

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи



ЯКОВЛЕВА УЛЬЯНА СЕРГЕЕВНА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭХОГРАФИИ И АЛГОРИТМА
ИСКУССТВЕННЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ
СИСТЕМЫ У САМОК СОБАК**

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

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биологических наук,
доцент
Цыганский Роман Александрович

Ставрополь, 2026

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Морфологическая характеристика репродуктивной системы самок собак	13
1.1.2. Физиология и эндокринология репродуктивной системы самок собак	18
1.2. Современные методы исследований репродуктивной системы и полового цикла у животных	24
1.3. Применение технологий искусственного интеллекта для диагностики животных.....	33
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1. Материалы и методы исследования.....	41
2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ.....	48
2.2.1. ЭХОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТКИ И ЯИЧНИКОВ СОБАК В РАЗНЫЕ ФАЗЫ ПОЛОВОГО ЦИКЛА.....	48
2.2.1.1. Ультразвуковая характеристика матки и яичников собак в фазу анэструса	48
2.2.1.2. Ультразвуковая характеристика матки и яичников собак в фазы проэструса, эструса и диэструса	57
2.2.1.3. Количественные показатели эхогенности яичников собак в фазы проэструса, эструса и диэструса	70
2.2.2. ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВАГИНАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У СОБАК В ФАЗЫ АНЭСТРУС, ПРОЭСТРУС, ЭСТРУС И ДИЭСТРУС....	75
2.2.3. КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОГЕСТЕРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ СОБАК В ФАЗЫ ПРОЭСТРУС, ЭСТРУС, ДИЭСТРУС	82
2.2.4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ TENSORFLOW ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У САМОК СОБАК.....	84

2.2.4.1. Обучение и тестирование нейросети Tensorflow определению фаз полового цикла у собак на основе анализа изображений клеток вагинального эпителия	84
2.2.4.2. Обучение и тестирование нейросети Tensorflow основанной на детекции цифровых эхографических изображений яичников	87
3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	90
4. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	98
5. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Ветеринария мелких домашних животных получила бурное развитие в последние десятилетия. Популяция собак, как животных компаньонов увеличивается, на современном этапе развития общества. Актуальными остаются направления служебного собаководства в различных ведомствах. Особенности полового цикла собак, 1-3 активные фазы в течение года, создают определенные трудности с воспроизводством данного вида животных в условиях частных и ведомственных питомников. Как указывают I. Karre et al. (2012) в связи с физиологическими особенностями течения стадий эструса у собак сложно точно определить овуляцию. В то же время современные методы определения стадий полового цикла у собак трудо- и времязатратны и отличаются вариабельной чувствительностью и специфичностью.

По данным J.V.S. Teodoro et al., (2023) цитологическое исследование мазков вагинального эпителия – простой в исполнении и доступный метод для определения стадий полового цикла у самок. Однако, единого стандартизированного определения типов вагинальных клеток собак на сегодняшний день не существует и различные авторы предлагают отличительные параметры для различных клеток F. Reckers et al., (2022). Такими параметрами выступают диаметр разных типов клеток, наличие и степень их ороговения.

По данным G. Mantziaras et al. (2020), Шумакова Н.И. с соавт. (2023) ультразвуковое исследование является высокоинформативным методом визуальной диагностики функционального состояния органов репродуктивной системы как у людей, так и у животных. Ультрасонографическая картина фолликулярной динамики у собак в период эструса описана Р. Hayer et al. (1993), Н.И. Колядиной (2019), Н.И. Колядиной с соавт. (2025), однако некоторые исследователи указывают, что процесс овуляции у собак сопровождается заменой фолликулов гипоехогенными структурами аналогичного размера Р. Hayer et al. (1993), а

другие – структурами с повышенной экзогенностью и меньшими, чем фолликулы размерами S.S. Wallace et al. (1992). В настоящее время характеристика экзогенности структур яичников при УЗИ осуществляется на основе субъективного, восприятия экзогенности, то есть отсутствует система высокоинформативных воспроизводимых диагностических эхографических маркёров для идентификации конкретных стадий нормального полового цикла у собак.

В последнее время активно исследуются технологии машинного обучения, подраздела искусственного интеллекта, по S.E. Hooper et al. (2023), включающего анализ данных посредством интегративных алгоритмов, направленных на автоматизированное построение аналитических моделей. В основе машинного обучения лежит глубокое обучение (англ. «deep learning» (DL)), при котором огромное количество нейронных сетей интерпретирует и использует большие объёмы данных для более глубоких «когнитивных» возможностей. Z. Akkus et al. (2017) указывают, что модели глубокого обучения извлекают сложную иерархию функций из изображений путём способности к самообучению. Одним из популярных алгоритмов глубокого обучения являются свёрточные нейронные сети (англ. «convolutional neural networks» (CNN)) A. Krizhevsky et al. (2012), самые распространенные алгоритмы применяемые к изображениям.

T. Banzato et al. (2018) использовали глубокую нейронную сеть и передачу обучения на ультразвуковых изображениях для выявления наличия диффузных дегенеративных заболеваний печени у собак. Авторы пришли к выводу, что модель более эффективна при прогнозировании заболеваний, чем биохимическое и цитологическое исследования.

Поскольку ультразвуковая диагностика по-прежнему является операторозависимым методом визуализации, разработка моделей глубокого обучения, оценивающих качество изображения, имеющих обратную связь с врачом УЗ-диагностики является перспективным направлением делающим ультразвук более интеллектуальным и менее зависимым от оператора.

Применение технологий искусственного интеллекта при анализе диагностических изображений позволит использовать диагностические ультразвукографические маркёры органов репродуктивной системы у собак для эффективного определения периода естественного или искусственного осеменения, детекции нарушений стадий полового цикла, своевременной диагностики заболеваний.

Степень разработанности темы. По данным D. Lin et al. (2016) применение технологий искусственного интеллекта в последнее десятилетие привело к прорыву в гуманной медицине. Основными направлениями применения являются распознавание диагностических изображений Z. Akkus et al. (2017), T. Kooi et al. (2017) J. Chino et al. (2017), лабораторная диагностика A. Awaysheh et al. (2016) и гистопатологический анализ, G. Litjens et al. (2016), A. Janowczyk et al. (2016). F.J. McEvoy (2013) был первым исследователем, применившим машинное обучение для диагностики опорно-двигательного аппарата в ветеринарной рентгенографии. Y. Jeong, J. Sung et al. (2015) и D. Duda et al. (2018) использовали изображения, полученные при магнитно-резонансной томографии для обучения нейросети выявлять мышечную дистрофию у собак. C.B. Marschner et al. (2017) использовали машинное обучение в компьютерной томографии лёгких для диагностики тромбоэмболии легочной артерии у собак. T. Banzato et al. (2018) использовали нейронную сеть и ультразвуковые изображения для выявления наличия диффузных дегенеративных заболеваний печени у собак. Использование алгоритмов искусственного интеллекта для диагностики ультразвуковых изображений в ветеринарном акушерстве до настоящего времени не применялось.

Цель работы: изучить эхографические и морфофункциональные характеристики органов репродуктивной системы самок собак в различные стадии полового цикла и разработать алгоритм определения функционального состояния репродуктивной системы с использованием искусственных нейронных сетей.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Выявить качественные эхографические и количественные эходенситометрические маркёры органов репродуктивной системы в различные фазы полового цикла у самок собак
2. Разработать неинвазивную методику фолликулометрии в зависимости от массы тела для определения овуляции у собак
3. Провести цитометрические исследования вагинального эпителия в течение полового цикла у собак и выявить специфические критерии для детекции его фаз
4. Сопоставить данные эхографии органов репродуктивной системы, цитометрии вагинального эпителия и уровня прогестерона в крови у собак для верификации периода овуляции
5. Используя искусственную нейронную сеть разработать комплексный алгоритм диагностики функционального состояния репродуктивной системы у самок собак основанный на детекции цифровых эхографических изображений яичников и клеток вагинального эпителия

Новизна исследований. Впервые были изучены количественные показатели эхогенности стромы яичников, фолликулов и их соотношение в течение проэструса, эструса и диэструса у собак, получен патент на способ ультразвукографического определения стадий полового цикла у собак. Дана характеристика структур матки в течение разных фаз цикла у собак. На основании изучения динамики эхографических показателей яичников, динамики уровня прогестерона крови, динамики цитометрических показателей вагинального эпителия в период проэструса, эструса и диэструса у собак определены маркёры овуляции и получен патент на способ ультразвукографического определения времени осеменения собак. Впервые использованы технологии искусственного интеллекта для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия

и диагностических эхографических изображений яичников на основе TensorFlow.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты исследования расширяют и дополняют сведения о морфофункциональных особенностях репродуктивной системы самок собак. Результаты работы могут использоваться ветеринарными специалистами, репродуктологами, кинологами для неинвазивной дифференциальной диагностики стадий полового цикла у собак и сокращение времени обследования пациентов, неинвазивного определения времени осеменения собак и сокращения количества осеменений, для автоматизации диагностики стадий полового цикла у собак с использованием нейросетевых моделей на базе фреймворка TensorFlow. Полученные данные, будут востребованы для практикующих ветеринарных врачей; при написании справочных руководств, учебников по акушерству и репродукции мелких домашних животных. Полученные результаты определения стадий полового цикла у собак, создают предпосылки для применения модели в промышленном животноводстве, поскольку клеточный состав каждой фазы эстрального цикла демонстрирует сходство между различными видами животных.

Получено 2 патента РФ: №2849174 Способ ультразвукографического определения оптимального времени осеменения собак: заявл. 14.02.2025.;опубл. 23.10.2025 Бюл. № 30; Патент №2849175, Способ ультразвукографического определения стадий полового цикла у собак: заявл. 18.02.2025.; опубл. 23.10.2025 Бюл. № 30.

Получены 2 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ: свидетельство о государственной регистрации №2026619423 от 03.04.26г. Цыганский Р.А., Яковлева У.С. Программа для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия на основе TensorFlow; свидетельство о государственной регистрации №2026619481 от 02.04.26г. Цыганский Р.А., Яковлева У.С. Программа для

обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических эхографических изображений яичников на основе TensorFlow.

Методология и методики исследования. Методологической основой проведенных исследований является разработка нового метода исследования стадии полового цикла самок собак и обучение искусственного интеллекта. Результаты исследований получены с использованием клинических, гематологических, сонографических, цитологических, биохимических и статистических методов исследования. Эти методы позволили получить объективные и достоверные результаты. Подробное описание применяемых методик представлено в разделе диссертации «Материалы и методы исследований». Особенностью работы является получение нового метода диагностики овуляции у собак и обучение искусственной нейронной сети.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Предложенные эхографические критерии позволяют определять функциональное состояние органов репродуктивной системы самок собак.
2. Совокупность цитометрических и эхографических параметров позволяют неинвазивно определять период овуляции у собак.
3. Обучение искусственной нейронной сети для контроля овуляции у самок собак новый метод, позволяющий более точно определять оптимальное время для осеменения.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность проведенных исследований, обоснованность ключевых положений и выводов подтверждаются достаточным количеством животных, задействованных в экспериментах, тщательным изучением литературы по теме исследования, а также тем, что все сонографические, цитологические и биохимические данные были получены с использованием современных методов на сертифицированном оборудовании и подвергнуты последующей статистической обработке. Результаты были тщательно проанализированы и аргументировано изложены.

Результаты научных исследований диссертационной работы приняты к внедрению и используются как справочный материал в практической деятельности специалистов ветеринарных клиник «ВетЭксперт», «Научно-диагностический и лечебный ветеринарный центр», «Ветеринарный центр им. Пирогова» (г. Ставрополь), «Медвет», «ШансБио» (г. Москва). Материалы исследований используются в учебном процессе и научных исследованиях в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I», ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского», Аграрно-технологический институт ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. Столыпина», ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Хакаский государственный университет им. Н.Ф. Катанова».

Достоверность материалов подтверждена широкой апробацией материалов диссертации на научно-практических конференциях: Международной научно-практической конференции «Перспективные разработки молодых ученых в области ветеринарии, производства и переработки сельскохозяйственной продукции» (Ставрополь, 2023-2026), Научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых (Витебск, 2023), Международной конференции факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омск, 2024), «Геномика и биотехнологии

в сельском хозяйстве», проводимой в рамках научно-практической конференции «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу» (Ставрополь, 2025-2026), Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию доктора ветеринарных наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации Тарнуева Юрия Абогоевича (Улан-Удэ, 2024).

Перспективы дальнейшего использования результатов исследования. После сбора достаточной базы данных модель можно будет использовать для определения функционального состояния органов репродуктивной системы у других видов животных. Промышленное животноводство заинтересовано в автоматизации синхронизации охоты и овуляции для искусственного осеменения. В дальнейшем, собранная база данных по видам животных позволит создать приложение для определения стадии полового цикла, что является одной из отраслей прогрессивной ветеринарии – телемедицины.

Личный вклад соискателя. Соискателем была определена исходная научная задача, а также сформулированы цель и задачи исследования. Был подобран соответствующий методологический инструмент и модели, проведен тщательный анализ научной литературы и патентных данных. Весь процесс проведения исследований, включая статистическую обработку полученных экспериментальных результатов, а также подготовку диссертационных материалов и научных публикаций, был выполнен единолично. В ходе работы были использованы методы ультразвуковой диагностики, цитологические и биохимические исследования. Полученные данные были подвергнуты комплексной статистической обработке. Личный вклад соискателя в общее выполнение диссертационной работы оценивается в 85%.

Публикации. По материалам исследований опубликовано 11 научных работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе, 3 статьи в изданиях, включенных в Перечень

Российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций («Международный вестник ветеринарии», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Ветеринария, зоотехния и биотехнология»). Четыре научные работы опубликованы в трудах и материалах российских и международных конференций. Получены 2 патента РФ на изобретения, 2 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их анализа, заключения, включающего выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы исследования, списка литературы, приложений. Указатель литературы содержит сведения о 174 источниках, в том числе 57 на русском и 117 на иностранных языках. Диссертационная работа изложена на 125 страницах компьютерного текста. Иллюстрации представлены 52 рисунками, цифровой материал сгруппирован в 6 таблицах.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Морфологическая характеристика репродуктивной системы самок собак

Половой тракт самки включает в себя вульву, преддверие влагалища, влагалище, шейку матки, матку, яйцеводы и яичники. Так же молочные железы, располагающиеся на грудной клетке и животе, являются частью репродуктивной системы (Г.П. Дюльгер с соавт. 2022).

Суки имеют два яичника (ovarium), каждый из которых содержится в ткани, называемой бурсой яичников. Они тесно связаны с концом маточных труб. Это парные половые железы самок, в которых образуются половые клетки и половые гормоны. Яичники у собак овальной формы, расположены в брюшной полости на уровне 3-4-го поясничного позвонка. Яичник является паренхиматозным органом, состоящим из комплекса, структур, обеспечивающих созревание половых клеток и гормональные функции. По периферии яичника находится поверхностный эпителий, производный мезотелия. Яичники имеют корреляционные эндокринные связи на уровне организма, обеспечивающие цикличность их функционирования. По иерархичному принципу регуляции на яичники влияют эпифиз, гипоталамус, гипофиз, что обеспечивает видовые особенности размножения у животных. Фолликулярный аппарат яичника представлен первичными, вторичными и третичными фолликулами (И.Ф. Иванов, 1976; О.В. Волкова, 1983; М.С. Петропавловская, 1988; Н.В. Зеленовский, 1997; Г.П. Дюльгер, 2002, В.П. Иванюк с соавт., 2010).

