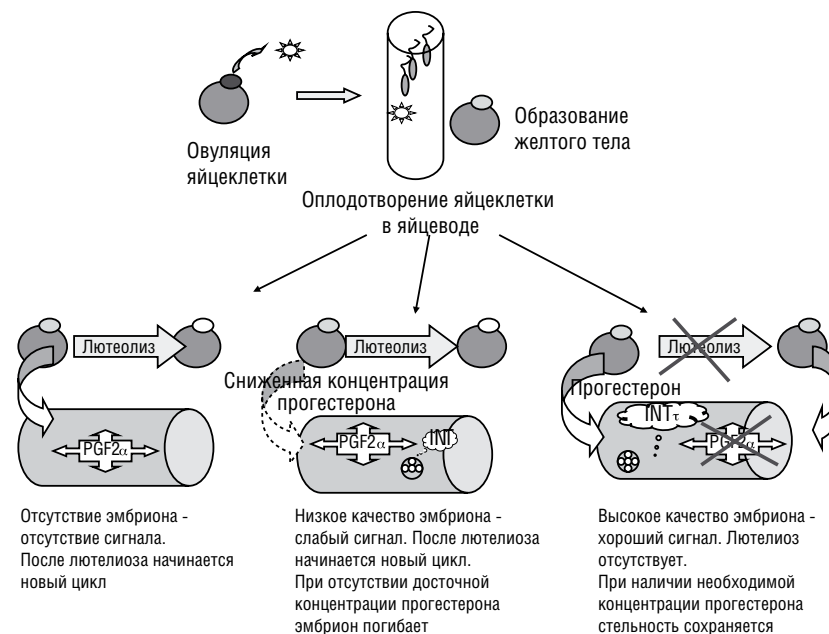
Для сохранения желтого тела и поддержания стельности требуется надежный способ распознавания стельности. Другими словами, развиваю-

щийся эмбрион должен подать сигнал, предотвращающий лютеолиз, который в ином случае мог бы привести к стандартному завершению полового цикла. Обнаружено, что эмбрион коровы и овцы вырабатывает и высвобождает специфический белок беременности — интерферон-τ (INF-τ) (Farin и соавт., 1989; Mann и соавт., 1999). Механизм ингибирования INF-τ во время лютеолиза хорошо известен и заключается в подавлении рецепторов к окситоцину в эпителии полости матки (Robinson и соавт., 1999) и индукции ингибитора синтеза простагландина (Thatcher и соавт., 1995). У КРС мРНК для интерферона-τ была впервые обнаружена в трофэктодерме, основном месте его производства, на 12-й день и достигла максимального уровня между 15 и 16-м днем. (Farin и соавт., 1990). Интерферон-τ может быть в значительном количестве обнаружен в первую очередь в смывах из матки на 14-16-й день, совпадающий с началом удлинения эмбриона (Mann и соавт., 1998).

В случае задержки развития эмбриона — или в том случае, если рост эмбриона и материнский половой цикл не синхронизованы (напр. вследствие задержки овуляции или позднего осеменения), — наблюдается недостаточная или запоздавшая выработка интерферона-τ, подавления лютеолиза не происходит, и эмбрион погибает. Основной причиной недостаточной выработки интерферона-τ эмбрионом, происходящей в результате оплодотворения яйцеклетки на фоне задержки овуляции, является процесс старения фолликула. Предполагается, что вследствие увеличения этого периода и задержки овуляции в яйцеклетке происходят изменения, которые выражаются в ее преждевременном созревании и, в свою очередь, уменьшают ее способности к оплодотворению и развитию. Слабое развитие эмбриона, ассоциирующееся со слабой выработкой интерферона-τ, не подавляет лютеолиз, что приводит к гибели эмбриона (Mann и соавт., 1996, Mann и соавт., 1998). Как указано в главе 2.3.3, существует тесная взаимосвязь между ранним увеличением концентрации прогестерона после осеменения, развитием эмбриона и его способностью вырабатывать интерферон-τ (Kerblar и соавт., 1997; Mann и соавт., 1999; 2001).

На рис. 19 схематически показана взаимосвязь между эмбрионом и коровой на ранней стадии развития эмбриона и механизм признания стельности.

Рис. 19. Взаимосвязь между матерью и эмбрионом, предшествующая признанию стельности



Предотвращение гибели эмбриона при помощи фармакологических средств

На сегодняшний день наиболее популярные стратегии и способы фармакологического лечения, направленные на увеличение показателей стельности у КРС, могут быть разделены на две группы.

1. Профилактика задержки овуляции
2. Поддержка функции желтого тела на ранних стадиях и профилактика преждевременного лютеолиза.

О фармакологических способах, направленных на уменьшение случаев ранней гибели эмбриона, см. главу 2.3.4

2.4.7. Корова, нуждающаяся в повторном осеменении

Нуждающейся в повторном осеменении считается корова, имеющая нормальный половой цикл без клинических отклонений, но не оплодотворенная после не менее чем двух успешных осеменений. На практике некоторые из этих животных бывают осеменены в неправильно выбранное время. У других могут присутствовать непальпируемые патогенные изменения в сумке или яйцеводе, вследствие чего возникают трудности при диагностике или имеются не диагностированные маточные инфекции.

Тремя другими патологическими причинами повторного осеменения являются:

- субклинические эндометриты;
- задержка овуляции;
- недостаточность функции желтого тела.

См. главы 2.4.3. и 2.3.4.

2.4.8. Аборты

Аборт у коровы определяется как гибель плода и изгнание его между 45 и 265-м днем стельности.

Это одна из важнейших причин репродуктивных и экономических потерь, особенно в том случае, если в стаде наблюдается высокий уровень абортов. Более того, некоторые инфекции, вызывающие аборт у КРС, представляют опасный зоонозный риск для человека.

Уровень абортов до 5% в год считается нормальным. Эта цифра не включает в себя большую часть абортов, происходящих в течение 2 и 3-го месяцев стельности, поскольку они часто остаются незамеченными. Уровень абортов выше 10% считается «вспышкой абортов». Диагностика причин абортов затруднена, и причину можно установить лишь в 20-30% случаев, что обусловлено отсутствием подходящих образцов или их низким качеством. Кроме того, часто присутствует задержка между гибелью плода и его изгнанием. Быстро развивающийся перед изгнанием автолиз может оказать значительное влияние на качество образцов, взятых для диагностики. Серология часто является неадекватной. В литературе приводится целый диапазон инфекционных и неинфекционных причин абортов.

Неинфекционными причинами абортов являются физические причины, такие как травма, повторное осеменение стельных животных и гипертермия (также связывается с пирексией). Факторы, связанные с нарушением рациона, редко вызывают аборты. Увеличение количества абортов можно наблюдать в стаде, в котором существует продолжительный дефицит вита-

мина А. Аборт могут вызывать также многочисленные растительные токсины и микотоксины и неорганические яды, такие как нитраты/нитриты, свинец или кадмий. Патогенные аборты не являются распространенным явлением, но аборты, вызванные вводом простагландинов или глюкокортикоидов, случаются в стаде, в котором плохо организована идентификация животных, учет вводимых препаратов и проводимого лечения, а также имеет место неверная диагностика яловости у стельных коров.

Инфекции, вызывающие аборты, включают большой перечень бактерий, вирусных и протозойных микроорганизмов (Anderson и соавт., 2007).

Следует помнить, что некоторые генетические отклонения и отклонения в развитии могут стать причиной гибели плода и аборта. Это так называемые комплексные пороки позвоночника (CVM), дисхондроплазия и различные отклонения на хромосомном уровне.

Перечень причин аборта у КРС, приведенный в таблице 14, не является исчерпывающим.

Таблица 14. Дифференциальная диагностика аборта у КРС

Причины неинфекционного характера	Инфекционные причины
Генетические aberrации Хромосомные аномалии Фитотератогены: люпин, <i>Senecio</i> spp.	Вирусы Вирус бычьего герпеса 1 (BHV1) Вирус бычьего герпеса 4 (BHV4) Вирус бычьей вирусной диареи (BVDV) Вирус парагриппа 3 (PI-3) Парвовирус
Пищевые Токсичные растения Отравление нитратами Фитоэстрогены Недостаток йода Недостаток витамина А Недостаток селена Отравление свинцом Отравление кадмием	Бактерии <i>Brucella abortus</i> <i>Campylobacter fetus</i> <i>Chlamidia psittaci</i> <i>Leptospira hardjo/Pomona</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella Dublin/typhimurium</i> Стафилококки Стрептококки <i>Pasteurella</i> spp. <i>E. coli</i> и т. д.

<p>Стрессы Условия содержания животных Тепловой стресс Травма Хирургическая операция Недостаток влаги Беспокойство Вакцинации</p>	<p>Простейшие <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Sarcocystis</i> <i>Neospora canium</i> <i>Trichomonas foetus</i></p>
<p>Прочее Многоплодная беременность Осеменение Лечение кортикостероидами Лечение простагландинами Аллергия Обезвоживание</p>	<p>Грибы <i>Aspergillus spp.</i> <i>Mycoplasma spp.</i></p>

Основная информация об исследовании причин аборт у КРС

Для подробного исследования возможных причин абортов и выяснения их источника (особенно — источника инфекции) необходимо правильно собрать образцы и соответствующие сопутствующие данные. Оптимальным было бы лабораторное исследование плода и плаценты целиком, проведение гистопатологической и микробиологической оценки и анализа образцов сыворотки, взятых из матки для серологического исследования. Фермеры и практикующие ветеринары должны приложить максимум усилий для исследования плаценты, поскольку часто именно по плацентарным тканям можно определить наличие инфекционных патогенных организмов.

Сохраняемые в формалине ткани для гистопатологического исследования включают мозг, легкие, сердце, печень, почки, надпочечники, селезенку, вилочковую железу, лимфатические узлы, мускулатуру, сычуг, тонкий кишечник, веки плода и плаценту.

Серологические исследования парных образцов сыворотки коровы, имевшей аборт, позволят определить наличие возбудителя, но не помогут провести дифференциацию между вакцинацией и естественным заражением (если не использовались вакцины-маркеры) или между текущим и предыдущим воздействием инфекции. Серология коровы обычно проводится при исследовании сыворотки не привитых коров, проверке нескольких животных в стаде и наличии истории болезни каждого животного.

Дополнительно должна предоставляться следующая информация.

- *Корова, имевшая аборт*: возраст, стадия продуктивности, продолжительность стельности, общие клинические симптомы, предшествующие

аборту, подробности содержания и ухода (в стойле или на выпасе), история вакцинации, лечебные мероприятия, проводимые за 1-2 недели до аборта (особенно введение фармакологических средств).

- *Стадо*: средний уровень абортов в стаде, последние случаи увеличения числа абортов, количество абортов на текущий период, план вакцинации стада, последнее медикаментозное лечение, режим кормления, смена рациона, недавние новые поступления в стадо.

Следует помнить о существовании риска зоонозных инфекций, связанных с патогенными организмами и вызывающих аборт у КРС, таких как бруцеллез, лептоспироз, листериоз, сальмонеллез и т. д. При сборе и транспортировке образцов следует принять соответствующие меры безопасности.

В таблице 15 приводятся основные симптомы абортов, вызванных инфекционными причинами, а также рекомендации по сбору основных образцов.

Таблица 15. Симптомы аборт, вызываемых основными инфекциями

Возбудитель	Процент абортов	Срок стельности	Повторяемость абортов	Патология плода	Образцы
Бактериальная инфекция					
<i>Brucella abortus</i> Бруцеллез Болезнь Банга Зоонозные инфекции	До 80% не вакцинированных животных, заболевших в 1-м или 2-м триместре.	6-9 месяцев, аборт или мертворождение в период от 2-х недель до 5-ти месяцев после заражения.	В большинстве случаев единственный аборт.	Задержание последа, котиледоны некротизированные, красно-желтые; межкотиледонная область утолщена. Теленок: нормальный или автолизированный, с бронхопневмонией.	Плацента, плод или выделения из матки. Диагностика: материнская серология, непрямой МФА на антитела в плаценте, бакпосев.
<i>Campylobacter fetus venerealis</i> Вибриоз	>10%	5-8 месяцев	Не распространен, выздоравливающие животные демонстрируют резистентность к инфекции.	Плацента: умеренный плацентит, кровоизлияния в котиледонах, отекая межкотиледонная область. Плод: свежий или автолизированный; умеренный фибринозный плеврит, перитонит, бронхопневмония	Плацента, содержание сычуга плода, вагинальные смывы. Диагностика: микроскопическое исследование, посев.
<i>C. fetus fetus</i> <i>C. jejuni</i>	Спорадические	4-9 месяцев	Не распространен, выздоравливающие животные демонстрируют резистентность к инфекции.	См. выше.	См. выше

Серовары <i>Leptospira interrogans</i> : <i>grippityphosa</i> , <i>potomana</i> , <i>hardjo</i> , <i>canicola</i> , <i>icterohaemorrhagiae</i> Зоонозные инфекции	5-40%	Последний триместр, аборт через 2-5 недель после инфицирования	Иммунитет к серотипу, вызывающему аборт, но восприимчивость к другим типам.	Плацента: диффузная плацента без сосудов, светло-коричневые котиледоны и отекая желтоватая межкотиледонная область. Плод: автолизированный.	Плацента, плод. Диагностика: непрямой МФА на антитела или ПЦР-анализ на лептоспироз.
<i>Arcanobacterium (Actinomyces) ruodenes</i>	Спорадические.	На любом сроке.	Неизвестно.	Плацента: эндометриты и диффузная плацента, цвет от красно-коричневого до коричневого. Плод: автолизированный, фибринозный перикардит, плеврит или перитонит.	Плацента, плод. Анализ бактериальной культуры из плаценты или содержимого сычуга
<i>Listeria monocytogenes</i> Зоонозные инфекции	Обычно спорадические, но могут достигать 50%.	Последний триместр.	Возможно излечение.	Мать: повышенная температура тела, отсутствие аппетита. Плацента: задержка. Плод: автолизированный, фибринозный полисерозит и белые очаги некроза в печени и/или котиледоне.	Плацента, плод. Анализ бактериальной культуры из плаценты или содержимого сычуга

Грибная инфекция					
<i>Aspergillus sp</i> (60-80%) <i>Mucor sp.</i> <i>Absidia</i> или <i>Rhizopus sp</i>	Обычно спорадические, но могут достигать 5-10%.	За 4 месяца до отела, чаще всего зимой.	Возможно излечение.	Плацента: жесткая, некротический плацентит, котиледоны увеличены, некротизированы, межкотиледонная область уплотнена, кожистая. Плод: автолизированный, ~30% имеют серую, будто пораженную червями кожу, особенно на голове и плечах.	Плацента, плод. Диагноз: высевание из содержимого желудка, плаценты и пораженной кожи.
Протоzoйные инфекции					
<i>Tritrichomonas foetus</i> Трихомониаз	Спорадические.	Первая половина стельности.	Иммунитет вырабатывается, но, по-видимому, не является пожизненным.	Плацента: задержка, умеренный плацентит с геморагическим поражением котиледона и уплотненной межкотиледонной областью, покрытой хлопьями экссудата. Плод: специфические поражения отсутствуют	Плацента, плод, выделения из влагалища/матки. Диагноз: анализ содержимого сычуга, плацентарной жидкости и выделений из матки

<i>Mesopora salitum</i> Неоспороз	Высокий процент при первой стельности и при поражении молодняка. До 30% при первой вспышке. Энзоотия: 5-10%	На любом сроке, чаще всего на 5-6-м месяце.	Вероятность снижается, но возможно повторение.	Плацента, плод: специфические поражения отсутствуют, аволия. Микроскоп: очаговый энцефалит с некрозом и негнойным воспалением, гепатит.	Плацента, плод (мозг, сердце, печень, жидкости тела), образцы сычуготки матери. Диагноз: определение антигенов в образцах мозга Иммунохимия в образцах тканей. Антитела-ПЦР, ИФА.
Вирусные инфекции					
Вирус бычьей вирусной диареи BVD-MD	Обычно низкая.	Серьезная патология. Аборты до 4-го месяца.	Не распространены, иммунитет вырабатывается.	Плацента: задержка, специфические поражения отсутствуют. Плод: специфические поражения отсутствуют, аволия, мумификация.	Плацента, плод предпочтительно — селезенка, сычуротка матери и др. коров из стада. Диагноз: посев, иммунологическое окрашивание, ПЦР или обнаружение прекопостальных антител у абортированных теллят.

