

ЦИТОМОРФОЛОГИЯ ВАГИНАЛЬНЫХ МАЗКОВ У СОБАК В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

Гришина Дарья Юрьевна, канд. биол. наук, доцент кафедры «Анатомия, акушерство и хирургия», ФГБОУ ВО Самарская ГСХА.

446442, Самарская область, п.г.т. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2.

E-mail: darya-grishina@narod.ru

Минюк Людмила Анатольевна, канд. с.-х. наук, доцент кафедры «Анатомия, акушерство и хирургия», ФГБОУ ВО Самарская ГСХА.

446442, Самарская область, п.г.т. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2.

E-mail: alyona240795@mail.ru

Ключевые слова: цикл, цитология, мазок, клетка, эструс, собака.

Цель исследований – повышение эффективности оплодотворения собак породы французский бульдог. В работе представлены результаты цитологического исследования вагинальной слизи у собак в разные периоды полового цикла, что позволит определить наиболее оптимальное время для осеменения. По результатам цитологических исследований влагалищного мазка собак благоприятными для вязки являются дни, когда в цитологическом мазке появляется более 60% пикнотических поверхностных клеток, незначительное количество эритроцитов и лейкоцитов, когда поверхностные клетки располагаются группами по 4-6 клеток или скоплениями в виде черепицы. Фазе проэструса соответствует наличие в мазке базальных клеток только в начале периода, когда наблюдается тенденция к снижению промежуточных и росту поверхностных клеток. В мазках обнаруживаются эритроциты и лейкоциты. Продолжительность стадии 6-8 дней. Фаза эструса характеризуется появлением в мазке более 60% пикнотических поверхностных клеток, незначительным количеством эритроцитов и лейкоцитов. Продолжительность стадии 10-11 дней. Установлено, что у собак наиболее оптимальными днями для вязки являются 3-4 день эструса. Цитологические мазки фазы диэструса сопровождаются наличием резких изменений в клеточном составе. В картине цитологического мазка вагинальной слизи признаками диэструса являются уменьшение числа поверхностных клеток и увеличение числа промежуточных клеток; изменение характера слизи и появления лейкоцитов, мазок приобретает мутный, темноватый фон. Продолжительность стадии приблизительно 60 дней. В стадии анэструса цитологическая картина слизистой оболочки стабильна. Мазки малоклеточные, в них выявляются базальные эпителиальные клетки, могут встречаться единичные промежуточные клетки и лейкоциты. Продолжительность стадии приблизительно 123 дня.

Продолжительность полового цикла у собак подвержена индивидуальной изменчивости меняется по годам, что затрудняет определение оптимального срока покрытия и оплодотворения самок, если ориентироваться только по внешним признакам пустовки [1].

Эксфолиативные влагалищные цитологические исследования являются одними из наиболее распространенных клинических методов определения фазы эстрального цикла у сук. Методика основана на том, что каждой стадии полового цикла самок млекопитающих соответствует определенная клеточная картина влагалищных выделений [2]. В настоящее время вагинальная цитология является информативным и доступным методом определения стадии эстрального цикла и сроков вязки. Исследование вагинальных мазков дает возможность определить характер изменений эпителия влагалища суки в разные периоды полового цикла. Также позволяет обнаружить отклонения в эстральном цикле и возможные нарушения репродуктивной функции [3]. Как известно, процесс созревания вагинальных клеток начинается в герминативном слое. Появление самостоятельно отделившихся парабазальных клеток в мазке (без искусственного их соскабливания) свидетельствует о состояниях, когда не происходит достаточного созревания вагинального эпителия, что обычно обусловлено слабой гормональной стимуляцией. В отличие от этого при воспалительных процессах в слизистой оболочке влагалища наряду с парабазальными клетками обнаруживается большое количество лейкоцитов.

Процесс созревания вагинального эпителия характеризуется появлением в мазке промежуточных клеток с более прозрачной цитоплазмой, овоидной или треугольной формы. Появление большого количества промежуточных клеток в вагинальных мазках свидетельствует об усилении процесса созревания влагалищного эпителия. Появление в вагинальном мазке поверхностных клеток является признаком максимального созревания влагалищного эпителия [5, 6].