Б.М. Хромов, (1972) в строении яичника выделяет корковое и мозговое вещество. Мозговое вещество (medulla ovarii) имеет выраженное крово- и лимфообращение, содержит большое количество нервных волокон и гладкомышечных клеток. Корковое вещество (cortex ovarii) состоит из плотной ткани, содержащей фолликулы или графовы пузырьки (folliculi ovarici vesiculosi s.Graafi). В период эструса, лютеиновой фазы полового

цикла и в течение беременности яичник может принимать гроздеобразную форму (Г.П. Дюльгер, 2002). Яичники поддерживаются в брюшной полости на брыжейке яичника (передней латеральной части широкой маточной связки) и соединены с маткой подвешивающей, или собственной, связкой яичника, левый длиннее на 1-2 см, чем правый. Между ними имеется яичниковая бурса (*bursa ovarica*) (И.И. Магда, 1970, И.И. Магда, 1979, А.И. Акаевский, 2005).

Яйцепроводы (*tuba, uterine, salpinx*) – маточные или фаллопиевы трубы представляют собой трубчатые органы, соединяющие яичники с маткой, в которых происходит оплодотворение. Они также обеспечивают проведение яйцеклеток из яичника и зигот в матку. Их длина варьирует у собак от 4 до 10 см. Яйцепровод лежит в одноимённой брыжейке, сформированной из медиального листка широкой маточной связки. Один конец яйцепровода впадает в соответствующий рог матки, а другой образует воронкообразное бахромчатое расширение. Стенка яйцепровода состоит из трех оболочек: слизистой, мышечной и серозной. Слизистая формирует многочисленные продольные складки. Она выстлана цилиндрическим мерцательным эпителием. Цилиарный транспорт ориентирован к матке. Яйцепроводы производят секрет, который обеспечивает необходимые условия для поддержания активности зрелой яйцеклетки, процесса оплодотворения и первых этапов дробления. Здесь созревают сперматозоиды, оплодотворяется яйцеклетка и развивается зародыш до стадии 16-ти клеточного бластомера. Благодаря цилиарному транспорту эмбрион и половые клетки направляются в матку. Этому также способствует сокращение гладких мышечных волокон стенки органа. Сократительную активность гладкомышечных клеток яйцепроводов стимулируют эстрогены, и подавляет прогестерон (Г.П. Дюльгер с соавт. 2022, В.П. Иванюк с соавт., 2010).

Матка (*uterus*) – полый мышечный репродуктивный орган, расположена в брюшной полости между прямой кишкой и мочевым пузырем. В строении матки выделяют шейку, тело и рога. У собак матка двурогого

типа, шейка матки короткая, вдаётся в полость влагалища. Через шейку матки проходит узкий извилистый канал, соединяющий влагалище и полость тела матки. В период анэструса канал плотно закрыт и раскрывается при родовой деятельности, незначительно во время эструса, а также при некоторых заболеваниях матки. Тело матки узкое, рога длинные, прямые. Рога матки, на небольшом протяжении, остаются сращенными, а затем расходятся. Место расхождения рогов матки называется бифуркацией. Каждый рог имеет большую и малую кривизну. Стенка матки состоит из трех оболочек: внутренней – слизистой (эндометрий), средней – мышечной (миометрий) и наружной – серозной (периметрий) (Г.П. Дюльгер с соавт. 2022).

По данным И.В. Хрустальной (1994) и Н.В. Зеленецкого (1997) слизистая оболочка матки (эндометрий) складчатая и выстлана цилиндрическим эпителием, в толще которого содержится трубчатые маточные железы, вырабатывающие маточное молочко для трофики эмбриона. Эстрогены усиливают кровоснабжение эндометрия, стимулируют рост его желез. По этой причине в стадию проэструса появляются геморрагические выделения из половой щели у сук. Прогестерон стимулирует выработку маточного молочка. Во время беременности у собак, также как и у других плацентарных животных, из слизистой оболочки матки и сосудистого слоя плода образуется плацента. По типу гистотипу строения она относится к эндохориальному типу, по макроскопическому типу строения – к зональному типу. Мышечная оболочка (миометрий) имеет два слоя – внутренний круговой и наружный продольный и между ними богатый сосудами и нервами сосудистый слой. Сократительную активность миометрия тела и рогов матки стимулируют эстрогены, а подавляет прогестерон. Серозная оболочка (периметрий), покрывает матку снаружи и переходит на правую и левую широкие маточные связки, которые начинаются от малой кривизны рогов матки, боковых поверхностей ее тела и шейки, а также от краниальной части влагалища и крепятся к дорсальной

стенке брюшной полости. Маточные связки являются дубликатурой (двойной складкой) брюшины (Н.В. Зеленовский, 1997; Г.П. Дюльгер, 2002).

Шейка матки (*cervix uteri*) соединяет матку с влагалищем и действует как функциональный барьер между ними. У собак шейка матки достигает в длину 1-1,5 см и характеризуется отсутствием четких границ с телом матки и влагалищем.

Половые органы самок собак кровоснабжаются сосудами, отходящими от овариальной, или яичниковой, артерии (*arteria ovarica*) и ветвями внутренней срамной артерии (*arteria pudenda interna*). Овариальная артерия ответвляется непосредственно от аорты позади почечной артерии и разделяется на две ветви – трубную (*ramus tubarius*) и маточную (*ramus uterinus*), которые васкуляризируют яичники, маточные трубы и краниальную часть рогов матки. Внутренняя срамная артерия берет начало от внутренней подвздошной артерии (*a. iliaca interna*) и разделяется на несколько ветвей, основные из которых – влагалищная (*a. vaginalis*) и вентральная промежностная (*a. perinealis ventralis*) артерии. Влагалищная артерия кровоснабжает стенки влагалища и на уровне шейки матки переходит в маточную артерию (*a. uterina*), кровоснабжающую стенки шейки, тела и две трети рогов матки. Ветви вентральной промежностной артерии питают наружные половые органы и ткани промежности (Х. Шебиц, 2010).

Венозная кровь оттекает от репродуктивных органов по овариальным венам (*venae ovaricae*). Правая овариальная вена (*venae ovarica dextra*) впадает в каудальную полую вену (*v. cava caudalis*), левая (*v. ovarica sinistra*) – в почечную вену (*v. renalis*) (Н.В. Зеленовский, 1997).

Иннервация репродуктивных органов самок собак осуществляется симпатическими и парасимпатическими нервными волокнами. Первые отходят от каудального брыжеечного узла тазового сплетения (*pelvinus*), вторые – от крестцовых нервов (*nervi sacrales*). В стенке матки сенсорные нервные окончания располагаются в соединительно-тканых прослойках

между мышечными волокнами, иннервируя мышцы, сосуды и эндометрий. (В.А. Карпов, 1990).

Влагалище (vagina) у собак длиннее по сравнению с влагалищем других видов. Краниальнее влагалище значительно уменьшается в размерах благодаря наличию спинной срединной постшейной складки, часть ткани расположенная на спинной поверхности или потолке влагалища. Считается, что наличие этой ткани оказывает давление на эрегированный пенис самца во время размножения, направляя сперму к шейке матки, которая также лежит дорсально. Наличие спинной срединной постшейной складки затрудняет видимость шейки матки, уменьшая способность манипулирования в той области для проведения диагностических тестов или лечения. Преддверие влагалища (vestibulumvaginae) – это самая каудальная область влагалища. Оно не выполняет репродуктивной функции. Под ним находится клиторальная ямка – тупиковый мешок ткани, содержащий клитор (clitoris) или похотник, который является женским эквивалентом полового члена, не содержащий половой косточки. Клитор состоит из фиброзной, жировой и эректильной тканей и богат сенсорными нервными окончаниями. Д.В. Дашко и др. (2015) описывают преддверие влагалища как мочеполовой канал, представляющий собой тканевую трубку, спереди переходящую во влагалище, а сзади заканчивающуюся половой щелью (rimapudendi), ограниченную половыми губами. Стенка преддверия состоит из слизистой – внутренней, мышечной и соединительнотканной – наружной оболочек. Слизистая оболочка преддверия покрыта многослойным плоским эпителием и содержит лимфатические фолликулы. В слизистой оболочке нижней стенки преддверия находятся трубчатые железы, вырабатывающие слизь в различном количестве в зависимости от физиологического состояния. В боковых стенах преддверия, под слизистой оболочкой находятся развитые кавернозные образования (луковицы преддверия); при наполнении их кровью просвет преддверия суживается, что может стать причиной «склеивания» (замок) половых органов во время полового акта у собак. На

нижней стенке преддверия на границе с влагалищем открывается отверстие мочеиспускательного канала и возле отверстия уретры спереди от нее располагается слабозаметная полулунная складка, называемая мочевого клапан, соответствующая девственной плеве. У сук в некоторых случаях эта складка полностью закрывает просвет влагалища на границе с преддверием, и во время течки секреты не выходят наружу, а накапливаются во влагалище, растягивают эту перегородку, которая частично выходит через половую щель в виде пузырька, наполненного жидкостью (Д.В. Дашко и др., 2015).

Наружные половые органы: половые губы или вульва (*labiavulvae*) – представляют собой два валика, ограничивающие половую щель. Верхний угол вульвы закруглен, нижний заострен. Каждая половая губа имеет наружную и внутреннюю поверхность. Наружная поверхность выстлана нежной пигментированной или беспигментной кожей, содержащей в своей толще потовые и сальные железы. Внутренняя поверхность губ покрыта слизистой оболочкой с многослойным плоским эпителием, переходящим в слизистую оболочку преддверия (Д.В. Дашко, 2015). При катетеризации для проведения искусственного осеменения, катетер вводится во влагалище собак в самую спинную область губ вульвы, при вентральном введении в вульву, катетер попадет в клиторальную ямку.

1.1.2. Физиология и эндокринология репродуктивной системы самок собак

Начало и поддержание как циклического оогенеза, так и непрерывного сперматогенеза зависят от эндокринной регуляции. Эндокринные сигналы от гипоталамуса, гипофиза и половых желез и их взаимодействие образуют гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось. Многие внешние факторы, например, окружающая среда (свет-темнота, температура) и другие железы внутренней секреции, такие как надпочечники и щитовидная железа, могут влиять на репродуктивную функцию. Гипоталамус и гипофиз (передняя доля,

задняя доля, промежуточная часть) представляют собой прекрасный пример тесного взаимодействия между эндокринной и нервной регуляцией (Meij et al., 2010). Клетки аденогипофиза (передняя доля и промежуточная часть) дифференцируются по трем основным путям (Meij et al., 2010): 1) кортикотрофы и меланотрофы экспрессируют проопиомеланокортин (ПОМК). Кортикотрофы секретируют адренокортикотропный гормон (АКТГ) и меланотрофы секретируют альфа-меланоцитстимулирующий гормон (α -МСГ). 2) Гонадотропы секретируют фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ).

Gharib et al. (1990) описывает секрецию ЛГ и ФСГ гонадотропами гипофиза, тогда как каждый из других гормонов гипофиза секретируется определенным типом клеток. И ФСГ, и ЛГ состоят из субъединиц α и β , кодируемых разными генами. Характер секреции ФСГ и ЛГ отражает многогранная интеграция гипоталамо-гипофизарных и периферических сигналов. Генератор импульсов ГнРГ в гипоталамусе демонстрирует спонтанную, синхронизированную ауторитмичность при высвобождении декапептида ГнРГ (Mellon et al., 1990). Он переводит нервные сигналы в периодический колебательный сигнал ГнРГ скоординированным образом, чтобы управлять и контролировать гонадотропные компоненты гипофиза (Knobil, 1974; Knobil, 1980). Гонадотрофы гипофиза выделяют ЛГ и ФСГ пульсирующим образом в ответ на ритмические сигналы ГнРГ (Kooistra et al. 1999a). Каждый импульс ЛГ и ФСГ индуцируется импульсом ГнРГ (Shacham et al., 2001), но у большинства видов млекопитающих была продемонстрирована дифференциальная секреция ЛГ и ФСГ. Это указывает на наличие регуляторных механизмов, обеспечивающих независимую секрецию ЛГ и ФСГ. Одним из этих механизмов является обратная связь гонад, поскольку и эстрадиол, и ингибин могут специфически подавлять синтез и секрецию ФСГ (Shupnik M. A., 1996). Другим механизмом является частота и амплитуда импульсов ГнРГ, которые, как было показано, по-разному изменяют экспрессию генов ЛГ и ФСГ, а также секрецию этих

гормонов (Vizcarra et al., 1997). Изменение частоты импульсов ГнРГ может изменить соотношение высвобождаемого ФСГ и ЛГ (Wildt et al., 1981).

Clarkson et al. (2008), Oakley et al. (2009), Tena-Sempere (2010) описывают в своих работах кисспептин, недавно открытый нейропептидный гормон, который, как они полагают, участвует в координации путей отрицательной и положительной обратной связи внутри гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Предполагается, что кисспептин секретируется нейронами kiss 1, которые экспрессируют ген kiss 1, кодирующий кисспептин. Эти нейроны расположены в гипоталамусе, преимущественно в дугообразном ядре и антеровентральной перивентрикулярной области (Smith et al., 2005). Нейроны kiss1 участвуют в регуляции секреции ГнРГ по отрицательной обратной связи, по положительной обратной связи способствуют предовуляторному всплеску ЛГ, индуцируемого увеличением концентрации эстрадиола в плазме во время фолликулярной фазы (M. Kinoshita, 2005; Smith et al., 2005, Smith et al., 2006, Clarkson et al., 2008). ФСГ и ЛГ регулируют биосинтез половых стероидов, а также инициируют и поддерживают развитие половых клеток.

Ben-Jonathan (1985) указывает, что секреция пролактина передней долей регулируется совместно тормозящими и стимулирующими сигналами гипоталамуса. Биогенный амин дофамин признан основным тормозным нервным сигналом в регуляции высвобождения пролактина. Кроме того, известно, что некоторые вещества обладают пролактин-высвобождающей активностью, например серотонин, ТРГ и оксид азота, данный механизм описан в работах Garthwaite and Hagen (1979), Lafuente et al. (1994), Moland Rijnberk (1997), Yen and Pan (1999). Кроме того, был идентифицирован и охарактеризован специфический пептид, который способствует высвобождению пролактина в гипоталамусе (Hinuma et al., 1998). Kooistra and Okkens (2001) сообщают, что прогестерон оказывает модулирующее действие на секрецию пролактина у собак, и секреция пролактина увеличивается во второй половине лютеиновой фазы у небеременных сук,

хотя и в меньшей степени, чем у беременных и явно псевдобеременных сук. Основная роль пролактина у млекопитающих – стимуляция роста молочных желез и лактации. Пролактин увеличивает митоз эпителиальных клеток молочной железы во время развития и способствует лобулоальвеолярной дифференцировке в поздней лютеиновой фазе у небеременных сук, а также во время беременности и лактации (Briskin et al., 1999). Пролактин также влияет на функцию половых желез, играя важную роль в поддержании функции желтого тела во второй половине лютеиновой фазы как у беременных, так и у ложнобеременных сук (Okkens et al., 1990, Kooistra and Okkens, 2002).

