

Выбор оптимального времени и методы искусственного осеменения собак

Г.П. Дюльгер¹, доктор ветеринарных наук, заведующий кафедрой ветеринарной медицины (dulger@rgau-msha.ru);
Н.И. Колядина², кандидат ветеринарных наук, руководитель центра репродукции и неонатологии (nkoliadina@yandex.ru);
С.В. Акчурин¹, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины (serg0904@yandex.ru);
П.Г. Дюльгер³, кандидат ветеринарных наук, заведующий хирургическим отделением (peterdyulger@gmail.com);
И.В. Акчурина¹, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной медицины (akchurinaiv@rgau-msha.ru);
Е.С. Латынина¹, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной медицины (evgenialatynina@rgau-msha.ru);
М.Е. Обухова¹, кандидат биологических наук, доцент кафедры ветеринарной медицины (sagittarius-86@mail.ru);
Д.В. Свистунов¹, ассистент кафедры ветеринарной медицины (svist@rgau-msha.ru);
М.А. Вершинина¹, студент факультета зоотехнии и биологии (zaruvinskaya.m@yandex.ru).

¹ Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, РФ, Москва, ул. Тимирязевская, д. 47).

² Центр ветеринарной репродукции и неонатологии ВЦ «МедВет» (142005, РФ, Московская обл., г. Домодедово, ул. Кирова, д. 18А)

³ ООО «Вет Сити Центр» (129164, РФ, Москва, Зубарев переулок, д. 7).

Собраны, проанализированы и обобщены литературные сведения по вопросу выбора оптимального времени и методам искусственного осеменения собак на современном этапе. Для обзора были использованы научные статьи, размещенные в библиографических базах данных e-library, Scopus, ResearchGate. Установлено, что искусственное осеменение имеет значительные преимущества по сравнению с естественным: надежное длительное хранение спермы в криобанках, возможность экспорта-импорта генетического материала без транспортировки животных, получение потомства от элитных производителей практически из любого региона страны или мира, в том числе и после их смерти.

Время проведения искусственного осеменения, также как и естественной вязки, определяют по дате овуляции, используя прямые (УЗИ яичников) или непрямые методы ее определения (картина влагалищных мазков, многократные измерения концентрации прогестерона и др.). Яйцеклетка у собак овулирует незрелой на стадии ооцита первого порядка. По этой причине их рекомендуют осеменять двукратно на 2...5-е сутки после овуляции, когда в маточной трубе заканчивается созревания яйцеклетки — формирование ооцита второго порядка. Для инсеминации собак применяют свежеполученную, разбавленную охлажденную и криоконсервированную сперму. При использовании свежеполученной и разбавленной охлажденной спермы методом выбора является внутривлагалищный способ введения спермы, замороженно-оттаянной — трансцервикальный внутриматочный под видеондоскопическим контролем.

Ключевые слова: собаки, самцы, самки, сперма, искусственное осеменение, вспомогательные репродуктивные технологии.

The optimal time and methods of artificial insemination of dogs

G.P. Dyulger¹, Grand PhD in Vet. Sc., Head of the Department of Veterinary Medicine;
N.I. Kolyadina², PhD in Vet. Sc., Head of the Center for Reproduction and Neonatology;
S.V. Akchurin¹, Grand PhD in Vet. Sc., Professor of the Department of Veterinary Medicine;
P.G. Dyulger³, PhD in Vet. Sc., Head of the Surgical Department;
I.V. Akchurina¹, PhD in Vet. Sc., Associate Professor of the Department of Veterinary Medicine;
E.S. Latynina¹, PhD in Vet. Sc., Associate Professor of the Department of Veterinary Medicine;
M.E. Obukhova¹, PhD in Biol. Sc., Associate Professor of the Department of Veterinary Medicine;
D.V. Svistunov¹, assistant of the Department of Veterinary Medicine;
M.A. Vershinina¹, student of the Faculty of Animal Science and Biology.

¹ Russian State Agrarian University-K.A. Timiryazev Agricultural Academy, (h. 47, Timiryazevskaya str., Moscow, RF, 127550).

² Center of Veterinary Reproduction and Neonatology of the MedVet Veterinary Center, (h. 18A, Kirov str., Domodedovo, Moscow region, RF, 142005).

³ ООО «Vet City Center» (h. 7, Zubarev lane, Moscow, RF, 129164).

We collected, analyzed, and summarized information on the optimal timing and methods of artificial insemination of dogs at present. Scientific articles published in the bibliographic databases such as e-library, Scopus, and ResearchGate were used for this review. It has been established that artificial insemination has significant advantages over natural insemination, including reliable long-term storage of sperm in cryobanks, the possibility of exporting and importing genetic material without transporting animals, and obtaining offspring from elite male producers from anywhere in the world, even after their death.

The time of artificial insemination and natural mating is determined by the date of ovulation using direct (ultrasound visualization of the ovaries) or indirect methods (picture of vaginal smears, multiple measurements of blood progesterone concentration, etc.). In dogs, the egg cell ovulates immature at the stage of the oocyte of the first order. For this reason,

it is recommended to inseminate them on the 2nd... 5th days after ovulation, when egg maturation ends in the fallopian tube - the formation of a second-order oocyte.

For dog insemination, freshly obtained, diluted chilled, and cryopreserved sperm are used. When using freshly obtained and diluted cooled sperm, the method of choice is an intra-vaginal method of sperm administration, and frozen-thawed sperm requires transcervical intrauterine insemination under video endoscopic control.

Keywords: dogs, males, females, sperm, artificial insemination, assisted reproductive technologies.

Сокращения: ИО — искусственное осеменение, ИЭ — индекс эозинофилии, ЛГ — лютеинизирующий гормон, УЗИ — ультразвуковое исследование.

Введение

Искусственное осеменение — востребованная в собаководстве вспомогательная репродуктивная технология, при которой сперму, полученную от самца-производителя, с помощью специальных инструментов вводят в половые пути самки для ее плодотворного осеменения [1...4].

Искусственное осеменение имеет существенные преимущества над естественным [1, 2, 4]. Криоконсервация эякулята обеспечивает неограниченно длительное хранение спермы в криобанках, облегчает экспорт-импорт генетического материала и, не транспортируя самку к самцу, позволяет получать потомство от элитных производителей практически из любого региона страны или мира, в том числе и после их смерти.