Вагинальная цитология изучает митотический эффект эстрадиола, повышение концентрации которого в период проэструса стимулирует деление клеток в базальных слоях вагинального эпителия. При этом

максимальную концентрацию эстрогенов регистрируют в конце проэструса или в начале эструса, за 48 ч до пика ЛГ. Концентрация ЛГ достигает пика примерно за 48 ч до начала овуляции [5, 6, 7].

Понимание физиологии полового цикла собак необходимо для правильной организации результативного спаривания и получения высокопородных щенков, учитывая экономическую целесообразность в получении здорового приплода.

Цель исследований – повышение эффективности оплодотворения собак породы французский бульдог.

Задачи исследований – изучить клеточный состав мазков собак в разные стадии полового цикла; проанализировать особенности течения эстрального цикла на основании изменения картины цитологического мазка.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования послужили 10 сук породы французский бульдог в возрасте 3-4 года. Исследуемые самки соответствовали стандартам породы FCI 101(28.04.1995). Все собаки используются в разведении и имели от 1 до 3-х щенностей с приплодом. Нарушений полового цикла в анамнезе не было, все вязки были плодотворными. Перед началом сбора материала каждое животное подвергалось клиническому исследованию по общепринятой методике. Все опытные собаки были клинически здоровы, показатели крови в пределах нормы [4].

Предметом исследования являлась вагинальная слизь, взятая из влагалища каждой из опытных собак. Мазки делали ежедневно на протяжении 30 дней от начала геморрагических выделений из петли (с первого дня течки). Затем через 60-70 дней после окончания течки отбирались пробы выделений в течении 2-3 дней (для анализа фазы анаэструса).

Материал для исследования брали из верхнебокового свода влагалища, так как он наиболее чувствителен к гормональному воздействию. Окрашивание мазков проводили по методу Романовского-Гимзе.

Результаты исследований. В цитологическом мазке первого дня исследований (начало геморрагических выделений из влагалища) наблюдали 3-4 базальных клетки в поле зрения. В последующие дни их количество уменьшается. С пятого дня исследований ни в одном из мазков опытных собак не обнаружили ни одной базальной клетки. Что же касается поверхностных клеток – их количество увеличивалось с каждым днем, если в мазке первого дня было видно 1-2 клетки, то к окончанию проэструса – уже 6-7 клеток в полях зрения.

Для интерпретации картины мазков использовали индекс, применяемым в гуманитарной медицине (ИС – индекс созревания), представляющий процентное соотношение трех видов клеток мазка – базальных, промежуточных и поверхностных.

В завершении фазы проэструса наблюдали в клеточном соотношении сдвиг вправо – увеличение количества поверхностных клеток, что свидетельствует о высокой эстрогенной насыщенности организма (табл. 1).

В цитологическом мазке начала проэструса присутствуют базальные, промежуточные клетки, большое количество эритроцитов и умеренное количество лейкоцитов, поверхностные клетки – единичные. Эритроциты и лейкоциты мелкие, в виде песка. Фон мазка полупрозрачный (мутный). Во второй половине фазы проэструса базальные клетки отсутствуют, снижается количество эритроцитов и лейкоцитов, увеличивается количество поверхностных клеток. К окончанию данного периода количество поверхностных клеток доходит до 70% от общего количества клеток (табл. 1). Из них большую часть составляют клетки с пикнотическим ядром разной степени пикноза, меньшую часть – безъядерные клетки.

Таблица 1

Клеточный состав мазка в фазу проэструса

Дни полового цикла	Базальные клетки		Промежуточные клетки		Поверхностные клетки		Лейкоциты
	количество	%	количество	%	количество	%	
1	3,9±0,43	33	6,0±0,85	50	2± 0,50	17	3,3±0,27
2	3,5±0,56	30	6,0±0,51	51	2,3±0,38	19	3,4±0,36
3	2,2±0,21	20	5,7±0,48	53	2,9±0,53	27	3,3±0,63
4	1,0± 0,36	11	5,2±0,60	55	3,2±0,32	34	3,2±0,54
5		0	4,4±0,65	49	4,5±0,15	51	3,0±0,42
6		0	3,6±0,54	40	5,3±0,61	60	2,2±0,25
7		0	2,8±0,22	30	6,6±0,20	70	2,0±0,29

В мазке 8-го дня течки присутствуют поверхностные клетки и много промежуточных клеток, лейкоцитов и эритроцитов стало заметно меньше. Фон мазка очищается, становится голубым и более чистым, прозрачным. Такая картина характерна для начала эструса. В последующие наблюдается рост поверхностных клеток и снижение количества промежуточных. При этом появляется больше безъядерных клеток, чем пикно-

тических поверхностных клеток. В клеточном соотношении в мазках прослеживается явный сдвиг вправо (табл. 2).