2. Репродукция КРС

Вирус бычьего герпеса (ВНЧ) Вирус бычьего инфекционного ринотрахеита (IBRV) IBR IBR-IPV	От 5 до 60% у не привитых животных.	Возможно на любой стадии, но более распространено с 4-го месяца до срока отела.	Не распространены, иммунитет вырабатывается.	В большинстве случаев сильное поражение плаценты или плода отсутствует. Плацента: некротический васкулит. Плод: автотизированный, очаги некротического поражения печени.	Плацента, плод, образцы сыворотки матери. Диагноз: иммунохимия образцов почек и надпочечников, серология крови, ПЦР.
Вирус африканской катаральной лихорадки	Обычно низкий.	Различный.	Маловероятен.	Специфические поражения отсутствуют. Плод: автотизированный.	Плацента, плод, образцы сыворотки матери. Диагноз: выделение вируса.
Вирусный аборт КРС, аборт неопределенной этиологии, <i>Ornithodoros coriaceus</i>	Может достигать 75%. Очаг распространения — в основном Калифорния, США.	Обычно последний триместр.	Маловероятен.	Плацента: специфические поражения отсутствуют. Плод: увеличение печени, увеличение селезенки и увеличение лимфоузлов. Под микроскопом — вырванная лимфоидная гиперплазия в селезенке и лимфатических узлах и гранулематозное воспаление большинства органов.	Анамнез. Диагностика: повышенный Ig-G плода.

2. Репродукция КРС

Возбудители, не типичные или редкие для КРС					
Аборт, вызванный хламидией (<i>Chlamydia psittaci</i> , серотип 1). Вирусный аборт Зоонозные инфекции.	Спорадические.	К концу последнего триместра.	Маловероятен.	Плацента: плацентит, густой желто-коричневый экссудат на котиледонах и в межкотиледонной области. Плод: свежий, минимально выраженный автолиз, пневмония, гепатит.	Плацента, плод. Диагностика: высевание из легких, плаценты и/или содержимого сычуга.
<i>Ureaplasma diversum</i>	Обычно спорадические, но возможны вспышки.	Третий триместр	Возможен.	Плацента: задержка, межкотиледонная область уплотнена, негнойный плацентит. Плод: серьезные поражения отсутствуют, пневмония	Плацента, плод. Диагностика: высевание из плаценты, легких и/или содержимого сычуга
<i>Salmonella spp</i>	Обычно спорадические, но возможны вспышки	Любой срок	Возможен	Коровы: проявляют клинические признаки. Плацента и плод: саморазрушение и эмфизема.	Плацента, плод. Диагноз: высевание из содержимого сычуга и других тканей.
Прочие инфекции, которые вызывают аборт у КРС: вирус парагриппа 3 (PI3V), <i>Mycoplasma spp.</i> , <i>Histophilus somni</i> (<i>Haemophilus somni</i>), <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Pasteurella spp.</i> , <i>E. coli</i> , <i>Toxoplasma gondii</i>					

Неоспороз

Neospora caninum — это простейший паразит, близкородственный с *Toxoplasma gondii*, которые считаются основной причиной нарушений репродуктивной системы КРС по всему миру (Dubey, 2003; Hall и соавт., 2005; Dubey и соавт., 2007).

До настоящего времени носителями *Neospora caninum* считались собаки и койоты (Dijkstra и соавт., 2001; Gondim и соавт., 2004), хотя клинические формы неоспороза описывались у коров, овец, коз, оленей и лошадей (Dubey, 2003).

Коровы являются основным промежуточным переносчиком паразитов. Наличие антител к неоспорозу было обнаружено у множества видов, но у большинства из них последствия серопозитивности остаются не ясными: овцы (Dubey и соавт., 1990), козы (Dubey и соавт., 1992), буйволы (Fuij и соавт., 2001), лисы (Buxton и соавт., 1997), койоты (Lindsay и соавт., 1996), еноты (Lindsay и соавт., 2001), собаки динго (Barber и соавт., 1997), олени (Tiemann и соавт., 2005), ламы и альпаки (Wolf и соавт., 2005) и европейские бизоны (Cabau и соавт., 2005). В недавних публикациях Sedlak и Bartova (2006) отмечалось, что антитела к *N. caninum* были обнаружены у 31 из 556-ти животных зоопарка (5,6%), представляющих 18 из 114-ти протестированных видов: евразийский волк (*Canis lupus lupus*), гривистый волк, фенек, гепард, ягуар, евразийская рысь, индийский лев, пекан, гарна, европейский бизон, водяной козел, африканский буйвол, антилопа канна, ситатунга, беломордый олень, восточный лось, пятнистый олень, милу.

Последствия инфицирования стельной коровы будут зависеть от многочисленных факторов, включая срок стельности во время инфицирования и иммунный статус матери. Срок стельности, на котором наступило инфицирование/паразитемия, является основным фактором, определяющим тяжесть протекания болезни. Инфицирование неоспорами, произошедшее в первом триместре стельности, может иметь более серьезные последствия для плода, чем инфицирование в последнем триместре (Innes, 2007). Клинические последствия инфицирования во время стельности могут включать: аборт, рождение слабого теленка, иногда с неврологическими нарушениями, или рождение клинически здорового потомства, являющегося носителем заболевания (Innes и соавт., 2005).

Одним из наиболее интересных, но до сих пор не до конца ясных аспектов аборта КРС, вызванного неоспорой, является иммунологическая связь между носителем, его развивающимся плодом и паразитом. Иммунная система стельного животного, управляемая цитокинами, играет основную роль во время стельности, которая может рассматриваться как комплексный процесс, при котором мать должна поддерживать жизнеспособность

полу-аллогенного плода. Для упрощения течения стельности цитокиновая среда в плаценте выделяет цитокины Th-2-типа, роль которых состоит в противодействии провоспалительной иммунной реакции Th1-типа. Защитный иммунитет против *N. caninum*, как и против любого другого межклеточного паразита, включает иммунный ответ Th1-типа, что может представлять проблему для коровы, пытающейся контролировать инфекцию во время стельности (Innes, 2007). Чрезмерно бурная реакция Th1-типа может привести к потере стельности и, таким образом, стать одной из причин аборт, связанных с неоспорозом.

Аборт происходит в середине стельности, обычно между четвертым и шестым месяцем, при отсутствии клинических признаков. Абортированный плод обычно выходит без больших повреждений, плацента не задерживается. Мозг, сердце, печень, плацента и жидкости тела или сыворотка являются наилучшими образцами для диагностики, кроме того, точность диагностики повышается, если исследуются различные ткани. Поражение неоспорами обнаруживается в различных органах, наиболее часто поражаемый орган — мозг плода. Самым характерным признаком является очаговый энцефалит плода, характеризующийся некрозом и негнойным воспалением (Dubey, 2003; Dubey и соавт., 2007).

В стаде, инфицированном неоспорой, могут наблюдаться как эндемические, так и эпидемические случаи аборт. Наиболее важной особенностью является то, что паразиты присутствуют у самки постоянно, в виде хронической инфекции, которая может быть передана плоду во время стельности. Существует два способа передачи инфекции в стаде. Горизонтальный путь: жизненный цикл паразита включает двух хозяев, корова заражается при заглатывании ооцист простейшего, которые выделяются постоянным хозяином — собакой. Вертикальный путь: передача через плаценту и инфицирование плода, которое не всегда заканчивается аборт, и выживший плод становится постоянным носителем. У телок, зараженных подобным образом, во время стельности также может случиться аборт. В отличие от токсоплазмоза овец, коровы, имевшие аборт по причине заражения неоспорой, могут вынашивать и инфицировать телят и в последующие стельности.

Основные экономические потери, обусловленные неоспорозом, бывают связаны с нарушениями репродуктивной деятельности (аборт, мертворожденные телята, повторное осеменение, выбраковка животных по причине бесплодия). Опосредованные расходы включают стоимость ветеринарных услуг, оплату диагностики, а также расходы, связанные с заменой выбранных животных.

Существуют исследования, доказывающие, что продуктивность молока в сероположительных стадах ниже, чем в серонегативных (Hernandez и соавт., 2001; Romero и соавт., 2005).

Диагноз ставится на основе гистопатологии и иммуногистохимии абортированных плодов и серологии коровы или плода (непрямой МФА, ИФА, РПГА).

На сегодняшний день не существует доказательств передачи у КРС *N. caninum* половым путем. Исследования, описанные Serrano-Martinez и соавт. (2007) и Ferre и соавт. (2008), показали наличие ДНК *N. caninum* в семени и крови экспериментально зараженных быков. Наблюдение за ними позволило обнаружить постоянное наличие *N. caninum* в семени в незначительном количестве, что демонстрирует хроническую стадию инфекции. Однако эти простейшие не были обнаружены у мышей, оплодотворенных зараженным (положительный результат ПЦР) семенем, а у телок, осемененных образцами семени всех быков, отсутствовала сероконверсия. Возможные последствия передачи заболевания до сих пор остаются не изученными.

Несмотря на возможность индуцирования следующей ступени передачи *N. caninum* после экспериментального инфицирования макаки-резуса (Barr и соавт., 1994a), однозначные выводы о возможности поражения *N. caninum* человека по-прежнему не сделаны.

Методы борьбы с абортами, вызванными неоспорой, могут включать вакцинацию (Romero и соавт., 2004) и/или обследование и выбраковку, направленную на устранение из стада инфицированных животных (Hall и соавт., 2005). Однако оба этих способа ограничены в применении. Обследование и выбраковку, например, возможно применять только в том стаде, в котором случаи распространения заболевания редки. Тем не менее, любые меры, направленные на контроль неоспоры в стаде, должны устранять источники инфекции с целью недопущения контакта стельных животных с паразитами. Это включает выявление и удаление абортированных телят и последов, а также ограничения контакта с собаками и дикими собаками для коров, бывающих на выпасе.

Более подробная информация представлена на сайте www.neosporosis.com.

Влияние вируса ВД КРС во время осеменения на будущую оплодотворяемость КРС

У коров, пораженных вирусом ВД КРС в период до и после отела, могут проявиться различные болезненные симптомы, включающие подавление иммунитета, врожденную патологию, аборт и диарею с поражением слизистых оболочек. Согласно многочисленным исследованиям ВД является

наиболее распространенной причиной абортов у КРС. Патология ВД в развивающемся плоде является сложной. Инфицирование плода до 125-го дня стельности может стать причиной его гибели и аборта, рассасывания, мумификации, отклонений в развитии или иммунотолерантности плода и рождения животного-носителя. После 125-го дня стельности ВД либо становится причиной абортов, либо иммунная система плода уничтожает вирус. Существует все большая вероятность того, что влияние вируса ВД на репродуктивную систему не ограничивается только гибелью эмбриона с последующим абортom.

Снижение показателей оплодотворяемости у КРС с острой формой вирусом ВД доказано и является основной жалобой фермеров, в стадах в которых присутствует вирус (Houe и соавт., 1993; McGowan и соавт., 1993). Виремия, инициированная экспериментальным путем во время фолликулярной фазы, продемонстрировала 50%-ное снижение показателей стельности и снижение качества и количества эмбрионов, полученных после суперовуляции (McGowan и соавт., 1993; Kafi и соавт., 1997).

Морфологические изменения, инициированные вирусом ВД в ячниках КРС при острой инфекции

Ssentongo и соавт. (1980); Grooms и соавт. (1998) и McGowan и соавт. (2003) описали воспалительные изменения (лимфоцитарный оофорит) в тканях ячников, вызванные острой формой ВД КРС и виремией. Воспаление, упомянутое выше, было обнаружено как в фолликулах, так и в желтом теле инфицированных коров и явилось очевидной причиной функциональных нарушений, приводящих к ослаблению фолликулярной и лютеиновой функций и последующему бесплодию.

Функциональные последствия морфологических изменений в ячниках, вызванных вирусом ВД КРС

1. Нарушение роста фолликула

Grooms и соавт. (1998) отметили, что максимальный диаметр и скорость роста доминантного овулирующего и неовулирующего фолликулов были значительно снижены в течение двух циклов эструса, следующих за инфицированием серонегативных животных штаммом нецитопатогенного пестивируса КРС. Это было впоследствии подтверждено в работе Fraу и соавт. (1999; 2000; 2002), которые продемонстрировали, что у коров, зараженных ВД КРС, значительно нарушен рост фолликула, максимальный диаметр фолликула перед овуляцией существенно уменьшен и максимальный диаметр овуляторного фолликула в целом меньше по сравнению с неинфицированными животными.

Kafi и соавт. (1997) описали значительное снижение показателей овуляции суперовулирующих телок, зараженных нецитопатогенным пестивирусом КРС за 9 дней до искусственного осеменения.

2. Недостаточная выработка эстрадиола

Работа Fray и соавт. (1999; 2000, 2002) отчетливо продемонстрировала, что внеклеточная вирусемия во время осеменения оказывает ярко выраженное отрицательное воздействие на репродуктивную функцию как коров, так и телок. Различия в росте фолликулов инфицированных животных было вызвано недостаточной выработкой эстрадиола, низким общим уровнем эстрадиола и задержкой достижения пиковой концентрации перед овуляцией (Fray и соавт., 1999; 2002).

3. Задержка проявлений признаков половой охоты и задержка достижения пиковой концентрации ЛГ вследствие недостаточной выработки эстрадиола

Недостаточная выработка эстрадиола может, в свою очередь, объяснить задержку начала поведенческого эструса и слабое проявление признаков охоты, наблюдаемое Kafi и соавт. (1997) и McGowan и соавт. (2003) у телок, инфицированных ВД КРС. Более того, в серии этих экспериментов McGowan и соавт. (2003) наблюдали колеблющийся уровень ЛГ у инфицированных животных, из которых только у некоторых был нормальный предовуляторный выброс гормонов, а у остальных инфицированных животных обнаруживалась задержка или недостаточность пиковой концентрации ЛГ. Обследование эндокринной системы инфицированных телок в настоящем исследовании показало, что у большинства (83%) отсутствовала нормальная предовуляторная пиковая концентрация эстрадиола и ЛГ (McGowan и соавт., 2003). Это можно расценивать как прямой результат неадекватного роста фолликула и высвобождения количества эстрадиола, недостаточного для стимуляции выделения ЛГ. Задержанный и не достаточный предовуляторный выброс ЛГ может привести к задержке овуляции, что отрицательно скажется на качестве яйцеклетки и потенциале развития эмбриона.

