

На правах рукописи

**СОНОГРАФИЯ ПЛОДА, МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ПЛАЦЕНТЫ, МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС И МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ
ПЛОДОВИТОСТИ У ЧЕРНОМОРСКИХ АФАЛИН**

СЕМЕНОВ ВЛАДИМИР АЛЕКСАНДРОВИЧ

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора ветеринарных наук

Краснодар 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»

Научный консультант: **Родин Игорь Алексеевич,**
доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: **Авдеенко Владимир Семенович,**
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Санкт – Петербургский
государственный университет ветеринарной
медицины», профессор кафедры генетические
и репродуктивные биотехнологии

Попов Владимир Владимирович
доктор биологических наук,
ФГБУН «Институт проблем экологии
и эволюции им. А. Н. Северцова РАН»,
заведующий лабораторией сенсорных
систем позвоночных

Астафьева Ольга Викторовна
доктор медицинских наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
медицинский университет», профессор
кафедры лучевой диагностики

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московская государственная
академия ветеринарной медицины и биотехнологии
- МВА им. К. И. Скрябина»

Защита состоится «24» мая 2023 г., в 10 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 35.2.019.02 созданного на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина» по адресу: 350044, Краснодар, ул. Калинина, 13, корпус факультета ветеринарной медицины.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке университета и на сайтах: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» <http://www.kubsau.ru> и ВАК <https://vak.minobrnauki.gov.ru>.

Автореферат разослан « ___ » _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета



Диана Петровна Винокурова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Ареал обитания, миграция и численность популяций морских животных на нашей планете катастрофически падает. Опасность исчезновения коснулась и черноморской афалины. Поэтому этот вид дельфинов был занесён в Красную книгу СССР.

В связи с этим особенно остро стал вопрос не только о сохранении тех животных, которые на данный момент находятся в океанариумах, но и об их размножении, воспроизводстве животных двух и более поколений, родившихся в неволе.

В условиях современной ветеринарной перинатологии особое внимание уделяется решению проблемы максимально долгосрочного сохранения репродуктивной способности каждой перспективной особи в стаде морских млекопитающих, разводимых в неволе. На воспроизводительную способность морских млекопитающих по данным P. P. Calle et al., 2000 и D. Cowan, 2000 оказывают влияние всевозможные факторы: сезонность, температура окружающей среды, длительность светового дня, место нахождения, болезни и т.д. Одним из главных показателей условий содержания черноморских афалин в дельфинариях, оказалось получение потомства, так как психогенные стрессы, технологические и негативные алиментарные факторы отрицательно отражаются на воспроизводительной способности к репродукции.

По имеющимся данным В. Е. Соколов, 1977; К. С. I. Valcomb et al., 1982; I. Christensen, 1984; и L. M. Dalton et al., 1994, существующая проблема является одной из актуальных для дельфинариев различных государств, специализирующихся на предоставлении демонстрационных развлекательных услуг населению.

Беременность является важнейшим периодом в жизни китообразных, в том числе содержащихся в неволе, связанным с ростом и развитием плода. Однако по данным I.L. Boyd 1999, W.R. Cockerill 1960, не изучена структура и роль средовых факторов в степени риска возникновения осложнения беременности и родов у черноморских афалин, содержащихся в дельфинариях. Это естественно, накладывает свой отпечаток на особенности питания животных, их подвижность, возможность участия в демонстрационных мероприятиях или научных исследованиях. Поэтому, всё более актуальными становится своевременная диагностика беременности и датирования точного срока, особенностей течения и предупреждение возникновения осложнений беременности и родов.

Поскольку метаболический стресс у дельфинов на различных сроках гестации является одним из основных лимитирующих факторов для показателей воспроизводства маточного стада, он достаточно часто становится причиной симптоматической фертильности. В связи с этим, изучение метаболических нарушений в организме морских млекопитающих и морфологических изменений плаценты, приводящих к фетоплацентарной недостаточности и снижающих дальнейшую репродукцию, рассматривается как неотъемлемая составляющая решения проблемы. Одним из главных показателей хороших условий содержания диких животных, в том числе и дельфинов, адаптированных к неволе, является получение потомства.

В геноме самок дельфинов заложен достаточно высокий репродуктивный биологический потенциал, что позволяет получать жизнеспособных полноценных детенышей.

Степень разработанности темы. Исследованиями, проведенными F. M. Brooky et al., 1994; J. P. Schroeder, 1990, Miller D.L., 2007, D.A. Duffield, 2000 и W.H. Dudokvan Heel, 1977 в последние годы были установлены возможные причины выбытия самок дельфинов из цикла репродукции при содержании их в неволе.

У морских млекопитающихся во всех странах мира при содержании в дельфинариях встала проблема диагностики беременности для регулирования размножения в неволе. Поэтому F. M. Brook, et al., 1992; A. P. Davidson et al., 2009; X. Deng et al., 2019; G. R. Leopold, 2007; K.N. Gray, 1974 и P. Williamson et al., 1990 предложили использовать УЗИ аппараты для определения беременности у самок дельфинов.

В России для этих целей Л. В. Осиповым, 1999 и В. А. Семёновым, 2020 были испытаны современные методы для ультразвуковых исследований, что позволило выявить различные заболевания у млекопитающихся на ранних стадиях их появления.

M. V. Medvedev, 2005; V. A. Semenov et al., 2016; L. R. Stone et al., 199 и J. S. Young et al., 1992 считают, что очень важно использовать метод УЗИ при обследовании репродуктивного тракта самок, благодаря ряду несомненных преимуществ.

K. Benirschke, 2007, I. Capellini et al., 2011, A.C. Enders, A.M. Carter, 2004, M. Hobson, L. Wide, 1986, и G.B. Wislocki, 1941, совершены попытки раскрыть метаболический статус у беременных, изучить морфологическое строение плаценты морских млекопитающихся, что позволило бы объективно обеспечить животным правильное питание во время беременности и родов, определить их возможность участия в демонстрационных мероприятиях.

Поэтому изучение функционирования половой системы у самок дельфинов черноморских афалин позволяет вести мониторинг и контроль цикла воспроизводства в условиях дельфинариев. Однако, несмотря на появление новейших инновационных цифровых технологий до настоящего времени у морских млекопитающихся, содержащихся в неволе, не проведен сонографический мониторинг и анализ УЗИ-эхограмм плода в различные сроки гестации и не разработаны критерии соответствия сроку гестации у черноморских афалин.

Цель работы. Теоретическое обоснование и практическое применение метода сонографии плода в различные периоды беременности, изучение морфогистохимической структуры плаценты у черноморских афалин на последних сроках гестации, установления метаболического статуса их организма и методов сохранения у них плодовитости.

Исходя из этого, на разрешение были поставлены следующие задачи:

- установить причины снижения плодовитости самок дельфинов, структуру и роль средовых факторов в степени риска возникновения осложнения беременности и родов у черноморских афалин, в связи с чем изучить физико-химический состав воды, значимость ее в формировании микробиоценоза кишечника, установить роль дисбактериозов в осложнении беременности и определить методы их лечения;

- провести сонографический мониторинг и анализ УЗИ-эхограмм плода в различные сроки гестации и разработать Log RI линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин;

- изучить гистологическую характеристику плаценты на завершающем этапе гестации и метаболический статус самок черноморских афалин в различные периоды беременности;

- разработать методы сохранения репродуктивного здоровья у самок черноморских афалин, после осложненной беременности и синдрома «Трудные роды».

Научная новизна. Впервые выявлены причины и структура снижения плодовитости самок дельфинов, адаптированных к неволе. Изучен физико-химический состав воды, значимость ее в формировании микробиоценоза кишечника и установлена роль микробного фактора, обуславливающего осложнение беременности. Определены этиологические факторы и инцидентность синдрома «Трудные роды» у самок черноморских афалин, содержащиеся в дельфинариях. Апробирован метод ультразвукового исследования беременных самок черноморских афалин, их обучение к ультразвуковому обследованию и разработан способ сканирования плода. Впервые проведен анализ метрических данных эхограмм в различные периоды развития плода и разработан Log RI линейных критериев плода соответствия сроку гестации. Впервые представлена морфометрическая и гистохимическая характеристика плаценты у беременных черноморских афалин на последних сроках гестации. Изучена динамика морфобиохимических изменений крови и микробиоценоза кишечника у беременных самок дельфинов. Разработаны методы сохранения плодовитости у самок черноморских афалин, после осложненной беременности и синдрома «Трудные роды».

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлена сумма причин снижения плодовитости самок дельфинов, и их структура, позволяющая оптимизировать биопотенциал репродукции у черноморских афалин, содержащихся в неволе. Разработан Log RI линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин, что дает возможность своевременно диагностировать беременность, установить точный срок и особенности ее протекания. На основании полученных нами гистологических данных, представлен фактический морфологический материал, позволивший сделать характеристику строения плаценты морских млекопитающих, применительно к дельфинам. Изученный метаболический статус самок черноморских афалин в различные периоды беременности позволяет обеспечить животным правильное питание во время беременности, определить их подвижность и возможность участия в демонстрационных мероприятиях или научных исследованиях. Определена роль опосредованных факторов в степени риска возникновения осложнения беременности и родов, что позволяет разработать систему профилактических мероприятий для дельфинов, содержащихся в дельфинариях.

Результаты проведенных исследований могут быть применены:

– практикующими ветеринарными врачами дельфинариев для использования Log RI линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин, что дает возможность своевременно диагностировать беременность, установить точный срок и особенности ее протекания;

- практикующими ветеринарными врачами дельфинариев учитывать роль опосредованных факторов в степени риска возникновения осложнения беременности и родов, что позволяет разработать систему профилактических мероприятий для дельфинов, содержащихся в дельфинариях;

- владельцами и персоналом дельфинариев использовать изученный метаболический статус самок черноморских афалин в различные периоды беременности, что позволяет обеспечить животным правильное питание во время

беременности, определить их подвижность и возможность участия в демонстрационных мероприятиях;

– для использования в учебном процессе на отделениях биоинженерии и ветеринарии средне-профессиональных и факультетах высших учебных заведений, на курсах повышения квалификации и переподготовки врачей ветеринарной медицины, а также при создании учебно-методической литературы и пособий, подтвержденную классификацию строения плаценты морских млекопитающих применительно к дельфинам на основании полученных гистологических данных;

– для использования в дальнейшей научно-исследовательской работе организаций ветеринарного и биотехнологического профилей.

Методология и методы исследования

При выполнении научно-исследовательской работы были использованы следующие методы: научного поиска, сравнение, обобщение, анализ, а также современные лабораторные и клинические методы диагностики, позволяющие выявить механизм развития осложнения беременности и родов у черноморских афалин. При осуществлении диагностических ультразвуковых исследований были сформированы подопытные и контрольные группы морских млекопитающих - дельфинов по принципу аналогов, согласно традиционной методологии планирования.

Работа была выполнена на кафедре «Анатомии, ветеринарного акушерства и хирургии» ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина», а также в дельфинариях г. Сочи, Анапы, Геленджика Краснодарского края в период с 2005 по 2022 г.

Морфологические, биохимические, иммунологические исследования образцов крови проводились на базе клинко-диагностической лаборатории «G8» г. Сочи использованием современного, высокотехнологичного и сертифицированного оборудования. Патоморфологические исследования образцов органов подопытных животных были проведены в лаборатории патоморфологии ФГУП «НИИ гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, г. Волгоград. Полученные в ходе исследований данные были обработаны с помощью методов математической статистики с использованием современной электронно-вычислительной техники.

Объектом исследования служили морские млекопитающие дельфины - черноморские афалины.

Предмет исследования – статистические данные выбытия дельфинов, структура и инцидентность осложнений беременности и родов, сонографический мониторинг и анализ УЗИ-эхограмм, морфо-биохимические изменения в крови и микробиоценоза кишечника, морфометрические, гистологические и гистохимические изменения плаценты, статистические методы обработки полученных данных с использованием компьютерных технологий.

Положения, выносимые на защиту:

- причины снижения плодовитости самок дельфинов, их структура, позволяющая оптимизировать биопотенциал репродукции у черноморских афалин, содержащихся в неволе;

- Log RI линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин, что дает возможность своевременно диагностировать беременность, установить точный срок и особенности ее протекания;

- классификация строения плаценты морских млекопитающих применительно к черноморской афалине на основании полученных гистологических данных;

- метаболический статус самок черноморских афалин в различные периоды беременности, что позволяет обеспечить животным правильное питание во время беременности, определить их подвижность и возможность участия в демонстрационных мероприятиях или научных исследованиях;

- роль опосредованных факторов в степени риска возникновения осложнения беременности и родов, что позволяет разработать систему профилактических мероприятий для дельфинов, содержащихся в дельфинариях.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения, заключение и практические предложения диссертации сформулированы в соответствии с формулой специальности: 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (Ветеринарные науки). Представленная диссертационная работа является теоретическим обоснованием и практическим применением метода сонографии плода в различные периоды беременности, изучением морфо-гистохимической структуры плаценты у черноморских афалин на последних сроках гестации, установлением метаболического статуса и методов сохранения плодовитости.

При проведении исследовательской работы было использовано современное сертифицированное оборудование, соответствующее международным стандартам. Статистическая обработка данных подтверждает достоверность результатов, полученных в ходе исследований.

Результаты, полученные в ходе различных этапов исследований, были доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных научно-практических конференциях профессорско – преподавательского состава Кубанского государственного аграрного университета им. И. Т. Трубилина (2004 – 2022 гг.), учёных советах факультета ветеринарной медицины в течение 2004 – 2022 гг., на международных научно – практических конференциях: III-ей международной научно – практической конференции «Морские млекопитающие Голарктики». – Коктебель, Крым, 2004 (Украина); Международной научно – практической конференции «Морские физиологические и биотехнические системы двойного назначения». – Ростов-на-Дону, 2005; IV-ой международной научно – практической конференции «Морские млекопитающие Голарктики». – Санкт – Петербург, 2006; 38th Annual Conference International Association for Aquatic Animal Medicine. - Lake Buena Vista, Florida, 2007 (USA); V-ой международной научно – практической конференции «Морские млекопитающие Голарктики». – Одесса, 2008 (Украина); 39th Annual Conference International Association for Aquatic Animal Medicine, Pomezia, 2008 (Italy); VI-ой международной научно – практической конференции «Морские млекопитающие Голарктики». – Калининград, 2008; VIII-ой международной научно – практической конференции «Морские млекопитающие Голарктики». – Санкт – Петербург, 2014; 45th Annual Conference International Association for Aquatic Animal Medicine. - Gold Coast, 2014 (Australia); III - ей Международной научно-практической конференции «Современные проблемы ветеринарии и животноводства». – Краснодар, Куб ГАУ, 2015; Международной научно-практической конференции «Современные проблемы сельскохозяйственных наук в мире. - Казань, 2018; Международной конференции Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов. – Краснодар, Куб ГАУ, 2018 – 2022, Международной научной конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины», посвященной 100-летию кафедр клинической

диагностики, внутренних болезней животных им. Синева А.В. и акушерства и оперативной хирургии. – Санкт – Петербург, 2022.

Личный вклад соискателя. Данная работа является результатом личных исследований автора в период с 2004 по 2022 г. Автором были самостоятельно организованы и осуществлены экспериментальные исследования, а также основная часть клинических и лабораторных исследований, проведены анализ и систематизация полученных результатов.

Публикации результатов исследований. Материалы диссертации опубликованы в 38 научных работах, в том числе 12 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 2 в международных базах данных, получено 2 патента РФ на изобретения.

Структура и объём диссертационной работы. Диссертационная работа включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, производственные испытания, обсуждение результатов исследований, заключение, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список использованной литературы, приложения. Работа представлена на 323 страницах машинописного текста, содержит 33 таблицы, 88 рисунка. Список использованной литературы включает 310 источников, из которых 203 на иностранном языке.