Таблица 2

Клеточный состав мазка в фазу эструса

Дни полового цикла	Базальные клетки		Промежуточные клетки		Поверхностные клетки		Лейкоциты
	количество	%	количество	%	количество	%	
8		0	2,8±0,55	29	7,0± 0,50	71	2,0±0,27
9		0	2,1±0,31	21	8,0±0,37	79	1,1±0,36
10		0	1,5±0,43	12	11,0±0,43	88	1,0±0,53
11		0	1,2±0,30	12	9,0±0,32	88	
12		0	1,3±0,25	14	7,8±0,15	86	
13		0	1,5±0,28	17	7,1±0,21	83	0,5±0,25
14		0	2,8±0,22	32	5,9±0,27	68	0,4±0,29
15	0,5±0,16	6	2,9±0,14	33	5,4±0,45	61	0,8±0,29
16	0,8±0,23	10	1,7±0,47	22	5,3±0,31	68	1,0±0,36
17	0,6±0,18	8	2,3±0,33	30	4,8±0,28	62	2,3±0,34

В мазках 9, 10 и 11-го дня полового цикла или 2, 3 и 4-го дня эструса почти все клетки поверхностные, многоугольные, безъядерные. Лейкоциты практически исчезли, фон мазка чистый, светло-голубой. Пик ороговения влажной эпителии приходится на 10, 11-й день полового цикла или 3, 4-й день фазы эструса. Как известно, это показатель насыщения организма гормоном эстрадиолом. Следовательно, можно предположить, что примерно через 48 ч ЛГ наберет максимальную концентрацию, а еще через 48 ч произойдет овуляция. Исходя из этого становится возможным рассчитать благоприятные дни для вязки суки.

К окончанию эструса в мазках начинают появляться базальные клетки, в нашем случае с 15-го дня полового цикла или с 8-го дня эструса. Также увеличивается количество промежуточных клеток и снижается количество поверхностных, появляются лейкоциты в небольшом количестве. Фон мазка становится менее прозрачным.

Цитологические мазки фазы диэструса сопровождаются наличием резких изменений в клеточном составе: снова появляются лейкоциты, присутствуют все виды клеток. Уже в начале периода диэструса обнаруживается значительное количество нейтрофилов, число которых увеличивается с каждым днем до 23-го дня полового цикла или до 6-го дня диэструса, затем их количество начинает постепенно снижаться к завершению данной фазы (табл. 3).

Если в начале фазы диэструса еще можем встретить в мазках небольшое количество эритроцитов, то наличие их в дальнейшем говорит о патологии. В ранний диэструс больше поверхностных как пикнотических, так и ороговевших клеток. К 4-му дню фазы базальные (арабазальные) и промежуточные клетки преобладают по количеству поверхностные клетки (табл. 3).

Таблица 3

Клеточный состав мазка в фазу диэструса

Дни полового цикла	Базальные клетки		Промежуточные клетки		Поверхностные клетки		Лейкоциты
	количество	%	количество	%	количество	%	
18	1,1±0,36	13	2,5±0,41	30	4,7± 0,52	57	3,8±0,17
19	1,2±0,32	14	2,7±0,31	32	4,6±0,27	54	4,8±0,31
20	1,0±0,21	12	3,2±0,23	37	4,4±0,21	51	5,0±0,18
21	1,8 ±0,16	18	3,3±0,35	33	4,8±0,35	49	5,6±0,13
22	1,9±0,40	19	4,0±0,25	41	3,9±0,14	40	6,2±0,23
23	1,7±0,13	18	3,9±0,18	42	3,7±0,24	40	8,7±0,35
24	1,2±0,12	13	3,8±0,22	42	4,0 ±0,29	45	7,1±0,19
25	1,6±0,19	16	4,5±0,14	44	4,2±0,37	40	7,5±0,22
26	2,0±0,23	20	4,6±0,17	46	3,5±0,12	34	6,3±0,26
27	2,2±0,28	21	5,1±0,13	49	3,1±0,15	30	5,5 ±0,31
28	2,3±0,29	22	5,2±0,34	50	3,0±0,26	28	4,2±0,23
29	2,5±0,36	21	6,3±0,28	53	3,2±0,20	26	3,3±0,13
30	3,1±0,30		6,9±0,29		2,7±0,21		1,8±0,12