Работу по искусственному осеменению собак проводят в следующем порядке: получение спермы; оценка качества полученного эякулята; разбавление, хранение и транспортировка спермы; выбор времени осеменения самки; введение спермы в половые пути самки.

Для осеменения собак используют три вида спермы: свежеполученную, разбавленную охлажденную и криоконсервированную.

Половой цикл у собак уникален по особенностям клинического проявления, структуре и продолжительности стадий полового цикла. Яйцеклетка овулирует незрелой на стадии ооцита первого порядка. Ее созревание (образование ооцита второго порядка) происходит только на 2...5-е сут после овуляции [39]. По этой причине самок рекомендуют осеменять на 2-е и 4-е сутки после овуляции, когда завершается оогенез (процесс созревания яйцеклетки) и в маточной трубе формируются зрелые способные к оплодотворению ооциты второго порядка [18].

Выбор времени осеменения по картине влагалищных мазков

Пробы для анализа берут с верхнего свода слизистой оболочки влагалища каждый день или через день, начиная с 8-го дня от начала течки. Полученные мазки высушивают, фиксируют, окрашивают полихромными красителями (гематоксилин-эозин,

Diff-Quick и другими), осматривают под микроскопом и высчитывают ИЭ, который представляет собой процентное отношение поверхностных клеток, окрашенных полихромным методом эозинофильно, к клеткам, окрашенным базофильно (рис. 1).

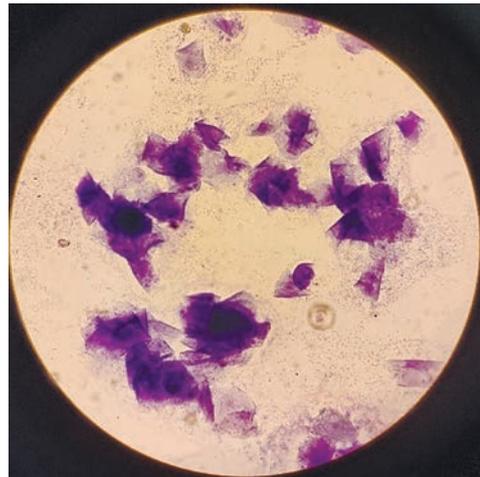


Рис. 1. Влагалищный мазок, взятый от самки в начале эструса. Окрашивание Diff-Quick. Окуляр x 20, объектив x 40. Все клетки поверхностного слоя эпителиального пласта безъядерные, неправильной формы, эритроциты отсутствуют
Vaginal smear taken from a female dog at the beginning of estrus. Stained with Diff-Quick. Eyepiece x 20, objective x 40. All cells in the superficial layer of the epithelial sheet are anuclear, irregularly shaped, and no erythrocytes are present

ИЭ напрямую зависит от степени эстрогенной стимуляции и положительно коррелирует с кариопикнозом (эстрогены вызывают сначала кариопикноз, а затем эозинофилию). Оптимальным временем для ручного спаривания и искусственного осеменения собак по картине влагалищных мазков считают стадию эструса, когда процент поверхностных клеток в вагинальных мазках, окрашенных полихромным методом эозинофильно, достигает 80 % и более. [1...3, 14, 17, 21, 29]. К сожалению, результаты цитологического анализа клеток слизистой оболочки влагалища далеко не всегда совпадают со сроками проявления преовуляторного выброса ЛГ и датой овуляции, поэтому они позволяют определять время для естественной вязки и/или искусственной инсеминации собак только ориентировочно [9, 29].

Выбор времени осеменения по концентрации прогестерона в плазме крови

Концентрация прогестерона в стадию анэструса и проэструса находится на самом низком базальном

уровне и составляет $<0,5$ нмол/л или $0,16$ нг/мл. В конце проэструса или в начале эструса концентрация прогестерона непосредственно перед проявлением преовуляторного пика ЛГ начинает повышаться. При проявлении преовуляторного пика ЛГ уровень прогестерона в крови достигает $6...9$ нмол/л или $2...3$ нг/мл. Овуляция наступает спустя $1...2$ дня после преовуляторного пика ЛГ при уровне прогестерона в крови $12...24$ нмол/л или $4...8$ нг/мл. Стадии зрелости яйцеклетка достигает через $2...3$ дня после овуляции или $4...5$ сут после проявления преовуляторного пика ЛГ.

После овуляции концентрация прогестерона прогрессивно возрастает, что к концу эструса или в начале диэструса приводит к закрытию канала шейки матки. По одним материалам [33], закрытие цервикального канала происходит при уровне прогестерона в крови $68,9 \pm 15,4$ нмол/л ($21,67 \pm 4,81$ нг/мл), по другим [40], — $81,2 \pm 12,3$ нмол/л ($25,5 \pm 3,87$ нг/мл).

Кровь для анализа берут многократно (ежедневно или через день, начиная с 8-го дня от начала течки) и отправляют в ветеринарную лабораторию для гормонального анализа. Концентрацию прогестерона в плазме периферической крови определяют радиоиммунологическим или ферментоиммунологическим методами в день доставки крови в лабораторию. Время осеменения устанавливают на основании ретроспективного анализа результатов измерения концентрации прогестерона в плазме крови.

Согласно R.W. Concannon [9], при ежедневном измерении концентрации прогестерона у самок, начиная с середины стадии проэструса, определить день проявления преовуляторного выброса ЛГ и, соответственно, рассчитать оптимальное время для проведения естественной вязки или искусственной инсеминации можно с точностью от $\pm 0,5$ до ± 1 дня.

У большинства самок овуляция наступает при концентрации прогестерона в плазме крови $2...4$ нг/мл, у некоторых — $6...8$ нг/мл. Оптимальное время для осеменения собак — $2...5$ -е сутки после овуляции, когда концентрация прогестерона достигает $10...20$ нг/мл или $30...60$ нмол/л [16]. Осеменяют собак свежеполученной и охлажденной спермой однократно или двукратно с перерывом 48 ч заморожено-оттаянной — однократно, двукратно или трехкратно с перерывом 24 ч.