2 МЕТОДОЛОГИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в соответствии с планом НИР Кубанского государственного аграрного университета имени И.Т. Трубилина, регистрационный номер № 121032300041-1, Тема № 13, Раздел 13.2, на кафедре анатомии, ветеринарного акушерства и хирургии в период с 2004 по 2022 годы.

При выполнении научно-исследовательской работы были использованы следующие методы: научного поиска, сравнение, обобщение, анализ, а также современные лабораторные и клинические методы диагностики, позволяющие выявить механизм развития осложнения беременности и родов.

При осуществлении клинических исследований были сформированы подопытные и контрольные группы морских млекопитающих – дельфинов, черноморских афалин по принципу аналогов, согласно традиционной методологии планирования. В связи с отсутствием опыта по проведению ультразвукового обследования черноморских дельфинов на начальных этапах изучения данного вопроса, не все исследования оказались корректными и достоверными, поэтому лишь 200 из них вошли в данную работу и подверглись биометрической обработке.

В течение 2004 - 2022 годов в различных дельфинариях на побережье Чёрного моря нами было выявлено 33 случая беременности черноморских афалин у 13 самок в возрасте от 6,5 до 23 лет и проведено 243 исследования. Длина животных варьировала от 240 до 275 см, а вес в период отсутствия беременности или в начальной её стадии колебался от 172 до 283 кг. Рацион кормления дельфинов соответствует требованиям, соблюдение которых необходимо для обеспечения нормального роста и развития, и их высокой активности.

Беременные животные требуют особо обходительного обращения к себе, исключая отрицательные эмоции, которые могли бы повредить здоровью матери и плода. Поэтому, самка во время обследования не вынималась из воды, а обследовалась у бортика бассейна в боковом лежачем положении, которое позволяло ей в любой момент приподнять голову над уровнем воды и сделать

беспрепятственно акт выдоха-вдоха. Поэтому, требуется некоторое время, возможно несколько сеансов с пищевым подкреплением, чтобы дельфин привык к ультразвуку, излучаемому датчиком ультразвукового аппарата, и при этом не проявлял бы беспокойства. Это позволяло беспрепятственно обследовать животное на протяжении необходимого времени.

Данные исследования были сконцентрированы на выявлении беременности с помощью ультразвукового обследования самок и изучении динамики дорсо-вентральных (верхне-нижних) размеров головы и грудной клетки плода в сагиттальной плоскости, на разных сроках беременности.

Голова измерялась по контурам костей: верхний промер брали от максимально верхней точки черепа – *os frontale*, а нижний - по перпендикуляру от *os occipital*.

Грудная клетка измерялась на уровне сердца с учётом мягких тканей. Срок беременности устанавливался ретроспективно от даты родов. Биометрическая обработка промеров плода, а также результатов анализов крови самок в течение беременности, проводилась как в целом во всех случаях исследований, так и по отдельности в каждой группе.

Ультразвуковое обследование беременных самок осуществлялось с помощью аппарата SonoSite180 производства США с глубиной проникновения ультразвуковых волн до 22 см и конвексным преобразователем С60/5 – 2 МГц. На завершающем этапе исследований использовалась современная портативная установка ультразвукового сканирования высокого класса Mindray M7 (Китай). Кровь для исследований брали из хвостовых вен - *Superficialfluke vv*, которые проходят с дорсальной и вентральной сторон каждой из двух хвостовых лопастей.

В случаях возникновения признаков кишечных дисбиозов у беременных самок, производили посевы их фекалий по общепринятой и модифицированной схеме при 10-кратном разведении (И.А. Бочков и др., 1989; Федоров Р.В., Федорова Е.Р., 1989) на среды МПА, Эндо, Кровяной агар, ЖСА, Вильсон-Блер, Блаурокка, меловой агар Квасникова, агар Сабуро.

С помощью данных питательных сред выявляли наличие в каловых массах аэробных споровых и не споровых бактерий, энтеробактерий, стафилококков, стрепто-энтерококков, клостридий, бифидумбактерий, молочнокислых бактерий и грибов. Количество микроорганизмов (lg КОЕ/г) рассчитывали по И.П. Ашмарину и А.А. Воробьёву (И.П. Ашмарин, А.А. Воробьёв, 1962). Отбор содержимого прямой кишки на предмет изучения качественного и количественного состава микрофлоры осуществляли с помощью стерильного пластикового катетера длиной 50 см и диаметром 0,6 см, который вводился в анус животного. При этом катетер пассивно заполнялся жидким калом дельфина и это содержимое изымалось вместе с катетером для дальнейших исследований.

Бактериологические анализы фекалий выполнялись в бактериологической лаборатории ЗАО «Геленджикский Дельфинарий» и в лаборатории микробиологии ФАНО «Северо - Кавказский научный центр по зоотехнии и ветеринарии».

Химические анализы воды выполнялись на базе химической лаборатории Южного отделения института океанологии им. П.П. Ширшова (г. Геленджик) и химической лаборатории ЗАО «Геленджикский Дельфинарий».

Для проведения морфологических и биохимических исследований крови забор биоматериала осуществляли перед утренним кормлением из хвостовой вены. В исследованиях крови был задействован гематологический анализатор Mindrey

BC-2800 Vet, CHEMWELL 2910 V (Combi). Концентрация прогестерона в крови определялась на автоматическом анализаторе "Architect i2000" (Abbott США) с использованием тест-систем фирмы Abbott США.

Для проведения исследований биохимических показателей крови использовали диагностические наборы реагентов CORMAY (страна-производитель – Польша) и HighTechnology (страна-производитель – США).

Для морфологического исследования образцы тканей плаценты помещали в 10% нейтральный формалин. Время пребывания в фиксаторе составляло 4-5 суток при 4°C. Затем образцы дегидратировали в батарее спиртов восходящей крепости, после чего просветляли в хлороформе с использованием гистопроцессора Cytadel 2000 (Shendon) и заключали в парафиновую среду Histomix (Биовитрум). Парафиновые блоки резали на ротационном микротоме (MICROM HM340E), получали срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на предметные стекла. Для обзорного исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозин-флоксином по общепринятой методике.

Нейтральные гликозамингликаны (ГАГ) выявляли с помощью ШИК-реакции в модификации Мак-Мануса. В результате реакции ШИК-позитивные мукопротеины, содержащие гексозу, приобретали розовый цвет. Ядра докрашивались гематоксилином Майера. Для изучения кислых ГАГ срезы окрашивали альциановым синим (pH=3,0) по Стивдену. Слабокислые сульфатированные мукоидные вещества, гиалуроновые кислоты и сиаломуцины окрашивались в темно-синий цвет. Ядра докрашивались гематоксилином Майера. Для изучения распределения внеклеточного матрикса в тканях плаценты применяли окраску парафиновых срезов по Masson. На стекла, прошедшие обработку поли-L-лизинном («Menzel»), совершали монтаж образцов плаценты в виде парафиновых срезов толщиной 5 мкм. После депарафинизации образцы плаценты в срезах инкубировали на протяжении 20 минут в перекиси водорода (3%) с целью блокирования эндогенной пероксидазы. При постановке иммуногистохимической реакции была использована пероксидаза-полимерная система визуализации Lab Vision производителя Thermo Fisher Scientific (США). Микропрепараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа AxioScope.A1 (ZEISS), оборудованного цифровой камерой высокого разрешения AxioCamMRc5. Полученные фотографии обрабатывали с помощью программы ZENpro 2012 (ZEISS).

При выборе тактики лечения осложненной беременности самок афалин с признаками дисбиотического состояния, прежде всего, необходимо учитывать тяжесть микробиологических нарушений и патофизиологических процессов, которые в это время имеют место. В лёгких случаях, когда из-за диспропорции в численности условно патогенных и симбионтных микроорганизмов, нет явной угрозы макроорганизму показана терапия с использованием пробиотиков и эубиотиков: - Caps. Linex:1 капс содержит не менее $1,2 \times 10^7$ живых лиофилизированных бактерий *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*; - Колибактерин (*Colibacterin*) в 1 дозе не менее 10^{10} КОЕ живых бактерий кишечной палочки штамма *E. Coli M-17*; - Pulv. Vetom 1.1 - 5,0: 1 г содержит 10^6 КОЕ живых бактерий штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641, модифицированного плазмидой, синтезирующей интерферон альфа - 2 лейкоцитарный человеческий. Выделяет в кишечнике животных антибиотикоподобные субстанции, ферменты и другие биологически активные вещества, под воздействием которых формируется биоценоз кишечника.

Полученные в ходе исследований данные подвергались биометрической статистике, которую осуществляли с помощью стандартного программного обеспечения Microsoft Excel 2010. При этом были определены средняя арифметическая (M), статистическая ошибка средней арифметической (m), среднее квадратичное отклонение (δ), показатель существенной разницы между средним арифметическим двух вариационных рядов по критерию достоверности (td).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Причины снижения плодовитости самок дельфинов, структура и роль средовых факторов в степени риска возникновения осложнения беременности и родов у черноморских афалин, содержащихся в дельфинариях Краснодарского края

3.1.1 Причины и структура снижения плодовитости самок дельфинов адаптированных к неволе черноморских афалин.

В дельфинариях Краснодарского края гинекологических заболеваний беременных самок не регистрировали, а осложненное течение беременности у самок черноморских дельфинов афалин достигает 33%. Поэтому первой причиной снижения репродукции у черноморских афалин является осложнение гестации. Дальнейшие исследования по выяснению причин возникновения осложнения беременности у самок черноморских дельфинов афалин, показали, что в анамнезе 60% самок ранее регистрировали и проводили лечение кишечных дисбактериозов. Второй причиной снижения процесса репродукции у черноморских афалин является гестоз, ассоциированный с дисбактериозом кишечника, а также нарушением функции печени, вследствие поражения гепатоцитов токсинами.

Помимо дисбактериоза, у самок черноморских афалин отмечался не стабильный аппетит, а иногда рвота. В наших дальнейших исследованиях установлено, что в 34% случаев исследований беременных самок отмечался повышенный уровень АлАт ($88,5 \pm 19,77$ ед/л), которые в последствие имели трудные роды. Таким образом, дисбиотические состояния кишечника в период гестации могут быть одним из проявлений и синдрома гестоза у беременных самок.

Третьей причиной снижения потенциала репродукции у черноморских афалин является аборт. Причины абортов - воздействие на организм самки черноморской афалины различных стресс-факторов. Такими факторами могут стать: - психологические (отлов, транспортировки, агрессия со стороны других животных) – могут вызвать выброс адреналина в кровь, провоцирующий гипертонус матки, энергетическое истощение и выкидыш; - физические (механические воздействия – удары, ушибы, травмы, падения); - химические (токсины испорченной пищи или из окружающей среды) и - биологические – многоплодие, патогенные микробы, вызывающие гинекологические и сопутствующие экстрагенитальные заболевания.

Четвертой причиной нарушения процесса репродукции у черноморских афалин является эмбриопатия, гибель зародыша на эмбриональной стадии развития. В данном случае беременность прерывается по типу скрытого аборта: продукты оплодотворения рассасываются или изгоняются из родовых путей без явных клинических признаков. Гестоз беременных самок, имеет место у черноморских афалин и может приводить к абортам. Причины его возникновения могут быть различны: от выработки антигенов организмом самки на появление плодного пузыря, в том числе многоплодного, до различных экзогенных факторов, таких как среда обитания, пища, психологический стресс. При тщательном изучении причин

возникновения трудных родов установили, что нарушения процесса родового акта вследствие патологии матери (maternal dystocia) регистрируется у самок дельфинов чаще: 94%, тогда как на долю затруднения родового акта вследствие аномалий плода (fetal dystocia) приходится 6%.

3.1.2 Физико-химический состав воды, значимость ее в формировании микробиоценоза кишечника и роль микробного фактора, обуславливающего осложнение беременности

В акваторию бассейнов вода поступала из моря с солёностью 16-18 промилле, подвергавшаяся механической очистке в фильтрах и воздействию жидкого гипохлорита натрия или хлора, вырабатываемого электролизной установкой из морской воды. Оптимальные границы активного хлора в воде при содержании морских млекопитающих составляют от 0,3 до 0,8 мг/л.

Нашими исследованиями установлено, что в течение года средний уровень свободного хлора в воде сочинского дельфинария колебался от 0,7 до 0,9 мг/л, в воде геленджикского дельфинария он был несколько ниже - от 0,6 до 0,8 мг/л. Средний уровень связанного хлора в сочинском дельфинарии большую часть года был в пределах 0,12 – 0,27 мг/л, а в геленджикском бассейне – 0,12 – 0,4 мг/л. Из полученных материалов следует, что сезонным колебаниям помимо концентраций свободного и связанного хлора, подвержены мочевины, аммоний (NH_4^+), нитраты (NO_3^-) и нитриты (NO_2^-). Осенью, при температуре воды 21,2°C и максимальной интенсивностью хлорирования равной 0,8 мг/л свободного хлора, мочевины и аммиак были на низком уровне, 0,25 и 0,13 мг/л соответственно.

Средний уровень связанного хлора оказался относительно высоким – 0,36 мг/л. Зимой и весной, когда температура воды понижалась до 10,5 и 13,5°C, значения свободного хлора снижались до 0,73 и 0,59 мг/л соответственно. В результате, снижались и уровни связанного хлора до 0,12 и 0,14 мг/л. При этом резко возросла концентрация мочевины (1,41 и 2,12 мг/л соответственно) и аммиака (1,39 и 1,47 мг/л). Летом при средней температуре 22,9°C интенсивность процессов окисления хлором мочевины и аммиака снова увеличилась: при повышении свободного хлора до 0,64 мг/л, уровень мочевины понизился до 0,42 мг/л, а аммиака – до 0,05 мг/л. Связанный хлор достиг максимальной годовой отметки – 0,4 мг/л.

Следовательно, повышение температуры воды ускоряет реакцию образования связанного хлора, а её снижение – замедляет. Уровни нитритов и нитратов были в незначительной зависимости от температуры воды и связанного хлора, но нитриты находились в относительно высокой прямой зависимости от количества присутствующего в рационе животных белка.

Обратная зависимость наблюдалась между уровнем свободного хлора в воде и количественным присутствием в кишечнике афалин лактобактерий; уровнем связанного хлора в воде и степенью присутствия колиформных бактерий и бифидобактерий; между количеством в воде аммония и мочевины, с одной стороны и количеством в кишечнике негемолитического стрептококка, с другой стороны; между концентрацией нитратов и количеством клостридий и лактобактерий.

Заболевшее животное не настолько активно, как обычно, вяло встречает тренера, больше «зависает» на поверхности воды и меньше двигается. Такое животное избегает выхода на помост, меньше обычного совершает прыжки и даже может отказываться от выполнения гораздо менее сложных номеров программы.

Аппетит ухудшается и суточный объём съеденного корма может снижаться до 30% и более, вплоть до полного отказа от пищи.

При микроскопическом исследовании в кале у здоровых животных практически не встречаются клетки крови, в то время как у дельфинов с дисфункциями пищеварения мы обнаруживали там до 6 – 10 лейкоцитов и 3 – 4 эритроцита в одном поле зрения. Как следует из полученных данных, характерным при лёгком расстройстве пищеварения является достоверное ($p < 0,05$) увеличение численности в дистальном отделе количества гемолитической *E. coli* ($4,75 \pm 0,48$ lg КОЕ/г) и грибов рода *Candida* ($2,25 \pm 1,4$ lg КОЕ/г). В то же время у этих же дельфинов установлена достоверно более низкая численность лактобактерий ($2,25 \pm 1,31$ lg КОЕ/г) и протеев ($0,75 \pm 0,75$ lg КОЕ/г). У беременных самок с признаками дисбиоза уровень колиформных бактерий и лактобактерий снижается соответственно до 2 – 3 lg КОЕ/г и 1 – 2 lg КОЕ/г, а уровни условно патогенной микрофлоры повышались: протеев - до 3 lg КОЕ/г, стафилококков – до 5 lg КОЕ/г, гемолитических стрептококков – до 4 lg КОЕ/г, грибов р. *Candida* – до 1 lg КОЕ/г и выше.