Недостаточная выработка прогестерона, приводящая к ранней гибели эмбрионов

В экспериментах, описанных Fray и соавт. (1999; 2000; 2002) и McGowan и соавт. (2003), у коров и телок, имеющих внеклеточную вирусемию ко времени осеменения, была заметна задержка постовуляторного роста прогестерона, а также постоянный низкий уровень прогестерона между 3 и 11-м днем после овуляции.

Возможно, что сниженная концентрация прогестерона в плазме, наблюдаемая у животных, зараженных вирусом ВД КРС, оказывает влияние на оплодотворяемость, задерживая развитие эмбриона. Отсроченный и неадекватный предовуляторный пик ЛГ, наблюдаемый у коров и телок с вирусемией, может также вызывать задержки в развитии эмбриона и оказывать отрицательное влияние на его качество. Это, в свою очередь, может уменьшить способность эмбриона вырабатывать интерферон-т и предотвращать лютеолиз. Эти данные подтверждаются результатами крупномасштабных статистических анализов воздействия вируса ВД КРС на оплодотворяемость в молочном стаде в Британии: в стаде, характеризовавшемся наличием ВД КРС, коровы позже возвращались в эструс (свыше 21 дня), чем коровы из стада, в котором продолжительное время не наблюдалось инфекции (Robert и соавт., 2003).

Одним из основных средств уменьшения потерь, вызванных вирусом ВД КРС, является применение мер биологической безопасности, ограничивающих воздействие вируса на животных, вакцинация препаратами, предотвращающими внеклеточную вирусемию и заражение через плаценту.

2.4.9. Нежелательная стельность

Конечно, не следует допускать случайной случки молодых телок, но тем не менее это является обычной причиной нежелательной стельности. Животноводы, откармливающие молодых телок, также имеют основания для прерывания стельности. Цена стельной телки на бойне ниже и, в любом случае, эффективность кормов выше, если телка не является стельной. Примерно вплоть до 150-го дня стельности единственным источником прогестерона у стельного животного является желтое тело. Вызванный с помощью простагландинов лютеолиз приводит в результате к аборт. Если была замечена незапланированная случка, то простагландин можно ввести в виде инъекции через 10-16 дней или, в качестве альтернативы, назначить его только тем коровам, эструс у которых не наблюдается по истечении трех недель.

Между 100 и 150-м днем стельности действие простагландинов уменьшается более чем на 90%, поскольку некоторые случаи стельности меньше зависят от желтого тела. Таким образом, инъекция простагландина не гарантирует прерывания стельности. Важно провести диагностику стельности хотя бы через 10 дней после использования простагландина, и повторять инъекции до тех пор, пока у всех животных не произойдет аборт.

После 150-го дня стельности уже сама плацента вырабатывает достаточное количество прогестерона, чтобы поддерживать состояние стельности.

Сочетание 25 мг дексаметазона и доза простагландина F_{2α} обычно индуцирует аборт на любой стадии стельности. Однако Thomas (1991) сообщал о повышенном уровне смертности у телок на откорме при использовании комбинации дексаметазон/простагландин.

2.5. Стимуляция отела

Основными причинами принятия решения о необходимости стимуляции отела являются:

- ускорение отела с целью сокращения интервала между отелами или для уплотнения графика отелов;
- снижение частоты дистоции (патологических родов) путем предотвращения чрезмерного роста плода;
- прерывание аномальной стельности;
- ускорение даты отела у поздно оплодотворенных коров, если осеменение и продукция являются сезонными (например, в Новой Зеландии).

Для сохранения стельности у коров необходим определенный уровень прогестерона. Как уже упоминалось выше, в первые 150 дней стельности, а также в последние несколько дней перед отелом, основным источником прогестерона является желтое тело. В промежутке между этими периодами плацента вырабатывает прогестерон в достаточном для сохранения стельности количестве. Механизм родов запускается в результате повышенной выработки кортизола в организме плода. Как следствие, начинается усиление выработки плацентой эстрогена и простагландинов (PGF_{2α}). Желтое тело рассасывается, и уровень содержания прогестерона в плазме резко снижается. Исследования сосредоточены на использовании простагландинов, кортикостероидов или комбинации обоих соединений с целью стимуляции отела.

Кортикостероиды

Применение быстродействующего дексаметазона (Dexadreson[®]; 15 мл) незадолго до отела или во время него имитирует подъем выработки кортизола плодом и, тем самым, стимулирует процесс отела. Большинство коров телится в пределах 72 часов.

Если ставится задача стимулировать отел более чем за 7-10 дней до предполагаемой даты отела, то реакция может быть различной, и неудачная стимуляция имеет место довольно часто. Неудачу можно предотвратить путем начальной стимуляции животного с помощью препарата кортикостероида средней степени срока действия (Dexafort[®]; 10 мл). Примерно через неделю корове вводят быстродействующий дексаметазон (Dexadreson[®];

10-15 мл). Следует отметить, что 10-30% коров, подвергнутых начальной стимуляции, могут отелиться в течение одной недели.

Простагландины

Инъекция стандартной дозы простагландина F_{2α} в течение одной недели до предполагаемой даты отела также стимулирует отел, и большинство коров телится в пределах 48-ми часов. Сочетание кортикостероидов и простагландинов может оказаться предпочтительнее, поскольку последние требуются для созревания плода.

Опубликованные и полученные в полевых исследованиях сведения указывают на то, что стимуляция отела простагландинами (вне зависимости от используемого аналога) повышает частоту случаев задержки плодных оболочек. Необходимо знать точную дату осеменения для того, чтобы не вызвать преждевременные роды, которые значительно снизят жизнеспособность телят. Поэтому очень важно должным образом вести записи в журнале, равно как и уделять внимание санитарно-гигиеническим условиям во время отела.

2.6. Бык-производитель

Как правило, центры искусственного осеменения устанавливают высокие стандарты качества спермы. Для каждого быка должен быть предоставлен индекс фертильности или аналогичные данные, чтобы облегчить фермеру выбор того или иного быка. На фермах, практикующих случку, фертильность быка имеет особое значение для оплодотворяемости всего поголовья. Сниженная фертильность быка приводит к задержке оплодотворения, удлинению сервис-периода и даже к увеличению количества выбракованных животных. Настоятельно рекомендуется проводить ежегодную оценку каждого быка на предмет его пригодности к осеменению.

2.6.1. Оценка пригодности быка к осеменению

Стандарты оценки пригодности быка к осеменению предоставлены Обществом териогенологии (www.therio.org).

Следует помнить о том, что на сегодня не существует единого параметра или анализа, предсказывающего плодовитость быка с высокой точностью, поэтому при общей оценке пригодности быка к осеменению учитываются несколько критериев (Kastelic и Thundathil 2008). Окончательное решение принимается на основе физического состояния быка и базовой оценки семени.

Анализ потенциала плодовитости быка состоит из 4 элементов:

- общее обследование;
- обследование полового тракта;
- оценка спермы;
- оценка либидо.

Общее обследование

После проверки возраста быка и его идентификации особое внимание следует обратить на двигательный аппарат, когда животное стоит и двигается по твердой поверхности. При свободном содержании животных также очень важно обратить внимание на зрение.

Обследование полового тракта

Полное обследование должно включать осмотр пениса и мошонки, а также ректальную пальпацию. Пенис следует осмотреть и пальпировать. Однако некоторые дефекты, например, искривление пениса или недостаточная эрекция заметны только при случке.

Мошонку обследуют на предмет таких аномалий, как наличие грыжи, ожирение, значительная несоразмерность яичек, а также их размер и консистенция, которая должна быть плотной и упругой. Придатки яичка должны быть нормальными и иметь мягкий хвост. Мошонка должна быть хорошо развитой. Существует прямая взаимосвязь между окружностью мошонки (достигающей максимума в возрасте 4-6-ти лет) и выработкой спермы.

Ректальное обследование включает пальпацию уретры, простаты, семенных пузырьков, ампул, семявыносящих протоков и внутренних паховых колец. Наиболее частой аномалией является везикулит семенных пузырьков, этиология и патогенез которого остается неизвестным. Были выделены такие патогены, как *A. pyogenes*, *B. abortus*, *E. coli*, *Streptococcus spp.* и другие. Реакция на длительное лечение сильно варьируется и не является стабильной.

Оценка спермы

У большинства быков эякуляцию можно вызвать с помощью электроэякулятора, который является простым и безопасным методом, обеспечивающим сбор спермы. У некоторых быков эякуляция не наступает или происходит выделение «водянистой» жидкости из уретры. В таких случаях применение искусственной вагины будет более эффективным. Общая подвижность сперматозоидов оценивается при температуре 37 °С путем помещения крупной капли спермы на предварительно подогретое предметное стекло микроскопа для осмотра при малом увеличении. Общая подвижность оце-

нивается по шкале: 1) быстрые энергичные волны, 2) замедленные волны, 3) волны отсутствуют, но отмечается общее колебание, 4) редкие колебания. Поскольку общая подвижность также зависит от плотности спермы, более точная оценка подвижности сперматозоидов может быть дана при помощи фазово-контрастного микроскопа.

Оценка спермы под микроскопом с небольшим увеличением позволяет выявить грубые аномалии, но вряд ли даст информацию о более сложных отклонениях подвижности, которые также могут влиять на фертильность обследуемого быка. Компьютерный анализ семени (CASA) намного более объективен и позволяет измерить специфические характеристики подвижности, связанные с функциональным статусом сперматозоидов.

Морфологию сперматозоидов можно оценить при увеличении 1000х, используя свежую сперму, окрашенную эозин-нигрозином.

Решение о пригодности быка к осеменению принимается при минимум 30% подвижности и 70% морфологически нормальной спермы.

Оценка либидо

Простым тестом на либидо является 10-15-минутный запуск быка в загон, в котором находятся коровы или телки в эструсе. Если быку удастся сделать одну или более садок, то нарушения либидо маловероятны. Если быку не удастся сделать садку, следует провести новое тестирование. Неудача в двух тестах дает серьезные основания для сомнений в либидо быка (Petrunkina и соавт., 2007; Kastelic и Thundathil 2008).

Проводится анализ некоторых новейших методов, основанных на молекулярной биологии и взаимодействии половых клеток. Исследования направлены на дальнейшее применение таких методов для оценки фертильности у быков (Petrunkina и соавт., 2007; Kastelic и Thundathil, 2008).

2.6.2. Бесплодие

Бесплодие быка может быть связано с неуспешной садкой, неспособностью ввести пенис во влагалище или неспособностью к оплодотворению. Диагноз, как правило, может быть поставлен после тщательного обследования в соответствии с приведенными выше указаниями. Гораздо труднее выявить фертильность, находящуюся на уровне ниже оптимальной. Инфекции яичка обычно влекут за собой очень неблагоприятный прогноз. Дегенерация яичек может быть вызвана стрессом, токсинами, недостаточным питанием или недостатком тепла. Диагностика часто основывается на обследовании спермы, а степень выздоровления может сильно варьироваться. У некоторых быков состояние спермы может вернуться в норму в пределах восьми

недель, тогда как у других этот процесс может занять до шести месяцев, после чего необходимо провести анализ спермы.

Гормональное лечение бесплодных быков имеет ограниченную ценность. ГСЖК действует подобно ФСГ и стимулирует сперматогенез. Благодаря своей активности как ЛГ ХГЧ стимулирует выработку тестостерона. ГнРГ может индуцировать кратковременный подъем уровней ФСГ и ЛГ. Для постановки правильного диагноза полезно провести клиническое обследование и ознакомление с подробной историей случая. Только после этого следует принимать решение относительно специального лечения или изменений условий содержания быка (включая его отдых).

Различные патогенные микроорганизмы также могут стать причиной бесплодия быка или передачи инфекции через его семя (Givens и соавт., 2006; 2008). Некоторые из них могут оказывать воздействие на плодovitость быка напрямую, вызывая заболевания репродуктивного тракта или сперматозоидов и снижая фертильность. Вирусными патогенными организмами, которые могут ухудшить качество спермы и/или оказать воздействие на репродуктивный тракт быка, являются: герпесвирус КРС 1 (агент инфекционного ринотрахеита КРС), ВД КРС. Среди других вирусов, которые передаются через семя: ящур, вирус везикулярного стоматита, вирус чумы и вирус дерматоза. Риск передачи вируса иммунодефицита КРС и вируса лейкоза КРС через семя крайне низок. Вирус африканской лихорадки может быть обнаружен в семени быков с вирусемией и может привести к передаче венерических инфекций.

Tritrichomonas foetus и *Campylobacter fetus venerealis* передаются половым путем; они не вызывают заболевания у быка, но могут сохраняться в замороженном семени, поэтому чрезвычайно важно, чтобы быки, используемые для осеменения, особенно естественного осеменения, постоянно проверялись на наличие этих организмов. Среди других микроорганизмов, которые сохраняются в семени и могут вызывать бесплодие или передавать инфекции: *Brucella abortus*, *Leptospira spp.*, *Histophilus somnus*, *Ureaplasma diversum*, *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis*, *Chlamydia*, *Mycobacterium bovis*, *Coxiella burnetii*, and *Mycoplasma mycoides ssp. Mycoides*.

Всемирная организация здравоохранения животных установила стандарты контроля заболеваний, связанных с выработкой семени. Быков, содержащихся в центрах по сбору семени и искусственному осеменению, необходимо ежегодно проверять на наличие бруцеллеза, туберкулеза ВД КРС, *T. foetus*, *C. foetus* и герпесвируса КРС 1. Предкарантинная и карантинная проверка должна подтвердить, что бык не является носителем бруцеллеза, туберкулеза, ВД КРС, а также герпесвируса КРС 1. Кроме того, сертифицированные службы осеменения требуют, чтобы быки были проверены на наличие лептоспироза.

2.7. Пересадка эмбриона

Применение искусственного осеменения помогает быстро достичь улучшения генофонда поголовья, что делает возможным более эффективное использование производителей высшего качества. Максимально возможная продуктивность коровы заключается в рождении одного теленка в год. Методики множественной овуляции и пересадки эмбриона повышают репродуктивный потенциал коров-производителей и, тем самым, увеличивают значимость последних в разведении КРС.

Некоторые основания для пересадки эмбриона:

- получение большего количества телят от ценной высокопродуктивной коровы;
- улучшение генофонда поголовья;
- упрощение международной перевозки животных;
- предотвращение связанных с акклиматизацией проблем при экспорте КРС в тропические регионы;
- (международные) программы разведения быков-производителей;
- индукция многоплодной стельности;
- получение мясных телят чистой линии из группы молочного поголовья более низкого качества;
- получение потомства от коров, имеющих нарушение фертильности.

Традиционные технологии пересадки эмбриона дают сегодня довольно стабильные результаты, и многие практикующие ветеринары имеют подобный опыт в течение 20-ти и более лет (Scherzer и соавт., 2008). Точные размеры данной индустрии определить сложно. В 2003 году было пересажено более полумиллиона эмбрионов, 40% из них — после заморозки и оттаивания и 18% — выращенных *in vitro* (Betteridge и соавт., 2006). Северная Америка по-прежнему занимает лидирующее положение (45% пересадок), а Европа и Южная Америка — по 20% за 2003 г. Недавно такие страны, как Бразилия и Китай, заняли передовые позиции по производству эмбрионов КРС. Выращивание эмбрионов в лабораторных условиях является на сегодня хорошо организованной и достаточно выгодной процедурой. Более 100 тыс. эмбрионов, выращенных подобным образом, были пересажены в 2003 году, почти 60% из них — в Южной Америке.