Собаки относятся к моноэстральному виду, у которых овуляция наступает спонтанно в период эструса, который возникает с промежутком в 5-12 месяцев (Г.П. Дюльгер 2002, С.В. Федотов и др., 2014). За спонтанной овуляцией следует лютеиновая фаза, которая длится около 75 дней у небеременных сук, и несезонный анэструс продолжительностью около 2-10 месяцев (Concannon, 1993, Schaefers-Okkens, 1996). Начало проэструса обычно характеризуется кровянистыми выделениями из влагалища и длится 3-17 дней. Эструс, который определяется как период восприимчивости к спариванию, имеет продолжительность от 3 до 21 дня. Фолликулярная фаза длится до овуляции, которая обычно происходит в течение 3 дней после начала течки. Возникновение предовуляторного всплеска лютеинизирующего гормона (ЛГ) и овуляции невозможно надежно предсказать путем определения начала эструса (Wildt et al., 1978). В отличие от большинства других видов, у собак продолжительность предовуляторного пика лютеинизирующего гормона относительно велика и составляет от 1 до 5 дней (Wildt et al., 1978; Concannon, 1993; Onclin et al., 2002). Овуляция у собак происходит примерно через 2-3 дня после предовуляторного пика лютеинизирующего гормона (Phemister et al., 1973, Concannon et al., 1977, Wildt et al., 1978). У собак импульсы фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) происходят одновременно с импульсами ЛГ на всех стадиях

эстрального цикла и в анэструсе (Kooistra et al., 1999). В предовуляторный период всплеск ЛГ также связан с увеличением секреции ФСГ (Olson et al., 1982, Concannon 1993). По данным Wildt et al. (1979), предовуляторный всплеск эстрадиола, вероятно, запускает предовуляторный всплеск ЛГ. Напротив, Concannon et al. (1979, 1993) сообщают, что начало предовуляторного всплеска ЛГ было связано со снижением концентрации эстрадиола в плазме. Onclin et al. (2002) сообщили, что концентрация эстрадиола в плазме достигает максимума за 24-48 часов до пика предовуляторного всплеска ЛГ. У сук предовуляторный всплеск ЛГ связан с увеличением уровня прогестерона в плазме (P.W. Concannon и др., 1975). Однако точная временная связь между повышением концентрации прогестерона в плазме и предовуляторным пиком лютеинизирующего гормона недостаточно изучена. Такое предовуляторное повышение уровня прогестерона в плазме не наблюдается у большинства других домашних видов, но отмечается у женщин (Liu and Yen, 1983).

Прогестерон – это эндогенный стероид и прогестагенный половой гормон, оказывающий влияние на половой цикл, беременность и эмбриональное развитие у животных и человека (Д.Ф. Валиулина, 2013). Он принадлежит к группе стероидных гормонов, называемых прогестогенами, и является главным прогестогеном в организме. Прогестерон также ключевое метаболическое промежуточное звено в производстве других эндогенных стероидов, включая половые гормоны и кортикостероиды, и играет ключевую роль в функционировании мозга как нейростероид. Вырабатывается как в женском, так и в мужском организмах. Этот гормон у самок производят яичники, у самцов – семенники. Небольшое количество гормона у обоих полов выделяют надпочечники. Основным источником прогестерона является желтое тело яичника. Когда во время течки приближается овуляция, клетки фолликулов яичников трансформируются из эстроген-продуцирующих в прогестерон-продуцирующие. Такую трансформацию и овуляцию вызывает

лютеинизирующий гормон (ЛГ). Производство прогестерона представляет лютеиновую фазу яичникового цикла или диэструса. Если произошло оплодотворение, длительность диэструса будет равна длительности беременности. Беременность длится в среднем 63 дня после вязки у сук.

По данным M.S. Smith и L.E. MacDonald (1971), овуляция у собак в большинстве случаев наступает через 24 часа после максимального увеличения в крови концентрации лютеинизирующего гормона.

Отличительной особенностью полового цикла собак является то, что в отличие от других видов животных, у которых созревание ооцитов происходит до овуляции, собаки овулируют не дозревшие фолликулы (ооциты первого порядка) и затем в течение 2-3 дней отмечается первое мейотическое деление, а в течение 3-5 последующих дней наступает второе мейотическое деление. И только после этого ооциты становятся готовыми к оплодотворению (P.A. Holst, R.D. Phemister, 1971).

Исследования с помощью ультразвукового сканирования показали, что через 24-72 часа после пика лютеинизирующего гормона в крови, овулировало 77% фолликулов, а через 96 часов отмечалась овуляция почти 94% фолликулов (D.E. Wildt, 1978; G.C. England, A.E. Yeager, 1993). В исследованиях P. Concannon (1971) было показано, что овуляция у собак наступала через 38-44 часа после пика ЛГ в крови. Концентрация прогестерона за 24 часа до овуляции увеличивается в крови самок до 2 нг/мл (A.E. Yeager, P. Concannon, 1990).

Золотым стандартом определения эструса и овуляции у сук является анализ изменений вагинального эпителия и определение уровня прогестерона в крови (C. Linde-Forsberg, 1991). Кроме этого применяется вагиноскопия, вагинальная эндоскопия и ультразвуковое сканирование (Н.И. Колядова 2019, D. Hewitt, G. England, 2000, A. Fontbonne, E. Malandain, 2006; X. Levy, 2007). Оценка овуляции проводится 1 раз в 48-72 часа (B.E. Hooper et.al., 1961).

Концентрация прогестерона 2-3 нг/мл положительно коррелирует с предовуляторным увеличением в крови лютеинизирующего гормона, после чего через 48 часов наступает овуляция. В день овуляции концентрация прогестерона может варьировать от 4 до 10 нг/мл. Увеличение в мазке количества округлых клеток и появление нейтрофилов свидетельствует о начале диэструса (A. Fontbonne, E. Malandain, 2006).

Таким образом, анатомо-физиологические данные об особенностях строения органов репродуктивной системы самок собак, а так же биологии полового цикла в виде выделения незрелых ооцитов и предовуляторного роста прогестерона делает собаку уникальным объектом, где время осеменения диктуется не моментом выброса яйцеклеток, а моментом их последующего мейотического созревания в яйцеводах.

1.2. Современные методы исследований репродуктивной системы и полового цикла у животных

До настоящего времени золотым стандартом для определения срока оплодотворения, являлась лабораторная диагностика в сочетании с цитологическим исследованием: комбинация микроскопии вагинального мазка и определение концентрации в крови лютеинизирующего гормона и прогестерона. По данным A.C. Valenciano и R.L. Cowell, (2020) цитологическое исследование вагинального эпителия полезно для определения подходящего времени оплодотворения, но как моноисследование не позволяет достоверно отличить поздний проэструс от эструса и не дает конкретной информации о дате овуляции. Обнаружение пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) позволяет довольно точно предсказать начало периода оплодотворения, однако, более практичным может быть показатель повышения концентрации прогестерона в плазме до 6-8 нг/мл. Однако, при микроскопии ооцитов, полученных из половых путей через 2 и 4 дня после однократного интравагинального осеменения сук с

помощью баллонного катетера, проведенного в течение 12 часов с момента обнаружения овуляции отмечено, что, несмотря на концентрацию прогестерона, превышающую 47,7 нмоль/л, оплодотворения не происходит. В связи с этим, концентрация прогестерона в крови сук в качестве маркера для определения времени осеменения не является высокопрогностичным методом, а время осеменения играет важную роль для выживания сперматозоидов в половых путях самки. Комбинация же цитологических методов с лабораторными тестами является экономически затратным.

М. Hase, Т. Hory и др. (2000) описали в своей работе метод прогнозирования овуляции у собак с помощью УЗИ и измерения уровней ЛГ и прогестерона в плазме три раза в день. Овуляцию наблюдали путем обнаружения фолликулов неправильной формы в яичниках при ультразвуковом исследовании у шести из 11 собак (54,5%). У этих собак время между пиком ЛГ и овуляцией составляло 24-48 часов, в среднем 38,0 часов. Уровень прогестерона в день овуляции составлял 1,88-2,81 нг/мл, в среднем 2,34 нг/мл. У одной собаки было обнаружено значение 1,88 нг/мл, но у остальных пяти собак уровень прогестерона был равен 2 нг/мл или выше. Уровень прогестерона накануне овуляции составлял 0,8-1,56 нг/мл, в среднем 1,12 нг/мл. Если предположить, что овуляция произошла через два дня после пика ЛГ у 11 подопытных собак, то уровень прогестерона составил 2,12-4,06 нг/мл, в среднем 2,78 нг/мл. Период высокого уровня ЛГ, не менее 10 нг/м, продолжался в течение 12 часов вокруг пика ЛГ. Основываясь на этих результатах, чтобы предсказать овуляцию с помощью УЗИ и уровня ЛГ, необходимо будет проводить тесты несколько раз в день. Напротив, было показано, что день, в который уровень прогестерона в плазме 2 нг/м или выше был обнаружен с помощью теста, выполняемого один раз в день, соответствовал дню овуляции.

Оценка влагалищного мазка

Цитологическое исследование мазков вагинального эпителия – простой в исполнении и доступный метод для определения стадий полового цикла у

самок (А. Antonov, 2016). В зависимости от типов клеток в мазке, можно определить благоприятный период для оплодотворения самки. Изменения соотношения в типах клеток напрямую связаны с концентрацией эстрогена в сыворотке (А. Wehrend, 2010).

Влагалищный мазок исследуется с помощью световой микроскопии с увеличением от $\times 100$ до $\times 400$. Необходимо исследовать как минимум 10 полей зрения (Н. Bostedt, 2016).

Существуют различные типы клеток влагалища (А. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, А. Wehrend, 2010). Согласно большинству авторов, клетки стенки влагалища делятся на базальные, парабазальные, промежуточные, поверхностные и сквамозные (D.W. Christie, J.B. Bailey, 1972).

В целом принято считать, что типы вагинальных клеток в мазке зависят от уровня эстрального цикла (М.А. Dore, 1972, S.D. Johnston, 2001), что делает цитологическое исследование влагалищного мазка ценным дополнительным тестом в репродуктивной клинической диагностике (I. Aydin, 1962).

Базальные – мельчайшие клетки (10-20 мкм) стенки влагалища. Они практически полностью заняты ядром и редко наблюдаются во влагалищном мазке, поскольку расположены на базальной мембране (А. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967).

Парабазальные – маленькие (15-25 мкм) шарообразные или овоидные клетки с довольно большим ядром. Иногда они содержат цитоплазматические вакуоли. Парабазальные клетки могут также содержать в цитоплазме нейтрофильные гранулоциты, и тогда их называют метаэструсными клетками, хотя они могут появляться и на других стадиях цикла или при вагините (А. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967).

Промежуточные клетки значительно различаются в диаметре, поэтому разделяются на клетки двух типов, малые (20 мкм) и большие (30 мкм). Оба

типа содержат хорошо оформленное ядро. Малые промежуточные клетки имеют форму от круглой до эллиптической, но могут также быть полигональными, в то время как большие клетки отличаются неправильной формы или угловатая цитоплазматическая граница. Промежуточные клетки имеют заметные ядра. Большие промежуточные клетки иногда путают с поверхностными клетками, поскольку у них похожий размер (A. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967).

Поверхностные клетки крупные, диаметром от 20 до 75 мкм (A. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967). Они имеют неправильной формы или угловатые границы и тёмное, пикнотическое или бледное ядро. Поверхностные клетки достигают своего максимума во время эстрогенного пика (A. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967, P.N. Olson, 1982).

Сквамозные клетки – это крупные ороговевающие клетки, которые перенесли дегенерацию и стали мёртвыми безъядерными клетками (A. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967, P.N. Olson, 1982). Обычно они окрашиваются тёмным сине-пурпурным цветом в период эструса.

Помимо клеток влагалища в мазках при цитологическом исследовании обнаруживаются и другие клетки: эритроциты, нейтрофилы (лейкоциты), бактерии, опухолевые клетки, эпителиальные клетки ямки клитора, сперматозоиды, гигантские трофобласты и посторонние включения (A. Antonov, 2016, А.Л. Антонов, 2018, Н. Bostedt, 2016, S.D. Johnston, 2001, A.P. Schutte, 1967, P.N. Olson, 1982).

Определение времени овуляции во время эструса важно для выбора подходящего момента осеменения и, следовательно, достижения высокой фертильности (C.C. Pérez, 1967).

Единого стандартизированного определения типов вагинальных клеток собак на сегодняшний день не существует, однако различные авторы предлагают отличительные параметры для различных клеток. Такими параметрами выступают диаметр разных типов клеток, наличие и степень их ороговения.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) является высокоинформативным методом визуальной диагностики функционального состояния органов репродуктивной системы и оценки течения беременности как у людей, так и у животных (Р.А. Цыганский, 2012, Н.И. Колядина 2019).

В связи с физиологическими особенностями течения стадий активной фазы полового цикла у собак сложно точно определить овуляцию. Одним из важных параметров при ультрасонографии является эхогенность исследуемой структуры. Большинство публикаций, описывающих изменения тканей и органов при УЗИ, основаны на субъективном, недоказанном, восприятии основного параметра – эхогенности, а количественная оценка производится только путём подсчета субъективно оцененных изо-, гипо- или гиперэхогенных структур. Так, Р. Nayer et al. (1993) характеризуют фолликулы как анэхогенные сферические структуры в яичниках, которые можно визуализировать уже с первого дня проэструса у собак, однако авторы не отмечают каким образом изменяется эхогенность фолликулов в процессе их созревания и овуляции. В исследовании G.C.W. England et al. (1993) установлено, что процесс овуляции у собак сопровождается заменой фолликулов гипоехогенными структурами аналогичного размера.

По данным S.S. Wallace et al. (1992) в начале проэструса яичники однородные и имеют эхогенность, равную или немного выше, чем эхогенность коркового вещества почек. При этом фолликулы авторы описывают как очаговые гипоехогенные или анэхогенные округлые структуры. В данном исследовании указано, что через некоторое время после овуляции в яичниках обнаруживались анэхогенные структуры, неотличимые

от фолликулов, которые со временем увеличивали эхогенность и уменьшались в размерах.

I. Karre et al. (2012) в своём исследовании распределения и жизнеспособности сперматозоидов в половом тракте самок собак в связи с созреванием ооцитов описывали повышение эхогенности стенки у преовуляторных фолликулов. Однако, в этом и приведённых выше исследованиях, характеристика эхогенности структур яичников при УЗИ проводилась на основе субъективного, восприятия эхогенности, то есть данный параметр являлся недоказуемым и не воспроизводимым.

Имеются некоторые сообщения о сравнении количественных характеристик эхогенности ряда структур. Так, в исследовании M. Ivančić et al. (2008) приведено сравнение эхогенности паренхимы печени и коры почки у здоровых собак. Эхогенность определяли при помощи цифрового анализа изображений в программе Image J 1.38d, Wayne Rasband, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD по средней интенсивности пикселей с использованием 8-битовой шкалы с 256 оттенками серого цвета. Авторы пришли к заключению, что эхогенность коры почки выше, чем у печени в разных режимах сканирования. Ранее же допускалось наличие изоэхогенности этих структур, основанное на субъективном восприятии.