3.1.3 Родовой процесс и инцидентность синдрома «Трудные роды» у самок черноморских афалин

В дельфинариях Краснодарского края синдром «Трудные роды» у самок черноморских дельфинов афалин достигает 33% (11 случаев из 33 общего количества беременностей), таблица 1.

Таблица 1 - Динамика регистрации трудных родов в 7-ми дельфинариях Краснодарского края за 2004 – 2022 гг (М)

Родоразрешения	2004 – 2010 гг		2011 – 2022 гг		Всего	
	n	%	n	%	n	%
Трудные роды	6	50	5	24	11	33
Физиологические	6	50	16	76	22	67
Всего	12	100	21	100	33	100

n – количество родов

Наши исследования, проведённые в семи дельфинариях Краснодарского края в период с 2004 по 2010 годы включительно, синдром «Трудные роды» наблюдали в 50% случаев, то с 2011 по 2020 годы включительно, вдвое меньше – 24%. В наших исследованиях беременность в 22 случаях завершилась спонтанным родоразрешением через естественные родовые пути.

Подготовительная стадия родоразрешения у афалин мало заметна и может длиться до 24 часов. В этот период времени самка часто перестаёт принимать пищу, а её половая щель несколько приоткрывается, но в виду нахождения животного в акватории бассейна, не всегда это можно увидеть. К концу данной стадии обычно из вульвы не выступают оболочки, наполненные плодными водами. В подавляющем большинстве случаев плодные оболочки разрываются в родовых путях. Поэтому, обслуживающий персонал обычно может фиксировать начало второй стадии родоразрешения – стадии выведения плода. Эта стадия родов длились примерно от 15 минут до 1 часа.

Нормальное положение плода в утробе матери перед родами - это хвостовое предлежание. Вначале половая щель самки ещё больше расширялась и из неё появлялась каудальная часть хвостового стебля плода со свернувшимися в "бутон" лопастями, или двуустки. Затем, всё большая его часть оказывалась снаружи матери.

Перед завершением родов плод, чаще всего, на $2/3$ длины своего тела был снаружи тела матери, но голова и самая широкая часть грудной клетки на уровне сердца находилась всё ещё внутри.

Момент родов заставлял некоторых самок в позе "зависа" на поверхности воды. Те самки, которые "зависали" в момент родов делали резкое занырявание под воду, при этом отмечалось резкое движение хвостового стебля. Другие же самки в этот момент двигались, иногда достаточно активно, но в момент родов также наблюдалась активная работа хвоста. В момент сильного движения хвоста в воде внезапно появлялось облако крови, из которого появлялся новорождённый малыш, быстродвигающийся к поверхности воды за счёт работы своего хвостового стебля, лопасти которого расправляются.

Мать, разрешившись от плода, тут же разворачивается и стремительно подплывает к малышу, помогая ему рострумом удерживаться чуть выше уровня воды для дыхания. Малыш в этот момент делает свой первый в жизни вдох, его лёгкие расправляются. Он уверенно плавёт, а мать неотступно в первое время сопровождает его, при этом, не помогая, а лишь иногда рострумом, направляя его в момент изменения траектории.

В течение примерно первого получаса детёныш хорошо осваивается в акватории, самостоятельно меняет траектории движения, двигаясь в основном по кругу бассейна. Его спинной плавник расправляется и становится жёстким, помогая стабилизировать тело в движении. В это время часто отмечались первые попытки малыша в получении первых порций молока (молозива), когда малыш касался молочной железы матери, пристраиваясь к нему внизу живота самки. При этом чаще мать с детёнышем не останавливались, продолжая двигаться.

Следующие несколько часов большая часть самок неотступно сопровождала своего детёныша, хотя отдельные самки позволяли себе удаляться от самостоятельно плывущего детёныша, а потом вновь сближаться с ним. Такие детёныши раньше других в первые часы могли самостоятельно изменять направление движения, причем не только по кругу, но и по диагонали, и по другим траекториям. В любом случае, акустический контакт матери с детёнышем всегда присутствует.

В этих багополучных случаях родоразрешения послед (плодные оболочки) отделялся в течение 2-6 часов после родов. У новорожденного нет мягких губ, он не может сосать, поэтому просто тыкает мать в область молочной железы, мышцы которой при этом непроизвольно сокращаются. В результате этого струйка молока, жирность которого примерно в 13 раз больше коровьего, впрыскивается малышу прямо в рот и стекает в горло по своеобразной трубке, которую образует свёрнутый язык малыша. Впервые недели жизни дельфинёнок ест каждые 15 минут, потом реже – каждые полчаса. Детёныш начинает хватать рыбу с 4-6-мячного возраста, при этом, не забывая про материнское молоко, постепенно сокращая количество кормлений им.

3.2 Сонографический мониторинг и анализ УЗИ-эхограмм плода в различные сроки гестации и разработка Log RІ линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин

3.2.1 Апробация метода ультразвукового исследования беременных самок черноморских афалин, их обучение к ультразвуковому обследованию и разработка способа сканирования плода

В основе процесса обучения дельфинов к ультразвуковому обследованию, лежит установление «общего» языка между человеком (тренером) и животным (самкой афалины). Для этой цели лучше всего подходит свисток. Он представляет собой некий «мостик» взаимопонимания, так называемый «бридж-сигнал». В момент излучения данного сигнала, животное получает рыбу и, таким образом увязывает, его с пищевым подкреплением, образуется прочный условный пищевой рефлекс.

Животное начинает тянуться к таргету (или руке), чтобы услышать бридж и получить рыбу. Таким образом, передвигая таргет, мы можем указать дельфину правильное направление движения, «навести на цель». Если мы будем использовать несколько таргетов, прикасаясь к роструму, животу, хвосту, мы имеем возможность «объяснить» животному как правильно занять положение тела для ультразвукового обследования. Тем самым, животному «объясняется» на первом этапе, что нужно лежать на боку и не бояться прикосновений руками или какими-либо безопасными предметами. На следующем этапе таким предметом является датчик выключенного ультразвукового аппарата, который вначале не излучает ультразвук.

Самым ответственным моментом является включение ультразвукового аппарата, который излучает ультразвук. Если датчик опущен в воду или прикасается к телу животного, то излучаемые им ультразвуки, близкие к диапазону восприятия, дельфин слышит и, более того, как правило, в первый момент относится к ним крайне настороженно, не понимая их природу. Это важный этап обучения и, поэтому, его можно доверить только квалифицированному тренеру.

Мы предположили существование возможности сканировать и исследовать плод самок афалин во внутриутробный период его развития в сагиттальной плоскости. При помощи ультразвукового аппарата Sonosite-180 в В-режиме стало возможным определение величин линейных размеров головы и грудной клетки плода не только в продольной и поперечной плоскостях, как это делалось зарубежными коллегами, но и в сагиттальной, контролирование жизнеспособности плода по визуализации сердцебиения плода. Наиболее раннюю стадию беременности у самки афалин нам удалось зафиксировать с помощью ультразвукового обследования на 2-ом месяце её существования. Уровень прогестерона в её крови на момент исследования составил 7,58 нг/мл. Из эхограмм следует, что гипоехогенный миометрий матки изнутри выстлан гиперэхогенным эндометрием. Эндометрий ограничивает анэхогенную полость плодного пузыря, в вентральной части которого обнаруживается гиперэхогенная структура эмбриона.

Точный показатель благополучия плода - частота сердечных сокращений плода. Частота сердечных сокращений измерялась, когда становилась видимой механика сердца, и изменялась от 120 в минуту на 6-ом месяце гестации до 76 в минуту к концу последнего месяца беременности. На 3-ем месяце беременности плод, ещё невелик и целиком помещается в сектор сканирования, а его длина немногим больше 14 см. Обнаруживается формирование туловища, головы, хвоста.

3.2.2 Анализ метрических данных эхограмм в различные периоды развития плода и разработка Log RI линейных критериев соответствия сроку гестации

На третьем месяце беременности верхне-нижний размер головы в сагиттальной плоскости был в среднем равен $2,8 \pm 0,24$ см, а грудной клетки - $2,2 \pm 0,31$ см (таблица 2). На четвертом месяце размеры головы и грудной клетки сравниваются и равны соответственно $3,8 \pm 0,12$ см и $3,8 \pm 0,09$ см. На пятом месяце голова продолжает достоверно расти и достигает уже размера $4,4 \pm 0,08$ см, а грудная клетка - $5,1 \pm 0,11$ см. На шестом месяце дорсо-вентральный размер головы и грудной клетки в сагиттальной плоскости достоверно вырос до значений $5,6 \pm 0,16$ см и $6,7 \pm 0,21$ см соответственно. На седьмом месяце голова плода была достоверно больше, чем на шестом месяце и имела верхне-нижний размер $6,4 \pm 0,21$ см. Грудная клетка тоже достоверно увеличилась и в среднем была равна $7,9 \pm 0,24$ см. На восьмом месяце размер головы вырос в среднем на 2,2 см и достиг значения $8,6 \pm 0,40$ см. В тоже время грудная клетка увеличилась в диаметре на 2,0 см и достигла величины $9,9 \pm 0,37$ см. На девятом месяце беременности голова продолжает достоверно увеличиваться в размерах до 2,0 см и достигла значения $10,6 \pm 0,12$ см, грудная же клетка выросла на 1,6 см в диаметре и стала равна в среднем $11,5 \pm 0,29$ см.

Таблица 2 - Динамика изменений дорсо-вентральных размеров головы и грудной клетки ($M \pm m$, см) плода в период беременности у самок черноморской афалины

Месяц беременности	Дорсо-вентральные размеры головы N=13, n=33		Дорсо-вентральные размеры грудной клетки N=13, n=32		Log RI
	Количество исследований	$M \pm m$, см	Количество исследований	$M \pm m$, см	
3-й	3	$2,8 \pm 0,24$	4	$2,2 \pm 0,31$	0,79
4-й	4	$3,8 \pm 0,12^*$	4	$3,8 \pm 0,09^{**}$	1,00
5-й	7	$4,4 \pm 0,08^{**}$	7	$5,1 \pm 0,11^{***}$	1,16
6-й	11	$5,6 \pm 0,16^{***}$	11	$6,7 \pm 0,21^{***}$	1,20
7-й	12	$6,4 \pm 0,21^{**}$	12	$7,9 \pm 0,24^{***}$	1,23
8-й	14	$8,6 \pm 0,40^{***}$	15	$9,9 \pm 0,37^{***}$	1,15
9-й	9	$10,6 \pm 0,12^{***}$	9	$11,5 \pm 0,29^{**}$	1,08
10-й	14	$11,3 \pm 0,17^{**}$	14	$12,8 \pm 0,15^{**}$	1,13
11-й	16	$12,1 \pm 0,19^{**}$	17	$14,3 \pm 0,14^{***}$	1,18
12-й	10	$13,8 \pm 0,38^{**}$	7	$14,9 \pm 0,19^*$	1,08
Итого	100		100		

Условные обозначения:

M - средняя арифметическая; m - стандартная ошибка для выборочной доли;

N – число обследованных особей; n – число исследованных беременностей

Достоверность различий между данным сроком беременности и предыдущим: *- $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Далее, на десятом месяце плодношения голова и грудная клетка плода по-прежнему достоверно растут и имеют значения в среднем $11,3 \pm 0,17$ см и $12,8 \pm 0,15$ см. Затем, на одиннадцатом месяце беременности голова выросла в диаметре только на 0,8 см и стала равна $12,1 \pm 0,19$ см, в то время как диаметр грудной клетки сделал прирост на 1,5 см и стал равен в среднем $14,3 \pm 0,14$ см. Наконец, на двенадцатом, месяце беременности голова росла быстрее, чем грудная клетка, её прирост составил 1,7 см, и её значения равнялось в среднем $13,8 \pm 0,38$ см, а грудной клетки – 0,6 см и её диаметр составил $14,9 \pm 0,19$ см. При этом, соотношение среднего

значения дорсо-вентрального размера грудной клетки плода к среднему значению такового же линейного размера головы можно обозначить, как логарифм линейных критериев, где $\text{Log RI} = 0,79$ составляет на третьем месяце гестации. На четвертом месяце - $\text{Log RI} = 1,00$. На пятом месяце логарифм достигает $\text{Log RI} = 1,16$. На шестом месяце - $\text{Log RI} = 1,20$. На седьмом месяце - $\text{Log RI} = 1,23$. На восьмом месяце - $\text{Log RI} = 1,15$. На девятом месяце - $\text{Log RI} = 1,08$. На десятом месяце - $\text{Log RI} = 1,13$. На одиннадцатом месяце - $\text{Log RI} = 1,18$ и на двенадцатом месяце - $\text{Log RI} = 1,08$.

В результате проведенных двухсот ультразвуковых исследований головы и грудной клетки мы отмечаем достоверность различий их дорсо-вентральных размеров в сагиттальной плоскости между данным сроком беременности и предыдущим на всех месяцах беременности, начиная с четвертого. Уровень плазменного прогестерона в период беременности колебался от 1,70 до 82,37 нг/мл и был в среднем равен $27,4 \pm 1,75$ нг/мл, в то время как в отсутствии беременности он был достоверно ниже, варьируя от 0 до 13,0 нг/мл, и был в среднем равен $1,1 \pm 0,31$ нг/мл. На протяжении второй половины беременности фиксировалось сердцебиение плода у всех беременных самок от 120 ударов в минуту на 6-ом месяце и 117 ударов в минуту на седьмом месяце до 96 ударов в минуту в начале двенадцатого месяца, а затем до 76 в конце двенадцатого месяца за пять дней до рождения. Наиболее раннюю стадию беременности нам удалось определить в конце первого – начале второго месяца её протекания (рисунок 1 и 2). На данной УЗИ - эхограмме мы видим полость матки, а в ней, на фоне анэхогенной амниотической жидкости, гиперэхогенные фрагменты эмбриона.

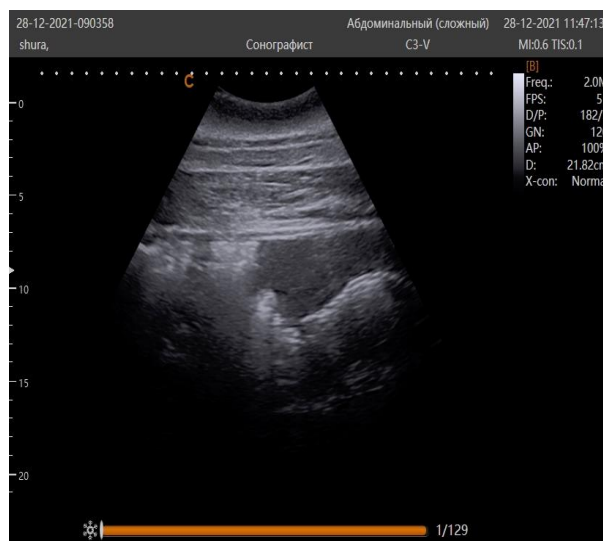
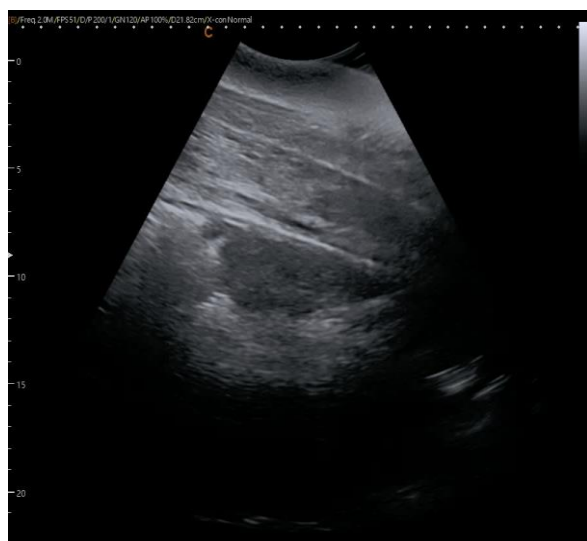


Рис.1–Начало второго месяца беременности Рисунок 2 - Второй месяц беременности

В беременном роге при полипозиционном сканировании достаточно легко и быстро удаётся визуализировать не только зародышевый пузырь, но и сам зародыш. На втором месяце беременности в полости хориона отмечали гиперэхогенные структуры эмбриона.