В 2005 году (последний год, по которому у нас имеются данные) число пересаженных эмбрионов, полученных естественным путем или выращенных *in vitro*, продолжает увеличиваться. Однако из более чем 600 тыс. эмбрионов *in vivo*, пересаженных по всему миру, приблизительно половина были свежими и половина замороженными. По контрасту, около 260 тыс. лабораторных

эмбрионов было пересажено таким же способом, большинство из них (около 70%) — свежими.

Подробное пошаговое описание производства и пересадки эмбриона было опубликовано Mapletoft и Hasler (2005) и Sirard и Coenen (2006).

Для пересадки могут использоваться эмбрионы двух видов.

- *Эмбрионы, выращенные в естественных условиях и изъятые из репродуктивного тракта коровы-донора*

Это эмбрионы с известным генетическим потенциалом и известным анамнезом предков, что дает оптимальную возможность для быстрого улучшения генетики в стаде. Однако возможности данного способа относительно ограничены, что связано с такими факторами, как показатели овуляции после инициированной фармакологическим способом суперовуляции донора, показатели оплодотворяемости и показатели сохранения эмбриона. Такие эмбрионы могут быть пересажены напрямую реципиенту с синхронизованным циклом или заморожены и сохранены в жидком азоте для дальнейшего использования.

- *Эмбрионы, полученные путем созревания и оплодотворения яйцеклетки in vitro*

Такие эмбрионы могут быть получены или из яйцеклетки, взятой у известного отобранного донора, с помощью выращивания предовуляторного фолликула (так называемая процедура захвата яйцеклетки) или после созревания in vitro незрелой яйцеклетки, полученной из яичников животных с бойни. Последний вариант, будучи наиболее продуктивным, создает, однако, определенные проблемы, такие как (обычно) неизвестный генетический статус коровы-донора и состояние ее здоровья.

Общеизвестно, что эмбрион, полученный в естественных условиях, обладает лучшими качествами по сравнению с созревшим и выращенным в лабораторных условиях. Несмотря на хорошие показатели созревания ядра, способности яйцеклетки к росту и развитию различны. Одной из причин такой вариативности могут быть внутренние свойства клетки, полученной из яичника. Более того, одним из негативных последствий пересадки эмбриона и переносе ядра соматической клетки у КРС и других видов является то, что эмбрионы, плод, плацента и потомство могут значительно отличаться по морфологическим признаками и потенциалу развития от эмбрионов, полученных в естественных условиях (Farin и соавт., 2004; 2006; Lonergan и Farin 2008). В целом такие отклонения называются «гигантизм потомства» или «гигантизм телят». Поскольку современные диагностические возможности выявления возможных аномалий у эмбрионов, полученных в лабораторных условиях, ограничены, требуется проведение дополнительных исследований

для оценки физиологической основы и определения будущих профилактических мер.

Созревание яйцеклетки в лабораторных условиях и техника культивирования эмбриона связана с процессом клонирования и облегчения осеменения трансгенных коров для производства ценного фармацевтического белка в молоке. Клонирование взрослой коровы путем пересадки ядра и производство клонированной трансгенной коровы уже были осуществлены технически. Однако это дорогая и недостаточно развитая на сегодня технология, которая может пока применяться только исследовательскими сообществами и фармацевтической промышленностью (Mapletoft и Hasler 2007; Galli и Mazzari 2008). В лабораторных условиях оплодотворение путем итро-цитоплазмической инъекции спермы, которая является такой многообещающей при использовании для человека, возможно даже с использованием сухого замороженного семени, но еще не широко распространено. Несколько лабораторий сообщили о весьма скромных успехах при получении стельности в результате имплантации эмбрионов, выращенных in vitro на основе яйцеклеток, взятых у телок. Такой подход, возможно, позволит увеличить процент генетических улучшений путем уменьшения интервала между поколениями.

Международное общество пересадки эмбрионов одобрило серию определенных процедур, особенно касающихся зооанатомии и эпидемиологических аспектов, для производства и пересадки эмбрионов. Инфекции, такие как ВД КРС и ринотрахеит КРС, могут передаваться через эмбрион, поэтому требуется утверждение определенных процедур, гарантирующих, что эмбрион свободен от данных патогенов. Подробный отчет, предоставленный Givens и соавт. (2008b), обобщает современные рекомендации, касающиеся здоровья КРС при пересадке эмбриона, призывая исследователей развивать и уделять внимание аспектам биобезопасности. Большинство систем коммерческого производства эмбрионов используют культуральную среду, дополненную различными питательными элементами животного происхождения. Также применяются различные профилактические меры (сканирование источника, предварительная обработка при высокой температуре и добавка антибиотиков). Такие системы увеличивают риски для здоровья, особенно эмбрионов, выращенных в лабораторных условиях (Givens и соавт., 2008). Система, основанная на определенных компонентах, свободных от клеточных составляющих, или элементов, полученных из крови, была бы идеальной с точки зрения здоровья и качества. Более того, определенные химические условия без сыворотки и сывороточных белков могут позволить осуществлять точное наблюдение за ростом или другими факторами развития эмбриона в любой данной среде.

Доступны отчеты, описывающие использование среды, в которой каждый компонент полностью или наполовину определен химически (Feugang и соавт., 2009).

2.7.1. Подготовка коровы-донора

В естественных условиях у коровы обычно происходит одна овуляция за один половой цикл. Гонадотропная стимуляция яичников может индуцировать множественную овуляцию (суперовуляция). Хотя техника пересадки эмбриона широко применяется во всем мире, разнообразие реакции на суперстимуляцию остается важным ограничением. Разнообразие реакции яичников связывается с различиями в лечении суперовуляции, таких как подготовка ГнРГ, партия и общая доза, продолжительность и время лечения, использование дополнительных гормонов, а также индивидуальные особенности животных.

Недавние программы, созданные для регулирования фолликулярной волны и овуляции, все же не способны полностью устранить вариативность реакции на суперовуляцию. Однако эти программы оказали положительное воздействие на применение коммерческих пересадок эмбриона, позволяя начать лечение в заранее запланированное время. Более того, программы, направленные на точную синхронизацию овуляции, позволяют осеменять коров в запланированное время, устраняя необходимость выявления признаков охоты во время программы суперстимуляции.

Согласно данным, полученным в ходе УЗИ, вторая фолликулярная волна происходит у коров, имеющих двух- трехволновой цикл примерно на 8-12-й день после эструса (7-11-й день после овуляции). В это время когорты растущих фолликулов доступна для множественной стимуляции. Однако доказано, что суперовуляторная реакция более эффективна, если лечение гонадотропином инициируется в начале фолликулярной волны, а не позднее.

Для инициирования суперовуляции у КРС используются три различных типа гонадотропинов: ГнРГ из вытяжки гипофиза свиней или других домашних животных (ФСГ); лошадиный хорионический гонадотропин (eCG)/ГСЖК; человеческий менопаузальный гонадотропин (МГЧ). На сегодняшний день наиболее широко в промышленной пересадке эмбрионов для получения суперовуляции применяется ГСЖК и ФСГ. Оба вводятся в середине лютеиновой фазы обычно синхронизованного полового цикла, поскольку было доказано, что суперовуляция более эффективна, если лечение гонадотропином начать точно во время фолликулярной волны, а не позже. Поэтому обычно для коров с нормальным циклом применяется лечение, направленное на регулирование времени фолликулярной волны.

ФСГ

Существуют природные препараты ФСГ, получаемые от свиней и овец. Поскольку у ФСГ относительно короткий период полувыведения, обычно его применяют два раза в день. Как правило, дважды в течение 4-5 дней вводится 400 мг ФСГ (например, Follitropin®-V). PGF_{2α} вводится с целью индукции лютеолиза 48 или 72 часа спустя после начала лечения. Эструс наступает через 36-48 часов после инъекции простагландина, а овуляция — на 24-36 часов позже.

ГСЖК/eCG

ГСЖК, сывороточный гонадотропин жеребых кобыл (Folligon®), имеет длительный период полувыведения (40 часов) и присутствует в организме животного до 10 дней, поэтому достаточно одной инъекции этого препарата. Рекомендуемая дозировка — от 1500 до 3000 ед., наиболее часто применяемая — 2500 ед. Через 48 часов после инъекции ГСЖК применение простагландина приводит к рассасыванию желтого тела. Donaldson (1983) сообщил о большей лютеолитической эффективности двух-трех инъекций природного PGF_{2α}, но при использовании его аналогов достаточно одной инъекции. Длительное стимулирующее воздействие большими дозами ГСЖК может оказать отрицательное влияние на овуляцию и вызвать образование второй фолликулярной волны.

Факторы, влияющие на изъятие и пересадку эмбрионов в молочном стаде, были описаны Chebel и соавт. (2008).

Со стороны животных

- Стадия цикла. Лучшие результаты возможны, если суперовуляция инициируется в середине лютеиновой фазы (9-13-й дни цикла).
- Фолликулярный статус на момент суперовуляции. Присутствие большого доминантного фолликула на момент суперовуляции оказывает отрицательное воздействие на реакцию (Guilbault и соавт., 1991).
- Общее состояние здоровья и упитанность.
- Фаза лактации.

С точки зрения управления и содержания

- Общее управление животными (отсутствие стресса, адекватное содержание).
- Внешняя температура и относительная влажность среды содержания.

С точки зрения процедуры

- Выбранная программа синхронизации и индукции (тип программы и соответствие).
- Семя/осеменение. Использование высококачественного семени во время осеменения через 12-24 часа после начала скрытой половой охоты. Повторное осеменение не улучшает показатели оплодотворяемости. Существуют различия между быками.
- Пересадка эмбриона и техника пересадки.

Использование прогестагенов, таких как Crestar[®], позволяет точно синхронизировать эструс доноров эмбрионов и яйцеклеток. Дополнительные преимущества дает использование прогестагенов, того же качества, что и яйцеклетка/эмбрион, и возможность использования запланированного осеменения. Основная программа синхронизации на основе Crestar[®] может быть объединена с одиночной инъекцией ГСЖК (Folligon[®]) или последующими инъекциями ФСГ (Folltropin V[®]), для индукции суперовуляции.

2.7.2. Подготовка коровы реципиента

Ввиду большой вариативности сохранения эмбриона обычно выясняется, что подготовлено слишком мало или слишком много животных. Оставшиеся эмбрионы могут быть заморожены и сохранены в жидком азоте, но для заморозки отбираются только эмбрионы высокого качества. Их можно пересадить в течение нормального полового цикла или, что более практично, в ходе контролируемого цикла, поскольку различий в уровне стельности не отмечается.

В начале эструса аналог ГнРГ (Receptal[®], Fertagy[®], 2,5 мл) может использоваться для индуцирования и завершения овуляции у коровы-реципиента в состоянии эструса, синхронизированного с помощью аналогов простагландина. Лучших результатов можно ожидать при более точном определении времени овуляции и лучшим развитии желтого тела, а также при наличии избытка коров-реципиентов.

Среди факторов, оказывающих влияние на успех пересадки эмбрионов у реципиентов (оцененных по показателям стельности/отелов), важнейшими являются следующие (Peterson и Lee 2003; Looney и соавт., 2006; Vasconcelos и соавт., 2006):

- качество эмбриона и соответствующая техника пересадки;
- выбранное время пересадки по отношению к половому циклу реципиента;

- адекватная концентрация прогестерона в организме реципиента во время пересадки (часто связанная с выработкой молока);
- управление факторами, вызывающими стресс, в том числе тепловым стрессом (управление, кормление, содержание и т. д.).

Даже при пересадке эмбрионов только высокого качества показатели стельности среди реципиентов могут значительно отличаться. McMillan (1998) разработал модель, позволяющую показать вклад донора и реципиента в выживаемость пересаженного эмбриона в течение первых 60-ти дней стельности. Эта модель демонстрирует, что существуют различия в способности реципиента выносить стельность (качество реципиента) до необходимого срока, а также в способности эмбриона выжить и развиваться, что и придает вариативность. Достаточно интересно, что качество реципиента не имеет решающего значения при потере стельности до 60-го дня. Модель, предложенная McMillan (1998), позволяет предположить, что в стаде могут быть постоянные реципиенты, и на практике многие ветеринары предпочитают выявлять таких животных и использовать их повторно, чтобы ввести в стадо нужный генетический материал.

2.8. Использование сексированного семени для осеменения

Использование сексированного семени позволяет производителям молока отбирать из своего стада и производить ремонтных телок с прекрасной генетикой.

Современные технологии сортировки X и Y-хромосом-несущей спермы требуют индивидуальной идентификации и отбора сперматозоидов в высокоскоростном проточном цитометре (обзор Seidel 2007; Garner и Seidel 2008).

Потребность в телках стремительно растет, что повышает спрос на сексированное семя от быков, имеющих большую генетическую ценность. Успех этой технологии зависит в основном от оплодотворяющей способности сортированных сперматозоидов, поскольку это основной фактор, который, таким образом, является наиболее экономически целесообразным.

На сегодняшний день оплодотворяемость различна и зависит от обработки семени после сортировки. Новая техника обработки разрабатывается и, возможно, она повысит уровень оплодотворяемости при использовании сексированного семени. Отбор наиболее подходящих быков и испытания отобранных образцов принятым способом являются очень важными для достижения успеха.

Возможность повреждения ДНК во время сортировки, приводящая к отклонениям в развитии эмбриона/плода, заставляет поставить под вопрос широкое применение сексированного семени у КРС. Однако процедура сортировки семени показала себя достаточно безопасной для генетического материала спермы. Более того, крупномасштабные исследования не обнаружили увеличения числа абортных или проблем с продолжительностью периода стельности, гибели новорожденных, затруднений при отеле, изменений в весе новорожденного, мертворождения при использовании сексированного семени для осеменения по сравнению с несексированным семенем. Таким образом, генетическое повреждение спермы во время сортировки является минимальным, если оно вообще существует.

Предлагаемое на рынке сексированное семя часто используется прежде всего для телок, поскольку у них выше вероятность оплодотворения, а количество сексированного семени ограничено. Показатели оплодотворяемости, полученные в молочном стаде колеблются, как сообщается, от 30 до 70% при среднем уровне оплодотворяемости в стаде и факторах управления, оказывающих большое влияние на результаты искусственного осеменения (Garner и Seidel 2008).

2.9. Многоплодная стельность

У молочных коров рождение двоен ассоциируется с повышенной смертностью телят, задержанием последа, увеличенным интервалом от отела до нового зачатия, а также снижением выработки молока. Если контролировать эти проблемы посредством применения тщательно продуманных организационных мер, то индукция многоплодной стельности может быть экономически выгодной. У мясного скота, для которого продуктивность по молоку не является основным источником прибыли, многоплодная стельность имеет свои преимущества.

Использование гонадотропинов для индукции «мягкой суперовуляции» не только повышает количество близнецов, но также приводит в некоторых случаях к рождению трех и даже четырех телят. Пересадка двух эмбрионов или по одному эмбриону осемененным коровам-реципиентам увеличивает общее количество рожденных телят, а также долю (40-60%) многоплодных стельностей. В таком случае экономическая эффективность методики в значительной степени зависит от стоимости эмбриона по отношению к цене теленка.