В исследованиях Р.А. Цыганского (2018, 2021), R.A. Tsygansky et al. (2021) проведена количественная эходенситометрия стенки желудка и кишечника собак с определением индекса эхогенности их слоёв, что позволяет проводить объективную оценку состояния данных отделов пищеварительного канала в норме и патологии (R.A. Tsygansky et al., 2021).

За последние 10 лет произошли существенные технологические усовершенствования оборудования и разработаны дополнительные методы визуализации: доплерография, УЗИ с контрастным усилением, эластография и 3D/4D УЗИ – были разработаны для повышения диагностической чувствительности двумерного (В-режим) ультразвука, а не как отдельные тесты. В репродуктивной диагностике мелких животных эти

методы приобретают все большую популярность. Клиническая применимость на сегодняшний день ограничена из-за отсутствия исследований диагностической ценности в конкретных ситуациях. Будущие исследовательские проекты должны быть также сосредоточены на стандартизации используемых методов, на определении пороговых значений для различения здоровых или больных или фертильных от бесплодных, а также на прогностической ценности передовых результатов ультразвукового исследования. Продолжающееся развитие и оптимизация различных ультразвуковых методов, а также рост соответствующего научного интереса и исследований во всем мире обещают, что клинический интерес к использованию передовых ультразвуковых методов будет возрастать в будущем (O.J. Ginther, 2017; G.C. England et al., 2018).

Трехмерное (3D)/четырёхмерное (4D) объемное ультразвуковое исследование – это признанный метод в медицине человека, который предлагает различные варианты анализа и представления объемных данных ультразвукового исследования. Однако в литературе еще не сообщалось об успешном применении различных методов 3D/4D визуализации у собак и кошек. Основными причинами этого являются: высокая стоимость ультразвуковых систем 3D/4D, трудности эксплуатации из-за высокой частоты дыхания у животных, не подвергающихся седативным препаратам, и отсутствие специальных знаний в ветеринарной медицине о том, как выполнять ультразвуковые исследование высококачественного объемного сканирования. Автоматически полученные наборы объемных ультразвуковых данных были созданы с помощью двух разных ультразвуковых систем: портативного Voluson i и стационарного VolusonExpert 730. Различные методы 3D/4D визуализации были протестированы на предмет их применимости при наблюдении за беременностью у собак и кошек. С использованием сохраненных файлов было применено девять различных методов объемной визуализации. Для представления наборов статических трехмерных объемных данных мы

использовали режимы мультипланарности, ниши, поверхности, прозрачности, стеклянного тела, инверсии, расчета объема и томографической ультразвуковой визуализации. Для динамических 4D-данных были применены режимы поверхности и стеклянного тела. Изменив стандартные настройки человека в соответствии с требованиями анатомии мелких животных, было обнаружено, что ультразвуковое исследование 3D/4D имеет большой потенциал для характеристики беременности у самок собак и кошек (Л.И. Рогожина и др., 2021). Технология 3D/4D предоставила расширенную информацию о статусе беременности и прогнозировании родов, а также повысила достоверность диагностики. Используя стандартизированные протоколы обследования, УЗИ 3D/4D позволит сократить время обследования за счет получения еще более актуальной информации. Эти преимущества в сочетании с возможным будущим снижением стоимости коммерческих ультразвуковых систем могут привести к их частому использованию в повседневной диагностике беременности и ведении родов в практике мелких животных.

Эндоскопия (вагиноскопия и гистероскопия): использование гибких и жестких эндоскопов для визуального осмотра слизистой влагалища и шейки матки. Позволяет выявлять скрытые воспаления (эндометриты), полипы или аномалии развития. Трансцервикальная эндоскопия также применяется для прицельного введения семени (J.R. Watts et al., 2019; M.S. Camus et al., 2020).

Гормональный и биохимический мониторинг

Иммуноферментный анализ (ИФА/ELISA) и РИА:

Определение точного уровня прогестерона остается «золотым стандартом» для определения дня овуляции (особенно у собак) и контроля лютеиновой фазы;

Антимюллеров гормон (АМГ): современный маркер для оценки овариального резерва (количества яйцеклеток) и диагностики опухолей яичников (гранулезоклеточных опухолей);

Преимущества: высокая чувствительность и специфичность, возможность автоматизации (анализаторы), количественный результат. Позволяет точно определить стадию цикла, момент овуляции, диагностировать кисты, гипофункцию яичников, оценить резерв яичников (АМГ) (М. Leblanc, 2010; И.Н. Меженин, 2020; М. Абдулразак, 2022).

Экспресс-тесты (LateralFlowTests): позволяют владельцам и фермерам определять уровень ЛГ (лютеинизирующего гормона) или специфических белков беременности (например, PAGs у КРС) в полевых условиях.

Смарт-датчики и телеметрия у продуктивных животных (коровы, лошади) используются датчики активности (акселерометры), которые фиксируют изменение поведения во время течки (увеличение двигательной активности, изменение времени жевания). Система присылает уведомление на смартфон ветеринару о «диагностированном» половом цикле.

AI-анализ спермограммы (CASA – Computer-AssistedSpermAnalysis): автоматизированные системы оценивают не только концентрацию, но и траекторию движения каждого сперматозоида, морфологию и целостность ДНК. ИИ исключает субъективность оценки лаборанта.

Автоматический подсчет плодов на рентгенограммах: нейросети помогают безошибочно определить количество плодов на поздних сроках беременности, анализируя плотность скелетов (N.S. Wolcott et al., 2022, T. Banzato et al., 2024).

Молекулярно-генетические методы

ПЦР-диагностика (PCR): выявление скрытых инфекций ЖКТ и репродуктивного тракта (герпесвирусы, бруцеллез, хламидиоз), которые могут быть причиной бесплодия или абортов;

NGS (Секвенирование нового поколения): используется для выявления генетических мутаций, приводящих к ранней эмбриональной смертности или наследственным заболеваниям репродуктивной системы;

Эпигенетические исследования: изучение того, как условия содержания и кормления матери влияют на развитие репродуктивной системы потомства еще в утробе.

Вспомогательные репродуктивные технологии (BPT/ART)

Хотя это методы лечения, они также являются методами исследования *in vitro*: OPU (OvumPick-Up): прижизненный забор яйцеклеток из фолликулов под контролем УЗИ; IVP (InVitroProduction): оценка способности ооцитов к оплодотворению во внеорганизменной среде.

Таким образом, ни один из указанных методов в отдельности не обладает 100% прогностической точностью в отрыве от эндокринного профиля (мониторинг уровня прогестерона). Однако в совокупности они позволяют создать многофакторную модель мониторинга.

1.3. Применение технологий искусственного интеллекта для диагностики животных

Искусственный интеллект (ИИ) является довольно новым явлением в ветеринарии. Однако за последнее десятилетие исследователи, ученые и предприниматели начали внедрять машинное обучение и ИИ в ветеринарное здравоохранение с новаторскими результатами.

Машинное обучение, подраздел искусственного интеллекта, включает анализ данных посредством интегративных алгоритмов, направленных на автоматизированное построение аналитических моделей. Технологии машинного обучения широко применяют в медицине и ветеринарии в различных областях диагностики. Искусственный интеллект – ценный, прогрессивный инструмент, который может помочь ветеринарным специалистам улучшить свою работу, увеличить скорость и точность, освобождая их для решения сложных задач и концентрации на благополучии своих пациентов. Фактически, искусственный интеллект уже используется в различных областях ветеринарной медицины, чтобы помочь специалистам

диагностировать, прогнозировать и принимать более обоснованные решения о терапии животных (Н. Didelot, 2024).

Основная идея внедренного в ветеринарную медицину ИИ заключается в предполагаемой системе обнаружения объекта и выявления у него заболевания. Данный метод состоит из тактики диагностики изображений, такой как: предварительная обработка, преобразование, извлечение признаков и классификация заболеваний. Применяя эту серию методов обработки изображений, можно автоматизировать процедуру идентификации заболеваний. Самым серьезным ограничением является зависимость точности диагностики от действий человека – оператора. Для этого разрабатывается система цифровой обработки изображений для автоматизации исследования болезней животных. Система должна дифференцировать вид животного, породу, возраст, пол и собирать данные о его состоянии (Н. Didelot, 2024).

Значительный прогресс был достигнут в распознавании изображений, в первую очередь благодаря доступности крупномасштабных аннотированных наборов данных и глубоких сверточных нейронных сетей (СНС). СНС позволяют изучать управляемые данными, высокорепрезентативные характеристики изображений на основе достаточного количества обучающих данных.

F.J. McEvoy (2013) был первым исследователем, применившим машинное обучение (МО) к изучению опорно-двигательного аппарата в области ветеринарной визуализации. Во-первых, в 2013 году он использовал модель дискриминантного анализа с частичным использованием метода наименьших квадратов и модель искусственной нейронной сети для идентификации бедер собак на рентгенограммах, классифицируя изображения как «бедро» или «не бедро». Позже, в 2021 году, F.J. McEvoy et al. использовали глубокое обучение для бинарной классификации дисплазии тазобедренного сустава, на первом этапе используя сеть YOLO для определения области тазобедренного сустава, а затем, на втором этапе, чтобы

определить, присутствует ли дисплазия тазобедренного сустава или нет. Оба исследования показали, что МО может применяться для ветеринарной визуализации, в частности, для выявления дисплазии тазобедренного сустава. Gomez et al. (2021) провели исследование, аналогичное исследованию F.J. McEvoy et al. (2021), используя сверточные нейронные сети для классификации рентгенограмм собак как диспластических или нет, и измерили эффективность модели путем сравнения результатов с классификацией, проведенной экспертом-рентгенологом. В конечном итоге модель и ветеринарный рентгенолог дали схожие результаты.

R. Shaker et al. (2022) также применили СНС для диагностики дисплазии тазобедренного сустава, как на рентгенограммах, так и на МРТ, разработав две модели: одну для выявления дисплазии тазобедренного сустава у собак, а другую для классификации тазобедренных суставов по категориям. Модель обнаружения дисплазии достигла хороших результатов с точностью 89,7%, в то время как модель классификации достигла только 70%.

D.E. Moreira da Silva et al. (2022) использовали U-net для сегментации бедренной кости и вертлужной впадины и активного обучения, чтобы максимизировать производительность модели при наименьшем объеме данных. Это привело к созданию высокопроизводительной модели, которая потребовала на 18,98% меньше аннотированных данных.

G.B. Ergun и S. Guney (2021) использовали СНС для классификации рентгенограмм, чтобы определить возраст собаки (исследуя зоны роста на костях), а также обнаружить переломы. Группа достигла хороших результатов, получив баллы от 0,62 до 0,89. В этой работе также оценивался эффект от использования расширения данных и обучения передаче.

Y. Ye et al. (2021) разработали автоматическую систему для помощи в классификации ткани как здоровой или злокачественной с высокой точностью.

Y. Jeong, J. Sung et al. (2015) и D. Duda et al. (2018) применили машинное обучение к магнитно-резонансным изображениям (МРТ) для выявления мышечной дистрофии у золотистых ретриверов. Y. Jeong et al. (2015) использовали два разных классификатора машинного обучения для классификации изображений как здоровых или больных. D. Duda et al. (2018) использовали три классификатора машинного обучения для разделения прогрессирования дистрофии на четыре фазы.

Y. Yoon, T. Hwang et al. (2018) и S. Burti et al. (2020) использовали СНС для оценки рентгенограмм собак. S. Burti et al. (2020) использовали его для оценки наличия или отсутствия кардиомегалии, в то время как Y. Yoon et al. (2018) использовали его для оценки кардиомегалии, наличия пневмоторакса, плеврального выпота, легочных паттернов и смещений средостения. Y. Yoon et al. (2018) также применили в том же исследовании многофункциональную модель машинного обучения, которая показала худшие результаты, чем система нейронных связей. L. Dumortier et al. (2022) использовали СНС, предварительно обученные на рентгеновских снимках грудной клетки человека, для идентификации легочных паттернов на рентгенограммах кошек, обучив 200 различных сетей, каждая из которых с различными случайно выбранными наборами обучения и валидации, чтобы улучшить производительность модели. T. Banzato et al. (2021) также использовали систему нейронных сетей с обучением передаче, используя две разные предварительно обученные модели ResNet-50 и DenseNet-121, чтобы проверить, какая из них будет более эффективной. Целью модели было классифицировать рентгенограммы грудной клетки собак, помечая их как: без патологии, кардиомегалия, альвеолярный, бронхиальный и интерстициальный рисунок отека, наличие новообразования, плевральный выпот, пневмоторакс и мегаэзофагус. ResNet-50 показал лучшие результаты. Эта группа также разработала аналогичное исследование для оценки рентгенограмм кошек, протестировав ResNet-50 и Inception V3 CNN. Обе сети имели схожие характеристики с высокой точностью.

M. Zhang et al. (2021) использовали глубокое обучение для определения показателей сердечного ритма путем измерения 16 ключевых точек в позвоночнике и сердце, которые затем использовались для оценки наличия кардиомегалии на рентгенограммах собак, со средним показателем 90,9%. Затем M. Zhang et al. (2022) предложили новый автоматизированный сердечный индекс для собак, чтобы улучшить классическую оценку сердечных сокращений, используя алгоритм, сочетающий сегментацию и измерения. Результаты показали, что этот новый метод может быть использован для диагностики кардиомегалии на более ранней стадии и с высокой степенью эффективности.

S. Li et al. (2020) использовали СНС для выявления увеличения левого предсердия, сравнивая результаты с оценками ветеринарных рентгенологов. Они обучили две модели, одна из которых более высоко ценила точность, а другая – чувствительность. Результаты показали, что производительность модели с акцентом на точность достигла большей результативности и составила 85,19% чувствительности.

C.B. Marschner et al. (2017) использовали МО в компьютерной томографии легочной паренхимы для диагностики тромбоэмболии легочной артерии у собак. Модель была способна различать здоровую и патологическую легочную ткань. Однако он не смог точно отличить собак с этой патологией от собак с другими патологиями легких.

J. Ott et al. (2021) применили концепцию СНС для разработки искусственного интеллекта, способного обнаруживать кокцидиоидомикоз легких на рентгенограммах собак, добиваясь высокопроизводительных результатов.

P. Arsomngern et al. (2019) разработали приложение рентгенологической диагностики (Pet-X) для выявления патологий легких у кошек и собак с помощью СНС, путем загрузки снимков с поражениями и классификацией их на альвеолярные, интерстициальные и бронхиальные. Программа показывала лучший результат на рентгенографических снимках

сделанных в боковом положении, что т.к. на вентродорсальных изображениях присутствовало больше шумов. Что касается классификации поражений, бронхиальная и интерстициальная модели обнаружения показали худшие показатели, чем альвеолярная модель.