На эхограммах, соответствующих третьему месяцу гестации (рисунок 3 и 4), четко определяется, что плод целиком помещается в сектор сканирования, а его длина немногим больше 14 см. В данном случае головка плода диаметром $2,8 \pm 0,24$ см) хорошо идентифицировалась как отдельное анатомическое образование. Диаметр головы плода на третьем месяце несколько больше диаметра

формирующейся грудной клетки, но уже на четвертом месяце они выравниваются, а с пятого по двенадцатый месяцы величина диаметра грудной клетки опережает диаметр головы.

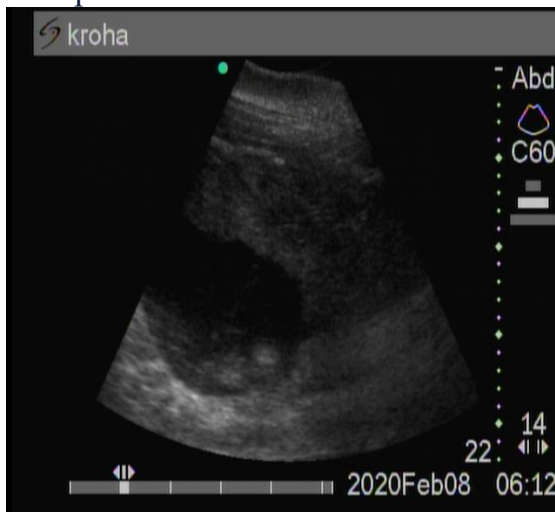


Рисунок 3 - Конец второго – начало третьего месяца беременности

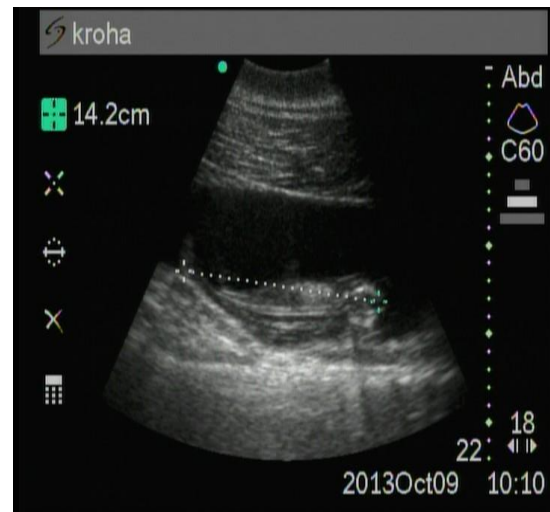


Рисунок 4 - Третий месяц беременности

При этом, с четвертого месяца беременности отмечалось ежемесячное достоверное увеличение размеров головы и грудной клетки плода в сравнении с соответствующими размерами предыдущего месяца. Наибольшее относительное увеличение головы плода в течение всего срока беременности имели место на четвертом месяце, а именно, на 35,7% по сравнению с предыдущим, третьим месяцем, рисунок 5, 6.

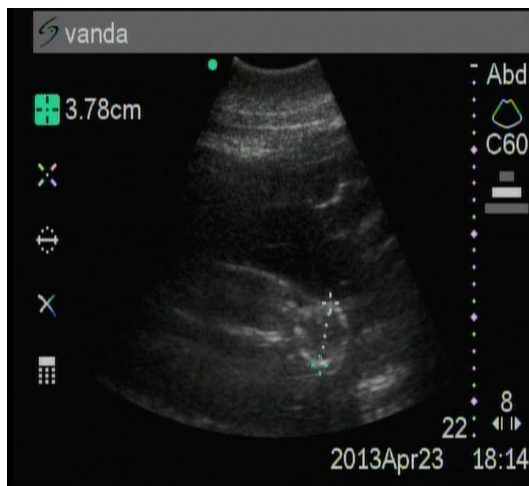


Рисунок 5 - Четвёртый месяц беременности

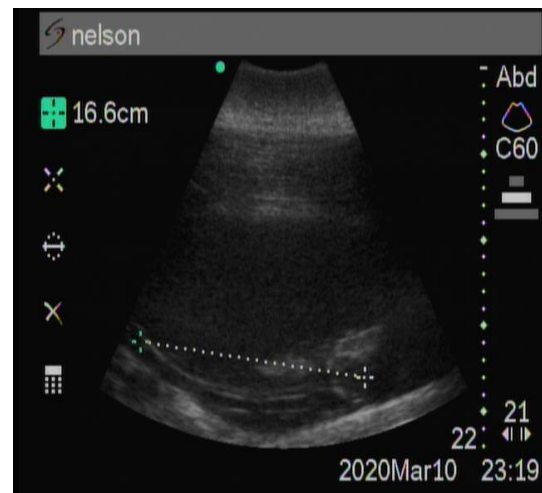


Рисунок 6 - Длина плода в начале четвертого месяца беременности

Верхне-нижний размер головы у плода на этом этапе внутриутробного развития в среднем во всех исследованиях оказался равен $3,8 \pm 0,12$ см. Длина плода в начале этого периода ещё позволяла рассмотреть плод в одном секторе сканирования и была равна около 17 см. На 5-ом месяце (рисунок 7) плод всё ещё имеет относительную свободу в перемещении внутри плодного пузыря.

Размеры головы на данном этапе достигают в среднем $4,4 \pm 0,08$ см. На шестом месяце (рисунок 8) увеличение дорсо-вентральных размеров грудной клетки оказались, как и на четвертом месяце, 1,6 см ($6,7 \pm 0,21$ см). Сердце определяется как анэхогенная округлая подвижная структура, камеры которого становятся

различимы.



Рисунок 7 - Пятый месяц беременности

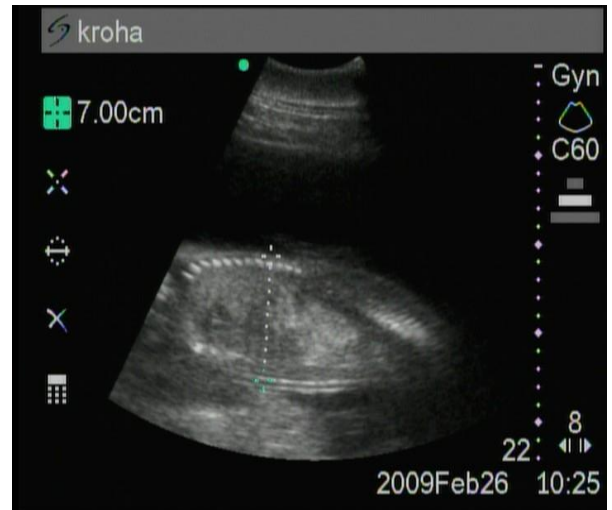


Рисунок 8-Шестой месяц беременности

Печень плода в брюшной полости гипозоногенна, за счёт чего чётко визуализируется сразу же после не расправленных лёгких в грудной полости, имеющих более высокую эхогенность. Поскольку в желудке плода находится амниотическая жидкость, он определяется как округлая анэхогенная структура, прилегающая к печени. На фоне более гиперэхогенного кишечника можно видеть анэхогенную область мочевого пузыря. Позвоночник чётко визуализируется как гиперэхогенная сегментированная структура, испускающая эхоакустические тени.



Рисунок 9 - Седьмой месяц беременности

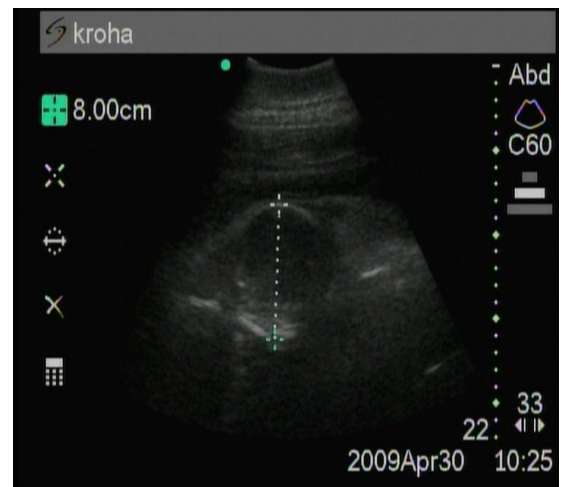


Рисунок 10 - Голова плода на восьмом месяце беременности

На седьмом месяце (рисунок 9) голова продолжает увеличиваться в размерах в среднем до $6,4 \pm 0,21$ см. На сканере мы можем видеть голову, место её крепления к позвоночнику и часть туловища в сагиттальной плоскости. Дорсо-вентральный размер головы в данном случае был равен 6,58 см. На восьмом месяце беременности (рисунок 10) диаметр головы во всех случаях исследования продолжает достоверно увеличиваться и достигает величины в среднем равной $8,6 \pm 0,40$ см.

На девятом месяце внутриутробного развития (рисунок 11) прирост грудной клетки в диаметре составил 1,6 см и её верхне-нижний размер в среднем составил $11,5 \pm 0,29$ см. В рудной области чётко видна гипозоногенная область сердца.



Рисунок 11 - Девятый месяц беременности



Рисунок 12 - Голова плода на десятом месяце беременности

На рисунке 12 отображена голова на десятом месяце гестации: справа налево мы видим рострум. На рисунке 13 отображена грудная клетка плода на одиннадцатом месяце гестации сверху вниз отчётливо визуализируются жировая клетчатка кожи, гиперэхогенная линия апоневроза, гипоехогенный слой мышечной ткани и находящийся среди неё позвоночник плода с гиперэхогенными позвонками и их остистыми отростками.

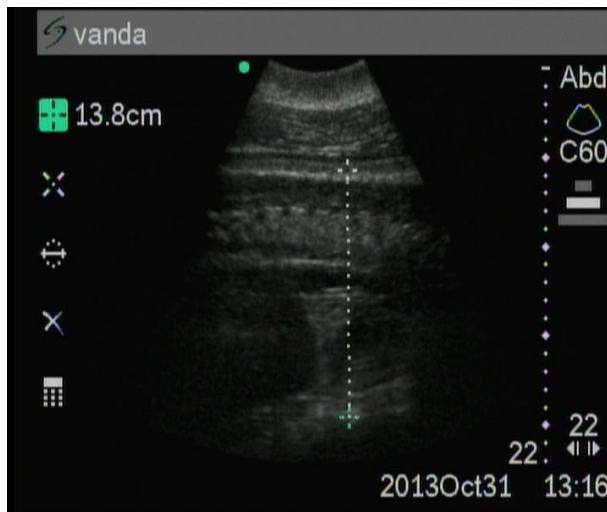


Рисунок 13 - Одиннадцатый месяц беременности

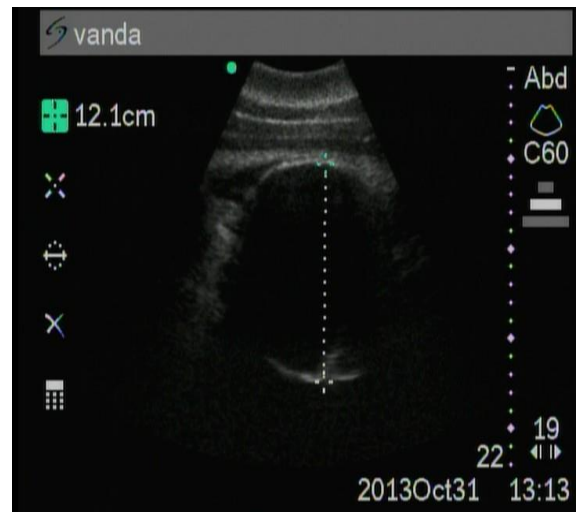


Рисунок 14 – Двенадцатом месяце гестации

На двенадцатом, месяце беременности (рисунок 14) голова плода увеличивалась на 1,7 см и ее диаметр составил в среднем $13,8 \pm 0,38$ см.

Из данных таблицы 3 следует, что на четвёртом месяце размер грудной клетки плода у самок в случае благополучных родов (первой группы) был равен в среднем $3,8 \pm 0,13$ см, а в случае неблагополучных (второй группы) - $5,29 \pm 0,09$ см. На пятом месяце плодоношения диаметр грудной клетки плода у афалин в случае благополучных родов составил в среднем $5,1 \pm 0,12$ см, а в случае неблагополучных - $7,0 \pm 0,69$. На шестом месяце её течения, размер грудной клетки у плодов самок первой группы оказался в среднем равен $6,7 \pm 0,22$ см, а второй - $6,8 \pm 0,11$ см. На седьмом - двенадцатом месяцах гестации рост грудной клетки плодов у самок с патологическим родоразрешением заметно опередил таковой у самок с благополучным родоразрешением. На двенадцатом, месяце плодоношения, дорсо-

вентральный размер грудной клетки плода у самок с нормальным родоразрешением оказался в среднем равен $14,8 \pm 0,22$ см. В то же время данный промер у плодов самок с неблагополучными родами оказался равен $15,85 \pm 0,15$ см.

Таблица 3 - Динамика изменений дорсо-вентральных размеров головы и грудной клетки плода в период беременности у самок черноморской афалины ($M \pm m$, см)

Месяц беременности	Физиологическая беременность N=10, n=22		Осложненная беременность N=7, n=11	
	Грудной клетки плода	Головы плода	Грудной клетки плода	Головы плода
4-й	$3,8 \pm 0,13$	$3,8 \pm 0,17$	$5,29 \pm 0,09$	$3,8 \pm 0,12$
5-й	$5,1 \pm 0,12$	$4,4 \pm 0,09$	$7,0 \pm 0,69$	$4,4 \pm 0,08$
6-й	$6,7 \pm 0,22$	$5,6 \pm 0,19$	$6,8 \pm 0,11$	$5,6 \pm 0,16$
7-й	$8,0 \pm 0,24$	$6,4 \pm 0,23$	$10,5 \pm 0,75$	$6,4 \pm 0,21$
8-й	$9,7 \pm 0,42$	$8,1 \pm 0,32$	$11,3 \pm 0,23$	$8,6 \pm 0,40$
9-й	$11,5 \pm 0,33$	$10,6 \pm 0,13$	$12,3 \pm 0,29$	$10,6 \pm 0,12$
10-й	$13,0 \pm 0,14$	$11,3 \pm 0,22$	$14,10 \pm 0,29$	$11,3 \pm 0,17$
11-й	$14,4 \pm 0,12$	$12,0 \pm 0,26$	$15,01 \pm 0,13$	$12,1 \pm 0,19$
12-й	$14,8 \pm 0,22$	$13,2 \pm 0,22$	$15,85 \pm 0,15$	$15,3 \pm 0,46$

Дорсо-вентральный размер головы плода на данном этапе у самок с нормальным родоразрешением оказался в среднем равен $13,2 \pm 0,22$ см. В то же время данный промер у плодов самок с неблагополучными родами оказался достоверно больше и равен $15,3 \pm 0,46$ см.