W.K. Farstad [11] рекомендует осеменять собак при концентрации гормона в плазме крови $15...24$ нмол/л двукратно через 48 и 64 ч после анализа; при концентрации $25...34$ нмол/л — на следующие сутки после определения содержания гормона и повторно через 24 ч; при концентрации гормона $35...60$ нмол/л — в день проведения анализа и повторно через 24 ч; при концентрации свыше 60 нмол/л — однократно в день исследования, если цервикальный канал не закрыт. На основании ретроспективного анализа результатов осеменения автор пришел к заключению, что в идеале в день первого осеменения концентра-

ция прогестерона крови собак должна составлять $35...54$ нмол/л ($12...18$ нг/мл), второго осеменения — $55...75$ нмол/л ($19...25$ нг/мл).

Ультразвуковой мониторинг преовуляторных фолликулов и овуляции или фолликулометрия

Животных исследуют на столе в боковом положении или, реже (при сканировании правого яичника), в положении стоя с помощью секторного трансабдоминального датчика с частотой 7,5 или 10 МГц. Электрической машинкой выстригают и удаляют шерсть на боковой стороне живота в проекции левой и правой почки. Яичники визуализируют по характерной мелкоячеистой структуре у каудального полюса левой и правой почки, соответственно. Левый яичник визуализируется значительно легче и быстрее, чем правый. Процедура хорошо переносится собаками, поэтому седация не требуется. На обследовании одной собаки затрачивается в среднем 20 мин [12].

УЗИ яичников выполняется ежедневно до установления факта наступления овуляции. Преовуляторные фолликулы определяются как анэхогенные или гипоэхогенные структуры округлой формы размером $4...10$ мм (рис. 2).

Эхографическими признаками произошедшей овуляции служат полный коллапс и/или (чаще) существенная редукция и изменение формы полости преовуляторных фолликулов. Косвенным признаком произошедшей овуляции может служить также наличие гипоэхогенной жидкости в пространстве между яичником и овариальной бурсой (рис. 3).



Рис. 2. Стереотипная эхограмма яичника собаки в преовуляторный период. Визуализируются три крупных преовуляторных фолликула в виде округлых или округло-вальных анэхогенных образований диаметром до $7,6...10,2$ мм. УЗИ проведено на аппарате Mindray DC-8 с использованием трансабдоминального датчика

Stereotypical ultrasound of a dog's ovary during the preovulatory period. Three large preovulatory follicles are visualized as round or oval anechoic structures with a diameter of up to $7.6...10.2$ mm. Ultrasound scanning was performed using a Mindray DC-8 machine with a transabdominal probe



Рис. 3. Эхограмма яичника собаки после произошедшей овуляции. Визуализируется редукция и изменение контуров полости преовуляторных фолликулов со скоплением свободной анэхоичной жидкости в полости овариальной бursы. УЗИ проведено на аппарате Mindray DC-8 с использованием трансабдоминального датчика

Ultrasound examination of a dog's ovary after ovulation reveals a reduction and change in the contours of the preovulatory follicle cavity with the accumulation of free anechoic fluid in the ovarian bursa cavity. The ultrasound scan was performed using a transabdominal probe on the Mindray DC-8 machine

По данным УЗИ овуляция фолликулов у собак происходит при концентрации прогестерона в крови 4,5...6,5 нг/мл [12].

При наличии хорошего клинического опыта и при тщательном ежедневном трансабдоминальном сканировании яичников с использованием высококачественной ультразвуковой аппаратуры эффективность (точность) детекции овуляции достигает 93,2...100 % [7, 12]. При комплексном обследовании (параллельно с измерением уровня прогестерона в крови) УЗИ яичников позволяет повысить точность диагностики овуляции у собак на 15,3 % [12].

Недостатки метода: трудоемкий, дорогой, требует применения дорогостоящего оборудования, клинического опыта и мало приемлем для диагностики овуляции у собак крупных по размеру пород.

Способы искусственного осеменения

По месту введения спермы в половые пути самки способы искусственного осеменения собак подразделяют на влагалищные и внутриматочные.

Влагалищный способ осеменения. Самку удерживают в стоячем положении. Половые органы ее обмывают теплой водой и орошают 1 %-м раствором бикарбоната натрия. По верхнему своду преддверия влагалища и влагалища вводят полистироловой катетер для осеменения собак. Продвижение катетера к цервикальному каналу контролируют рукой через брюшную стенку. С помощью адаптера к катетеру присоединяют стерильный одноразовый шприц со спермой. Осеменатор, сидящий на стуле, поднимает на свое левое бедро заднюю часть тела собаки. Собаку удерживают в наклонном положении (под углом 45...60 градусов): спереди за шейник — владелец,

сзади — ветеринарный врач-осеменатор, который одной рукой захватывает самку за бедро, другой (активной) — медленно вводит сперму из шприца во влагалище.

По материалам японских исследователей [39], при естественной вязке спермии начинают выделяться из маточной фистулы, выведенной через разрез брюшной стенки наружу, уже через 30...60 с, тогда как при инструментальном введении спермы в краниальную часть влагалища — у каждой второй самки выделение спермиев через маточную фистулу наступает только через 2 мин и более. По этой причине после извлечения катетера собаку рекомендуют удерживать в наклонном положении в течение от 1 мин [25] до 5...20 мин [18, 24]. Наклонное положение самки способствует быстрому проникновению спермы в матку.

Для внутривлагалищного осеменения собак используют также гибкие резиновые катетеры Osiris или MAVIC с баллоном на конце (рис. 4.), который наполняют стерильным изотоническим раствором натрия хлорида и удерживают катетер в нужном положении внутри влагалища, имитируют «половой замок», тем самым предотвращая рефлюкс спермы из половых органов наружу.

Объем вводимой дозы может варьироваться от 1...2 до 5...8 мл, что зависит от размеров самки. Хорошие результаты получают при осеменении собак свежеполученной спермой. По частоте наступления беременности и/или по результатам щенения эффективность внутривлагалищного осеменения собак свежеполученной спермой составляет 47,7...94 % [15, 16, 23, 25, 26, 36].