Е. Boissady et al. (2020) использовали программу искусственного интеллекта PicoxAI для скрининга рентгеновских снимков грудной клетки. Они испытали три разных СНС с тремя разными предварительно обученными моделями: одну без предварительной подготовки, другую, предварительно обученную с помощью изображений из ImageNet, и еще одну, предварительно обученную с помощью ImageNet, с последующим обучением на наборе данных рентгеновских снимков грудной клетки человека. Сеть, предварительно обученная только на неспециализированных данных (ImageNet), достигла наилучших результатов. В 2021 году Е. Boissady et al. также использовал СНС от PicoxAI для расчета показателя геометрии сердца относительно длины позвоночника, сравнивая полученные результаты с аннотациями ветеринарных специалистов, чтобы оценить производительность модели. Hespel A.-M. et al. (2022) также оценили эффективность программы PicoxAI для анализа рентгенограмм грудной клетки, классифицировав изображения 15 возможными метками.

Е. Kim et al. (2022) изучили приложение искусственного интеллекта Vetology и сравнили его результат с оценками ветеринарных рентгенологов при диагностике кардиогенного отека легких у собак. Точность, чувствительность и специфичность модели превышали 90%. T.R. Müller et al. (2022) провели аналогичное исследование диагностики плеврального выпота, получив точность 88,7%, чувствительность 90,2% и специфичность 81,8%.

T. Banzato et al. провели три исследования, в которых использовали искусственный интеллект для анализа нервной системы по результатам МРТ. В 2017 году они использовали текстурный анализ машинного обучения для прогнозирования гистологической степени менингиомы собак. В 2018 году они провели новое исследование по классификации менингиомы, с

использованием двух разных СНС, одна с предварительной подготовкой, а другая без предварительной подготовки. Подобное исследование с использованием СНС и трансферного обучения было проведено группой T. Banzato в 2018 году, чтобы изучить различие между глиомой и менингиомой у собак. Во всех этих исследованиях был сделан вывод, что машинное обучение является эффективным инструментом для оказания помощи клиницистам в проведении МРТ-анализа.

M. Spiteri et al. (2019) применили машинное обучение и машины вспомогательных векторов для идентификации собак породы кавалер-кинг-чарльз спаниель с болью связанной с киари-подобным пороком развития, и сирингомиелией путем выявления отличительных признаков при МРТ.

A. Biercher et al. (2021) разработали СНС для выявления нескольких патологий грудного отдела спинного мозга при МРТ собак, таких как экструзия межпозвоночного диска, протрузия межпозвоночного диска, фиброзно-хрящевая эмболия, сирингомиелия и неоплазия. Модель показала успешные результаты в обнаружении и различении большинства патологий, за исключением сирингомиелии и неоплазии.

M.W. Wanamaker et al. (2021) использовали машинное обучение для дифференцировки и идентификации глиальных опухолевых клеток и неинфекционного воспалительного менингоэнцефалита по МРТ. Авторы также пытались классифицировать подтипы внутри двух заболеваний, но без особого успеха.

T. Banzato et al. (2018) использовали глубокую нейронную сеть и ультразвуковые изображения для выявления наличия диффузных дегенеративных заболеваний печени у собак. Результаты были сопоставлены для оценки точности модели с данными биохимии сыворотки крови и цитологии мазков, используя результаты гистопатологии в качестве основной достоверности. Они пришли к выводу, что модель более эффективна при прогнозировании заболеваний, чем биохимия и цитология.

R. Shaker et al. (2021) разработали модель машинного обучения с использованием сверточной нейронной сети для определения тяжести язвы роговицы у собак. Модель обучалась на изображениях, для которых степень тяжести язвы роговицы (нормальная, поверхностная и глубокая) ранее классифицировалась ветеринарными офтальмологами на основе диагностических оценок фотографий роговицы. Исходные изображения (нормальная роговица (36) и роговицы с поверхностными (47) и глубокими (47) язвами), изображения были помечены, изучены и оценены с помощью моделей GoogLeNet, ResNet и VGGNet, и была определена тяжесть каждого изображения язвы роговицы. Для выполнения этой задачи использовались модели на основе TensorFlow, библиотеки программного обеспечения с открытым исходным кодом, разработанной Google, и помеченные изображения были преобразованы в формат TensorFlowrecord (TFRecord). Большинство моделей достигли точности более 90% при классификации поверхностных и глубоких язв роговицы, а ResNet и VGGNet достигли точности более 90% при классификации нормальной роговицы, роговицы с поверхностными язвами и роговицы с глубокими язвами.

Исследование, проведенное N.S. Wolcott et al. (2022), показало, что эффективность алгоритма при классификации стадий эстрального цикла на основе изображений мазков вагинального эпителия была сопоставима с результатами заключений экспертов при диагностике эструса, проэструса и метэструса, и превосходила их результаты при определении диэструса.

Таким образом, технологии искусственного интеллекта в диагностике животных смещают фокус с реактивной медицины (лечение симптомов) на превентивную и персонализированную медицину.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во время выполнения диссертационной работы нами была разработана методика определения фаз полового цикла у самок собак с помощью ультразвуковой диагностики и алгоритмов искусственных нейронных сетей, что соответствует современным тенденциям в ветеринарной репродуктологии и имеет научную новизну. Определены качественные эхографические и количественные эходенситометрические маркёры органов репродуктивной системы в различные фазы полового цикла у самок собак, выведен фолликулярный индекс экзогенности и исследована его динамика в течение полового цикла у собак. Проведены цитометрические исследования вагинального эпителия и выявлены специфические критерии для детекции фаз полового цикла. Для верификации периода овуляции были сопоставлены данные эхографии органов репродуктивной системы, цитометрии вагинального эпителия и уровня прогестерона в крови у собак. В завершении были использованы технологии искусственного интеллекта для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия и диагностических эхографических изображений яичников.

2.1. Материалы и методы исследования

Исследования реализованы на кафедре физиологии, хирургии и акушерства института ветеринарии и биотехнологий Ставропольского государственного аграрного университета, в Ветеринарном центре им. Пирогова г.Ставрополя в период с 2022 по 2026 год. Исследование нормальной ультразвуковой анатомии органов репродуктивной системы фазу анэструс использовали 136 разнопородных здоровых самок собак без заболеваний репродуктивной системы в анамнезе, в возрасте от 1 года до 7 лет. Животных разделили на 3 группы по весу: ≤ 5 кг (породы: чихуахуа, йоркширский терьер, померанский шпиц, мальтезе, мальтипу), 6-15 кг (породы: французский бульдог, басенджи, бигль, вельш-корги пемброк,

мопс, сиба-ину, джек рассел терьер, американский кокер-спаниель, цвергшнауцер), и ≥ 16 кг (доберман, лабрадор-ретривер, немецкая овчарка, сибирский хаски, ротвейлер). Фазы проэструс, эструс и диэструс исследовали у 54 разнопородных здоровых самок собак без заболеваний репродуктивной системы в анамнезе, в возрасте от 1 года до 6 лет. Так же у 54 сук было взято 386 образцов крови для исследования концентрации прогестерона в течении указанных фаз полового цикла. Алгоритм исследования представлен на рисунке 1. Все животные были клинически здоровы, перед взятием проведен физикальный осмотр. Для получения образцов проводилась венепункция из вены предплечья. Перед взятием проводится обработка рук, надеваются нитриловые перчатки, вена животного фиксируется путем наложения жгута, область отбора выбривается и обрабатывается антисептиком (2%-ый раствор хлоргексидина глюконата в 70% спирте), далее кожа насухо вытирается стерильным тампоном. Чаще всего использовалась головная вена, а так же медиальная вена сафена, игла-бабочка для взятия размером 23G, прокол был осуществлен острым концом со скосом вверх в закрытую систему через катетер – бабочку непосредственно в пробирку Z с активатором свертывания до указанной отметки, после взятия на место отбора накладывалась давящая повязка на 15-20 мин со спиртовой салфеткой. Пробирка с кровью (min объем 2.5 мл), была перевернута 4-6 раз, далее оставлена в вертикальном положении на 30 мин при комнатной температуре, после этого пробирка помещается в центрифугу при 2000g. в течение 10 мин. После этого сыворотка отбирается в пробирку Z без добавок. Контейнер маркируется и направляется в лабораторию при температурном режиме $+2^{\circ}\text{C} \dots +8^{\circ}\text{C}$.

Метод определения прогестерона хемилюминесцентным иммуноанализом на микрочастицах. Анализ проводился на флуориметрическом анализаторе для ветеринарии BionoteVcheckV200, производство компании SDBiosensor (Корея).

УЗИ проводили на сканерах SIUI Apogee 1100 (Shantou Institute of Ultrasonic Instruments Co., Ltd., Guangdong, China) и EM3 G76 Vet (Emperor

Medical, Shenzhen Emperor Electronic Technology Co., Ltd., Shenzhen, China). Исследования проводились по общепринятой методике с использованием мультимодальных микроконтактных и линейных датчиков с частотами 7,5-12 МГц.

Ультразвуковыми параметрами, характеризующими морфофункциональный статус органов репродуктивной системы, нами были избраны: дорсо-вентральный размер (диаметр) тела матки и рогов матки, состояние ее полости, эхогенность и эхоструктура стенки, визуализация яичников, определение их эхогенности и эхоструктуры, наличие в них фолликулов. Яичники у самок собак определяли на уровне III–IV поясничных позвонков, с некоторым смещением относительно друг друга каудо-латеральнее каудального края почек или в непосредственной близости от него.

Яичники и матку сканировали в продольной, поперечной плоскостях и ряде косых проекций. Линейные размеры яичников, фолликулов и структур матки определяли при их ультразвуковой визуализации, на зафиксированном изображении при продольном и поперечном скане. Количественные параметры эхогенности яичников и фолликулов определяли, используя методики Т.Л. Силиной, с соавт. (2010) и Р.А. Цыганского (2020). Для оценки эхооднородности структур яичника осуществляли сравнение двух зон стромы и фолликулов, расположенных на одинаковом расстоянии от датчика – исследуемой и фоновой. Для этого производили анализ ультразвукового изображения яичника на IBM PC-совместимом компьютере в графическом редакторе в черно-белом режиме, для чего используя функцию гистограммы, выделяли исследуемую зону и фоновую зону, как в строме, так и в фолликуле, обводя их с помощью инструмента «лассо». При этом числовые значения параметров «среднее значение» и «отклонение» отображались автоматически в окне гистограммы графического редактора. Для сравниваемой зоны дополнительно определяли «погрешность отклонения», разделяя эту зону на несколько участков, определяли значение отклонения в

каждом участке данной зоны, выбирали максимальное отклонение и минимальное отклонение в сравниваемой зоне или ее участках, далее производили расчёт погрешности отклонения в сравниваемой зоне по формуле:

$$П_{Откл2} = Откл_{допmax} - Откл_{допmin}, \text{ где}$$

$П_{Откл2}$ – погрешность отклонения в сравниваемой зоне;

$Откл_{допmax}$ – максимальное значение отклонения в участках сравниваемой зоны;

$Откл_{допmin}$ – минимальное значение отклонения в участках сравниваемой зоны.

Затем производили расчет разницы отклонений в исследуемой зоне и в сравниваемой зоне по формуле:

$$\Delta Откл = Откл_1 - Откл_2, \text{ где}$$

$\Delta Откл$ – разница отклонений в исследуемой и сравниваемой зоне;

$Откл_1$ – отклонение в исследуемой зоне;

$Откл_2$ – отклонение в сравниваемой зоне.

Выполняли сравнение погрешности отклонения в сравниваемой зоне с разницей отклонений в исследуемой и сравниваемой зоне по формуле:

$$КЭО = П_{Откл2} - \Delta Откл, \text{ где}$$

$КЭО$ – критерий эхооднородности исследуемой зоны;

$П_{Откл2}$ – погрешность отклонения в сравниваемой зоне;

$\Delta Откл$ – разница отклонений в исследуемой и сравниваемой зоне.

В результате расчётов определяли степень эхооднородности, исследуемая зона гетероэхогенна, если $КЭО < 0$, ультразвуковое изображение получали при калибровочной настройке УЗ сканера по шкале регулятора усиления прибора (Gain) равной 255 (что соответствует максимуму). При условии, что $КЭО > 0$, то есть при условии гомоэхогенности структур, определяли соотношение количественных единиц эхогенности стромы и фолликулов ($С_{ярк}$) и рассчитывали фолликулярный индекс эхогенности по формуле:

$\text{ФИЭ} = \text{С}_{\text{ярк С}} / \text{С}_{\text{ярк Ф}}$, где

ФИЭ – фолликулярный индекс экзогенности;

$\text{С}_{\text{ярк С}}$ – среднее значение яркости стромы яичника;

$\text{С}_{\text{ярк Ф}}$ – среднее значение яркости фолликула яичника.

Взятие материала для вагинального цитологического исследования проводился с помощью стерильного зеркала и стерильного одноразового урогенитального зонда. Образцы клеток вагинального эпителия были взяты с помощью ватного стерильного тампона (тампон-зонд МиниМед стерильный, производитель: ООО «МиниМед», РФ, Брянская обл.), который вводили во влагалище, начиная со второго дня манифестации активной фазы полового цикла. Тампон направляли по каудодорсальной поверхности, обходя ямку клитора, погружая на 1-3 см, в зависимости от породы собаки. После нескольких прокручиваний, тампон извлекали и переносили на предметное стекло 75x25 мм со шлифованной кромкой BiVitrum (Россия), путём прокатывания тампона по поверхности стекла. После этого, предварительно высушенные на воздухе мазки, окрашивали Диахим-Дифф-Квик (НПФ АБРИС+, Россия). Мазки фиксировали в растворе №1 в течение 15 секунд, затем удаляли остатки раствора №1, поставив стекло вертикально на фильтровальную бумагу. Зафиксированные мазки помещали в раствор №2 (розовый) и выдерживали в течение 10 сек, после чего мазок ставили в вертикальное положение на 1-2 секунды для удаления избытка красителя. Далее стекла помещали в раствор №3 (синий) на 10 секунд и, после чего, промывали в забуференной воде и высушивали.

Для исследования готовых препаратов был использован микроскоп OLYMPUSSC50 (производитель: Olympus (Япония)). Данные были оцифрованы и проанализированы с помощью программы для измерений и морфометрии OLYMPUSCELLSENS.

При обращении с обследуемыми животными соблюдались требования ФЗ № 498-ФЗ от 27.12.2018 «Об ответственном обращении с животными ...»

и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г.

При проведении исследований и написании диссертации отсутствовал конфликт личных, коммерческих, академических, интеллектуальных и др. интересов.

Полученные данные: снимки вагинальной цитологии, изображения кинопетель с ультразвуковых сканнеров в различные стадии полового цикла собак были распределены на 4 группы (проэструс, эструс, диэструс, анэструс). Размер каждого изображения составлял 256x256 пикселей. На основании собранной базы была использована нейросеть TensorFlow с открытой лицензией Apache 2.0 и кроссплатформенная библиотека Keras, написанная на языке Python.

Числовые данные обрабатывали при помощи однофакторного дисперсионного анализа и критерия Стьюдента для множественных сравнений, зависимость выявляли в ходе корреляционного анализа путем вычисления критерия Стьюдента в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows на IBM PC-совместимом компьютере.