3.3 Гистологическая характеристика плаценты на завершающем этапе гестации и метаболический статус самок черноморских афалин в различные периоды беременности

3.3.1 Морфометрическая и гистохимическая характеристика плаценты у беременных черноморских афалин

Масса плодных оболочек (хориона, аллантаиса и амниона) у черноморских афалин на последних сроках гестации $2,76 \pm 0,27$ кг. Морфометрическое изучение гистопрепаратов установило, что высота створчатых ворсин хориона составила в среднем $370,00 \pm 115,00$ мкм, колебаниями от 246,53 до 1131,50 мкм (таблица 4).

Ширина терминальных ворсин составляла $39,04 \pm 4,90$ мкм, а толщина трофобласта ворсин - $6,92 \pm 1,02$ мкм. При морфометрическом исследовании гистопрепаратов плаценты афалины установили количественное присутствие ворсин в среднем $12,50 \pm 0,14$ на 1 см^2 площади хориона.

Таблица 4 - Структура плодной частей плаценты дельфинов ($M \pm m$)

Показатели	Последний срок гестации
Высота ворсин хориона, мкм	$370,00 \pm 115,00$
Ширина терминальных ворсин, мкм	$39,04 \pm 4,90$
Толщина трофобласта ворсин, мкм	$6,92 \pm 1,02$

При микроскопическом исследовании в поле зрения среди клеток трофобласта были выявлены двуядерные клетки, находящиеся на различных стадиях дифференцировки.



Рис.15 – Фото макропрепарата плодных оболочек в матке черноморской афалины: 1 – дистальная часть тела матки; 2 – свод плодоносящего рога матки; 3 – середина плодоносящего рога матки; 4 – граница плодоносящего рога с телом матки; 5 – контрлатеральный рог матки; 6 – середина контрлатерального рога; 7 – область соединения пуповины с плодными оболочками.

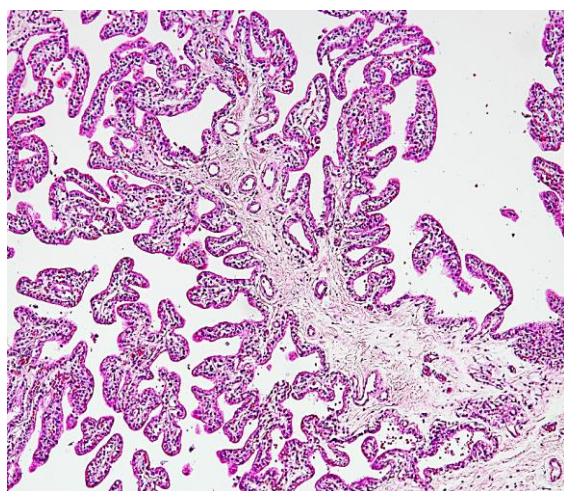


Рис. 16 Ворсинки хориона середины рога. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×100.

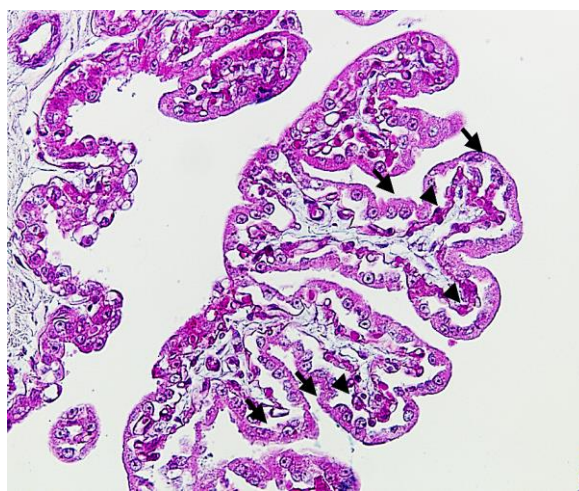


Рис. 17 – Ворсинки плаценты хориона с диссоциированным трофобластом. Комбинированная окраска альциановым синим и ШИК-реакция по Мак-Манусу. Докраска гематоксилином Майера. Ув. 400.

Основная масса ворсинок (рисунок 16) хориона была покрыта характерным двухслойным эпителием (трофобласт), включающим в себя цитотрофобласт и синцитиотрофобласт. Цитотрофобласт – внутренний слой уплотненных клеток с большим ядром, плотно прилегающих к базальной волнообразной мембране (рисунок 17, показано треугольными стрелками без хвостиков). Синцитиотрофобласт – поверхностное многоядерное образование, часть

цитоплазмы которого вместе с ядром погружается в углубления, формируемые базальной мембраной и цитотрофобластом, тем самым образуя плотный трофобласт ворсинок хориона (рисунок 17, показано треугольными стрелками с хвостиками). Толщина синцитиотрофобласта на всем протяжении терминальной ворсины составляла $6,70 \pm 0,30$ мкм. Во всех исследуемых образцах плаценты были обнаружены выросты (отростки), поверхность которых была покрыта многоядным эпителием с высокими призматическими клетками по типу железистых (рисунок 18), на апикальной части которых выявлялось множество довольно длинных микроворсинок, образующих плотную кайму. В цитоплазме клеток регистрировали многочисленные вакуоли, а также включения бурого цвета. При проведении двойного окрашивания на мукополисахариды (альциановый синий и ШИК реакция в модификации Мак-Мануса) данные включения оказывались ШИК-позитивные - характерное окрашивание в малиновый цвет (рисунок 20), что указывало на то, что данный тип клеток продуцировал нейтральные мукополисахариды, а также выполнял роль секреторных клеток.

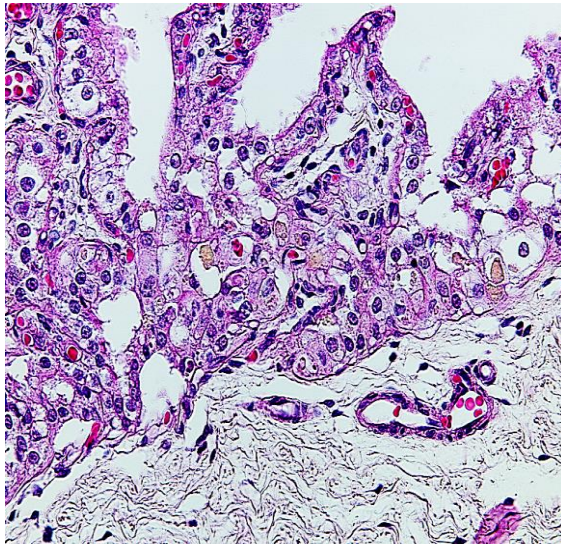


Рис. 18 – Участок хориона, покрытый высокими призматическими клетками с вакуолизированной цитоплазмой и включениями бурого цвета.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

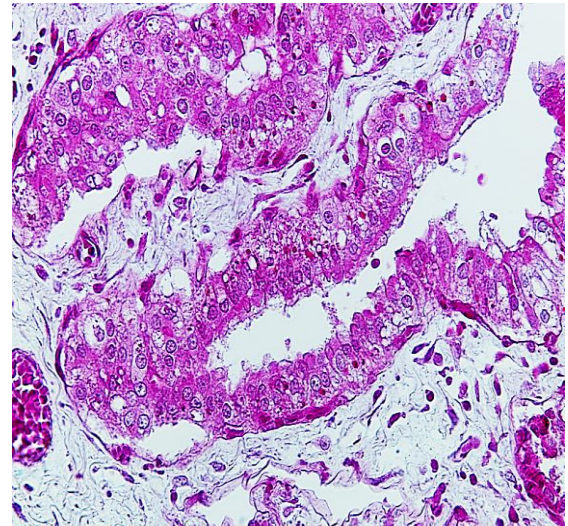


Рис.19– Ворсинки хориона с ШИК-позитивными гранулами в цитоплазме высоких призматических клеток.

Комбинированная окраска альциановым синим и ШИК-реакция по Мак-Манусу. Докраска гематоксилином Майера. Ув. 400.

Строма ворсинчатого дерева состояла из рыхлой соединительной ткани, представленной коллагеновыми волокнами (рисунок 20), а в состав межклеточного вещества входили в основном кислые мукополисахариды (рисунок 21).

В соединительной ткани ворсинок выявлялось небольшое количество макрофагов, при этом клеток, отдаленно напоминающих клетки Кащенко-Гофбауэра, обнаружено не было. Сосудистое русло ворсинчатого дерева формировало сеть тонкостенных капилляров, в просвете которых содержались многочисленные эритроциты.

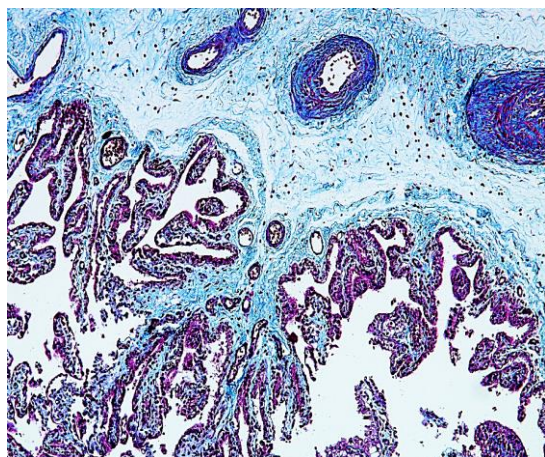


Рис. 20 – Дистальный отдел плаценты, присутствие большого количества коллагеновых волокон в стромальной части ворсин хориона.

Трихромная окраска по Masson. Ув.×100.

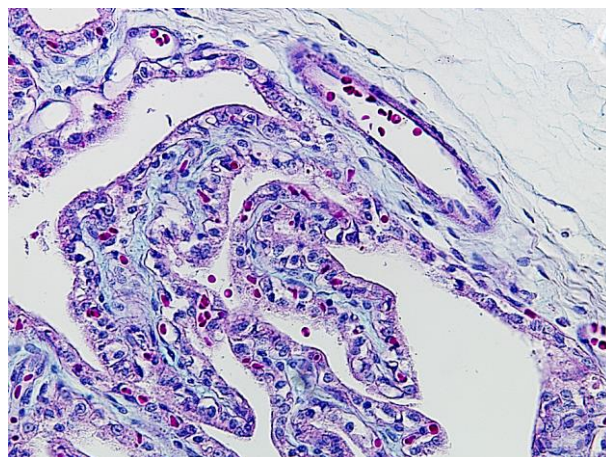


Рис. 21 – Ворсинки плаценты. Присутствие кислых мукополисахаридов в межклеточном веществе.

Комбинированная окраска альциановым синим и ШИК-реакция по Мак-Манусу. Докраска гематоксилином Майера. Ув. 400.

Основная часть фетальных капилляров локализовалась в средней зоне ворсин, а также субэпителиально. Стенки фетальных капилляров образованы эндотелиальными клетками, расположенными в один слой. Визуальная оценка количества капилляров показала, что по морфологическим признакам основная масса стволовых и терминальных ворсин была зрелая и хорошо васкуляризирована. Острые нарушения маточно-плацентарного кровообращения в виде массивных кровоизлияний и ишемических инфарктов плаценты, склероз стромы или фибриноидная альтерация ворсин хориона обнаружены не были. Встречающиеся отдельные явления диссоциации и десквамации трофобласта ворсин хориона, а также отек единичных ворсин указывало на предродовую трансформацию плацентарных структур, а не на позднюю плацентарную недостаточность.

3.3.2 Динамика морфо-биохимических изменений крови и микробиоценоза кишечника у беременных самок черноморских афалин, содержащихся в дельфинариях

3.3.2.1 Динамика морфо-биохимических изменений крови у беременных самок афалин, содержащихся в дельфинариях черноморского побережья Кавказа

Количество гемоглобина в крови у самок с физиологически нормальными родоразрешениями (первой группы) был в среднем равно $172,8 \pm 1,15$ г/л, а у самок с осложнёнными родами (второй группы) – достоверно ($p < 0,001$) ниже и оказалось равным $164,5 \pm 1,70$ г/л (таблица 5). При этом количество эритроцитов у самок обеих групп оказалось одинаковым - $3,8 \pm 0,05 \times 10^{12}$ /л, что даёт основание сделать предположение о том, что насыщенность гемоглобином каждого в отдельности эритроцита у самок первой группы выше, чем у второй. Скорость оседания эритроцитов у самок первой и второй групп сильно не отличалась и была равна соответственно $3,0 \pm 0,28$ и $3,1 \pm 0,47$ мм/час. Количество лейкоцитов в крови у самок первой и второй группы было сходным и равнялось соответственно $7,7 \pm 0,18 \times 10^9$ /л и

$7,3 \pm 0,30 \times 10^9/\text{л}$. В то же время, относительное количество палочкоядерных нейтрофилов в крови самок первой группы был достоверно ($p < 0,05$) ниже ($1,4 \pm 0,12\%$), чем у самок второй группы ($2,2 \pm 0,26\%$).

Таблица 5 - Гематологические показатели в период беременности у самок черноморской афалины (M+m)

Показатели	Физиологически нормальные родоразрешения N=6, n=16		Осложнение родов N=5, n=8		Все родоразрешения N=15, n=24	
	q	X ± m, см	q	X ± m, см	q	X ± m, см
Возраст, лет	16	15,8 ± 1,37	8	11,0 ± 1,53*	24	14,2 ± 1,13
Гемоглобин, г/л	85	172,8 ± 1,15	42	164,5 ± 1,70 ***	127	170,1 ± 1,01
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	99	3,8 ± 0,05	54	3,8 ± 0,05	153	3,8 ± 0,03
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	99	7,7 ± 0,18	54	7,3 ± 0,30	153	7,6 ± 0,16
Палочкоядерные нейтрофилы	99	1,4 ± 0,12	54	2,2 ± 0,26 *	153	1,7 ± 0,12
Сегментоядерные нейтрофилы, %	99	55,0 ± 1,17	54	56,0 ± 1,22	153	55,3 ± 0,87
Эозинофилы, %	99	19,0 ± 0,74	54	17,7 ± 1,10	153	18,5 ± 0,62
Лимфоциты, %	99	20,9 ± 0,92	54	21,3 ± 1,23	153	21,1 ± 0,74
Моноциты, %	99	3,4 ± 0,19	54	3,0 ± 0,29	153	3,2 ± 0,16
СОЭ, мм/ч	90	3,0 ± 0,28	52	3,1 ± 0,47	142	3,0 ± 0,25
Прогестерон, нг/мл	49	24,4 ± 2,98	33	23,4 ± 2,47	82	24,0 ± 2,03
Общий белок, г/л	72	69,7 ± 0,74	38	70,2 ± 1,12	110	69,9 ± 0,62
Мочевина, моль/л	62	16,5 ± 0,59	34	16,2 ± 0,67	96	16,4 ± 0,45
Креатинин, кмоль/л	68	128,1 ± 3,29	33	123,9 ± 4,87	101	126,7 ± 2,72
Глюкоза, моль/л	72	5,1 ± 0,14	35	4,8 ± 0,22	107	5,0 ± 0,12
АлАт, ед/л	77	55,8 ± 5,06	40	88,5 ± 19,77**	117	67,0 ± 7,62
АсАт, ед/л	78	291,0 ± 20,90	40	373,3 ± 70,67	118	318,9 ± 27,70
ГГТ, ед/л	74	35,0 ± 1,88	37	37,0 ± 2,90	111	37,7 ± 1,58
ЩФ, ед/л	67	508,5 ± 46,41	34	673,8 ± 70,71	101	564,2 ± 39,49
Железо, мкмоль/л	69	28,2 ± 1,15	41	26,4 ± 1,28	110	27,5 ± 0,87

Условные обозначения:

M - средняя арифметическая; m - стандартная ошибка для выборочной доли;

N – число обследованных особей; n – число исследованных беременностей; q – количество исследований

Достоверность различий между данным сроком беременности и предыдущим: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Тем не менее, относительное число сегментоядерных нейтрофилов в крови самок афалин с нормальными и ненормальными родоразрешениями было приблизительно одинаковым, равнялось соответственно $55,0 \pm 1,17\%$ и $56,0 \pm 1,22\%$ и достоверно не различалось. Число лейкоцитов в крови самок первой и второй групп достоверно не различалось и имело соответственно следующие значения: эозинофилы - $19,0 \pm 0,74$ и $17,7 \pm 1,10\%$; лимфоциты - $20,9 \pm 0,92$ и $21,3 \pm 1,23\%$; моноциты - $3,4 \pm 0,19$ и $3,0 \pm 0,29\%$. По биохимическому составу крови достоверных различий у самок с нормальными и осложненными родами в большинстве случаев не наблюдалось. Так, количество общего белка у самок первой группы было равно в среднем $69,7 \pm 0,74$ г/л, а у самок второй группы - $70,2 \pm 1,12$ г/л; количество мочевины соответственно $16,5 \pm 0,59$ и $16,2 \pm 0,67$ ммоль/л; креатинина - $128,1 \pm 3,29$ и $123,9 \pm 4,87$

мкмоль/л; глюкозы - $5,1 \pm 0,14$ и $4,8 \pm 0,22$ ммоль/л; АсАт - $291,0 \pm 20,90$ и $373,3 \pm 70,67$ ед/л; ГГТ - $35,0 \pm 1,88$ и $37,0 \pm 2,90$ ед/л; ЩФ - $508,5 \pm 46,41$ и $673,8 \pm 70,71$ ед/л. Тем не менее, по уровню аланинтрансаминазы в крови, концентрация которой в крови увеличивается в случае нарушения целостности гепатоцитов печени, выявлены достоверные различия в двух групп самок. Так, афалины с нормальными родоразрешениями имели в крови АлАт в количестве $55,8 \pm 5,06$ ед/л, а с осложненным родоразрешением - $88,5 \pm 19,77$ ед/л.