По материалам японских исследователей [36], чтобы получить сопоставимые с естественной вязкой по частоте оплодотворения и развития беременности результаты (89...100 % против 95,0 %) в спермодозе, объемом 1...3 мл, при интравагинальной инсеминации свежеполученной спермой должно содержаться



Рис. 4. Схема интравагинального осеменения собаки с использованием гибкого резинового катетера с баллоном на конце
The scheme of intravaginal insemination in dogs using a flexible rubber catheter with a balloon at the end

не менее $200 \cdot 10^6$ спермиев с активностью 75...100 % и жизнеспособностью 87,5...97,5%.

Эффективность интравагинальной инсеминации собак разбавленной охлажденной спермой зависит от широкого круга факторов: состава и протективных свойств искусственной среды, технологии разбавления и хранения спермы, репродуктивного здоровья самки, выбора времени и кратности осеменения, и т. д.

При кратковременном хранении разбавленной спермы ее эффективность существенно не отличается от свежеполученной и достигает 45,1...95,0 % [16, 26].

Результативность осеменения собак замороженно-оттаянной спермой при внутривлагалищном способе ее введения не постоянна и, по данным большинства исследователей [16, 22, 23, 34, 35], она достигает 10...39,0 %.

Внутриматочный способ инсеминации. В литературе описаны два нехирургических и два хирургических способа внутриматочного осеменения собак.

Нехирургический внутриматочный способ осеменения при помощи эндоскопа. Способ разработан в Новой Зеландии [41, 42]. Для трансцервикального внутриматочного осеменения собак применяют тубусный цистоскоп (№ 23 по шкале Шаррьера) с оптической трубкой (длиной 30 см, диаметром 4 мм с углом зрения 25...30°), источником света и инструментальным каналом для осеменительного инструмента, гибкий полистероловый трансцервикальный катетер с изогнутым кончиком. Современные эндоскопы снабжены видеосистемой. Видеоэндоскопы более удобны в работе. Они не только обеспечивают показ изображения на мониторе и его прямую запись на персональный компьютер, но и дают возможность

владельцу животного в режиме реального времени наблюдать за ходом искусственного осеменения его собаки (рис. 5).

Самку фиксируют в положении стоя на столе. Прибор вводят по верхнему своду влагалища до ее самой узкой, парацервикальной части. Непосредственно через окуляр оптической трубки или при помощи видеосистемы визуализируют вход в канал шейки матки (рис. 5), который расположен между медиальной парацервикальной складкой влагалища и цервикальным бугорком. Под визуальным контролем через инструментальный канал прибора в цервикальный канал направляют гибкий полистироловой трансцервикальный катетер с изогнутым кончиком (рис. 6). Изогнутый кончик катетера облегчает его введение в цервикальный канал.

После внутриматочного введения спермы заднюю часть туловища поднимают, эндоскоп и катетер для осеменения извлекают из половых органов. Чтобы минимизировать вероятность рефлюкса введенной в матку спермы наружу — в краниальную часть влагалища, самку удерживают в наклонном положении в течение 5...10 мин. Для трансцервикального внутриматочного осеменения можно также использовать гибкий эндоскоп, который вводят во влагалище собак при помощи интубационной трубки с надувной манжетой.

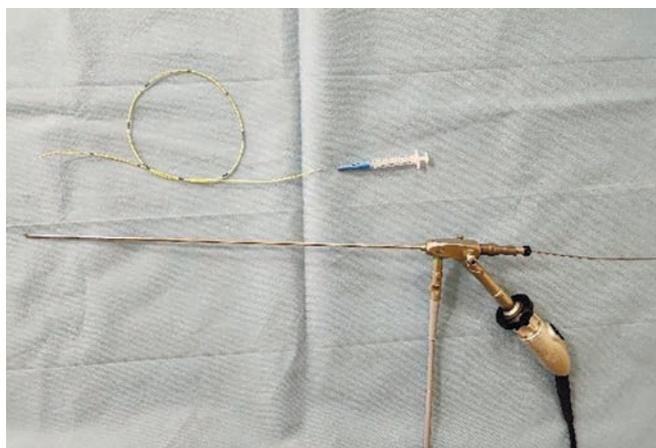
Процедура инсеминации занимает от 5 до 35 мин [9] или в среднем 14...18 мин [17]. Самой трудоемкой ее частью является визуализация и катетеризация цервикального канала (рис. 6). На визуализацию шейки матки и введение под контролем видеоэндоскопа катетера в полость тела матки требуется в среднем 6,5...7,5 мин [14, 17]. Объем вводимой спермодозы зависит от размера животного. Для собак той-пород ее объем традиционно составляет 1 мл, среднего размера — 1-2 мл, крупных пород — 2,0...2,5 мл [17]. Допускает увеличение объема вводимой дозы 2...3 раза. По материалам S.J. Mason, N.R. Rous [20], увели-



а

Рис. 5. Оборудование ветеринарного кабинета для проведения ИО собак в ВЦ «Медвет»: УЗИ-аппарат экспертного класса, видеоэндоскопическая система; фиброэндоскоп фирмы KARL STORZ с трансцервикальным катетером для введения спермы через рабочий канал эндоскопа

Equipment for Artificial Insemination of dogs in the «Medvet» Veterinary Clinic: Expert-class ultrasound machine, video endoscopic system; KARL STORZ fiber endoscope with a transcervical catheter for introducing semen through the working channel of the endoscope