В процессе написания диссертации была использована Международная ветеринарная анатомическая номенклатура, редакция Н.В. Зеленовского (2022), Международные термины по цитологии и гистологии, подготовленные под редакцией В.В. Банина и В.Л. Быкова (2009), а также Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide под редакцией R.E. Raskin, D.J. Meyer (2016), Внутритекстовые библиографические ссылки оформлены в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5 – 2008. Список литературы составлен с соблюдением требований ГОСТ Р 7.0.100 – 2018.

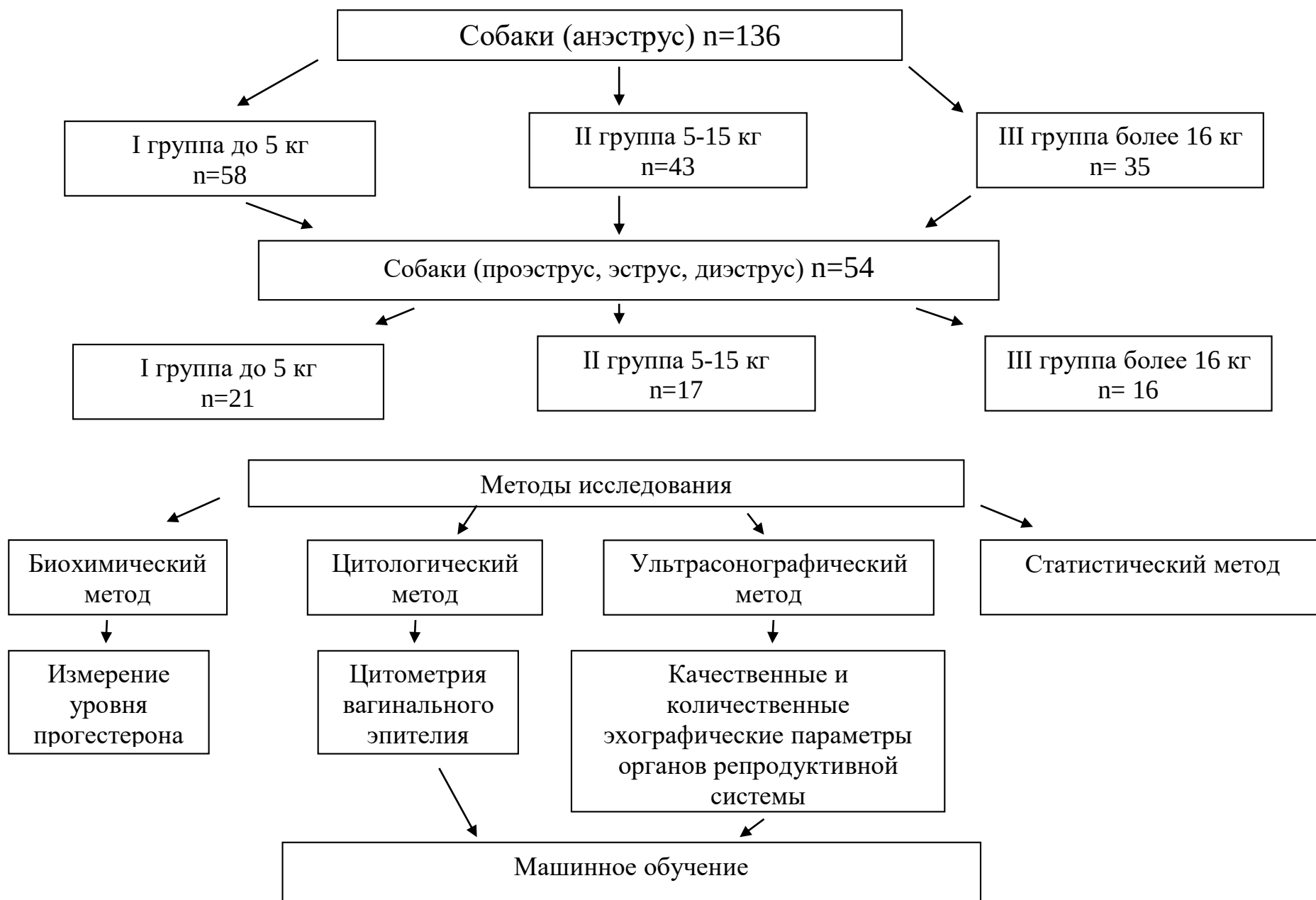


Рисунок 1 – Дизайн исследования

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных статьях У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский (2023-2024), Р.А. Цыганский, У.С. Яковлева, (2025), У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский (2026), которые содержат уточненные, расширенные и новые сведения.

2.2.1. ЭХОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТКИ И ЯИЧНИКОВ СОБАК В РАЗНЫЕ ФАЗЫ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

2.2.1.1. Ультразвуковая характеристика матки и яичников собак в фазу анэструса

УЗИ матки и яичников проводили клинически здоровым животным без заболеваний органов репродуктивной системы в анамнезе. Всего было обследовано 136 собак.

Матка при поперечном скане визуализируется в виде округлой структуры, с циркулярно ориентированными слоями различной эхогенности (рисунок 2).

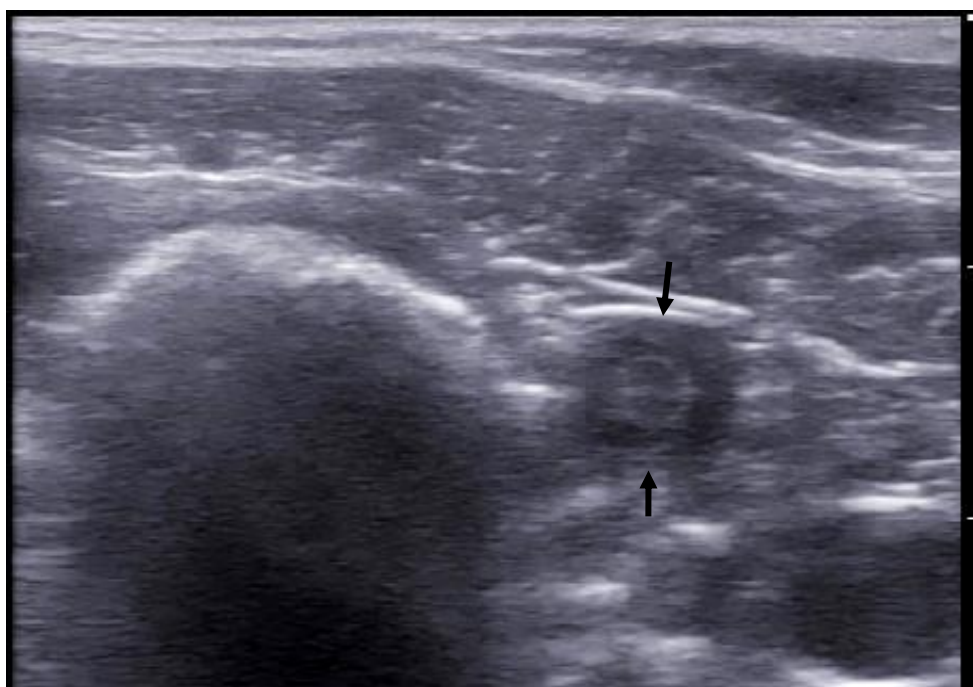


Рисунок 2 – Сонограмма тела матки (↑↓), поперечный скан в лонной области. Слева расположена нисходящая ободочная кишка.

При продольном сканировании тело матки визуализируется в виде горизонтально ориентированных линий с чередованием слоёв – миометрия, эндометрия имеющего двойной паттерн в виде собственной пластинки повышенной эхогенности и желёз эндометрия в виде гипоэхогенного внутреннего слоя (рисунок 3).

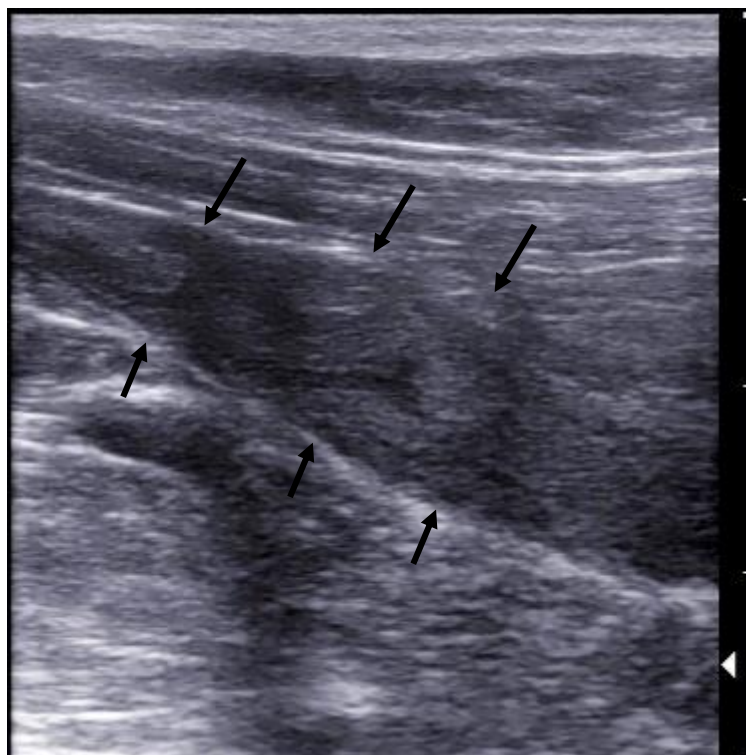


Рисунок 3 – Сонограмма дистальной части влагалища (слева), шейки и тела матки (справа) (↑↓), продольный скан в лонной области.

Шейка матки большего диаметра, чем тело матки и визуализируется как локальное утолщение с плавным переходом контура и оптимально определяется при продольной ориентации датчика (рисунок 3). В шейке матки сглажены границы слоёв и изменено их соотношение из-за складчатой структуры.

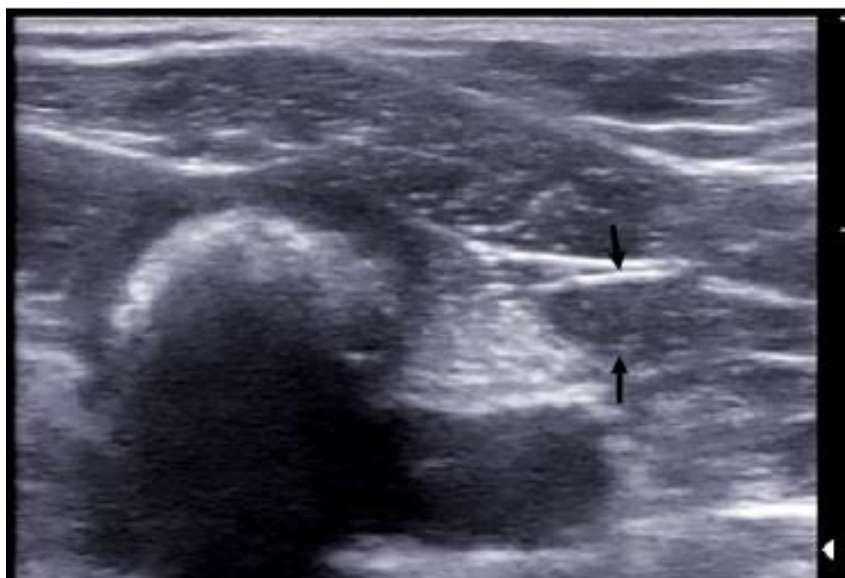


Рисунок 4 – Сонограмма дистальной части тела матки в области начала бифуркации ($\downarrow\uparrow$), поперечный скан в лонной области.

Тело матки короткое и заканчивается бифуркацией рогов, визуализировать которую можно продвигая датчик краниально вдоль тела матки (рисунок 4, 5).

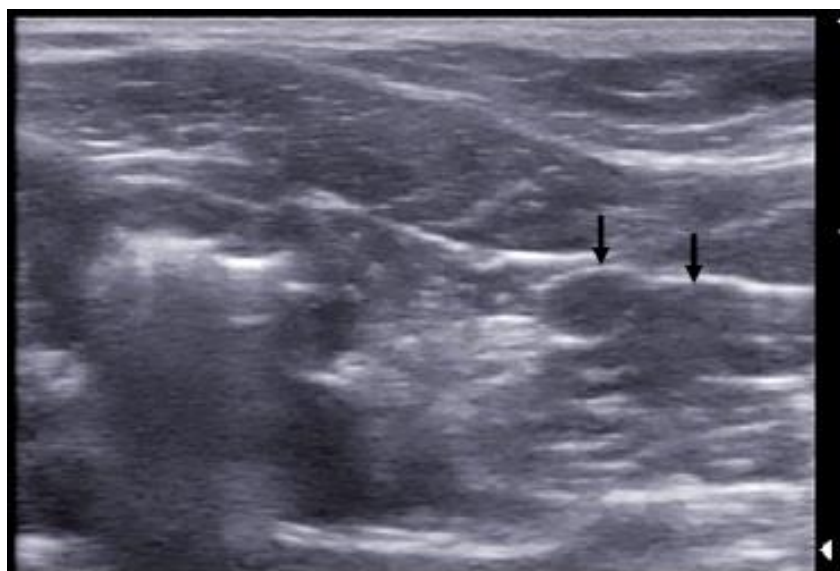


Рисунок 5 – Сонограмма рогов матки непосредственно за бифуркацией ($\downarrow\downarrow$), поперечный скан в лонной области.

Область бифуркации оптимально определяется при поперечной ориентации датчика (рисунок 4, 5).

Рога матки после бифуркации можно визуализировать при продольном, поперечном и косом сканировании, продвигая датчик краниально и латерально в правую и левую подвздошную области. Рога при поперечном сканировании, подобно телу матки, определяются в виде округлой структуры, с циркулярно ориентированными слоями различной эхогенности (рисунок 6), но меньшего диаметра.

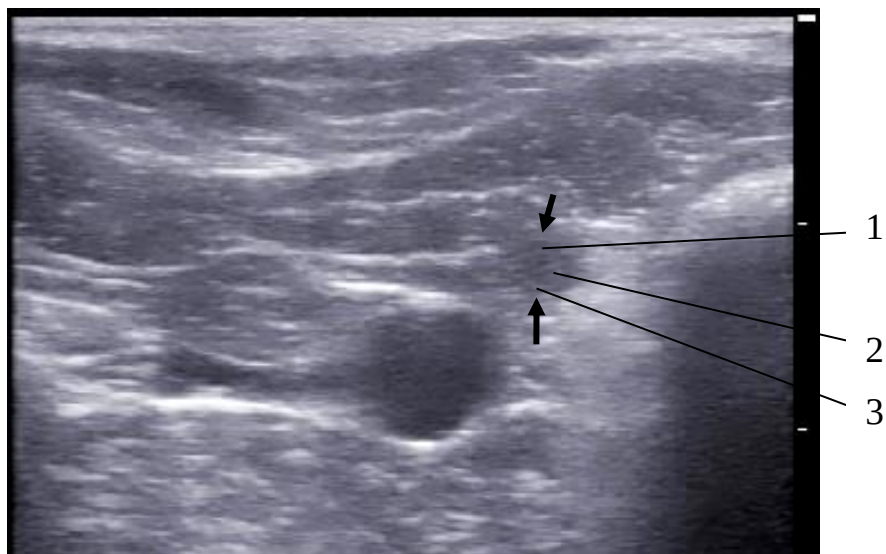


Рисунок 6 – Сонограмма рога матки ($\downarrow\uparrow$), правая подвздошная область, поперечный скан. Гипоехогенный миометрий (1). Гипоехогенный внутренний слой желез эндометрия (2), гиперэхогенный слой, занимающий промежуточное положение – собственная пластинка эндометрия (3).