Таким образом, достоверные различия по гематологическим показателям между группой благополучно родивших самок и неблагополучно родивших отмечаются в первую очередь по концентрации гемоглобина и аланинтрансаминазы. У благополучно родивших количество гемоглобина в крови оказалось достоверно выше ($172,8 \pm 1,15$ г/л), чем у самок группы, неблагополучно родивших ($164,5 \pm 1,70$ г/л). В то же время, у животных первой группы оказался достоверно ($p < 0,01$) ниже уровень ($55,8 \pm 5,06$ ед/л) аланинтрансаминазы (АлАт), чем у животных второй группы ($88,5 \pm 19,77$ ед/л). Относительное содержание палочкоядерных нейтрофилов ($1,4 \pm 0,12\%$) тоже оказалось достоверно меньше, чем у неблагополучно родивших афалин ($2,2 \pm 0,26\%$), у которых отмечался более выраженный «сдвиг влево» лейкоформулы.

Можно отметить, что в группе нормально родивших афалин отмечался более низкий уровень ($508,5 \pm 46,41$ ед/л) щелочной фосфатазы (ЩФ), чем у самок неблагополучно родивших ($673,8 \pm 70,71$ ед/л). У афалин здоровой группы отмечался достоверно более высокий уровень ЩФ по сравнению с животными больной группы и соответственно был равен в возрасте от шести до семи лет $732,9 \pm 34,95$ и $416,8 \pm 114,70$ ед/л; в возрасте от семи до восьми лет - $747,9 \pm 89,40$ и $183,0 \pm 85,59$ ед/л; в возрасте от восьми до девяти лет - $523,4 \pm 30,95$ и $309,8 \pm 34,25$ ед/л; в возрасте от девяти до десяти лет - $507,7 \pm 31,94$ и $356,3 \pm 43,75$ ед/л; в возрасте от десяти до одиннадцати лет - $486,4 \pm 28,89$ и $282,5 \pm 12,50$ ед/л.

В последующих возрастных группах отмечалась более низкая концентрация ЩФ у больных животных по сравнению со здоровыми, хотя разница оказалась не достоверной. Так, в возрасте от 12 до 13 лет у животных здоровой группы значение ЩФ в среднем было равно $457,6 \pm 41,71$ ед/л, а у афалин больной группы - $306,0 \pm 40,00$ ед/л; в возрасте от 13 до 14 лет значения ЩФ составили соответственно $446,8 \pm 30,54$ и $460,5 \pm 86,50$ ед/л, от 16 до 17 лет - $381,3 \pm 39,25$ и $377,0 \pm 69,00$ ед/л; от 18 до 19 лет - $364,7 \pm 36,34$ и $391,8 \pm 83,42$ ед/л; от 19 до 20 лет - $407,89 \pm 35,81$ и $179,0$ ед/л; от 22 до 23 лет - $256,5 \pm 16,66$ и $225,0$ ед/л; от 23 до 24 лет - $188,8 \pm 15,93$ и $265,5 \pm 18,50$ ед/л; от 25 до 26 лет - $195,7 \pm 54,23$ и $177,0$ ед/л; от 27 до 28 лет - $429,2 \pm 38,54$ и $459,0$ ед/л; от 28 до 29 лет - $253,8 \pm 35,01$ и $197,0$ ед/л; от 29 до 30 лет - $198,1 \pm 27,88$ и $160,5 \pm 7,50$ ед/л; от 33 до 34 лет - $232,0$ и $66,0$ ед/л.

Таким образом, было выявлено достоверное снижение концентрации ЩФ в крови у больных особей по сравнению со здоровыми этого же возраста на первом, третьем, четвертом, шестом, седьмом, восьмом, девятом и десятом годах жизни. Это очень важно учитывать при обследовании беременных самок разных возрастов для выявления заболеваний у них на ранних стадиях. Уровень прогестерона в крови беременных самок определялся нами в течение всей беременности ежемесячно, в том числе и за несколько дней до родоразрешения (таблица 6). В наших исследованиях уровень прогестерона в крови за весь период беременности у самок черноморских афалин колебался от $1,70$ до $82,37$ нг/мл. В среднем он оказался равен

27,4±1,75нг/мл и был достоверно выше ($p<0,001$), чем у не беременных (1,1±0,31нг/мл).

Таблица 6 - Уровень прогестерона ($M\pm m$, нг/мл) у самок афалины на протяжении беременности

Месяцы беременности	Количество особей	Количество исследований	$M \pm m$, нг/мл
1й	5	16	16,3±2,89
2й	5	24	30,3 ± 3,89 **
3й	6	21	27,7 ± 3,73
4й	6	9	36,3 ± 7,50
5й	5	9	38,1 ± 7,85
6й	7	9	24,5 ± 3,58
7й	2	3	16,6 ± 4,88
8й	3	3	25,6 ± 5,87
9й	3	6	30,7 ± 13,78
10й	3	3	8,3 ± 1,30
11й	3	5	34,7 ± 8,24 *
12й	3	6	37,2 ± 4,44
За 1-2 дня перед родами	2	3	5,1 ± 2,40 ***
Итого	7	117	27,4 ± 1,75
Небеременные	9	55	1,1±0,31***

Условные обозначения:

M - средняя арифметическая; m - стандартная ошибка для выборочной доли;

Достоверность различий между данным сроком беременности и предыдущим: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Уже на первом месяце беременности средний уровень прогестерона был равен 16,3±2,89нг/мл. А на втором месяце он ещё более достоверно вырос 30,3±3,89 нг/мл. На третьем месяце концентрация прогестерона в крови осталась почти такой же (27,7±3,73 нг/мл). Если же на втором месяце беременности концентрация прогестерона в крови беременной самки имеет гораздо более низкие значения (6,5 – 9,5 нг/мл), а на третьем месяце ещё более снижается до значений 2,5 – 3,5 нг/мл, то это может оказаться плохим прогнозом дальнейшего течения беременности с последующим абортom.

На четвёртом и пятом месяцах концентрация прогестерона заметно увеличилась до 36,3±7,50 нг/мл и 38,1±7,85 нг/мл соответственно. Далее на шестом и седьмом месяцах уровень прогестерона снижался соответственно до 24,5±3,58 нг/мл и 16,6±4,88 нг/мл, а затем на восьмом и девятом месяцах он соответственно повысился до 25,6±5,87 нг/мл и 30,7±13,78 нг/мл.

Затем концентрация данного гормона в крови резко снизилась на десятом месяце беременности до 8,3±1,30 нг/мл, а потом, на одиннадцатом, достоверно поднялась до 34,7±8,24 нг/мл. На последнем, двенадцатом, месяце плодношения уровень прогестерона достиг максимального значения - 37,2±4,44 нг/мл. За несколько дней до родоразрешения уровень прогестерона достоверно снизился до значения 5,1±2,40 нг/мл. В последний день беременности он был равен 0,41 нг/мл.

3.3.2.2 Особенности микробиоценоза кишечника у беременных самок диких и адаптированных к неволе черноморских афалин

На утришской морской станции в период отлова из акватории Чёрного моря афалин осуществили исследование проб каловых масс у семи впервые пойманных животных. Данные исследований показали, что микроорганизмы дистального отдела кишечника диких афалин представлены в основном теми же видами, которые встречаются у других животных.

У всех дельфинов выделялись только молочнокислые бактерии и колиформные лактозопозитивные бактерии (*Escherichia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Kluyvera sp.*). У 71,0% особей высевались клостридии, у 57,0% - дрожжеподобные грибы, у 43,0% - гемолитические эшерихии, негемолитические стрепто-энтерококки, протеи и провиденсии, у 28% - гемолитические стрепто-энтерококки, бифидобактерии и у 14,0% - стафилококки.

Количественное присутствие отдельных представителей кишечной микрофлоры было различным и у отдельных животных имело существенные колебания. Наибольшую численность в фекалиях составляли негемолитические бактерии из группы кишечной палочки, молочнокислые бактерии и клостридии, уровень которых находился в пределах 5,3-5,8 lg КОЕ/г. На 2-3 порядка было меньшим число гемолитических эшерихий, протеев и провиденсий.

Количество гемолитических и негемолитических стрептококков было одинаковым и находилось на уровне 2,0-2,1 lg КОЕ/г. Удивительно низким (1,3 lg КОЕ/г) было количество таких постоянных обитателей кишечника млекопитающих как бифидобактерии. Практически отсутствовали в кишечнике у дельфинов стафилококки, количество которых в среднем составило 0,4 lg КОЕ/г. Концентрация дрожжеподобных грибов из рода *Candida* составляла 1,4 lg КОЕ/г, что значительно выше, чем у других млекопитающих (таблица 7).

Таблица 7 - Качественный состав фекалий микрофлоры афалин длительно содержащихся в геленджикском и сочинском филиалах ООО «Утришский дельфинарий» (M±m)

Микроорганизмы	Частота выделения, %	
	Сочи (n = 16)	Геленджик (n = 16)
<i>E.coli</i> гемолитические	75 ± 11,2	50 ± 12,9
Колиформные бактерии	100 ± 0,0	100 ± 0,0
Протеи и провиденсии	-	50 ± 12,9
Стрептококки гемолитические	75 ± 11,2	25 ± 11,2
Стрептококки негемолитические	37 ± 12,5	69 ± 12,0
Стафилококки	94 ± 6,3	94 ± 6,3
Бифидобактерии	63 ± 12,5	75 ± 11,2
Клостридии	75 ± 11,2	100 ± 0,0
Молочнокислые бактерии	50 ± 12,9	63 ± 12,5
Грибы р. <i>Candida</i>	-	25 ± 11,2

Анализ состояния кишечного микробиоценоза у черноморских афалин, содержащихся в неволе осуществляли на примере животных, содержащихся в Геленджикском и Сочинском филиалах ООО «Утришский дельфинарий».

У животных обоих филиалов в прямой кишке выявлялись колиформные бактерии, у несколько меньшего числа (94,0±6,3%) – стафилококки, у 75 – 100% -

кlostридии, 63 – 75% - бифидобактерии, у 50 – 63% молочнокислые бактерии, у 37 – 69% - стрептококки. Следует отметить, что по ряду микроорганизмов кишечный пейзаж афалин различных бассейнов существенно отличался.

Так, у значительно большего числа животных сочинского бассейна устанавливали присутствие в каловых массах гемолитических форм эшерихий и стрептококков, но у этих же животных отсутствовали кандиды и протеи, которые выделялись нами у 25 – 50% животных геленджикского бассейна. При этом нами была установлена чётко выраженная закономерность в изменении численности гемолитических форм эшерихий, стрептококков, протеев, бифидобактерий, грибов кандида.

Например, установили, что у животных геленджикского филиала, осенью и зимой в больших количествах (от 3,6 до 4,75 lg КОЕ/г) обнаруживалась гемолитическая *E. coli*, а весной и летом она полностью отсутствовала. В то же время осенью и зимой уровень протеев и провиденсий был близок к нулю ($0,8 \pm 0,49$ и $0,75 \pm 0,75$ lg КОЕ/г соответственно), тогда как весной и летом их уровень достигал максимальных значений ($2,7 \pm 1,45$ и $3,5 \pm 1,32$ lg КОЕ/г). Количество гемолитических стрептококков осенью и зимой было низким ($1,6 \pm 1,6$ и $0,75 \pm 0,75$ lg КОЕ/г соответственно), тогда как весной повышалось до максимального значения ($3,7 \pm 1,86$ lg КОЕ/г), а вот летом из дистального отдела кишечника они полностью исчезали.

Уровень негемолитических стрептококков имел высокие значения осенью ($5,0 \pm 1,52$ lg КОЕ/г) и зимой ($3,25 \pm 1,11$ lg КОЕ/г), весной был равен нулю, а летом достигал максимального значения ($6,75 \pm 0,75$ lg КОЕ/г). В меньшей степени менялась численность молочнокислых бактерий, их среднегодовой уровень составлял $3,75 \pm 0,81$ lg КОЕ/г, хотя, осенью их концентрация достигала $4,2 \pm 1,8$ lg КОЕ/г, зимой она снижалась до $2,25 \pm 1,31$ lg КОЕ/г, весной вновь повышалась до $5,3 \pm 0,88$ lg КОЕ/г, а летом снижалась до $3,5 \pm 2,06$ lg КОЕ/г. Концентрация бифидобактерий осенью, зимой и весной составляла – 4,4 - 8,0 lg КОЕ/г, а летом снижалась до $2,75 \pm 1,60$ lg КОЕ/г.

Уровень стафилококков осенью, зимой и весной имел тенденцию к снижению – $4,4 \pm 1,29$, $4,0 \pm 1,0$, $3,0 \pm 0,58$ lg КОЕ/г, соответственно, тогда как летом он повышался до $5,0 \pm 1,08$ lg КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы *p. Candida* присутствовали в небольшом количестве осенью ($0,2 \pm 0,2$ lg КОЕ/г) и весной ($0,3 \pm 0,3$ lg КОЕ/г), а летом они не выделялись, в то же время зимой их уровень повышался до $2,25 \pm 1,44$ lg КОЕ/г.

Количественное присутствие кlostридий в течение года имело высокие значения ($6,9 \pm 0,43$ lg КОЕ/г), хотя и имело тенденцию снижения от осени к лету с $7,6 \pm 0,68$ до $5,75 \pm 0,85$ lg КОЕ/г соответственно. Численность колиформных бактерий меньше, чем других микроорганизмов была подвержена изменениям и в течение всего года была примерно на одном и том же уровне - $4,9 \pm 0,34$ lg КОЕ/г. Осенью и зимой в содержимом прямой кишки количество гемолитической *E. coli* нарастало (так же, как и у геленджикских дельфинов) и своего максимума достигало весной, когда концентрация этих бактерий составляла $6,0 \pm 1,47$ lg КОЕ/г. Летом присутствие данных микроорганизмов практически свелось к нулю.