2.10. Дополнительная литература

1. **Al-Katanani YM., Paula-Lopes FF., Hansesn PJ.** Effects of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *J Dairy Sci* 2002;85:390-396
2. **Almier M., De Rosa G., Grasso F., Napolitana F., Bordi A.** Effect of climate on the response of three oestrus synchronisation techniques in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2002;71:157-168
3. **Ambrose JD., Schmitt EJP., Lopes FL., Mattos RC., and Thatcher WW.** Ovarian and endocrine responses associated with the treatment of cystic ovarian follicles in dairy cows with gonadotropin releasing hormone and prostaglandin F2a, with or without exogenous progesterone. *Can Vet J.* 2004 ; 45: 931-937.
4. **Ambrose JD., Kastelic JP., Rajamahendran R., Aali M., Dinn N.** Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology* 2005;64:1457-1474.
5. **Ambrose DJ., Radke B., Pitney PA., Goonewardene LA.** Evaluation of early conception factor lateral flow test to determine nonpregnancy in dairy cattle. *Can Vet J* 2007;48:831-835
6. **Anderson ML., Blanchard PC., Barr BC., Dubey JP., Hoffman RL., Conrad PA.** Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in california dairy cattle. *J. Am Vet Med Assoc* 1991; 198: 241-244
7. **Anderson ML., Andrianarivo AG., Conrad PA.** Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 417-431
8. **Anderson ML.** Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology* 2007;68: 474-486
9. **Arbel R., Bigun Y., Ezra E., Sturman H., Hojman D.** The Effect of Extended Calving Intervals in High Lactating Cows on Milk Production and Profitability. *J Dairy Sci* 2001; 84:600-608
10. **Arechiga CF., Staples CR., McDowell LR and Hansen PJ.** Effects of timed insemination and supplemental l3-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. *J Dairy Sci* 1998;81:390-402
11. **Armstrong DV.** Heat stress interaction with shade and cooling. *J Dairy Sci* 1994;77:2044-2050
12. **Aroyo A., Yavin S., Arav A., Roth Z.** Hindering of cleavage timing in bovine parthenotes during the hot season. *Reprod Fertil Dev* 2007;19:203, Abstract 173
13. **Ayad A., Sousa NM., Sulon J., Hornick JL., Iguer-Ouada M., Beckers JF.** Correlation of five radioimmunoassay systems for measurement of bovine

- plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations at early pregnancy period. *Res Vet Sci* 2009 (в печати)
14. **Barber JS., Gasser RB., Ellis J., Reichel MP., MacMillan D., Trees AJ.** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. *J Parasitol* 1997;83:1056-1058
 15. **Barlund CS., Carruthers TD., Waldner CL., Palmer CW.** A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 2008; 69:714-723
 16. **Barr BC., Conrad PA., Sverlow KW., Tarantal AF., Hendrickx AG.** Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. *Lab. Invest.* 1994; 71:236-242.
 17. **Bartolome JA., Archbald LF., Morresey P., и соавт.** Comparison of synchronization of ovulation and induction of estrus as therapeutic strategies for bovine ovarian cysts in the dairy cow. *Theriogenology*. 2000;53:815-825
 18. **Bartolome J A., Silvestre FT., Artechе ACM., Kamimura S., Archbald LF., and Thatcher WW.** The use of Ovsynch and Heatsynch forre-synchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography. *J. Dairy Sci.*2002;85 (Suppl. 1):99. (Abstr.)
 19. **Bartolome JA., Santos JEP., Pancarci SM., Melendez P., Artechе и соавт.** Induction of ovulation in non lactating dairy cows and heifers using different doses of a desloreline implant. *Theriogenology* 2004;61:407-19
 20. **Bartolome JA., Silvestre FT., Kamimura S., Artechе ACM и соавт.** Resynchronisation of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows I: use of Ovsynch and Heatsynch protocols after non-pregnancy diagnosis by ultrasonography. *Theriogenology* 2005a;63:1617-1627
 21. **Bartolome JA., Sozzi A., McHale J., Melendez P., Artechе ACM., Silvestre FT., Kelbert D., Swift K., Archbald LF., Thatcher WW.** Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows, II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology* 2005b;63:1628-1642
 22. **Bartolome JA., Sozzi A., McHale J., Swift K., Kelbert D., Archbald LF., Thatcher WW.** Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows III. Administration of GnRH 23 days post AI and ultrasonography for nonpregnancy diagnosis on day 30. *Theriogenology* 2005c;63: 1643-1658
 23. **Bartolome JA., Thatcher WW., Melendez P., Risco CA., Archbald LF.** Strategies for the diagnosis and treatment of ovarian cysts in dairy cattle. *JAVMA* 2005d;227:1409-1414
 24. **Bech-Sabat G., Lopez-Gatius F., Garcia-Ispuerto I., Santolaria JP., Serrano B., Nogareda C., Sousa, de NM., Beckers JF., Yaniz J.** Pregnancy

- patterns during the early fetal period in high producing dairy cows treated with GnRH or progesterone. *Theriogenology* 2009; 71:920-929
25. **Berisha B., Schams D.** Ovarian function in ruminants. *Domest Anim Endocrinol* 2005;29:305-317
 26. **Betteridge KJ.** Farm animal embryo technologies: Achievements and perspectives. *Theriogenology* 2006; 65: 905-913
 27. **Binelli M., Thatcher WW., Mattos R., Baruselli PS.** Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 2001;56:1451-1463
 28. **Bloch A., Folman Y., Kaim M., Roth Z., Braw-Tal R., Wolfenson D.** Endocrine Alterations Associated with Extended Time Interval Between Estrus and Ovulation in High-Yield Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2006; 89:4694-4702
 29. **Bonnet BN., Martin SW., Meek AH.** Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of post partum dairy cows. *Prev Vet Med* 1993;15:205-20
 30. **Breuel KF., Spitzer JC., Henricks DM.** Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotroin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *J Anim Sci* 1989;67:1564-1572
 31. **Bridges PJ., Brusie MA., Fortune JE.** Elevated temperature (heat stress) in vitro reduces androstenedione and estradiol and increases progesterone secretion by follicular cells from bovine dominant follicles. *Dom Anim Endocrinol* 2005;29:508-522
 32. **Brito LF., Silva AE., Barbosa RT.** Testicular thermoregulation in Зёбы, cross-bred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology* 2004;61:511-528
 33. **Britt JH., Harrison DS., and Morrow DA.** Frequency of ovarian follicular cysts, reasons for culling and fertility in Holstein-Friesian cows following postpartum treatment with gonadotrophin releasing hormone at two weeks after parturition. *Am J Vet Res* 1977;50:749-51.
 34. **Bucklin RA., Turner LW., Beede DK., Bray DR., Hemken RW.** Methods to relieve heat stress for dairy cows in hot, humid climates. *Appl Eng Agric* 1991;7:241-247
 35. **Burton NR., Lean IJ.** Investigation by meta-analysis of the effect of prostaglandin administered post partum on the reproductive performance of dairy cattle. *Vet Rec* 1995;136:90-4
 36. **Butler J E., Hamilton WC., Sasser RG., Ruder CA., Hass GM, and R. J. Williams.** Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol Reprod* 1982; 26:925-933.
 37. **Buttler WR., Calaman JJ., Beam SW.** Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J Anim Sci* 1996;74:858-865

38. **Butler WR.** Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61:449-457
39. **Buxton D., Maley SW., Pastoret PP., Brochier B., Innes EA.** Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Vet Rec* 1997;141:308-309
40. **Cabaj W., Moskwa B., Pastusiak K., Gill J.** Antibodies to *Neospora caninum* in the blood of European bison (*Bison bonasus bonasus* L) living in Poland. *Vet Parasitol* 2005;128:163-168
41. **Calder MD., Salfen BE., Bao B., Youngquist RS., Garverick HA.** Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth. *J Anim Sci.* 1999;77:3037-3042
42. **Cambell MH., Miller JK.** Effect of supplemental dietary Vitamin E and zinc on reproductive performance of dairy cows and heifers fed excess iron. *J Dairy Sci* 1998;81:2693-9
43. **Cartmil JA., Hensley BA., El-Zarkouny SZ., Rezell TG., Smith JF., Stevenson JS.** An alternative AI-breeding protocol during summer heat stress. *J Dairy Sci* 1999;82:48 (abstr).
44. **Cartmill JA., El-Zarkouny SZ., Hensley BA., Lamb GC., and Stevenson JS.** Stage of cycle, incidence and timing of ovulation and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J. Dairy Sci.* 2001;84:1051-1059
45. **Cavalieri J., Hepworth G., Fitzpatrick LA., Shaphard RW., Macmillan KL.** Manipulation and control of the oestrous cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology* 2006;65:45-64
46. **Cavalieri J., Smart VM., Hepworth G., Ryan M., Macmillan KL.** Ovarian follicular development and hormone concentrations in inseminated dairy cows with resynchronized estrous cycles *Theriogenology* 2008;70: 946-955
47. **Cerri RLA., Rutigliano HM., Bruno RGS., Santos JEP.** Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Anim Reprod Sci* 2009;110:56-70
48. **Chagas e Silva J., Diniz P., Lopes da Costa L.** Accessory corpora lutea induced by hCG treatment enhance survival of half embryos in high yielding lactating dairy cows. *Proceedings of the 16th ICAR, Budapest* 2008;
49. **Chebel RC., Demetrio DGB., Metzger J.** Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology* 2008;69:98-106
50. **Colazo MG., Ree TO., Emmanuel DGV., Abrose DJ.** Plasnam luteinizing hormone concentrations in cows given repeated treatments or three different doses of gonadotropin releasing hormone. *Theriogenology* 2009;71:984-992
51. **Coleman DA., Bartol FF., Spencer TE., Floyd JG., Wolfe DF., and Brendemuehl JP.** Effects of a potent GnRH agonist and hormonal profiles,

- synchronization of estrus and fertility in beef cattle. *J Anim Sci* 1991; 69(Suppl. 1): 396
52. **Chebel RC., Santos JEP., Cerri RLA., Galvao KN., Juchem SO., Thatcher WW.** Effect of resynchronisation with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2003;60:1389-99
53. **Chenault JR., Kratzer DD., Rzepkowski RA., Goodwin MC.** LH and FSH response of Holstein heifers to fertyrelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology* 1990;34:81-98
54. **Cordoba MC., and Fricke PM.** Initiation of the breeding season in a grazing-based dairy by synchronisation of ovulation. *J Dairy Sci* 2002;85:1752-1763
55. **Cordoba MC., Sartori R., Fricke PM.** Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. *J Dairy Sci* 2001; 84:1884-1889
56. **Curran, S., Kastelic JP., and Ginther OJ.** Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim. Reprod. Sci.* 1989;19:217-227.
57. **Davies CJ., Hill JR., Edwards JL., Schrick FN., Fisher PJ., Eldridge JA., Schlafer DH.** Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83: 267-280
58. **DeJarnette JM., Day ML., House RB., Wallace RA., Marshall CE.** Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of post partum suckled beef cows following synchronisation of oestrus using GnRH and PGF_{2α}. *J Anim Sci* 2001a;79:1675-1682
59. **DeJarnette JM., Salverson RR., Marshall CE.** Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronisation using GnRH and PGF_{2α}. *Anim Reprod Sci* 2001b;67:27-35
60. **DeJarnette JM., Marshall CE.** Effects of presynchronisation using combinations of PGF_{2α} and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch and Cosynch treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 2003;77:51-60
61. **De Rensis F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Facciolo F., Frazini S., Scaramuzzi RJ.** Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following oestrus synchronisation and fixed time AI after induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology* 2002;58:1675-1687
62. **Dijkhuizen AA., Huirne RBM., Renkema JA.** Modelling animal health economics. Department of Farm Management, Wageningen Agricultural University. 1991.

63. **Dijkstra, T., Eysker, M., Schares, G., Conraths, F.J., Wouda, W., Barkema, H.W.** Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int. J. Parasitol.* 2001;31:747-752
64. **Diskin MG., Austin EJ., Roche JF.** Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol* 2002;23:211-228
65. **Donofrio G., Herath S., Sartori C., Cavirani S., Flammini CF., Sheldon IM.** Bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) is tropic for bovine endometrial cells and modulates endocrine function. *Reproduction* 2007;134:183-197.
66. **Dosogne H., Hoeben D., Burvenich V., Lohouis JACM.** Effect of cephalosporin and mecillinam on the phagocytic and respiratory burst activity of neutrophil leukocytes isolated from bovine blood. *J Vet Pharmacol Therap* 1998; 21:421-427
67. **Drillich M., Beetz O., Pfuzner A., Sabin M., Sabin HJ и соавт.** Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2001;84:2010-7.
68. **Drillich M., Mahlstedt M., Reichert U., Tenhagen BA., Heuwieser W.** Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2006;89:627-35
69. **Drillich M., Voigt D., Forderung D., Heuwieser, W.** Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *J Dairy Sci* 2007;90: 3758-3763.
70. **Drost M., Ambrose JD., Thatcher MJ., Cantrell CK., Wolsdorf KE., Hasler JF., Thatcher WW.** Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. *Theriogenology* 1999;52:1161-1167
71. **Dubey JP., Lindsay DS.** *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J Vet Diagnost Invest* 1990;2:230-233
72. **Dubey JP., Acland HM., Hamir AN.** *Neospora caninum* (Apicomplexa) in stillborn goat. *J Parasitol* 1992;78:532-534
73. **Dubey JP.** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* 2003; 41: 1-16
74. **Dunne LD., Diskin MG., Sreenan JM.** Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 gestation and full term. *Anim Reprod Sci* 2000; 58: 39-44
Ealy AD., Drost M., Hansen PJ. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J Dairy Sci* 1993;76: 2899-2905
75. **Ealy AD., Arechiga CF., Bray DR., Risco CA., Hansen PJ.** Effectiveness of short-term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows. *J Dairy Sci* 1994;77:3601-3607