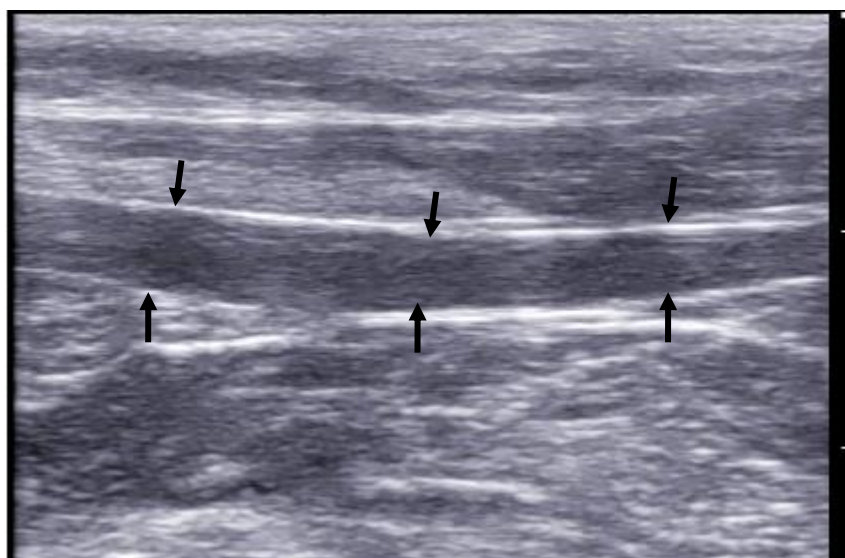


Рисунок 7 – Сонограмма рога матки ($\uparrow\downarrow$), продольный скан в левой подвздошной области.

При продольном сканировании рога матки определяются в виде горизонтально ориентированных трубчатых структур со слоями: гипэхогенным миометрием, гиперэхогенной собственной пластинкой эндометрия и в центре рога гипэхогенного внутреннего слоя желёз эндометрия (рисунок 7).

Яичники в период анэструса визуализируются как округлые, овальные или овоидной формы структуры с четкими ровными контурами средней эхогенности, однородной эхоструктуры (рисунок 8). Левый яичник лоцирован в левой подвздошной области каудально и латерально каудального края левой почки. Правый яичник расположен в правой подвздошной или поясничной области каудальнее, каудо-латеральнее или каудо-медиальнее каудального края правой почки.

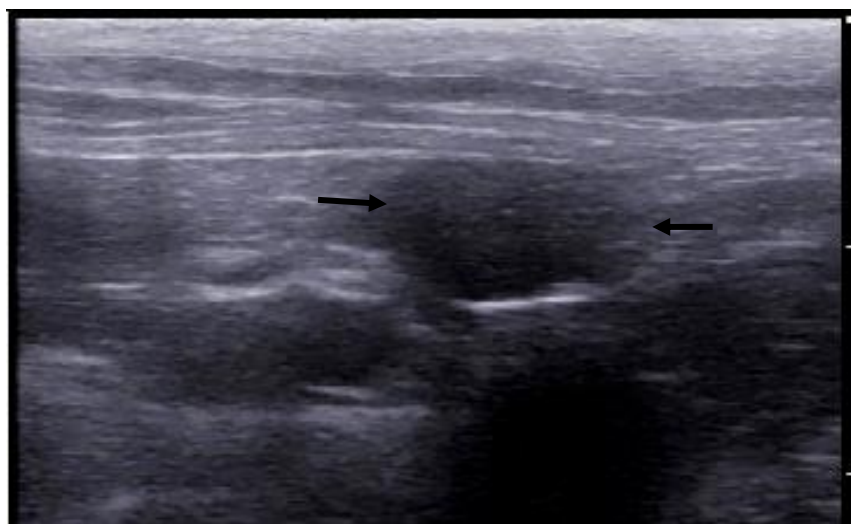


Рисунок 8 – Сонограмма яичника (→), продольный скан в левой подвздошной области.

Ультразвуковые морфометрические параметры матки и яичников собак приведены в таблицах 1-2 и рисунках 9-12.

Шейка матки у собак группы 6-15 кг на 15,82% больше, чем у животных группы ≤ 5 кг, а у собак группы ≥ 16 кг, данная структура больше на 25,83% и 8,64% в сравнении с группой ≤ 5 кг и группой 6-15 кг соответственно.

Таблица 1 – Морфометрические параметры матки собак (n=136), измеренные при УЗИ

Структура	Группы животных			Размеры
	≤ 5 кг	6-15 кг	≥ 16 кг	мм
	n=58	n=43	n=35	
	M±m			
Шейка матки	8,09±1,15	9,37±1,12	10,18±1,82*	Диаметр
Тело матки	5,53±0,85	6,53±1,04	7,06±1,29	Диаметр
	0,92±0,06**	1,13±0,07**	1,25±0,18**	Толщина миометрия
	1,78±0,16	2,11±0,27	2,27±0,21	Толщина эндометрия
Рога матки	4,42±0,73	5,21±0,83	5,84±0,72	Диаметр
	0,78±0,05**	0,94±0,09**	1,07±0,16**	Толщина миометрия
	1,42±0,14	1,65±0,18	1,83±0,21	Толщина эндометрия

Примечание: * – достоверная разница между группами ($p \leq 0,05$)

** – достоверная разница с эндометрием ($p \leq 0,05$)

Шейка матки имеет наибольший диаметр относительно размеров органа у животных всех исследуемых групп и составляет 8,09 $\pm$ 1,15, 9,37 $\pm$ 1,12, 10,18 $\pm$ 1,82 мм в 1, 2 и 3-й группе соответственно (таблица 1, рисунок 9).

Диаметр тела матки меньше диаметра шейки матки на 31,64%, 30,31% и 30,65% в 1, 2 и 3-й группе соответственно (таблица 1, рисунок 9).

Диаметр рогов матки имеет наименьший размер в структуре органа и составляет в среднем 4,42 $\pm$ 0,73, 5,21 $\pm$ 0,83 и 5,84 $\pm$ 0,72 мм в 1, 2 и 3-й группе соответственно. Данный показатель во 2-й и 3-й группе на 17,87% и 32,13% превышает значения животных группы ≤ 5 кг. Диаметр рогов матки на 20,07%, 20,21% и 17,28% меньше диаметра тела матки и на 45,36 %, 44,40% и 42,63% меньше шейки матки у животных 1, 2 и 3-й группы соответственно.

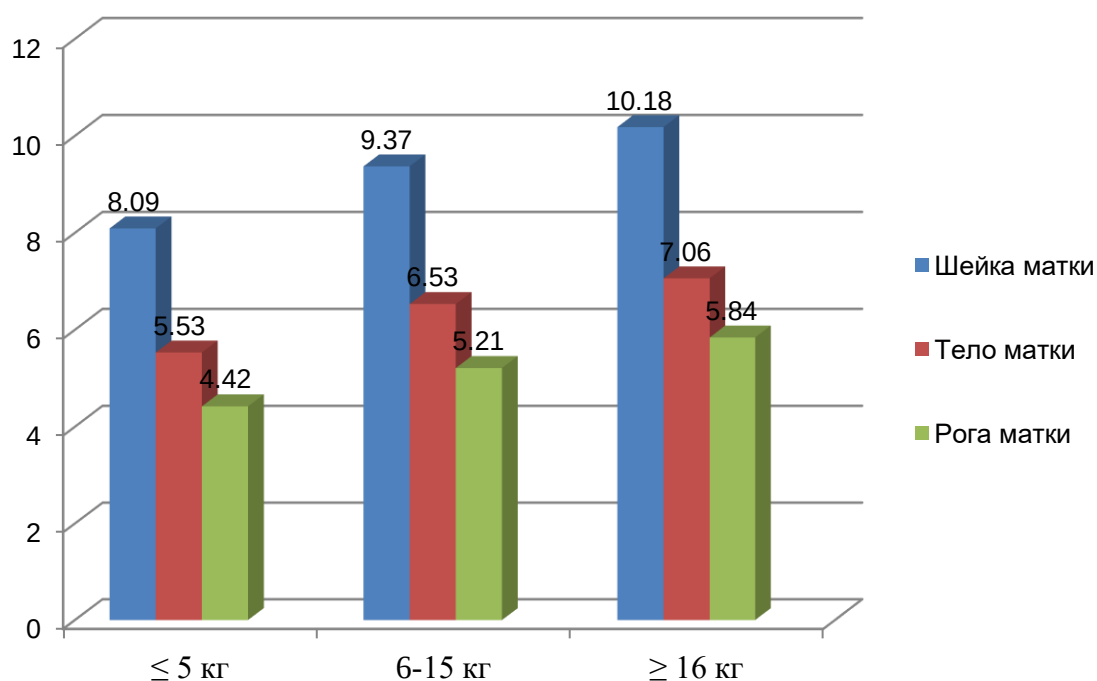


Рисунок 9 – Диаметр структур матки собак, мм (n=136).

Миометрий четко определяется при сонографии тела матки и рогов (рисунок 2, 3, 4, 6), его отношение к толщине эндометрия составляет 51,68%, 53,55% и 55,07% в теле матки и 54,93%, 56,97% и 58,47% в рогах матки у животных 1, 2 и 3-й группы соответственно (таблица 1).

Таблица 2 – Морфометрические параметры яичников собак (n=136), измеренные при УЗИ

Структура	Группы животных		
	≤ 5 кг	6-15 кг	≥ 16 кг
	n=58	n=43	n=35
	M±m		
Левый яичник Длина, мм Ширина, мм	8,83±1,57	12,23±1,71**	13,75±2,42*
	5,50±1,33	7,05±1,52	8,72±2,31*
Правый яичник Длина, мм Ширина, мм	9,23±1,41	12,75±2,26	14,55±3,30*
	5,78±1,17	7,30±2,04	8,81±2,21*

Примечание: * – достоверная разница между 1 и 3 группами ($p \leq 0,05$)
 ** – достоверная разница между 1 и 2 группами ($p \leq 0,05$)

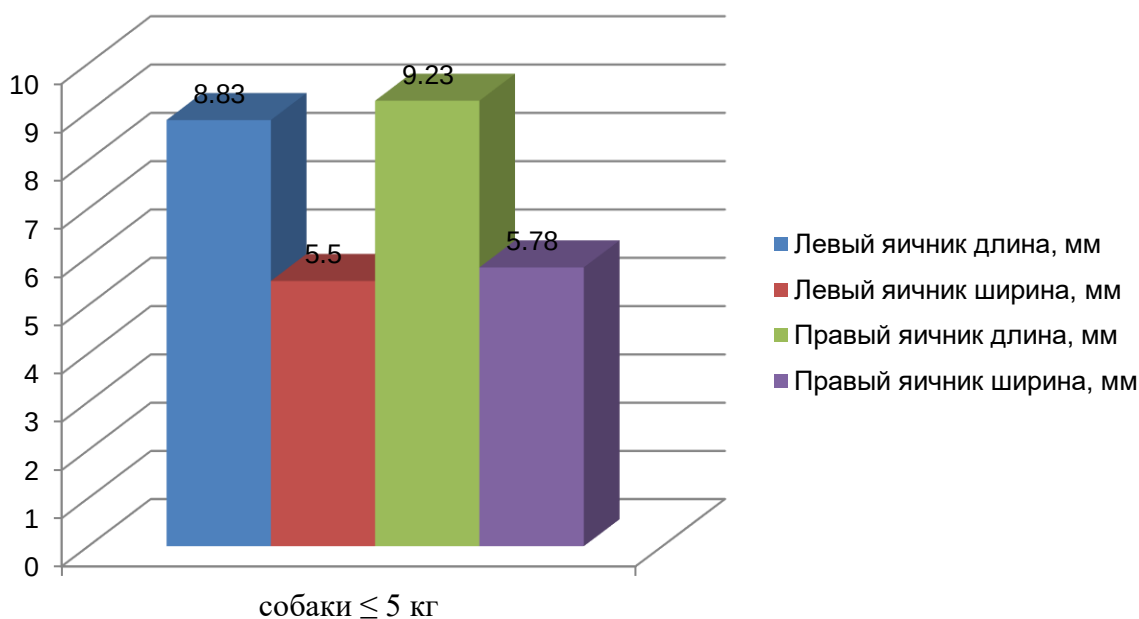


Рисунок 10 – Размеры яичников у собак 1 группы, измеренные при УЗИ (n=58).

Размеры яичников варьируют в зависимости от массы животных (таблица 2). Длина левого яичника у собак группы 6-15 кг на 38,50% больше, чем у животных группы ≤ 5 кг, а у собак группы ≥ 16 кг, данная структура больше на 55,72% и 12,43% в сравнении с группой ≤ 5 кг и группой 6-15 кг соответственно. Ширина левого яичника собак группы 6-15 кг на 28,18% больше, чем у животных группы ≤ 5 кг, а у собак группы ≥ 16 кг, данная структура больше на 58,54% и 23,69% в сравнении с группой ≤ 5 кг и группой 6-15 кг соответственно (таблица 2, рисунки 10-12).

Правый яичник в группе животных 6-15 кг по длине на 38,14% превышает аналогичный параметр животных группы ≤ 5 кг. В группе животных ≥ 16 кг данный показатель выше на 57,64%, в сравнении с группой ≤ 5 кг и на 14,12% в сравнении с группой 6-15 кг. Ширина правого яичника в группе животных 6-15 кг на 26,30% превышает аналогичный параметр животных группы ≤ 5 кг. В группе животных ≥ 16 кг данный показатель выше на 52,42%, в сравнении с группой ≤ 5 кг и на 20,68% в сравнении с группой 6-15 кг.