б

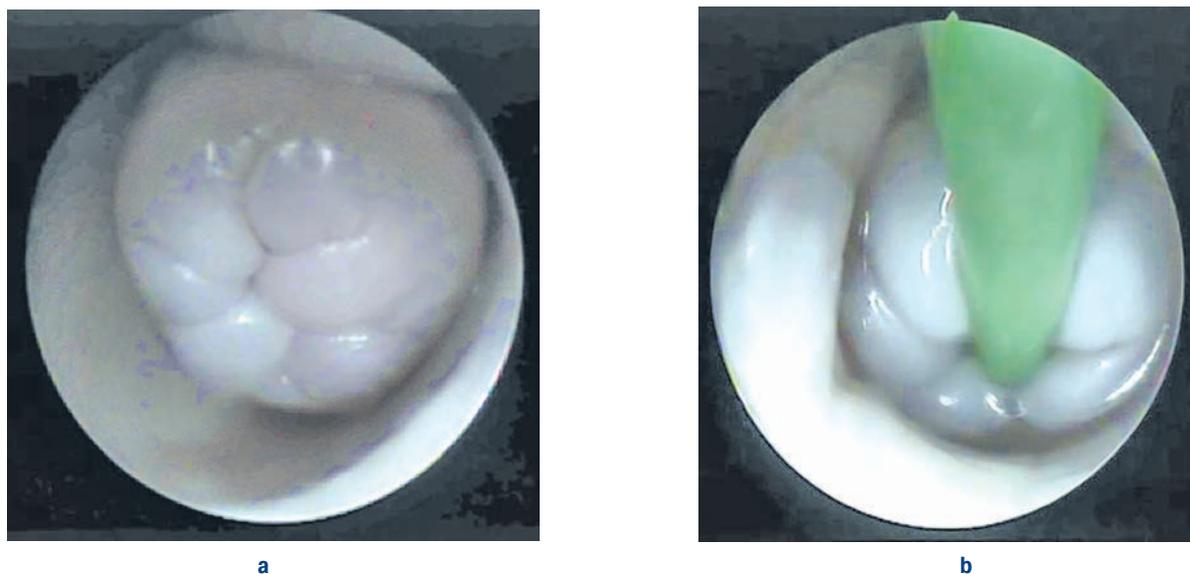


Рис. 6. Визуализация входа в канал шейки матки (a) и его катетеризация (b) под контролем видеоэндоскопа
Visualization of the entrance to the cervical canal (a) and its catheterization (b) under the control of a video endoscope

чение объема вводимой спермодозы положительно сказывается на частоте наступления беременности и плодовитости. Для минимизации случаев рефлюкса спермы во влагалище, особенно при использовании больших ее объемов, сперму вводят медленно. При эндоскопической визуализации рефлюкса в краниальную часть влагалища введение спермы приостанавливают на несколько минут. Место диспозиции спермы в полости матки, по-видимому, не влияет на результативность осеменения.

По частоте наступления беременности и/или по результатам щенения эффективность трансцервикальной инсеминации собак под эндоскопическим контролем при использовании заморожено-оттаянной достаточно высокая и составляет 57,9...100 % [10, 14, 15, 17, 19, 20, 22, 27, 30, 43].

При содержании в спермодозе >150 млн активных спермиев эффективность осеменения криоконсервированной спермой достигает 76 %, при 100...150•10⁶ — 68 %, <100•10⁶ — 56 % [19]. По своей эффективности эндоскопически-ассистированный трансцервикальный метод внутриматочного осеменения не уступает трансцервикальной инсеминации с использованием норвежского катетера [19].

Недостатки способа: он неприемлем для нервных самок и самок с длинным влагалищем; процедура внутриматочного осеменения очень сложна и трудоемка, связана с использованием дорогих инструментов и необходимостью специальной предварительной подготовки.

Нехирургический внутриматочный способ осеменения собак с помощью норвежского катетера, Способ разработан в Швеции для осеменения лисиц, [5]. Катетер состоит из защитной нейлоновой оболочки толщиной 10 мм, тонкой металлической трубки диаметром 1...2 мм, рабочий конец которой (более узкий, толщиной 0,75...1 мм), тупой с боковым выходящим отверстием, другой (входной) — открытый

с разъемом для присоединения шприца. Выпускают три модели норвежского катетера: длиной 20, 30 и 40 см. Катетеры длиной 20 см предназначены для осеменения мелких собак, 30 и 40 см — средних и крупных по размеру самок, соответственно.

Металлический катетер в нейлоновой протекторной оболочке вводят по верхнему своду влагалища в его краниальную часть. С помощью большого и указательного пальцев захватывают шейку матки и контролируют продвижение катетера до входа в цервикальный канал (рис. 7.) Металлический катетер выдвигают из защитной оболочки. Осторожно манипулируя катетером и шейкой матки, отыскивают вход в канал шейки матки. Цервикальный канал проходят, вращая катетер и оттягивая шейку матки вперед и вниз. Длина канала шейки матки составляет всего 0,5...1 см. Сперму вводят, удостоверившись, что кончик катетера находится в теле матки. Катетер извлекают. Самке придают наклонное положение и удерживают в нем в течение 10 мин, введя во влагалище большой палец.

Опытный ветеринарный врач на отыскание шейки матки и введение катетера в полость тела матки

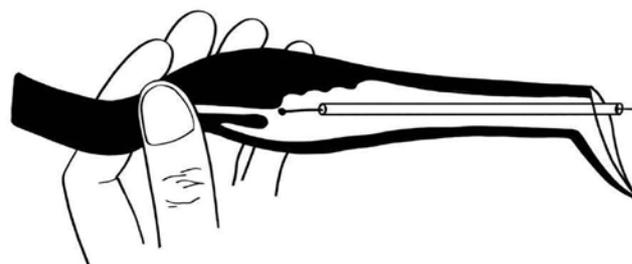


Рис. 7. Техника трансабдоминальной фиксации шейки матки пальцами руки и катетеризации цервикального канала с использованием норвежского катетера
Technique of transabdominal fixation of the cervix using the fingers of the hand and catheterization of the cervical canal with a Norwegian catheter

затрачивает около 1 мин. Эффективность катетеризации цервикального канала и введения спермы в полость тела матки достигает 95,5...98,0 % [6].

Метод прошел широкую клиническую апробацию и доказал свою высокую эффективность при использовании как свежеполученной, так и заморожено-оттаянной спермы. Так, при использовании для осеменения свежеполученной и/или разбавленной охлажденной спермы эффективность достигает 62,0 % [16], заморожено-оттаянной — 39,0...84,4 % [11, 16, 34, 35].

Недостатки способа: неприемлем для нервных и тучных собак; связан с риском травмирования и инфицирования половых органов самки; технически трудновыполним — необходимы специальная подготовка и постоянная практика.

Хирургический внутриматочный способ осеменения через разрез брюшной стенки. Самок выдерживают на голодной диете 18...24 ч. Под общим наркозом фиксируют на столе в спинном положении. Крышку операционного стола переводят в наклонное положение, чтобы вызвать смещение внутренних органов вперед и облегчить процедуру обнаружения рогов матки в брюшной полости. С соблюдением правил асептики и антисептики готовят операционное поле и делают разрез по белой линии живота. После топографической ориентации в брюшной полости из операционной раны извлекают и при помощи пластикового катетера, надетого на иглу, пунктируют один или оба рога матки (рис. 8). После прокола катетер продвигают вперед по просвету рога матки, иглу извлекают и через разъем катетера в его полость при помощи шприца вводят сперму в небольшом объеме (примерно 0,5...3 мл). После извлечения катетера место пункции прижимают стерильным тампоном. Брюшную стенку зашивают обычным способом.