76. **Eiler H.** Retained placenta. In: Youngquist, R.S. (Ed.), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. W.B. Saunders Co., 1997 Philadelphia, PA, pp. 340-348.
77. **Ellington JE., Foote RH., Farrell PB., Hasler JF., Webb J., Henderson WB., Mc-Grath AB.** Pregnancy rates after the use of a gonadotrophin releasing hormone agonist in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology* 1991;36:1035-1042
78. **Etherington WG., Kelton DF., and Adams JE.** Reproductive performance of dairy cows following treatment with fenprostalene, dinoprost, or cloprostenol between 24 and 31 Days post partum: A field trial. *Theriogenology* 1994; 42: 739-752
79. **El-Zarkouny SZ., Cartmill JA., Hensley BA., Stevenson JS.** Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *J Dairy Sci* 2004;87:1024-1037.
80. **Esslemont D., Kossabati M.** The cost of Poor Fertility and Disease in UK Dairy Herds. *Dairy Research Report*, 2002
81. **Farin PW., Ball L., Olson JD., Mortimer RG., Jones RL., Adney WS., McChesney AE.** Effect of *Actinomyces pyogenes* and gram-negative anaerobic bacteria on the development of bovine pyometra. *Theriogenology* 1989;31:979-89.
82. **Farin CE., Farin PW., Piedrahita JA.** Development of fetuses from in vitro-produced and cloned bovine embryos. *J Anim Sci* 2004. 82(E. Suppl.):E53-E62
83. **Farin PW., Piedrahita JA., Farin CE.** Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology* 2006;65:178-91
84. **Fernandes C., Alves B., Oliveira E., Viana J., Figueiredo A., Gioso M., Oba E.** Efficiency of different cloprostenol doses in the postpartum period of Zebu (Зебу) beef cows. *Proceedings of the XXV WBC, Budapest 2008a; Book of Abstracts, Abst. 855; p. 190*
85. **Fernandes C., Figueiredo A., Alves B., Oliveira E., Viana J., Gioso M.** Use of florfenicol associated or not to Cloprostenol in puerperal disturbances in dairy cows. *Proceedings of the XXV WBC, Budapest 2008a; Book of Abstracts, Abst. 857; p. 191*
86. **Ferre I., Serrano-Martinez E., Martinez A., Osoro K., Mateos-Sanz A., del-Pozo I., Aduriz G., Tamargo C., Hidalgo CO., Ortega-Mora LM.** Effects of re-infection with *Neospora caninum* in bulls on parasite detection in semen and blood and immunological responses. *Technical note. Theriogenology* 2008;69: 905-911
87. **Feugang JM., Camargo-Rodriguez O., Memili E.** Culture systems for bovine embryos. *Livestock Sci* 2009;121: 141-149

88. **Fortune JE., Rivera GM., Evans ACO., Turzillo AM.** Differentiation of Dominant Versus Subordinate Follicles in Cattle. *Biol Reprod* 2001; 65: 648-654
89. **Franco M., Block J., Jousan FD., Castro e Paula, de LA., Brad AM., Franco JM., Grisel F., Monson RL., Rutledge JJ., Hansen PJ.** Effect of transfer of one or two in vitro-produced embryos and post-transfer administration of gonadotropin releasing hormone on pregnancy rates of heat-stressed dairy cattle. *Theriogenology* 2006a; 66: 224-233
90. **Franco M., Thompson PM., Brad AM., Hansen PJ.** Effectiveness of administration of gonadotropin-releasing hormone at Days 11, 14 or 15 after anticipated ovulation for increasing fertility of lactating dairy cows and non-lactating heifers. *Theriogenology* 2006b;66: 945-954
91. **Frazer GS.** A rational basis for therapy in the sick postpartum cow. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2005;21, 523-568.
92. **Fricke PM.,** Scanning the Future—Ultrasonography as a Reproductive Management Tool for Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2002; 85: 1918-1926
93. **Fray MD., Mann GE., Clarke MC., Charleston B.** Bovine viral diarrhoea virus: its effects on oestradiol, progesterone and prostaglandin secretion in the cow. *Theriogenology* 1999;51:1533-1546
94. **Fray MD., Mann GE., Clarke MC., Charleston B.** Bovine viral diarrhoea virus: its effects on ovarian function in the cow. *Vet Microbiol* 2000;77:185-194
95. **Fray MD., Mann GE., Bleach ECL., Knight PG., Clarke MC., Charleston B.** Modulation of sex hormone secretion in cows by acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Reproduction* 2002;123:281-289
96. **Fricke PM. Guenther JN., and Wiltbank MC.** Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1998;50:1275-1284
97. **Friedrich M., Holtz W.** Establishment of an ELISA for Measuring Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein in Serum or Milk and Its Application for Early Pregnancy Detection. *Reprod Domest Anim* 2009 (в печати)
98. **Fuji TU., Kasai N., Nisi SA., Dubey JP., Gennari SM.** Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the south eastern region of Brazil. *Vet Parasitol* 2001;99:331-334
99. **Galli C., Lazzari G.** The manipulation of gametes and embryos in farm animals. *Repro Domest Anim* 2008;43(Suppl.2):1-7
100. **Garcia FEO., Cordero MJL., Hizarza EA., Peralta OJG., Ortega CME., Carde nas M., Gutierrez CG., Sanchez TEMT.** Induction of a new follicular wave in Holstein heifers synchronized with norgestomet. *Animal Reprod Sci* 2004;80: 47-57

101. **Galvao KN., Santos JEP., Cerri RL., Chebel RC., Rutigliano HM., Bruno RG., Bicalho RC.** Evaluation of Methods of Resynchronization for Insemination in Cows of Unknown Pregnancy Status. *J. Dairy Sci* 2007; 90:4240-4252
102. **Garcia-Ispuerto I., Lopez-Gatius F., Santolaria P., Yaniz JL., Nogareda C., Lopez-Bejar M., De Rensis F.** Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 2006;65: 799-807
103. **Garner DL., Seidel GE., Jr.** History of commercializing sexed semen for cattle *Theriogenology* 2008;69:886-895
104. **Garverick HA.** Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci* 1997;80:995- 1004
105. **Geary TW., Wittier JC., Downing ER., LeFever DG., Silcox RW., Holland MD., Nett TM., and Niswender GD.** Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate B or the Ovsynch protocol. *J. Anim. Sci.*1998;76:1523-1527
106. **Geary TW., Downing ER., Bruemmer JE., Whittier JC.** Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the Select Synch estrous synchronisation protocol. *Prof Anim Sci* 2000;16:1-5
107. **Gilbert RO., Shin ST., Guard CL., Erb HN.** Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 1998 Gilbert RO., Shin ST., Guard CL., Erb HN., Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2005; 64:1879-1888
108. **Ginther OJ., Bergfelt DR., Kulick LJ., Kot K.** Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. *Biol Reprod* 2000; 63:383-389.
109. **Ginther OJ., Bergfelt DR., Kulick LJ., Kot K.** Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod* 2000; 62:920-927. Givens MD. A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. *Theriogenology* 2006;66: 648-654
110. **Givens MD., Marley MSD.** Pathogens that cause infertility of bulls or transmission via semen. *Theriogenology* 2008;70:504-507 Givens MD., Marley SD. Approaches to biosecurity in bovine embryo transfer programs. *Theriogenology* 2008b;69: 129-136
111. **Gondim LFP., McAllister MM., Pitt WC., Zemlicka DE.** Coyotes (*Canis latrans*) are definite hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 2004;34:159-161
112. **Green JA., Parks TE., Avalle MP., Telugu BP., McLain AL., Peterson AJ, и соавт.** The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. *Theriogenology* 2005;63:1481-503.

113. **Green MP., Hunter MG., Mann GE.** Relationship between maternal progesterone secretion and embryo development on day 5 of pregnancy in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2005;88:179-189
114. **Greve T., Lehn-Jensen H.** The effect of hCG administration on pregnancy rate following non-surgical transfer of viable bovine embryos. *Theriogenology* 1982;17:91 (abstract)
115. **Groenendaal H., Galligan DT, and H. A. Mulder.** 2004. An economic spreadsheet model to determine optimal breeding and replacement decisions for dairy cattle. *J Dairy Sci* 2004; 87:2146-2157.
116. **Grooms DL., Brock KV., Pate JL., day ML.** Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology* 1998;49:595-605
117. **Grohn YT., Hertl JA., Harman JL.** Effect of early lactation milk yield on reproductive disorders in dairy cows. *A. J Vet Res* 1994; 55:1521-1528
118. **Gupta S., Gupta HK., Soni J.** Effect of Vitamin E and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology* 2005;64:1273-1286
119. **Guzeloglu A., Erdem H., Saribay MK., Thatcher WW., Tekeli T.** Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. *Vet Rec* 2007;160: 404-406
120. **Guzeloglu A., Erdem H., Cinar M., Kilic K., Talmac M., Gorgundur A., Gumen A.** Effect of ketoprofen administration 15 and 16 days after AI on conception rates in lactating dairy cows. *Proceedings of the 16th ICAR, Budapest* 2008; Abst. p. 43
121. **Hall CA., Reichel MP., Ellis JT.** Neospora abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary Parasitology* 2005;128: 231-241
122. **Hansen PJ.** Effects of environment on bovine reproduction. In: Youngquist RS (ED), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, WB Saunders, Philadelphia, PA, 1997, pp. 403-415
123. **Hansen PJ., Drost M., Rivera RM., Paula-Lopes FF., Al-Katanani YM., Krininger CE., Chase CC Jr.** Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology* 2001;55:91-103
124. **Hansen PJ.** Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83:349-360.
125. **Hatler TB., Hayes SH., Laranja da Fonseca LF., Silvia WJ.** Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts. *Biol Reprod.* 2003;69:218-223

126. **Hendricks KEM., Bartolome JA., Melendez P., Risco C., Archbald LF.** Effect of repeated administration of PGF_{2α} in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2005 в печати
127. **Hernandez J., Risco C., Donovan A.** A between exposure to Neospora caninum and milk production in dairy cows. *JAVMA* 2001;219:632-635
128. **Hernandez-Ceron J., Chase Jr CC., Hansen PJ.** Differences in heat tolerance between preimplantation embryos from Brahman, Romosinuano and Angus Breeds. *J Dairy Sci* 2004;87:53-58
129. **Haugejorden G., Waage S., Dahl E., Karlberg K., Beckers JF., Ropstad E.** Pregnancy associated glycoproteins (PAG) in postpartum cows, ewes, goats and their offspring. *Theriogenology* 2006;66: 1976-1984
130. **Heuwiesser W., Ferguson JD., Guard CL., Foote RH., Warnick LD., Breickner LC.** Relationship between administration of GnRH, body condition score and fertility in Holstein dairy cattle. *Theriogenology* 1994;42:703-714
- Heuwiesser W., Tenhagen BA., Tischer M., Luhr J., Blum H. Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. *Vet Rec* 2000;146:338-41
131. **Hill J., Gilbert R.** Reduced quality of bovine embryos cultured in media conditioned by exposure to an inflamed endometrium. *Aust Vet J* 2008; 86:312-6.
132. **Houe H., Myrup Pedersen K., Meyling A.** The effect of bovine viral diarrhoea virus infection on conception rate. *Prev Vet Med* 1993;15:117-123
133. **Humblot P.** Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology* 2001;56:1417-1433
134. **Innes EA., Wright S., Bartley P., Maley S., Macaldowie C., Esteban-Redondo I., Buxton D.** The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 108: 29-36
135. **Innes EA.** The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with Neospora caninum. *Parasitology* 2007;134:1903-10
136. **Jonsson NN., McGowan MR., McGuigan K., Davison TM., Hussain AM., Kafi M.** Relationship among calving season, heat load, energy balance and post partum ovulation of dairy cows in subtropical environment. *Anim Reprod Sci* 1997;47:315-326
137. **Jolly PD., McDougall S., Fitzpatrick LA., Macmillan KL., Entwistle K.** Physiological effects of undernutrition on post partum anestrous in cows. *J Reprod Fertil* 1995; Suppl 49: 477-492
138. **Kafi M., McGowan MR., Kirkland PD., Jillela D.** The effect of bovine pestivirus infection on the superovulatory response of Fresian heifers. *Theriogenology* 1997;48:985-996

139. **Kaim M., Bloch A., Wolfenson D., Braw-Tal R., Rosenberger M., Voet H., Folman Y.** Effect of GnRH administered to cows at the onset of oestrus on timing of ovulation, endocrine responses and conception. *J Dairy Sci* 2003;86:2012-2021
140. **Kaneda Y., Domeki I., Kamomae H., Otake M., Watanabe F., Nishikata K.** Effects of additional injection of hCG on the formation of the corpus luteum and fertility of oestrus synchronised dairy heifers by stimulus injection of prostaglandin and estradiol benzoate. *Jpn J Anim Reprod* 1981;27:89-91
141. **Kasimanickam R., Duffield TF., Foster RA., Gartley CJ., Leslie KE., Walton JS et al.** Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of sub-clinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2004;62:9-23
142. **Kasimanickam R., Duffield TF., Foster RA., Gartley CJ., Leslie KE., Walton JS., and. Johnson WH.** The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology*, 2005; 63: 818-830
143. **Kastelic JP and Thundathil JC.** Breeding soundness Evaluation and Semen Analysis for Predicting Bull Fertility. *Reprod Domest Anim* 2008;43 (Suppl.2):368-373
144. **Kharche SD., Srivastava SK.** Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Animal Reproduction Science* 2007; 99: 196-201
145. **Keister ZO., DeNise SK., Armstrong DV., Ax RL., and Brown MD.** Pregnancy outcomes in two commercial dairy herds following hormonal scheduling programs. *Theriogenology* 1999;51:1587-1596.
146. **Kindahl H., Ondensvik K., Aiumlamai S., and Fredriksson G.** Utero-ovarian relationship during the bovine postpartum period. *Anim Reprod Sci* 1992; 28:
147. **Kornmatitsuk B., Chantaraprateep P., Kornmatitsuk S., Kindahl H.** Different types of postpartum luteal activity affected by the exposure of heat stress and subsequent reproductive performance in Holstein lactating cows. *Reprod Domest Anim* 2008;43:515-519
148. **Lamming GE., Darwash AO., Back HL** Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. *J Reprod Fertil* 1989; Suppl 37:245-252
149. **Lane EA., Austin EJ., Crowe MA.** Oestrous synchronisation in cattle-Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. *Anim Reprod Sci* 2008;109: 1-16
150. **LeBlanc SJ., Duffield TF., Leslie KE., Bateman KG., Keefe GP., Walton JS., Johnson WH.** Defining and diagnosing post partum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci* 2002;85:2223-2236

151. **LeBlanc SJ., Duffield TF., Leslie KE., Bateman KG, Keefe GP., Walton JS., Johnson WH.** The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2002b;85:2237-2249
152. **LeBlanc SJ., Herdt T., Seymour W., Duffield T., Leslie K.** Factors associated with peripartum serum concentrations of vitamin E, retinol, and (β-carotene in Holstein dairy cattle, and their associations with periparturient disease. *J Dairy Sci* 2004;87, 609-619.
153. **LeBlanc SJ.** Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Vet J* 2008;176: 102-114
154. **Lee C., Maurice R., Pennington JA., Hoffman WF., Brown MD.** Efficacy of gonadotrophin-releasing hormone administration at the time of artificial insemination of heifers and post partum repeat breeder dairy cows. *AM J Vet Res* 1983;44:2160
155. **Lewis GS., Caldwell DW., Rexroad CE., Dowlen HH., Owen JR.** Effect of gonadotrophin-releasing hormone and human chorionic gonadotrophin on pregnancy rate in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1990;73:66-72
156. **Lewis GS.** Uterine health and disorders. *J Dairy Sci* 1997;80:984-94
157. **Lewis GS.** Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83: 281-294
158. **Lincke A., Drillich M., Heuwieser W.** Subclinical endometritis in dairy cattle and its effect on reproductive performance - a review on recent publications. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007;120:245-250
159. **Lindsay DS., Kelly EJ., McKown R и соавт.** Prevalence of Neospora caninum and Toxoplasma gondii antibodies in coyotes (Canis latrans) and experimental infections of coyotes with Neospora caninum. *J Parasitol* 1996;82:657-659
160. **Lindsay DS., Spencer J., Rupprecht CE., Blagburn BL.** Prevalence of agglutinating antibodies to Neospora caninum in racoons. *J Parasitol* 2001;87:1197-1198
161. **Loneragan P., Fair T.** In vitro-produced bovine embryos—Dealing with the warts. *Theriogenology* 2008; 69: 17-22
162. **Looney CR., Nelson JS., Schneider HJ., Forrest DW.** Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology* 2006;65:201-209
163. **Lopez H., Satter LD., Wiltbank MC.** Relationship between level of milk production and oestrus behaviour of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2004,81:209-23
164. **Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC.** Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2005;88:2783-93.