Уровень гемолитических стрептококков имел максимальное значение весной ($6,25 \pm 0,75$ lg КОЕ/г), в это же время их негемолитические формы отсутствовали. Летом количество гемолитических стрептококков существенно снижалось (до $2,25 \pm 2,25$ lg КОЕ/г), а негемолитических, напротив, повышалось (до $3,5 \pm 2,36$ lg

КОЕ/г). Осенью и зимой динамика изменения их численности была примерно одинаковой: уровень гемолитических стрептококков снижался с $5,5 \pm 0,96$ до $3,75 \pm 1,65$ lg КОЕ/г, а негемолитических стрептококков – с $4,0 \pm 1,58$ до $1,5 \pm 1,5$ lg КОЕ/г. Динамика изменения количества стафилококков оказалась обратной таковой гемолитическим стрептококкам: осенью их уровень был равен $3,75 \pm 0,75$ lg КОЕ/г, зимой он повысился до $5,25 \pm 0,63$ lg КОЕ/г; весной снизился до минимума – $3,0 \pm 1,47$ lg КОЕ/г, а летом достиг максимальной отметки – $6,75 \pm 1,11$ lg КОЕ/г.

Уровень клостридий был на минимальной отметке осенью – $2,25 \pm 1,30$ lg КОЕ/г, затем нарастал зимой до $4,5 \pm 1,5$ lg КОЕ/г, и достигал максимума весной – $8,0 \pm 0,82$ lg КОЕ/г. Количество молочнокислых бактерий оказалось максимальным осенью – $6,0 \pm 0,82$ lg КОЕ/г, а зимой и весной было на самом низком уровне – $1,5 \pm 1,5$ и $1,75 \pm 1,75$ lg КОЕ/г соответственно. Уровень колиформных бактерий большую часть года не менялся и оставался в течение всего года в пределах $4,1$ lg КОЕ/г.

3.4 Методы сохранения репродуктивного здоровья у самок черноморских афалин, после осложненной беременности и синдрома «Трудные роды»

Результаты применения пробиотиков (таблица 8) показали, что при дисбиозе, обусловленном резким увеличением количества гемолитических эшерихий и одновременным снижением лактобактерий наиболее эффективным оказался метод совместного использования колибактерина и линекса.

Применение колибактерина, хотя способствовало тому, что значительно сократилось число животных, у которых мы высевали гемолитическую *E. coli*, но повысить концентрацию лактобактерий нам не удалось. Во-первых, препарат приходилось давать в течение длительного времени (два – три мес), а во-вторых, после прекращения его применения, как правило, спустя пять – десять дней, следовал рецидив, то есть у животных вновь появлялись признаки дисфункции пищеварительного тракта.

Примерно аналогичный результат был получен и после монотерапии линексом. Поэтому, в схему лечения был добавлен пробиотик Линекс, имеющий в своём составе *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*. Наиболее эффективным оказалось совместное применение колибактерина и линекса. В этом случае нам удалось достичь и существенного снижения гемолитических эшерихий, и достоверного увеличения количественного присутствия лактобактерий. Курс лечения при этом также был продолжительным, но и продолжительным был положительный эффект, наблюдаемый после прекращения дачи пробиотиков. В своей практике нам неоднократно приходилось сталкиваться с кишечными расстройствами афалин, причиной которых было чрезмерное размножение протей. При норме содержания в дистальном отделе кишечника в количестве 10^1 - 10^2 КОЕ/г его концентрация возрастала до 10^4 - 10^5 КОЕ/г.

Таблица 8 - Эффективность применения Pulv. Vetom 1.1 и линекса при дисбиозе у дельфинов (M±m)

Микро-организмы	Pulv. Vetom 1.1, (n = 10)		Линекс, (n = 13)		Pulv. Vetom 1.1 + Линекс, (n = 16)	
	До применения	После применения	До применения	После применения	До применения	После применения
<i>E.coli</i> Гемоли- тическая	$4,4 \pm 0,4$ 100	$2,7 \pm 0,88^*$ 30	$3,8 \pm 0,67$ 100	$2,8 \pm 0,66$ 67	$5,0 \pm 0,9$ 83	$1,8 \pm 0,7^*$ 50
<i>E.coli</i> не гемоли- тическая	$4,8 \pm 0,2$ 100	$5,9 \pm 0,48$ 100	$6,3 \pm 0,67$ 100	$4,0 \pm 1,15^*$ 100	$5,5 \pm 0,67$ 100	$5,8 \pm 0,54$ 100
Протей	$2,3 \pm 0,52$ 70	$3,7 \pm 0,72$ 80	$2,3 \pm 2,3$ 33	$2,7 \pm 1,45$ 67	$4,7 \pm 0,88$ 100	$2,0 \pm 1,0$ 50
Стрептококки	$2,1 \pm 1,11$ 30	$3,8 \pm 1,17$ 60	$4,7 \pm 0,88$ 100	$3,6 \pm 2,03$ 67	$4,2 \pm 1,49$ 67	$4,0 \pm 1,5$ 67
Стафилококки	$0,6 \pm 0,4$ 20	$0,8 \pm 0,55$ 20	$1,7 \pm 0,88$ 67	0	$0,5 \pm 0,5$ 17	$1,0 \pm 0,63$ 33
Бифидо- бактерии	$5,4 \pm 0,5$ 100	$5,3 \pm 0,4$ 100	$5,0 \pm 1,15$ 100	$6,7 \pm 1,45$ 100	$6,0 \pm 0,73$ 100	$5,7 \pm 0,61$ 100
Клостри- дии	$6,4 \pm 0,52$ 90	$7,2 \pm 0,44$ 100	$6,7 \pm 0,67$ 100	$7,5 \pm 0,86$ 100	$7,3 \pm 0,42$ 100	$6,8 \pm 0,54$ 100
Молочно- кислые бактерии	$3,1 \pm 0,28$ 100	$4,3 \pm 0,29$ 100	$2,7 \pm 0,33$ 100	$5,6 \pm 0,66^*$ 100	$2,8 \pm 0,47$ 100	$5,0 \pm 0,52^*$ 100
Грибы <i>p.Candida</i>	$0,3 \pm 0,3$ 10	$0,4 \pm 0,4$ 10	0	0	0	0

В случаях диагностирования у беременных самок гестозов, ассоциированных с кишечным дисбактериозом, нарушением функции печени, высокой концентрацией в крови ферментов АЛТ, АСТ, ГГТ, определённый успех имело применение сорбента «Энтеросгель» (Polimethylsiloxane polihydrate) в дозе по 112,5 г один раз в день в течение восьми дней подряд с водой через зонд натошак.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В дельфинариях черноморского побережья Краснодарского края у афалин причинами снижения плодовитости явились в 33% случаев осложненная беременность и нарушение процесса течения родов. В случаях снижения плодовитости самок афалин на долю нарушения процесса родов, затруднения родового акта вследствие аномалий плода приходится на 6,7% случаев, а на осложненное течение беременности - 93,3%. Основным установленным фактором оказывающим, давление на плодовитость является, гестоз беременных самок афалин, у которых в анамнезе в 60% случаев регистрировали дисбактериоз кишечника. У 3,33% черноморских афалин, у которых на начальном этапе эмбриогенеза регистрируются эмбриопатии, происходит гибель эмбриона, сопровождаемая резким снижением уровня прогестерона в крови самки. В 6,67% случаев регистрируются аборт, при этом 66,7% приходится на долю мацерации плода и 33,3% - на выкидыши вследствие многоплодия самок.

2. Для оптимальных условий содержания дельфинов концентрация свободного хлора в воде не должна превышать 0,6 мг/л, уровень связанного хлора – 0,4 мг/л, а общего хлора – 1,0 мг/л. Отмечена прямая зависимость между уровнем свободного хлора в воде, и количеством гемолитической кишечной палочки в толстом отделе кишечника дельфинов; между уровнем связанного хлора и количеством стафилококка. Установлена связь между уровнем нитратов и количеством протей, количеством гемолитического стрептококка, между уровнем мочевины и количеством гемолитических стрептококков. Наблюдается обратная зависимость между уровнем свободного хлора в воде и количественным присутствием в кишечнике афалин лактобактерий, уровнем связанного хлора в воде и степенью присутствия колиформных бактерий и бифидобактерий. Отмечается связь между количеством в воде аммония и мочевины, и количеством в кишечнике негемолитического стрептококка, и между концентрацией нитратов и количеством клостридий и лактобактерий.

3. Подготовительная стадия родоразрешения у афалин длится до 24 часов, самка перестаёт принимать пищу, а её половая щель приоткрывается, нормальное положение плода в утробе матери перед родами - это хвостовое предлежание (93,75% случаев). Стадия выведения плода длится от 15 минут до 1 часа, в течение которой могут быть заметны характерные втягивания на животе, вызванные сокращениями брюшных мышц во время потуг. При этом в начале из половой щели самки появляется каудальная часть хвостового стебля плода со свернувшимися в "бутон" лопастями, большая его часть оказывается снаружи матери. В благополучных случаях родоразрешения послед отделялся в течение 2 – 6 часов после родов. В дельфинариях синдром «Трудные роды» у самок черноморских дельфинов афалин достигал 33% и факторами, определяющими нарушение процесса родов, являлись осложнения в течение беременности и аномалии развития плода.

4. Сканирование плода в сагиттальной плоскости, являясь гармоничным дополнением к обследованиям в поперечной и горизонтальной плоскостях, даёт возможность выполнять обследование плода в любом его топографическом положении в данный момент времени и в удобном положении обследуемой самки, находящейся в воде. В данной плоскости, хорошо визуализируются все органы плода, предоставляя возможность их обследования, в том числе положение лёгких, кровеносных сосудов, сердца и его работу. Дорсо-вентральный размер головы плода в сагиттальной плоскости на третьем месяце несколько больше верхне-нижнего размера формирующейся грудной клетки, на четвертом месяце эти размеры сравниваются, а с пятого по двенадцатый месяцы величина диаметра грудной клетки опережает диаметр головы.

5. В ходе проведённых исследований получены цифровые данные, что позволило разработать Log RI линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин. При этом, соотношение среднего значения дорсо-вентрального размера грудной клетки плода к среднему значению такового же линейного размера головы можно обозначить, как логарифм линейных критериев, где $\text{Log RI} = 0,79$ составляет на третьем месяце гестации. На четвертом месяце - $\text{Log RI} = 1$. На пятом месяце логарифм достигает $\text{Log RI} = 1,16$. На шестом месяце - $\text{Log RI} = 1,20$. На седьмом месяце - $\text{Log RI} = 1,23$. На восьмом месяце - $\text{Log RI} = 1,15$. На девятом месяце - $\text{Log RI} = 1,08$. На десятом месяце - $\text{Log RI} = 1,13$. На одиннадцатом месяце - $\text{Log RI} = 1,18$ и на двенадцатом месяце - $\text{Log RI} = 1,08$. Полученные цифровые данные эхограмм плода выявили достоверные маркеры линейных

размеров головы и грудной клетки, что с высокой степенью достоверности определяет срок внутриутробного развития плода. С использованием Log RI линейных индикаторов стало возможным выявлять осложненное течение беременности и аномалии в развитии плода, а также фетоплацентарную недостаточность. Применение Log RI линейных индикаторов позволяет прогнозировать датированный срок родов и возможные осложнения течения родового процесса у дельфинов.

6. В результате гистологических исследований удалось выявить относительно равномерное распределение ворсин хориона различной длины и ветвления: ворсинчатое дерево на всех исследуемых участках эмбрионального органа было представлено хорошо развитыми стволовыми ворсинами, от которых хаотично отходили ворсинки второго и третьего порядка. Было также отмечено отсутствие плотного контакта ворсин с железистым эпителием матки, что позволило с высокой долей вероятности отнести плаценту черноморских афалин к диффузному эпителиохориальному типу. Определялась высокая васкуляризация, интенсивное кровоснабжение стволовых и терминальных ворсин хориона. Стромальная часть хориона и его разных типов ворсин представлена в основном коллагеновыми волокнами. Основная масса ворсинок хориона была покрыта характерным двухслойным эпителием (трофобласт), включающим в себя цитотрофобласт и синцитиотрофобласт.

7. Наличие специализированных клеток хориона предполагает их участие в синтезе и секреции нейтральных мукополисахаридов. Присутствие длинных стволовых ворсин в области дистальной части и середины контрлатерального рога, на линии раздела двух рогов, в середине главного рога, может быть связано с пространственным расположением плаценты в матке, в случае значительного удаления анатомических структур плаценты от матки, для более тесного контакта с маточными железами часть ворсин значительно удлиняется. Наблюдаемые нами особенности гистоархитектоники плаценты являются результатом приспособления морского млекопитающего к вынашиванию и рождению детенышей в водных условиях.

8. Достоверные различия по гематологическим показателям между группой благополучно родивших самок и неблагополучно родивших отмечаются в первую очередь по концентрации гемоглобина и аланинтрансаминазы. У благополучно родивших количество гемоглобина в крови оказалось достоверно выше ($172,8 \pm 1,15$ г/л), чем у самок группы, неблагополучно родивших ($164,5 \pm 1,70$ г/л). В то же время, у животных первой группы оказался достоверно ($p < 0,01$) ниже уровень ($55,8 \pm 5,06$ ед/л) аланинтрансаминазы (АлАт), чем у животных второй группы ($88,5 \pm 19,77$ ед/л).

9. Выявлено достоверное снижение концентрации ЩФ в крови у больных особей по сравнению со здорового этого же возраста на первом, третьем, четвертом, шестом, седьмом, восьмом, девятом и десятом годах жизни. Эти результаты исследований очень важно учитывать при обследовании беременных самок разных возрастов для выявления заболеваний у них на ранних стадиях. Уровень прогестерона в крови за весь период беременности у самок колебался от 1,70 до 82,37 нг/мл, концентрация прогестерона снижается с шестого месяца по восьмой месяц беременности, потом начиная с девятого месяца и к двенадцатому месяцу беременности сравнивается с его концентрацией в крови на четвертом и пятом

месяцах, за несколько дней до родов уровень прогестерона достоверно снизился до $5,1 \pm 2,40$ нг/мл, а непосредственно перед родами он был равен $0,41$ нг/мл.

10. В содержимом дистального отдела кишечника диких дельфинов обнаружены микроорганизмы, принадлежащие к 16 родам, среди которых по частоте встречаемости и количественному присутствию доминируют *Escherichia*, *Clostridium*, *Lactobacillus*. Микробный пейзаж кишечника здоровых черноморских афалин, длительно содержащихся в неволе, представлен бактериями рода *Escherichia* ($4,8 \pm 0,36$ lg КОЕ/г), *Clostridium* ($6,75 \pm 0,46$ lg КОЕ/г), *Staphylococcus* ($4,25 \pm 0,65$ lg КОЕ/г), *Bifidobacterium* ($4,75 \pm 1,06$ lg КОЕ/г), *Lactobacillus* ($4,25 \pm 0,98$ lg КОЕ/г), *Streptococcus* ($4,3 \pm 1,01$ lg КОЕ/г).