При использовании свежеполученной неразбавленной спермы эффективность хирургической внутриматочной инсеминации достигает 71,8...83,7 % [8, 13], замороженно-оттаянной спермы (при содержании в спермодозе ≥ 200 млн активных спермиев) — 45,0...70,8 % [8, 20].

По эффективности хирургически-ассистированный внутриматочный способ инсеминации существенно уступает внутриматочной инсеминации под эндоскопическим контролем. В работе S.J. Mason, N.R. Rous [20] при примерно одинаковом количестве активных спермиев в спермодозе после размораживания ($94,4 \pm 47,6 \cdot 10^6$ против $126,1 \pm 65,9 \cdot 10^6$) частота оплодотворения и развития беременности у собак после внутриматочной инсеминации при использовании хирургического способа введения спермы в полость матки составила 45 %, тогда как при эндоскопически-ассоциированной трансцервикальной внутриматочной инсеминации — 65 %.

В настоящее время хирургический способ введения спермы в полость матки собаки из-за его инвазивности, трудоемкости и малой пригодности для массового практического применения, а также

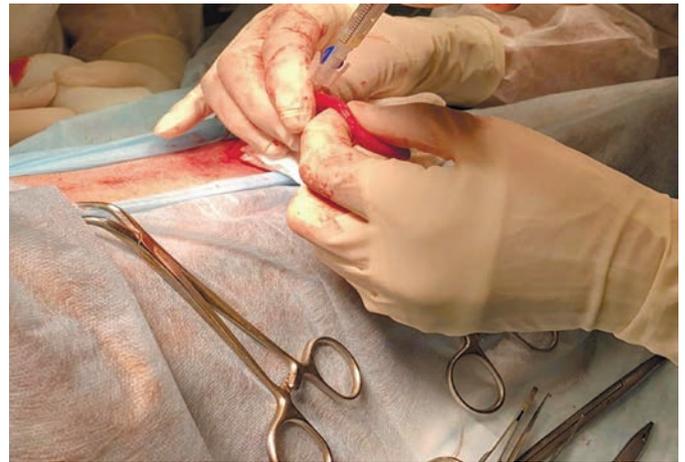


Рис. 8. Техника хирургического внутриматочного способа осеменения. Введение спермы через катетер непосредственно в полость рога матки
The technique of surgical intrauterine insemination. Introduction of sperm directly into the horn of the uterus via catheter.

риска развития осложнений во время наркоза, в ходе оперативного вмешательства и/или в послеоперационном периоде имеет ограниченное число сторонников. При выборе способа внутриматочной инсеминации подавляющее большинство владельцев животных (96,8 %) предпочитают осеменять своих собак внутриматочно через трансцервикальный доступ с эндоскопической ассистенцией [15]. Более того, из-за высокой инвазивности хирургического метода в ряде стран Европы (Великобритании, Норвегии и Швеции) по этическим соображениям его практическое применение запрещено [28].

Хирургический внутриматочный способ осеменения с помощью лапароскопа и специальной пипетки с игольчатым наконечником. Разработан в Японии [38] и подробно описан в работе L.D. Silva, K. Onclin, J.P. Verstegen [33]. Самку выдерживают на голодной диете. Под общим наркозом фиксируют на операционном столе в наклонно-спинном положении. Вентральную поверхность живота выбривают, обрабатывают антисептиками. При помощи иглы в брюшную полость накачивают диоксид углерода. Отступив от пупка 1 см назад по белой линии, при помощи троакара сначала в брюшную полость вводят световод диаметром 8 мм, соединенный с камерой лапароскопа, отыскивают рога матки, затем на правой стороне живота, отступив 2 см в сторону от заднебрюшной молочной железы, вводят второй троакар диаметром 5 мм. Эндоскопическими щипцами, введенными в брюшную полость через канюлю троакара, захватывают тело матки и подтягивают к вентральной поверхности брюшной стенки. Брюшную стенку и рог матки прокалывают иглой, через просвет которой вводят внутриматочный катетер. Иглу извлекают и через катетер осеменяют самку.

По материалам T. Tsutsui, E. Kawakami, I. Murao [38], при использовании свежеполученной спермы эффективность однократного внутриматочного осеменения в полость верхушки рога матки под

контролем лапаротомии достигает: при содержании в спермодозе $20 \cdot 10^6 / 0,1$ мл или $40 \cdot 10^6 / 0,2$ мл — 100 %, $10 \cdot 10^6 / 0,1$ мл — 90 %, $3 \dots 5 \cdot 10^6 / 0,1$ мл — 28 %.

По другим материалам [32, 33], при двукратной инсеминации собак на 3-и и 5-е или 4-е и 6-е сутки после проявления преовуляторного пика ЛГ свежеполученной спермой в объеме 1 мл (250...460 млн спермиев) эффективность внутриматочной инсеминации составляет 100 %, при использовании криоконсервированной в форме соломинок спермы объемом 0,5 мл и содержании в спермодозе $200 \cdot 10^6$ спермиев/мл, активности спермиев после размораживания > 60 % и доле живых спермиев >80 % она составляет 60 %.

Недостатки способа: очень сложен, трудоемок, связан с использованием дорогостоящей аппаратуры, малопригоден для широкого производственного применения. При проколе брюшной стенки и проведении манипуляций в брюшной полости существует риск повреждения крупных сосудов и внутренних органов.

Заключение

Искусственное осеменение — востребованная, получившая широкое практическое применение в собаководстве репродуктивная технология, позволяющая без транспортировки самки к самцу, получать потомство от элитных производителей из других городов и стран.

Оптимальное время для осеменения собак — 2...5-е сутки после овуляции, когда в маточной трубе заканчивается созревания яйцеклетки — формирование ооцита второго порядка, а концентрация прогестерона в крови достигает 10...20 нг/мл или 30...60 нмол/л. Осеменяют собак свежеполученной и охлажденной спермой однократно или двукратно с перерывом 48 ч, заморожено-оттаянной — двукратно или трехкратно с перерывом 24 ч.