165. **Lopez-Gatius F., Lopez-Bejar M.** Reproductive performance of dairy cows with ovarian cysts after different GnRH and cloprostenol treatments. *Theriogenology* 2002;58:1337-1348
166. **Lopez-Gatius F., Santolaria P., Martino A., Delatang F., De Rensis.** The effects of GnRH treatment at the time of AI and 12 days later on reproductive performance of high producing dairy cows during the warm season in north-eastern Spain. *Theriogenology* 2006;65:820-830
167. **Lopez-Gatius F., Hunter RHF., Garbayo JM., Santolaria P., Yaniz J., Serrano B., Ayad A., de Sousa NM., Beckers JF.** Plasma concentrations of pregnancy-associated glycoprotein-1 (PAG-1) in high producing dairy cows suffering early fetal loss during the warm season. *Theriogenology* 2007;67:1324-1330
168. **Lucaci E.** Effects of flunixin meglumine (FM) on reproductive events in fixed timed artificial inseminated cows. *Proceedings of the 16th ICAR, Budapest 2008, Abstr. P. 50*
169. **Lynch R A., Alexander BM., and R. G. Sasser.** The cloning and expression of the pregnancy-specific protein B. *Biol Reprod* 1992; 46 (Suppl. 1):72. (Abstr.)
170. **Macmillan KL., Taufa VK., Day AM.** Effects of an agonist of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) in cattle III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metoestrus or dioestrus. *Anim Reprod Sci* 1986;11:1-10.
171. **Macmillan KL., Laen IJ., Westwood CT.** The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Aust Vet J* 1996; 73: 141-147
172. **Macmillan KL., Segwagwe BE., Pino CS.** Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Animal Reprod Sci* 2003;78:327-344
173. **Malayer JR., Hansen PJ.** Differences between Brahman and Holstein cows in heat-shock induced alteration of protein secretion by oviducts and uterine endometrium. *J Anim Sci* 1990;68:266-280
174. **Mann GE., Lamming GE., Fray MD.** Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim Reprod Sci* 1995; 37: 121-131
175. **Mann GE., Mann SJ., Lamming GE.** The interrelationship between the maternal hormone environment and the embryo during the early stages of pregnancy. *J Reprod Fertil* 1996; Abstr Series 17:55
176. **Mann GE., Lamming GE., Fisher PA.** Progesterone control of embryonic interferon-Tproduction during early pregnancy in the cow. *J Reprod Fertil* 1998;Abstr Series 21:37

177. **Mann GE., Payne JH., Lamming GE.** Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. *Dom Anim Endocrinol* 2001;21:127-141
178. **Mapletoft RJ., Hasler JF.** Assisted reproductive technologies in cattle: a review. *Rev Sci Tech* 2005;24:393-403
179. **Matsui M., Shimada A., Yagi K., Kida K., Miyamoto A., Miyake YI.** The characteristics of ovarian function and endocrine status in pregnant cows during early period after insemination. *Proceedings of the 16th ICAR, Budapest 2008; Abstr. p. 52*
180. **McDougall S., Cullum AA., Anniss FM., and Rhodes FM.** Treatment of anovulatory anoestrus postpartum dairy cows with a gonadotrophin-releasing hormone (GnRH), prostaglandin GnRH regimen or with progesterone and oestradiol benzoate. *N.Z. Vet. J.* 2001 ;49:168-172.
181. **McDougall S., Compton CWR., Annis FM.** Effect of exogenous progesterone and oestradiol on plasma progesterone concentrations and follicle wave dynamics in anovulatory anoestrus post partum cattle. *Anim Reprod Sci* 2004;84:303-14
182. **McGowan MR., Kirkland PD., Richards SD., Littlejohns IR.** Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Vet Rec* 1993;133:39-43
183. **McGowan MR., Kafi M., Kirkland PD., Kelly H., Occhio MD., Jillella D.** Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated cattle. *Theriogenology* 2003;59:1051-1066
184. **McMillan WH.** Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. *Theriogenology* 1998;50:1053-1070
185. **Mee MO, Stevenson JS, Scoby RK, Folman Y.** Influence of gonadotrophin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rate of dairy cattle at first service. *J Dairy Sci* 1990; 73: 1500-1507
186. **Mee MO., Stevenson JS., Alexander BM., Sasser RG.** Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol 17B, Pregnancy-specific protein B and progesterone, proportion of luteal cell types and in vitro production of progesterone in dairy cows. *J Anim Sci* 1993;71:185-198
187. **Mee JF., Ryan PD., and Condon T.** Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet. Rec.* 1994;134:532.
188. **Mejia ME and Lacau-Mengido IM.** Endometritis treatment with a PGF_{2α} analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. *Theriogenology* 2005;63:1266-1276

189. **Melendez P., Gonzalez G., Aguilar E., Loera O., Risco C., Archbald LF.** Comparison of Two Estrus-Synchronization Protocols and Timed Artificial Insemination in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2006;89:4567-4572
190. **Merrill ML., Ansotegui RP., Burns PD., MacNeil MD., Geary TW.** Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. *J. Anim. Sci.* 2007. 85:1547-1554
191. **Mihm M., Deletang F., Roche JF.** The gonadotrophin and ovarian response to an intermediate or low dose of gonadorelin in beef heifers: influence of dose, follicle status and progesterone environment. *J Reprod Fertil Abstr Ser* 1998;21:74
192. **Mihm M., Bleach ECL.** Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* 2003; 78: 217-237 Mihm M., Evans ACO. Mechanisms for dominant follicle selection in monovulatory species: a comparison of morphological, endocrine and intraovarian events in cows, mares and women. *Reprod Domest Anim* 2008;43 (Suppl. 2):48-46
193. **Moreira F., Orlandi C., Risco CA., Mattos R., Lopes F., Thatcher WW.** Effects of presynchronisation and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2001;84:1646-59
194. **Morgan WF., and Lean IJ.** Gonadotrophin-releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. *Austral Vet J* 1993;70:205209
195. **Morton JM., Tranter WP., Mayer DG., Jonsson NN.** Effects of Environmental Heat on Conception Rates in Lactating Dairy Cows: Critical Periods of Exposure. *J Dairy Sci* 2007;90:2271-2278
196. **Murray RD., Allison JD., Gard RO.** Bovine endometritis: comparative efficacy of alfaprostol and intra-uterine therapies, and other factors influencing clinical success. *Vet Rec* 1990;127:86-90
197. **Nakao T., Gamal A., Osawa T., Nakada K., Moriyoshi M., Kawata K.** Postpartum plasma PGF_{2α} metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta, and effect of fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. *J Vet Med Sci* 1997;59:791-4
198. **Nebel RL and Jobst SM.** Symposium: gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin for estrus detection. Evaluation of Systematic Breeding Programs for Lactating Dairy Cows: A Review. *J Dairy Sci* 1998; 81:1169-1174
199. **Nishigai M., Kamomae H., Tanaka T., Kaneda Y.** The effect of administration of human chorionic gonadotropin in enhancing bovine corpus lutea luteinization and luteal function. *J Reprod Dev* 2001;47:283-94
200. **Nishigai M., Kamomae H., Tanaka T., Kaneda Y.** Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. *Theriogenology* 2002;58:1597-1606
201. **Nobel RL., Jobst SM., Dransfield MBG., Pandolfi SM., Bailey TL.** The use of radio frequency data communication system, Heat Watch, to describe behavioural estrus in dairy cattle. *J Dairy Sci* 1997;179 (abstract)
202. **Olynk NJ., Wolf CA.** Economic Analysis of Reproductive Management Strategies on US Commercial Dairy Farms. *J Dairy Sci* 2008; 91:4082-4091
203. **Olynk NJ., Wolf CA.** Stochastic economic analysis of dairy cattle artificial insemination reproductive management programs. *J Dairy Sci* 2009; 92:1290-1299
204. **Opsomer G., Mijten P., Coryn M., and de Kruif A.** Post-partum anoestrus in dairy cows: a review. *Vet Quart* 1996;18: 68-75
205. **Opsomer G., Grohn YT., Hertl J., Coryn M., Deluyker H., de Kruif A.** Risk factors for post partum ovarian disfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology* 2000;53:841-857
206. **Padula AM., Borman JM., Wright PJ., Macmillan KL.** Restoration of LH output and 17B oestradiol responsiveness in acutely ovariectomised Holstein dairy cows pre-treated with a GnRH agonist (deslorelin) for 10 days. *Anim Reprod Sci* 2002;70:49-63
207. **Padula AM., Macmillan KL.** Oestradiol 17B responsiveness, plasma LH profiles, pituitary LH and FSH concentrations in long terms ovariectomised Holstein cows at 24h, 48h and 21 days following treatment with an absorbable GnRH agonist implant. *Anim Reprod Sci* 2005;85:27-39
208. **Pancarci SM., Jordan ER., Risco CA., Schouten MJ., Lopes FL., Moreira F., and Thatcher WW.** Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002;85:122-131
209. **Paula-Lopes FF., Chase Jr, CC., Al-Katanani YM., Krininger III CE., и соавт.** Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. *Reproduction* 2003;125:285-294s Peter AT., Vos PLAM., Ambrose DJ. Postpartum anestrus in dairy cattle. Review. *Theriogenology* 2009; в печати
210. **Peters AR., Drew SB., Mann GE., Lamming GE., Beck NF.** Experimental and practical approaches to the establishment and maintenance of pregnancy. *J Physiol Pharmacol* 1992; 43 (4 Suppl 1): 143-152
211. **Peters AR., Ward SJ., Warren MJ., Gordon PJ., Mann GE, Webb R.** Ovarian and hormonal responses of cows to treatment with an analogue of

- gonadotrophin releasing hormone and prostaglandin F_{2α}. Vet Rec 1999; 27: 343-346
212. **Peters AR., Martinez TA., Cook AJC.** A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. Theriogenology 2000;54:1317-1326
213. **Peterson AJ., Lee RSF.** Improving successful pregnancies after embryo transfer. Theriogenology 2003;59: 687-697
214. **Petrunkina AM., Waberski D., Gunzel-Apel AR., Topfer-Petersen E.** Determinants of sperm quality and fertility in domestic species. Reproduction 2007;134: 3-17
215. **Phatak AP., Whitmore HL., Brown MD.** Effect of gonadotrophin-releasing hormone on conception rate in repeat-breeder dairy cows. Theriogenology 1986;26:605
216. **Pieterse MC., Szenci O., Willemse AH., Bajcsy CSA., Dieleman SJK., Taverne MAM.** Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. Theriogenology 1990; 30(3):697-707.
217. **Poso J., Mantysaari EA.** Genetic relationships between reproductive disorders, operational days open and milk yield. Livest Prod Sci 1996; 46: 41-48
218. **Pursley JR., Mee MO., and Wiltbank MC.** Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. Theriogenology 1995;44:915-923.
219. **Pursley JR., Kosorok MR., Wiltbank M.C.** Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. J. Dairy Sci. 1997;80: 301-306.
220. **Rabiee AR., Lean IJ., Stevenson MA.** Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: a meta analysis. J Dairy Sci 2005;88:2754-2770
221. **Rajamehndran R and Sianangama PC.** Effect of human chorionic gonadotrophin on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. J Reprod Fertil 1992;95:577-584
222. **Rensis de F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Facciolo F., Franzini S., Scaramuzzi RJ.** Fertility in post partum dairy cows in winter or summer following oestrus synchronisation and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. Theriogenology 2002;58:1675-1687.
223. **Rensis de F., Scaramuzzi RJ.** Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. Theriogenology 2003;60:1139-1151
224. **Rensis de F., Valentini R., Gorrieri F., Bottarelli E., Lopez-Gatius F.** Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. Theriogenology 2008;69: 1077-1082

225. **Rhoads ML., Rhoads RP., Gilbert RO., Toole R., Butler WR.** Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. Animal Reprod Sci 2006;91:1-10
226. **Rhodes FM., Burke CR., Clark BA., Day ML., Macmillan KL.** Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicle turnover in postpartum anoestrus cows and cows which have resumed oestrous cycles. Anim Reprod Sci 2002;69:139-150
227. **Robert A., Beaudreau F., Seegers H., Joly A., Philipot JM.** Large scale assessment of the effect associated with bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy cows in 6149 dairy herds in Brittany (Western France). Theriogenology 2003;61:17-127
228. **Robinson RS., Hammond AJ., Wathes DC., Hunter MG., Mann GE.** Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. Reprod Domest Anim 2008;43 (Suppl. 2):104-112
229. **Roche JF., Boland MP., McGeady TA.** Reproductive wastage following artificial insemination in cattle. Vet Rec 1981; 109: 95-97
230. **Roelofs JB., Graat EAM., Mullaart E., Soede NM., Voskamp-Harkema W., Kemp B.** Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. Theriogenology 2006;6: 2173-2181
231. **Romano JE., Thompson JA., Kraemer DC., Westhusin ME., Forrest DW., Tomaszewski MA.** Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: Influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. Theriogenology 2007; 67:486-493
232. **Romero JJ., Perez E., Frankena P.** Effect of a killed whole Neospora caninum tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. Vet Parasitol 2004;123:149-159
233. **Romero JJ., Van Breda S., Vargas B., Dolz G., Frankena P.** Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. Theriogenology 2005;64:1928-1939
234. **Ronchi B., Stradaoli G., Verini Supplizi A., Bernabuci U., Lacetera N., Ac-corsi PA.** Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol 17-Beta, LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein Heifers. Livestock Prod Sci 2001;68:231-241
235. **Rosenberger M., Chun SY., Kaim M., Herz Z., Folman Y.** The effect of GnRH administered to dairy cows during oestrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination. Anim Reprod Sci 1991;24:13-24

236. **Roth Z., Meidan R., Braw-Tal R., Wolfenson D.** Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J Reprod Fert* 2000;120:83-90
237. **Roth Z., Meidan R., Shaham-Albalancy A., Braw-Tal R., Wolfenson D.** Delayed effect of heat stress on steroid production in medium sized and pre-ovulatory bovine follicles. *Reproduction* 2001a;121:745-751
238. **Roth Z., Arav A., Bor A., Zeron Y., Braw-Tal R., Wolfenson D.** Improvement of quality of oocytes collected in the autumn be enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction* 2001b;122:737-744
239. **Rukkamsuk T., Wensing T., Kruip TAM.** Relationship between triacylglycerol concentration in the liver and first ovulation in post partum dairy cows. *Theriogenology* 1998; 51: 1133-1142
240. **Rutledge JJ.** Use of embryo transfer and IVF to bypass effects of heat stress. *Theriogenology* 2001;55:105-111
241. **Ryan DP., Prichard JF., Kopel E., Godke RA.** Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 1993;39:719-737
242. **Saacke RG.** Insemination factors related to timed AI in cattle. *Theriogenology* 2008;70:479-484
243. **Sangsrivong S., Combs DK., Sartori R., Wiltbank MC.** High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and oestradiol-17B in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002;85:2831-42
244. **Santos JE., Thatcher WW., Pool L., Overton MW.** Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high producing lactating Holstein dairy cows. *J Anim Sci* 2001;79:2881-2894
245. **Santos JEP., Bartolome JA., Cerri RLA., Juchem SO., Hernandez O., Trigg T и соавт.** Effect of a deslorelin implant in atimed artificial insemination protocol on follicle development, luteal function and reproductive performance of lactating dairy cows. *Theriogenology* 2004;61:421-35
246. **Sartori R., Sartor-Bergfelt R., Mertens SA., Guenther JN., Parrish JJ., Wiltbank MC.** Early embryonic development during summer in lactating dairy cows and nulliparous heifers. *Biol Reprod* 2000; 62:155
247. **Sartori R., Rosa GJM., Wiltbank MC.** Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 2002;85:2813-2822
248. **Scherzer J., Fayrer-Hosken RA., Ray L., Hurley DJ., Heusner GL.** Advancement in large animal embryo transfer and related biotechnologies. *Reprod Domest Anim* 2008;43:371-6.
249. **Schmitt EJP, Diaz T, Barros CM, de la Sota RL, Drost M, Fredriksson EW, и соавт.** Differential response of the luteal phase and fertility in cattle follow-