Фаза диэструса свидетельствует об окончании плодных дней, то есть о завершении периода благоприятного для оплодотворения суки. Фон мазка становится грязным и мутным. В цитологическом мазке второй половины периода почти все клетки промежуточные и базальные, немного лейкоцитов.

В стадии анэструса цитологическая картина слизистой оболочки стабильна. Слизистая эпителии влагалища сук имеет 3-5 слоев клеток. Мазки малоклеточные, в них выявляются базальные (парабазальные) эпителиальные клетки, могут встречаться единичные промежуточные клетки и лейкоциты.

Заключение. По результатам цитологических исследований влагалищного мазка собак выявлено, что фазе проэструса соответствует определенная картина влагалищного мазка: базальные (парабазальные) клетки присутствуют только в начале периода, наблюдается тенденция к снижению промежуточных и росту поверхностных клеток. В мазках обнаруживаются эритроциты и лейкоциты. Фон мазка полупрозрачный (мутный). Продолжительность стадии 6-8 дней.

Фаза эструса характеризуется появлением в мазке более 60% пикнотических поверхностных клеток, незначительным количеством эритроцитов и лейкоцитов. Фон мазка становится более чистым и прозрачным. Продолжительность стадии 10-11 дней. Установлено, что у собак наиболее оптимальными днями для вязки являются 3-4 день эструса.

Цитологические мазки фазы диэструса сопровождаются наличием резких изменений в клеточном составе: появляются все виды клеток, обнаруживается значительное количество нейтрофилов. Продолжительность стадии приблизительно 60 дней.

В стадии анэструса цитологическая картина слизистой оболочки стабильна. Мазки малоклеточные, в них выявляются базальные (парабазальные) эпителиальные клетки, могут встречаться единичные промежуточные клетки и лейкоциты. Продолжительность стадии приблизительно 123 дня.

Библиографический список

1. Каштиго, Ж. Л. Концентрация половых гормонов собак в связи с физиологическим состоянием / Ж. Л. Каштиго, Т. В. Ипполитова // Ветеринарная медицина. – М., 2006. – №2. – С. 32-33.
2. Гришина, Д. Ю. Определение оптимального времени для вязки собак / Д. Ю. Гришина, А. О. Мещерякова, Л. А. Минюк // Аграрная наука в условиях инновационного развития АПК : сб. науч. тр. – Кинель, 2015. – С. 58-61.
3. Мещерякова, А. О. Определение фертильного периода у собак методом цитологии / А. О. Мещерякова, Д. Ю. Гришина, Л. А. Минюк // Вклад молодых ученых в аграрную науку : мат. Международной науч.-практ. конф. – Самара, 2015. – С. 163-168.
4. Хамитова, Л. Ф. Нарушение репродуктивной функции у самок собак // Морфологические ведомости. – 2007. – №3-4. – С. 213-215.
5. Хамитова, Л. Ф. Нарушения полового цикла самок собак и методы их коррекции : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.07 / Хамитова Лилия Фирдаусовна. – СПб., 2008. – С. 22.
6. Гришина, Д. Ю. Цитологическое исследование влагалищного мазка у собак / Д. Ю. Гришина, Л. А. Минюк // Вестник Новосибирского ГАУ. – 2014. – № 4 (33). – С. 134-137.
7. Мещерякова, А. О. Цитология мазка у собак // Аграрная наука в условиях инновационного развития АПК : сб. науч. тр. – Кинель, 2015. – С. 58-61.