При использовании свежеполученной и разбавленной охлажденной спермы методом выбора является внутривлагалищный способ инсеминации с использованием гибкого резинового катетера с баллоном на конце, замороженно-оттаянной — трансцервикальный внутриматочный под видеоэндоскопическим контролем.

Конфликт интересов

Авторы статьи не имеют финансовых или личных отношений с другими лицами или организациями, которые могли бы повлиять на достоверность или содержание этой работы.

Библиография

1. Dyul'ger G.P., Dyul'ger P.G., Fiziologiya razmnozheniya i reproductivnaya patologiya sobak: Uchebnoe posobie dlya vuzov [Physiology of reproduction and reproductive pathology of dogs:

- A textbook for universities], Saint Petersburg, Lan', 2022, 236 p. ISBN 978-5-8114-9335-7. EDN CLFNZR. (In russ.).
- Dyul'ger G.P., Dyul'ger P.G., Sedleczkaya E.S., Kolyadina N.I., Sovremennyy'e metody' iskusstvennogo osemeneniya sobak [Modern methods of artificial insemination of dogs], Rossijskij veterinarnyj zhurnal, 2017, No. 8, pp. 34-38. EDN ZIGNKH. (In russ.).
 - Plemyashov K.V., Plaxova A.I., Metody' opredeleniya vremeni vyazki u sobak [Methods for determining the mating time in dogs], Mezhdunarodny'j vestnik veterinarii, 2018. No. 2, pp. 106-112. (In russ.).
 - Sorokoletova V.M., Shmidt Yu.D., Analiz primeneniya svezhej, oxlazhdennoj i kriokonservirovannoj spermy' i opyt' ispol'zovaniya nativnoj spermy' pri iskusstvennom osemenenii sobak (obzor inostrannoj literatury') [Analysis of the use of fresh, chilled and cryopreserved sperm and the experience of using native sperm in artificial insemination of dogs (review of foreign literature)], Vestnik NGAU (Novosibirskij gosudarstvenny'j agrarnyj universitet), 2008, No. 1, pp. 66-68. (In russ.).
 - Andersen K., Insemination with frozen dog semen based on a new insemination technique, Reprod. Dom. Anim., 1975, Vol. 10, Iss.1, pp. 1-4.
 - Blendiger K., Techniques of artificial insemination by fresh, chilled and frozen semen, Proceeding of SCIVAC Congress, Rimini, Italy, 2007, pp. 87-89.
 - Bocci F., Di Salvo P., Zelli R., Polisca A., Ovarian ultrasonography and progesterone concentration during the pre-ovulatory period in bitches, Proceeding of 5th biannual EVSSAR congress. 7th-9th April 2006, Budapest, Hungary, p. 275.
 - Burgess D.M., Mitchell K.E., Thomas P.G.A., Coeliotomy-assisted intrauterine insemination in dogs: a study of 238 inseminations, Aust. Vet. J. Small Animals., 2012, Vol. 90, Iss. 8, pp. 283-290.
 - Concannon P.W., Canine Breeding Management and Artificial Insemination: Techniques and Caveats, Proceedings of the 29th World Congress of WSAVA, Rhodes, Greece, 8-9 Oct. 2004. online). Available from: <www.vin.com /proceedings/ Proceedings.plx?CID=WSAVA2004&0+Generic>.
 - Cremonesi F., Salamon L., Groppetti D., Pecile A., Results of a single transcervical endoscopic insemination using frozen semen in the bitch, Vet. Res. Commun., 2005, Suppl 2, pp. 187-189. doi: 10.1007/s11259-005-0039-8.
 - Farstad W.K., Artificial insemination in dogs, BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology, Ed. G. England, A. von Heimendahl (2nd ed.), BSAVA, 2010, pp. 80-88.
 - Fontbonne A., In vivo ovulation, oocyte maturation and fertilization in the bitch. PhD Thesis, France, Paris University, Agro Paris Tech, 2008, 109 p.
 - Gaytán L., Rascón C.R., Angel-García O. et al., Factors influencing English Bulldog bitch fertility after surgical uterine deposition of fresh semen, Theriogenology, 2019, Available from: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.10.018>.
 - Hayashi K., Morita R., Ono M, et al., Evaluation of transcervical insemination using frozen semen by flexible endoscope in dogs, J. Vet. Med. Sci., 2013, Vol. 75, No. 3, pp. 315-318.
 - Hollinshead F.K., Hanlon D.W., Factors affecting the reproductive performance of bitches: A prospective cohort study involving 1203 inseminations with fresh and frozen semen, Theriogenology, 2017, Vol. 101, pp. 62-72.
 - Linde-Forsberg C., Canine artificial insemination: State of the Art, Proceeding of 7th EVSSAR Congress, Louvain-La-Neuve, Belgium, 2010, pp. 22-26.
 - Macedo S.P., Malm C., Henry M.R. et al., Endoscopic transcervical intrauterine artificial insemination in Labrador Retriever bitches, Res. Vet. Sci., 2012, Vol. 92, No. 3, pp. 494-500.
 - Makloski C.L., Clinical techniques of artificial insemination in dogs, Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., 2012, Vol. 42, pp.439-444.
 - Mason S.J., A retrospective clinical study of endoscopic-assisted transcervical insemination in the bitch with frozen-thawed dog semen,