- ing ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J Anim Sci* 1996a;74:1074-83.
250. **Schmitt EJ-P., Barros CM., Fields PA., Fields MJ., Diaz T., Kluge JM.** A cellular and endocrine characterisation of the original and induced CL after administration of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day 5 of the estrus cycle. *J Anim Sci* 1996;74:1915-29
251. **Schmitz W., Driancourt MA., Hoppe S., Friedrich M., Erhardt G., Gauly M., Holtz W., Schmitz W.** A modified Co-Synch protocol for timed artificial insemination in beef cattle. *Abst. Proc. 16th ICAR, 2008, Budapest.*
252. **Sedlak K., Bartova E.** Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. *Veterinary Parasitology* 2006; 136:223-231
253. **Seidel GE., Jr.** Overview of sexing sperm. *Theriogenology* 2007; 68:443-446
254. **Serrano-Martinez E., Ferre I., Martinez A., Osoro K., Mateos-Sanz A., del-Pozo I., Aduriz G., Tamargo C., Hidalgo CO., Ortega-Mora LM.** Experimental neosporosis in bulls: Parasite detection in semen and blood and specific antibody and interferon-gamma responses. *Theriogenology* 2007;67:1175-1184
255. **Sheldon IM., Noakes DE.** Comparison of three treatments for bovine endometritis *Vet Rec* 1998; 142:575-9
256. **Sheldon IM., Noakes DE., Rycroft AN., Pfeiffer DU., Dobson H.** Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* 2002;123:837-845
257. **Sheldon, I.M., Rycroft, A.N., Zhou, C.** Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. *Vet Rec* 2004a;154, 289-293. Sheldon IM., Dobson H. Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reprod Sci* 2004b;82-83:295-306
258. **Sheldon IM., Noakes DE., Rycroft AN., Dobson H.** Effect of intrauterine administration of oestradiol on postpartum uterine bacterial infection in cattle. *Anim Reprod Sci* 2004c;81:13-23
259. **Sheldon IM., Bushnell M., Montgomery J., Rycroft AN.** Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infections in cattle. *Vet Rec* 2004d;155: 383-387
260. **Sheldon IM., Lewis GS., LeBlanc S., Gilbert R.** Defining post partum uterine disease in cattle. *Theriogenology* in 2006;65:1516-1530.
261. **Sheldon IM., Williams EJ., Miller ANA., Nash DM., Herath S.** Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet J* 2008;176:115-121
262. **Shephard R.** Investigation of a whole herd controlled breeding program using GnRH and prostaglandin in commercial seasonally-calving dairy herds. *Aust Cattle Vet* 2002;23:24-28

263. **Shrestha HK., Nakao T., Suzuki T., Higaki T., Akita M.** Effects of abnormal ovarian cycles during pre-service period postpartum on subsequent reproductive performance of high producing Holstein cows. *Theriogenology* 2004;61:1559-1571
264. **Sianangama PC., Rajamahendran R.** Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 1992;38:85
265. **Singh J., Murray RD., Mshelia G., Woldehiwet Z.** The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. Review. *Vet J* 2008;175:301-309
266. **Silcox RW., Powell KL., and Kiser TE.** Ability of dominant follicles (DF) to respond to exogenous GnRH administration is dependent on their stage of development. *J Anim Sci* 1993; 71(Suppl. 1): 219
267. **Silva E., Sterry RA., Kolb D., Mathialagan N., McGrath MF., Ballam JM., and P. M. Fricke.** Accuracy of a Pregnancy-Associated Glycoprotein ELISA to Determine Pregnancy Status of Lactating Dairy Cows Twenty-Seven Days After Timed Artificial Insemination. *J Dairy Sci* 2007;90:4612-4622
268. **Silvia WJ., Lewis GS., McCracken JA., Thatcher WW., Wilson L.** Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂α during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod* 1991;45:655-63
269. **Silvia WJ., Halter TB., Nugent AM., Laranja da Fonseca LF.** Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Dom Anim Endocrinol* 2002;23:167-177
270. **Silva JRV., Figueiredo JR., van den Hurk R.** Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology* 2009;71:1193-1208
271. **Skarzynski DJ., Ferreira-Dias G., Okuda K.** Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. *Reprod Domest Anim* 2008;43 (Suppl. 2):57-65
272. **Sirard MA., Coenen K.** In vitro maturation and embryo production in cattle. *Methods Mol Biol* 2006;348:35-42
273. **Small JA., Ambrose JD., McCaughey WP., Ward DR., Sutherland WD., Glover ND., Rajamahendran R.** The effects of gonadotrophin releasing hormone in prostaglandin F₂α-based timed insemination programs for beef cattle. *Can J Anim Sci* 2001;81:335-343
274. **Sota de la, R. L., Burke JM., Risco CA., Moreira F., DeLorenzo MA., and Thatcher WW.** Evaluation of timed insemination during summer heat stress in lactating dairy cattle. *Theriogenology* 1998;49:761-770

275. **Sousa NM., Ayad a., Beckers JF., Gajewski Z.** Pregnancy-associated glycoproteins (pag) as pregnancy markers in the ruminants. *J Physiol Pharmacol* 2006;57 (Suppl.8):153-171
276. **Ssentongo YK., Johnson RH., Smith JR.** Association of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus with ovariitis in cattle. *Aust Vet J* 1980;56:272-273
277. **Sterry RA., Welle ML., Fricke PM.** Treatment with Gonadotropin-Releasing Hormone After First Timed Artificial Insemination Improves Fertility in Noncycling Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2006;89:4237-4245
278. **Stevens RD., Dinsmore RP., Cattle MB.** Evaluation of the use of intra-uterine infusions of oxytetracycline, subcutaneous injections of fenprostalene, or a combination of both, for the treatment of retained fetal membranes in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc.* 1995; 207:1612-5
279. **Stevenson JS., Call EP., Scooby RK., Phatak AP.** Double insemination and gonadotrophin-releasing hormone treatment of repeat breeding cattle. *J Dairy Sci* 1990; 73: 1766-1772
280. **Stevenson JS., Frantz KD., Call EP.** Conception rates in repeat breeders and dairy cattle with unobserved estrus after prostaglandin and gonadotrophin-releasing hormone. *Theriogenology* 1988;29:451
281. **Stevenson JS., Phatak AP., Call EP., Scooby RK.** Double insemination and GnRH treatment of repeat breeding Holsteins. *J Dairy Sci* 1989; Suppl 72:352
282. **Stevenson JS., Kobayashi Y., and Thompson KE.** Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combination of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F₂α. *J. Dairy Sci.* 1999; 82:506-515
283. **Stevenson JS., Smith JF., and Hawkins DE.** Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin F₂α, norgestomet and gonadotropin-releasing hormone. *J. Dairy Sci.* 2000;83:2008-2015
284. **Stevenson JS., Thompson KE., Forbes WL., Lamb GC., Grieger DM., Corah LR.** Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin with or without timed insemination. *J. Anim. Sci.* 2000. 78:1747-1758
285. **Stevenson JS., Tiffany SM., Lucy MC.** Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronising ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2004;87:3298-305
286. **Stevenson JS., Pursley JR., Garverick HA., Fricke PM., Kesler DJ., Ottobre JS, Wiltbank MC.** Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *J Dairy Sci* 2006;89:2567-2578.
287. **Stevenson JL., Dalton JC., Santos JEP., Sartori R., Ahmadzadeh A., Chebel RC.** Effect of Synchronization Protocols on Follicular Development

- and Estradiol and Progesterone Concentrations of Dairy Heifers. *J Dairy Sci* 2008;91:3045-3056 Thatcher WW., Meyer MD., Danet-Desnoyers G. Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil* 1995; Suppl 49:15-28
288. **Thatcher WW., Moreira F., Pancarci SM., Bartolome JA., Santos JEP.** Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Dom Animal Endocrinol* 2002;23: 243-254
289. **Thomas JC.** Induced abortion - a therapeutic disaster. Proceedings of the AACV Pan Pacific Conference; Sydney 1991:35-6.
290. **Thompson KE., Stevenson JS., Lamb GC., Grieger DM., Loest DE.** Follicular, Hormonal, and Pregnancy Responses of Early Postpartum Suckled Beef Cows to GnRH, Norgestomet, and Prostaglandin F2a. *J. Anim. Sci.* 1999. 77:1823-1832
291. **Tieman JCH., Rodrigues AAR., de Souza SLP., Barbanti Duarte JM., Gennari SM.** Occurrence of anti-Neospora caninum antibodies in Brazilian cervids kept in captivity. *Vet Parasitol* 2005;129:341-343
292. **Todoroki J, Yamakuchi H, Mizoshita K, и соавт.** Restoring ovulation in beef donor cows with ovarian cysts by progesterone-releasing intravaginal silastic devices. *Theriogenology.* 2001;55:1919-1932
293. **Torres-Junior de JRS., Pires de MFA., Sa de EF., Ferreira de AM., и соавт.** Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in Зeбы cattle. *Theriogenology* 2008; 69: 155-166
294. **Twagiramungu HL., Guilbault A., Proulx J, Villeneuve P., and Dufour JJ.** Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (buserelin) on oestrus synchronisation and fertility in beef cows. *J Anim Sci* 1992; 70:1904
295. **Ullah G., Fuquay JW., Keawkhong T., Clark BL., Pogue DE., Murphey EJ.** Effect of gonadotrophin-releasing hormone at estrus on subsequent luteal function and fertility in lactating Holsteins during heat stress. *J Dairy Sci* 1996;79:1950-1953
296. **White CR., Keister ZO., McCauley TC., AX RL.** Hormonal therapy in dairy cows: Five ways to improve reproductive efficiency. *Vet Med* 1996;6: 571-575
297. **Willard S., Gandy S., Bowers S., Graves K., Elias A., Whisnant C.** The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 2003;59:1799-1810
298. **Williams SW., Stanko RL., Amstalden M., and Williams GL.** Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in Зeбы-influenced cattle managed on the Texas gulf coast. *J. Anim. Sci.* 2002;80:1173-1178

299. **Wiltbank MC., Gtimen A., and Sartori R.** Physiological classification of ano-ovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002;57:21-52
300. **Wiltbank M., Lopez H., Sartori R., Sangsritavong S., Gumen A.** Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 2006;65:17-29
301. **Wolf D., Schares G., Cardenas O., Huanca W., Cordero A., Barwald A., Conraths FJ., Gaulty M., Zahner H., Bauer C.** Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama lama*) and vicunas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. *Vet Parasitol* 2005;130:81-87
302. **Wolfenson D., Lew BJ., Thatcher WW., Graber Y., Meidan R.** Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim Reprod Sci* 1997;47:9-19
303. **Wolfenson D., Roth Z., Meidan R.** Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 2000;60-61:535-547.
304. **Wolfenson D., Sonogo H., Bloch A., Shaham-Albalancy A., Kaim M., Folman Y., Meidan R.** Seasonal differences in progesterone production by luteinised bovine thecal and granulosa cells. *Domest Anim Endocrinol* 2002;22:81-90
305. **Vanholder T., Opsomer G., Kruif de A.** Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev* 2006a;4 6:105-119
306. **Vanholder T., Leroy JLMR., Coryn M., Fiers T., de Kruif A., Opsomer G.** Effects of -OHbutyrate on bovine granulosa and theca cell function in vitro. *Reprod Domest Anim* 2006b;41:39-40.
307. **Vasconcelos JLM., Silcox RW., Lacerda JA., Pursley JR., and WiltbankMC.** Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at two different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 1997;56 (Suppl 1):140. (Abstr.)
308. **Vasconcelos JLM., Silcox RW., Rosa GJ., Pursley JR., Wiltbank MC.** Synchronisation rate, size of the ovulatory follicle and pregnancy rate after synchronisation of ovulation beginning on different days of the oestrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:1067-1078
309. **Vasconcelos JLM., Demetrio DGB., Santos RM., Chiari JR., Rodrigues CA., Sa FilHo OG.** Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology* 2006;65:192-200
310. **Vasconcelos JL., Sa FilHo OG., ЦАМФos Perez G., Takiguchi Nogueira Silva A.** Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus*Nelore cows. *Anim Reprod Sci* 2009;111:302-311

2. Репродукция КРС

311. **Vries de A.** Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle. *J Dairy Sci.* 2006a;89:3876-3885
312. **Vries, de A., Crane MB., Bartolome JA., Melendez P., Risco CA., Archbald.** Economic Comparison of Timed Artificial Insemination and Exogenous Progesterone as Treatments for Ovarian Cysts. *J Dairy Sci* 2006b; 89:3028-3037
313. **De Vries A., Overton M., Fetrow J., Leslie K., Eicker S., G. Rogers G.** Exploring the Impact of Sexed Semen on the Structure of the Dairy Industry. *J Dairy Sci* 2008;91:847-856
314. **Xie S., Low BG., Nagel RJ., Kramer KK., Anthony RV., Zoli AP., Beckers JF., and R. M. Roberts.** Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *Proc Natl Acad Sci* 1991; USA 88:10247-10251.
315. **Xu ZZ., Verkerk GA., Mee JF., Morgan SR., Clark BA., Burke CR., and Burton LJ.** Progesterone and follicular changes in postpartum noncyclic dairy cows after treatment with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, PGF_{2α} and estradiol. *Theriogenology* 2000;54:273-282
316. **Yavas Y., Walton JS.** Induction of ovulation in post partum suckled beef cow: a review. *Theriogenology* 2000a;54:1-23
317. **Yavas Y., and Walton JS.** Postpartum acyclity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology* 2000b;54:25-55
318. **Younas M., Fuquay JW., Smith AE., Moore AB.** Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J Dairy Sci* 1993;76:430-436s
319. **Zerbe H., Schneider N., Leibold W., Wensing T., Kruip TA., Schuberth HJ.** Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in post partum cows associated with fatty liver. *Theriogenology* 2000; 54: 771-786
320. **Zerbe H., Ossadnik C., Leibold W., Schuberth HJ.** Influence of *E. coli* and *Arcanobacterium pyogenes* isolated from bovine puerperal uteri on phenotypic and functional properties of neutrophils. *Vet Microbiol* 2001;79:351-365
321. **Zerbe H., Ossadnik C., Leibold W., Schuberth HJ.** Local secretions of *Escherichia coli*- or *Arcanobacterium pyogenes*-infected bovine uteri modulate the phenotype and the functional capacity of PMN granulocytes. *Theriogenology* 2002;57: 1161-1177.