11. Для сохранения беременности с клиническими признаками эмбриопатии выявленных эхографическим исследованием в первые четыре месяца гестации у афалин необходимо провести исследование крови с учётом наиболее важных показателей, в том числе щелочной фосфатазы и прогестерона. Для предупреждения осложнения беременности и синдрома «Трудные роды» у афалин и выявления воспалительного процесса, необходимо провести анализ крови и УЗИ – эхограмм, а также микробиологические исследования кала. У афалин с симптоматикой гестоза и синдрома «Трудные роды» применять адсорбент Энтеросгель (Polimethylsiloxane polihydrate), в дозе 112,5 г, один раз в сутки, не менее 7 дней подряд с водой через зонд натошак. При осложнении беременности кишечным дисбиозом применять пробиотик «Ветом 1.1», в дозе 15,0 г, два раза в сутки, курс применения семь дней или пробиотик «Линекс» Caps. Linex 0,28, по 3 - 5 капсул, три раза в сутки не менее двух недель.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

- владельцам и персоналу дельфинариев использовать изученный метаболический статус самок черноморских афалин в различные периоды беременности, что позволяет обеспечить животным правильное питание во время беременности, определить их подвижность и возможность участия в демонстрационных мероприятиях;

- практикующим ветеринарным врачам дельфинариев использовать Log R1 линейных индикаторов соответствия сроку гестации у черноморских афалин, что дает возможность своевременно диагностировать беременность, установить точный срок и особенности ее протекания;

- для сохранения беременности с клиническими признаками эмбриопатии выявленных эхографическим исследованием в первые четыре месяца гестации у афалин необходимо провести исследование крови с учётом наиболее важных показателей щелочной фосфатазы и прогестерона;

- для предупреждения осложнения беременности и синдрома «Трудные роды» у афалин и выявления воспалительного процесса, необходимо провести анализ крови и УЗИ – эхограмм, а также микробиологические исследования кала;

- у афалин с симптоматикой гестоза и синдрома «Трудные роды» применять адсорбент Энтеросгель (Polimethylsiloxane polihydrate), в дозе 112,5 г, один раз в сутки, не менее семи дней подряд с водой через зонд натошак;

- при осложнении беременности кишечным дисбактериозом применять пробиотик «Ветом 1.1», в дозе 15,0 г, два раза в сутки, курс применения семь дней или пробиотик «Линекс» Caps. Linex 0,28, по три - пять капсул, три раза в сутки не менее двух недель.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Систематизированные с применением эхографии данные дают возможности разработки новых эффективных методов диагностики, позволяющие вести контроль над внутриутробным развитием плода у морских млекопитающих, с учетом сроков гестации. Проведенная научно-исследовательская работа позволила получить новые данные, раскрывающие особенности морфологии и гистохимии плаценты, что дополняет классификацию строения плаценты у дельфинов. Разработанная система лечебно-профилактических мероприятий может быть использована фармацевтическими предприятиями, производящими современные лекарственные препараты для профилактики и лечения осложнения беременности дисбактериозом кишечника у афалин, содержащихся в дельфинариях. Данная работа актуальна в рамках программы импортозамещения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях,

рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ

1. Семёнов, В. А. Характеристика кишечной микрофлоры афалин / В. А. Семёнов, В. И. Терехов. – Текст : непосредственный // Ветеринария. – 2004. – № 8. – С. 28-30.
2. Семёнов, В. А. Состав кишечной микрофлоры у черноморских афалин, содержащихся в филиалах Утришского дельфинария / В. И. Терехов, В. А. Семёнов, В. В. Романов. – Текст : непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2004. – № 3. – С. 24-25.
3. Семёнов, В. А. Коррекция кишечного микробиоценоза у черноморских дельфинов афалин (*Tursiops truncatus Ponticus*) с помощью пробиотических препаратов / В. А. Семёнов, В. И. Терехов. – Текст : непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2007. – № 1. – С. 5-6.
4. Семёнов, В. А. Влияние хлор- и азотсодержащих веществ, растворённых в воде, на состояние кишечного микробиоценоза афалин / В. А. Семёнов, В. И. Терехов. – Текст : непосредственный // Российский ветеринарный журнал. – 2008. – № 1. – С. 14-16.
5. Семёнов, В. А. Ультразвуковое исследование самок черноморской афалины в период беременности / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова, А. В. Смышнов. – Текст : непосредственный // Российский ветеринарный журнал. – 2011. – № 1. – С. 10-12.
6. Контроль развития плода у самок черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* Varabash, 1940) во второй половине беременности / В. А. Семёнов, И. А. Родин, А. И. Околелова [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2019. – № 10. – С. 94-104.
7. Контроль развития плода у самок черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* Varabash, 1940) в первой половине беременности / В. А. Семёнов, И. А. Родин, Д. П. Винокурова [и др.]. – Текст : непосредственный // Труды / Кубанский государственный аграрный университет. – 2019. – Вып. 79 – С. 200-206.
8. Семёнов, В. А. К вопросу о влиянии различных веществ, растворённых в воде на гематологические показатели / В. А. Семёнов, И. А. Родин, А. В. Седов [и др.]. – Текст : непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 4. – С. 31-33.

9. Семёнов, В. А. Методика ультразвукового обследования дельфинов с учётом новых технологий / В. А. Семёнов. – Текст : непосредственный // Труды / Кубанский государственный аграрный университет. – 2020. – № 86. – С. 175-182.

10. Семёнов, В. А. К вопросу о распространении и этиологии дистоции у самок черноморских дельфинов афалин / В. А. Семёнов. – Текст : непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2020. – № 6. – С. 30-32.

Патенты РФ

11. Патент 2206293 Российская Федерация, А 61 D 3/00, 7/00. Способ внутривенного введения лекарственного вещества дельфинам афалинам : № 2002102339/13 : заявл. 25.01.2002 : опубл. 20.06.2003, Бюл. № 17 / Семёнов В. А., Кавунник А. М., Родин И. А. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО Кубанский государственный аграрный университет. – 6 с. – Текст : непосредственный.

12. Патент 2591730 Российская Федерация, МПК А 61 D 99/00. Ультразвуковой способ определения наличия и срока беременности у самок черноморской афалины : № 2014154064/13 : заявл. 29.12.2014 : опубл. 20.07.2016, Бюл. № 20 / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова, А. В. Смышнов [и др.] ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО Кубанский государственный аграрный университет. – 10 с. – Текст : непосредственный.

Публикации в изданиях,

индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus

13. Control of Fetal Development in the Female Black Sea Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash, 1940) using Ultrasound Procedure and Studying the Dynamics of the Linear Dimensions of the Fetal Head / V. A. Semenov, I. A. Rodin, A. I. Okolelova [et al.]. – Text : direct // International Journal of Management and Humanities (IJMH). – 2020. – Vol. 4, Is. 6. – P. 39-45.

14. Control of fetal development in the female Black Sea bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash, 1940) using ultrasound and studying the dynamics of the linear dimensions of the chest of the fetus / V. A. Semenov, I. A. Rodin, D. P. Vinokurova [et al.]. – Text : direct // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2020. – Vol. 11(1). – P. 189-202.

Работы, опубликованные в других изданиях

15. Семёнов, В. А. Качественная и количественная характеристика кишечной микрофлоры черноморских афалин, содержащихся в неволе / Владимир Александрович Семёнов. – CD: «Дельфины Чёрного моря», выпуск 3: Программа «Дельфин» и проект МОРЕКИТ Минэкоресурсов Украины // file: //D:/ Base/ Biblio/ Docs/ 2_1_9_Kok_4prog.htm. – Текст. Изображение. Устная речь : электронные.

16. Семёнов, В. А. Кишечная микрофлора вновь отловленных и длительно содержащихся в неволе черноморских афалин (*Tursiops truncatus ponticus*) / В. А. Семёнов, В. В. Романов. – Текст : непосредственный // Морские млекопитающие Голарктики : сборник научных трудов по материалам третьей международной конференции. – Украина (Крым) Коктебель, 2004. – С. 489-494.

17. Семенов, В. А. Кишечные дисбактериозы у адаптированных к неволе черноморских дельфинов афалин : *Tursiops truncatus ponticus* : специальность 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология» : автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата ветеринарных наук / Владимир Александрович Семёнов ;

Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт ГНУ РАСХН ; научный руководитель В. И. Терехов. – Краснодар, 2005. – 17 с. – Место защиты: Кубанский государственный аграрный университет. – Текст : непосредственный.

18. Семёнов, В. А. Сезонная динамика концентраций хлор- и азотсодержащих веществ, растворённых в воде и их влияние на кишечный микробиоценоз дельфинов / В. А. Семёнов, В. И. Терехов. – Текст : непосредственный // Морские физиологические и биотехнические системы двойного назначения : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. – Ростов-на-Дону, 2005. – С. 68-72.

19. Семёнов, В. А. Состав и сезонные изменения микробиоценоза кишечника у длительно содержащихся в неволе черноморских афалин (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash,1940) / В. А. Семёнов, В. В. Романов. – Текст : непосредственный // Морские млекопитающие Голарктики : сборник научных трудов по материалам IV-й международной научно-практической конференции. – Санкт-Петербург, 2006. – С. 473-477.

20. Semenov, V. A. Clinical and microbiological manifestation of intestinal dysbiosis of captive Black Sea bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus ponticus*) / V. A. Semenov. – Text : direct // Report from the 38th Annual Conference International Association for Aquatic Animal Medicine. – Lake Buena Vista, Florida, (USA), 2007. – P. 49-50.

21. Данилова, М. Н. Диагностика беременности у самок черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash,1940), содержащихся в неволе / М. Н. Данилова, В. А. Семёнов. – Текст : непосредственный // Морские млекопитающие Голарктики : сборник научных трудов по материалам V-й международной научно-практической конференции. – Одесса (Украина), 2008. – С. 148-150.

22. Surgical excision of a cervix uteri papilloma in a Northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) / V. A. Semenov, V. V. Romanov, M. N. Danilova. [et al.]. – Text : direct // Report from the 39th Annual Conference International Association for Aquatic Animal Medicine. – Pomezia, (Italy), 2008. – P. 44-45.

23. Семёнов, В. А. Ультразвуковое исследование у самок черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash,1940) в период беременности / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова, А. В. Смышнов. – Текст : непосредственный // Морские млекопитающие Голарктики : сборник научных трудов по материалам VI-й международной научно-практической конференции. – Калининград, 2008, – С. 44-46.

24. Semenov, V. A. Clinical and microbiological manifestation of intestinal dysbiosis in captive Black Sea bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus ponticus*) / V. A. Semenov, V. I. Terekhov. – Text : direct // The Aquatic Veterinarian. World Aquatic Veterinary Medical Association. – 2014. – Vol. 8, No 2. – P. 20-27.

25. Ультразвуковое исследование у самок черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash,1940) в период беременности / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова, А. В. Смышнов, И. В. Осипова. – Текст : непосредственный // Морские млекопитающие Голарктики : сборник научных трудов по материалам VIII-й международной научно-практической конференции. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 141-143.

26. Prenatal ultrasonography of the female Black Sea bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus ponticus* Barabash,1940) / V. A. Semenov, M. N. Danilova, A. V. Smyshnov, I. V. Osipova. – Text : direct // Report from the 45th Annual Conference

International Association for Aquatic Animal Medicine. – Gold Coast, (Australia), 2014. – P. 47-49.

27. Определение сроков беременности черноморской афалины (*Tursiops truncatus ponticus*) методом ультразвукового исследования / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова, А. Ю. Шантыз, Л. Д. Удовиченко. – Текст : непосредственный // Современные проблемы ветеринарии и животноводства : сборник статей по материалам III Международной научно-практической конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2015. – С. 196-203.

28. Семёнов, В. А. Изучение роли микробного фактора в этиопатогенезе дисбиозов обуславливающих нарушение беременности у дельфинов афалин (*Tursiops truncatus ponticus*) / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова. – Текст : непосредственный // Современные проблемы ветеринарии и животноводства : сборник статей по материалам III Международной научно-практической конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2015. – С. 204-209.

29. Semenov, V. A. Correction of intestinal microbiocenosis of Black Sea bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus ponticus*) with probiotic remedies / V. A. Semenov, V.I. Terekhov. – Text : direct // The Aquatic Veterinarian. World Aquatic Veterinary Medical Association. – 2014. – Vol. 9, No 2. – P. 32-36.

30. Семенов, В. А. Клиническое и микробиологическое проявление кишечного дисбиоза у черноморских афалин (*Tursiops truncatus ponticus* Varabash, 1940) содержащихся в неволе / В. А. Семёнов, М. Н. Данилова, М. С. Кондратьева. – Текст : непосредственный // Архимедъ – научно-практический журнал. – 2015. – № 4. – С. 13-18.

31. Prenatal Ultrasound Dating in Black Sea Bottlenose Dolphins / V. A. Semenov, M. N. Danilova, A. Y. Shantyz [et al.]. – Text : direct // The Aquatic Veterinarian. World Aquatic Veterinary Medical Association. – 2016. – Vol. 10(1). – P. 20-23.

32. К вопросу зачатия двойни у самки черноморской афалины / В. А. Семёнов, И. А. Родин, Л. П. Вишнивецкая [и др.]. – Текст : непосредственный // Современные проблемы сельскохозяйственных наук в мире : сборник научных трудов по итогам Международной научно-практической конференции. – Казань, 2018. – С. 31-35.

33. Родин, И. А. Об изучении динамики линейных размеров грудной клетки плода / И. А. Родин, В. А. Семёнов. – Текст : непосредственный // Научно-технологическое обеспечение агропромышленного комплекса России : проблемы и решения : сборник тезисов по материалам II Национальной конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – С. 52.

34. Родин, И. А. К вопросу об изучении динамики линейных размеров головы плода / И. А. Родин, В. А. Семёнов. – Текст : непосредственный // Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов : сборник тезисов по материалам II Международной конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2018. – С. 49.

35. К вопросу об изучении динамики щелочной фосфатазы в крови черноморских дельфинов афалин / И. А. Родин, В. А. Семёнов, А. В. Седов [и др.]. – Текст : непосредственный // Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов : сборник тезисов по материалам III Международной конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – С. 63.

36. К изучению гематологических показателей у беременных самок черноморских дельфинов афалин / И. А. Родин, В. А. Семёнов, А. В. Капустин [и др.]. – Текст : непосредственный // Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов : сборник тезисов по материалам IV Международной конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2019. – С. 50.

37. Алгоритм диагностики в магнитно-резонансной томографии на основе экспертной системы / И. А. Родин, В. А. Семёнов, М. И. Родин [и др.]. – Текст : непосредственный // Научно-технологическое обеспечение агропромышленного комплекса России : проблемы и решения : сборник тезисов по материалам V Национальной конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2020. – С. 25.

38. Перспективы ветеринарной магнитно-резонансной томографии на юге России / И. А. Родин, М. И. Родин, В. А. Семёнов [и др.]. – Текст : непосредственный // Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов : сборник тезисов по материалам V Международной конференции. – Краснодар : КубГАУ, 2020. – С. 26.

Методические рекомендации

Семёнов, В.А. Методические рекомендации по обучению дельфинов к ультразвуковому обследованию/ В.А. Семёнов, И.А. Родин// Методические рекомендации. - Краснодар, Куб ГАУ, 2020, 82 С.

Семёнов, В.А. Методические рекомендации по ультразвуковому обследованию дельфинов в сагиттальной плоскости / В.А. Семёнов, И.А. Родин// Методические рекомендации. - Краснодар, Куб ГАУ, 2020, 84 С.

Выражаем огромную благодарность Утришской морской станции в лице начальника Абрамова А.В., АО «Геленджикский Дельфинарий» в лице директора Васильева А.А., начальника ветеринарного отдела Розановой Е.И., начальника тренерского отдела Абрамова Е.В. и всех сотрудников тренерского отдела за предоставленную возможность и помощь в обследовании животных.

СЕМЕНОВ ВЛАДИМИР АЛЕКСАНДРОВИЧ

**СОНОГРАФИЯ ПЛОДА, МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ПЛАЦЕНТЫ, МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС И МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ
ПЛОДОВИТОСТИ У ЧЕРНОМОРСКИХ АФАЛИН**

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
доктора ветеринарных наук

Подписано в печать __.__.2023. Уч. изд. л. – 2,0

Тираж 100. Заказ № _____

Типография Кубанского государственного аграрного университета
350044, г. Краснодар, ул. им. Калинина, 13