- Reprod. Domest. Anim., 2017, Vol. 52 (Suppl 2), pp. 275-280. doi: 10.1111/rda.12864.
20. Mason S.J., Rous N.R., Comparison of endoscopic-assisted transcervical and laparotomy insemination with frozen-thawed dog semen: A retrospective clinical study, *Theriogenology*, 2014, Vol. 82, pp. 844-850.
 21. Mason S.J. Current Review of Artificial Insemination in Dogs, *Vet. Clin. Small Anim.*, 2018, Vol.48(4), pp.567-580. DOI: 10.1016/j.cvsm.2018.02.005.
 22. Nizański W., Comparisons of results of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with frozen-thawed semen, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 2005. Available from: <http://www.ejpau.media.pl/volume8/issue4/art-12.html>
 23. Nizański W., Intravaginal insemination of bitches with fresh and frozen-thawed semen with addition of prostatic fluid: use of an infusion pipette and the Osiris catheter, *Theriogenology*, 2006, Vol. 66(2), pp.470-483. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.01.001.
 24. Payan-Carreira R., Miranda S., Nizanski W., *Artificial Insemination in Dogs, Artificial Insemination in Farm Animals*, Ed. by Milad Manafi, The Author, 2011, pp.51-78.
 25. Pinto C.R., Eilts B.E., Paccamonti D.L., The effect of reducing hindquarter elevation time after artificial insemination in bitches, *Theriogenology*, 1998, Vol.50, pp.301-305.
 26. Pinto C.R., Paccamonti D.L., Eilts B.E., Fertility in bitches artificially inseminated with extended, chilled semen, *Theriogenology*, 1999, Vol. 52, pp. 609-616.
 27. Pretzer S.D., Lillich R.K., Althouse G.C., Single, transcervical insemination using frozen-thawed semen in the Greyhound: a case series study, *Theriogenology*, 2006, Vol. 65, No. 6, pp. 1029-1036.
 28. Quartuccio M., Biondi V., Liotta L., Passantino A., Legislative and ethical aspects on use of canine artificial insemination in the 21st century, *Ital. J. Anim. Sci.*, 2020, Vol. 19(1), pp. 630-643. DOI: 10.1080/1828051X.2020.1775503.
 29. Reckers F., Klopffleisch R., Belik V., Arlt S., *Canine Vaginal Cytology: A Revised Definition of Exfoliated Vaginal Cells*, *Frontiers in Veterinary Science*, 2022. DOI:10.3389/fvets.2022.834031
 30. Rota A., Iguer-Ouada M., Verstegen J., Linde-Forsberg C., Fertility after vaginal or uterine deposition of dog semen frozen in a tris extender with or without equex STM paste, *Theriogenology*, 1999, Vol. 51, pp. 1045-1058.
 31. Shimatsu Y., Katagiri K., Rakawah H. et al., Fertilities from Mating and Artificial Insemination with Frozen-Thawed Spermatozoa by Indexing LH Surge in Beagle Bitches, *J. Reprod. Dev.*, 2000, Vol.46(5), pp. 315-318. DOI: <https://doi.org/10.1262/jrd.46.315>
 32. Silva L.D.M., Onclin K., Lejeune B., Verstegen J.P., Comparisons of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen, *Vet. Rec.*, 1996, Vol. 138(7), pp. 154-157. doi: 10.1136/vr.138.7.154.
 33. Silva L.D.M., Onclin K., Snaps F., Verstegen J.P., Laparoscopic intrauterine insemination in the bitch, *Theriogenology*, 1995, Vol. 43, pp. 615-623.
 34. Thomassen R., Farstad W., Krogenæs A. et al., Artificial insemination with frozen semen in dogs: a retrospective study, *J. Reprod. Fertil.*, 2001, Vol. 57, pp.341-346.
 35. Thomassen R., Sanson G., Krogenæs A. et al., Artificial insemination with frozen semen in dogs: A retrospective study of 10 years using a non-surgical approach, *Theriogenology*, 2006, Vol. 66, Iss. 6-7, pp. 1645-1650.
 36. Tsutsui T., Tezuka T., Shimizu T. et al., Artificial Insemination with Fresh Semen in Beagle Bitches, *Japan. J. of Vet. Sci.*, 1988, Vol. 50, No. 1, pp. 193-198.
 37. Tsutsui T., Shimizu T., Ohara N. et al., Relationship between the number of sperms and the rate of implantation in bitches inseminated into unilateral uterine horn, *Nihon Juig. Zass.*, 1989, Vol. 51, pp.257-263.
 38. Tsutsui T., Kawakami E., Murao I., Ogasa A., Transport of Spermatozoa in the Reproductive Tract of the Bitch: Observations Through Uterine Fistula, *Japan. J. Vet. Sci.*, 1989, Vol. 51, No. 3, pp. 560-565.
 39. Tsutsui T., Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs, *J. Reprod. Fertil.*, 1989, Vol.39 (Suppl), pp.269-275.
 40. Verstegen J.P., Silva L.D., Onclin K., Determination of the role of cervical closure in fertility regulation after mating or artificial insemination in beagle bitches, *J. Reprod. Fertil.*, 2001, Vol.57 (Suppl), pp 31-34.
 41. Wilson M.S., Transcervical insemination techniques in the bitch, *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 2001, Vol. 31(2), pp. 291-304. doi: 10.1016/s0195-5616(01)50206-5.
 42. Wilson M.S., Non-surgical intrauterine artificial insemination in bitches using frozen semen, *J. Reprod. Fertil.*, 1993, Vol. 47, pp. 307-311.

ЗАБОТА О ЗДОРОВЬЕ ЧЕТВЕРОНОГИХ ПОМОЩНИКОВ: КАК ЛЕЧАТ СОБАК-ПРОВОДНИКОВ В МОСКВЕ

Международный день собак-проводников отмечается 26 апреля. В Москве четвероногие помощники получают ветеринарную помощь на безвозмездной основе. Ветеринарные врачи государственных клиник Москвы проводят полную диспансеризацию таких питомцев. Для этого специалисты выезжают к владельцам животных на дом. В 2022 году ветеринарные врачи совершили более 210 выездов к собакам-проводникам, а с начала этого года — уже более 40.

Специалисты приезжают на спецавтомобилях, которые оснащены современным оборудованием для проведения УЗИ, ЭКГ, несложных хирургических манипуляций и лабораторных исследований биоматериала. Во время выездов животных также вакцинируют против бешенства и других инфекционных заболеваний. Если питомцу требуется более тщательная диагностика или операция, его доставят в ближайшую ветеринарную лечебницу. Кроме того, за каждой такой собакой закреплен свой лечащий ветеринарный врач. При появлении любых симптомов владелец может обратиться к специалисту — питомца осмотрят и окажут всю необходимую помощь.

Чтобы получить в помощь собаку-проводника, жителям Москвы с инвалидностью по зрению нужно обратиться в центр социального обслуживания с заявлением.

По материалам сайта Моветобъединения <https://mos-obvet.ru/news/zabota-o-zdorove-chetveronogih-pomoshnikov-kak-lechat-sobak-provodnikov-v-moskve/>