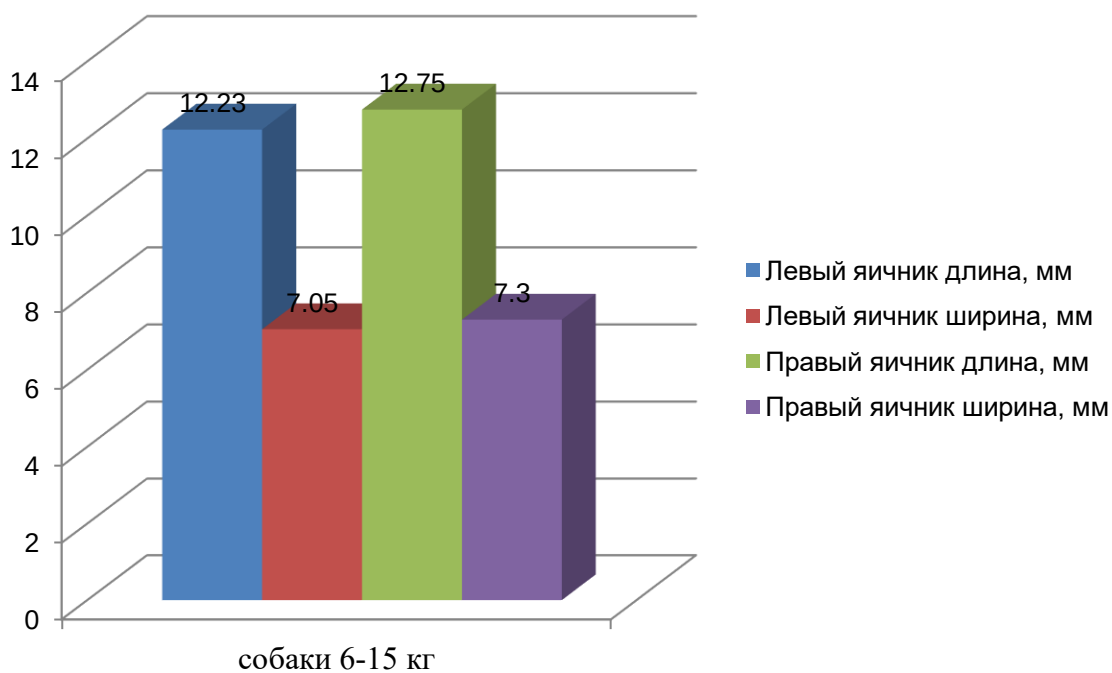


Рисунок 11 – Размеры яичников у собак 2 группы, измеренные при УЗИ (n=43).

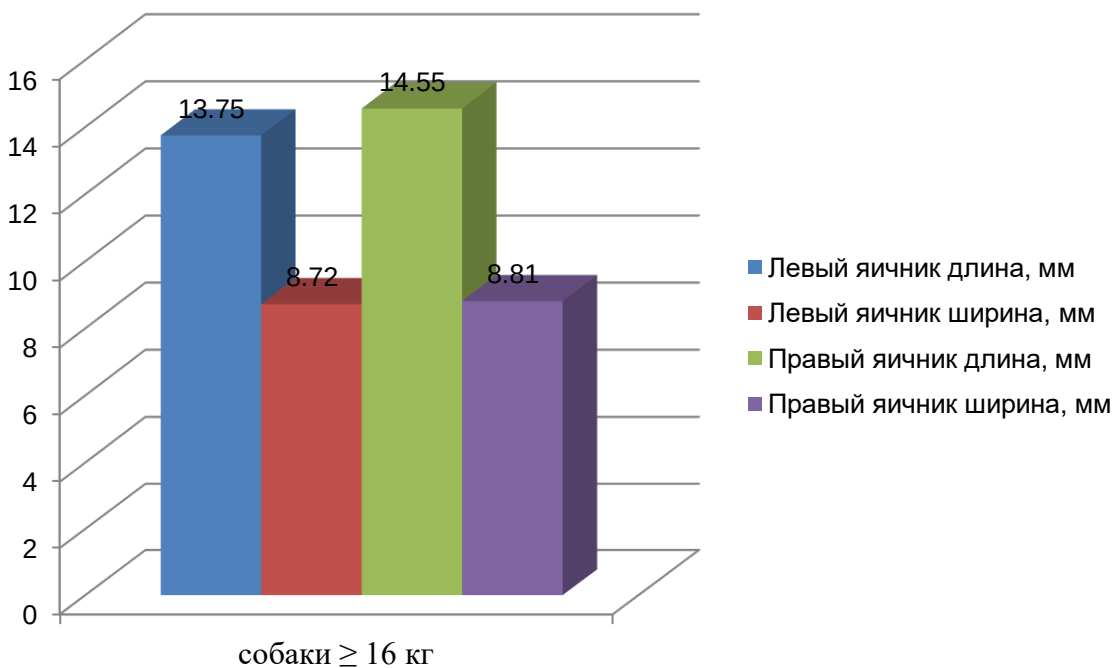


Рисунок 12 – Размеры яичников у собак 3 группы, измеренные при УЗИ (n=35).

Нами установлено, что в отличие от левого и правого рогов матки, размеры которых практически не отличаются, размеры левого и правого

яичника носят определенные отличия во всех исследуемых группах животных. Так, в группе животных ≤ 5 кг длина правого яичника на 4,53% больше левого по длине и на 5,09% больше по ширине (рисунок 10). Подобные результаты получены и у животных в двух других группах. В группе собак 6-15 кг длина правого яичника на 4,25% больше левого, а ширина больше на 3,55% (рисунок 11). В группе собак ≥ 16 кг длина правого яичника на 5,82% больше левого, а ширина больше на 1,03% (рисунок 12).

2.2.1.2. Ультразвуковая характеристика матки и яичников собак в фазы проэструса, эструса и диэструса

Эхографическая картина матки у собак в фазы проэструса, эструса и диэструса отличается от таковой в фазу анэструса. Так, диаметр шейки матки в фазу проэструса увеличивается на 37,34%, 44,72% и 53,93% в 1, 2 и 3-й группах животных соответственно (рисунок 13, 14, таблица 3).

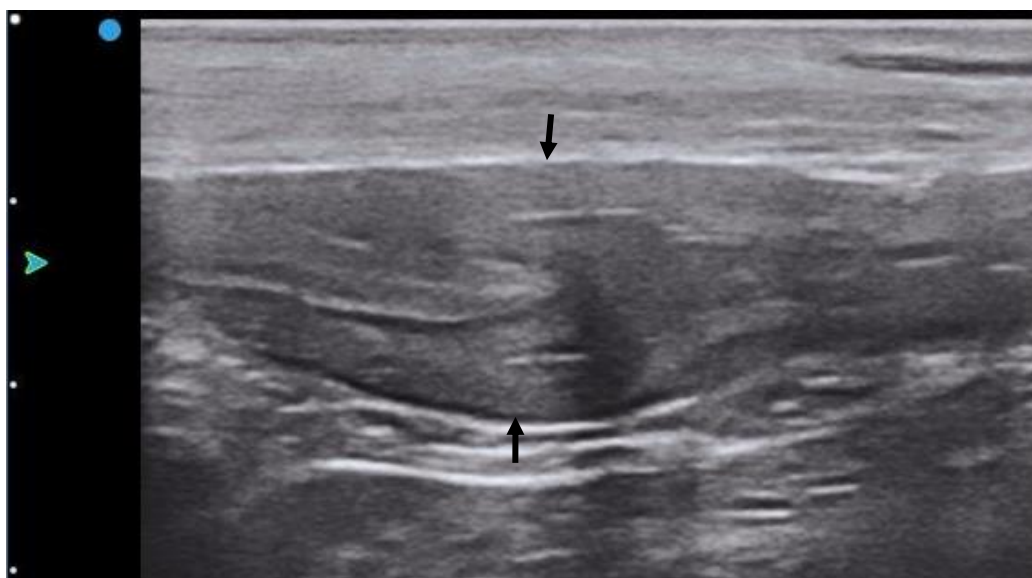


Рисунок 13 – Сонограмма шейки матки ($\uparrow\downarrow$), продольный скан в лонной области.

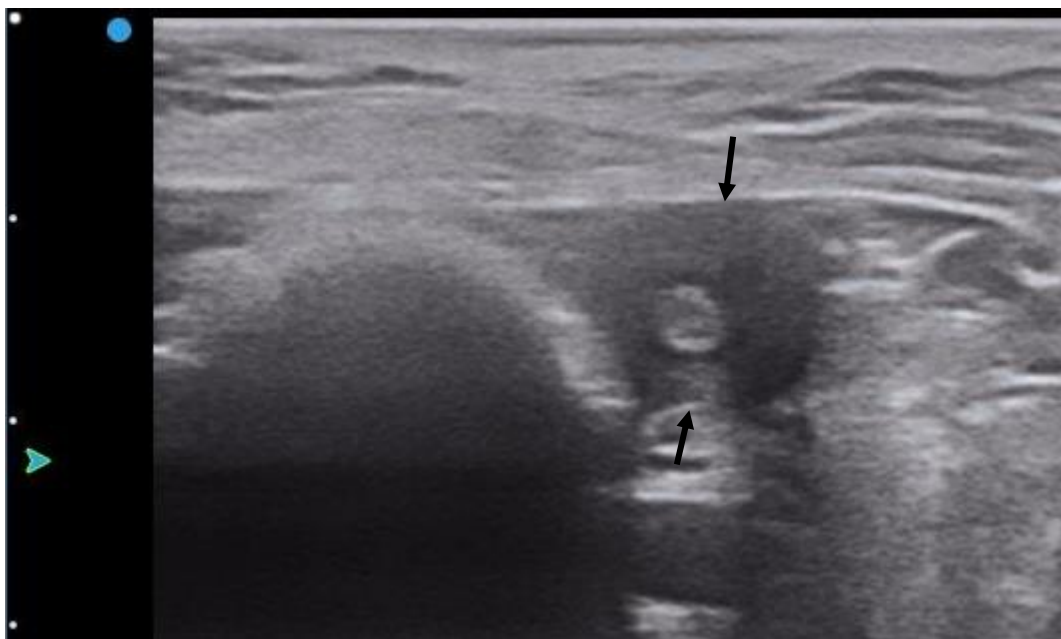


Рисунок 14 – Сонограмма шейки матки ($\uparrow\downarrow$), поперечный скан в лонной области.

Диаметр тела матки также пропорционально увеличивался в фазу проэструса во всех трёх группах животных на 38,70%, 40,27% и 54,96% в сравнении с анэструсом в группе ≤ 5 кг, 6-15 кг и ≥ 16 кг, соответственно (рисунок 15, 16, таблица 3).

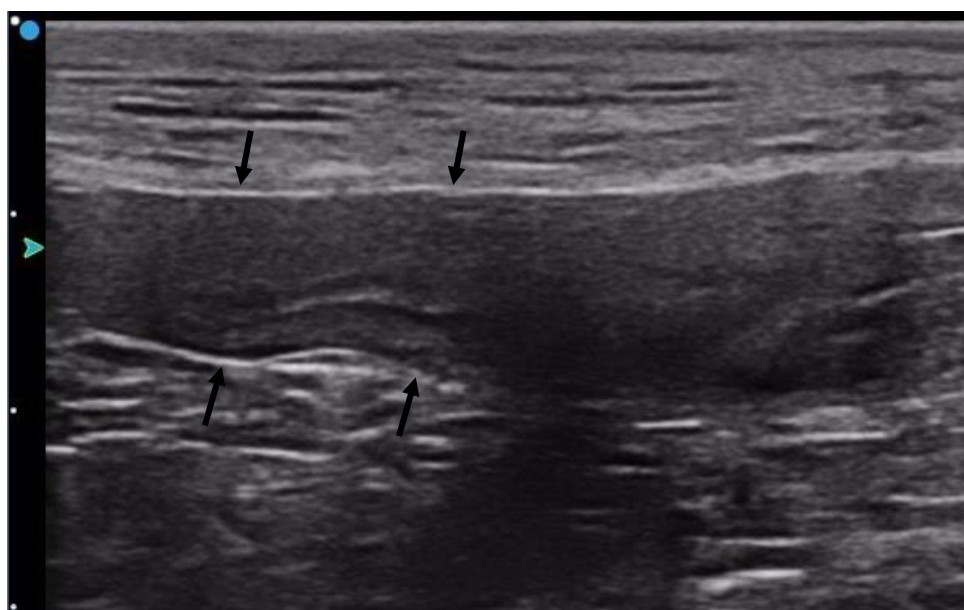


Рисунок 15 – Сонограмма тела матки ($\uparrow\downarrow$), продольный скан в лонной области.

Таблица 3 – Морфометрические параметры матки собак в проэструс (n=54), измеренные при УЗИ

Структура	Группы животных			Размеры
	≤ 5 кг	6-15 кг	≥ 16 кг	мм
	n=21	n=19	n=14	
	M±m			
Шейка матки	11,14±1,72	13,56±2,48	15,67±2,31*	Диаметр
Тело матки	7,67±0,96	9,16±2,25	10,94±2,16*	Диаметр
	1,07±0,10**	1,23±0,12**	1,62±0,17**	Толщина миометрия
	2,73±0,23	3,34±0,36	3,83±0,32	Толщина эндометрия
Рога матки	5,53±0,86	6,67±1,05	7,58±1,12	Диаметр
	0,86±0,09**	1,09±0,11**	1,12±0,17**	Толщина миометрия
	1,89±0,17	2,23±0,23	2,64±0,45	Толщина эндометрия

Примечание: * – достоверная разница между группами ($p \leq 0,05$)

** – достоверная разница с эндометрием ($p \leq 0,05$)

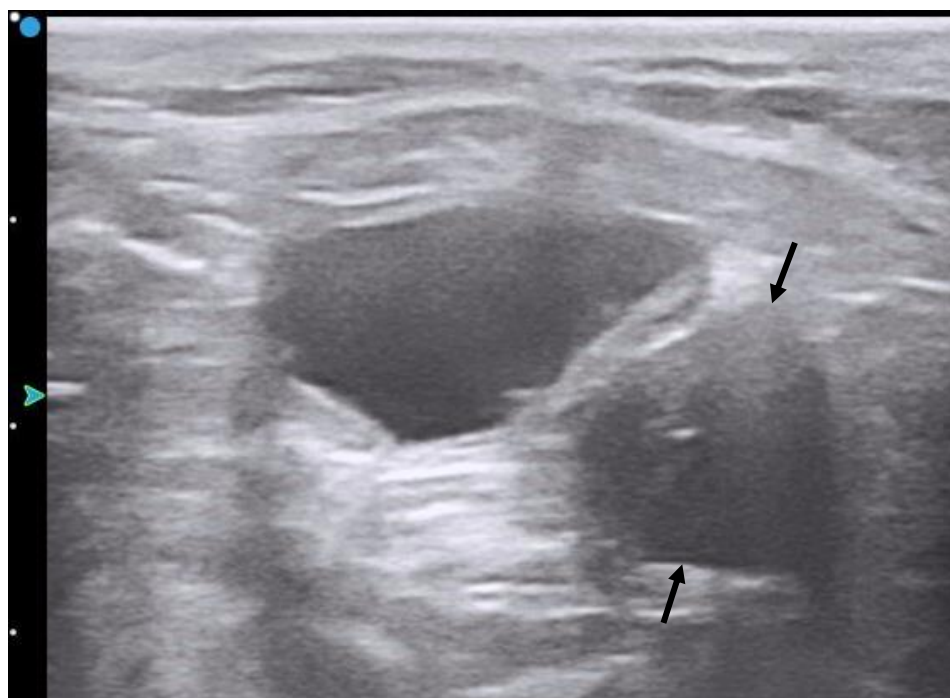


Рисунок 16 – Сонограмма тела матки ($\uparrow\downarrow$), поперечный транскутанный скан в лонной области. В центре лоцирован мочевой пузырь. Матка на сонограмме расположена ниже и правее мочевого пузыря, что соответствует дорсо-лево-латеральному положению относительно мочевого пузыря у животного.

Визуализируется полость матки, в виде гипоэхогенного центра, ограниченная гиперэхогенной линией, соответствующей поверхности слизистой.

В проэструс изменяется соотношение слоёв матки. Так, отношение миометрия к толщине эндометрия в теле матки составляет 39,19%, 36,83% и 42,30 % в 1, 2 и 3-й группе соответственно.

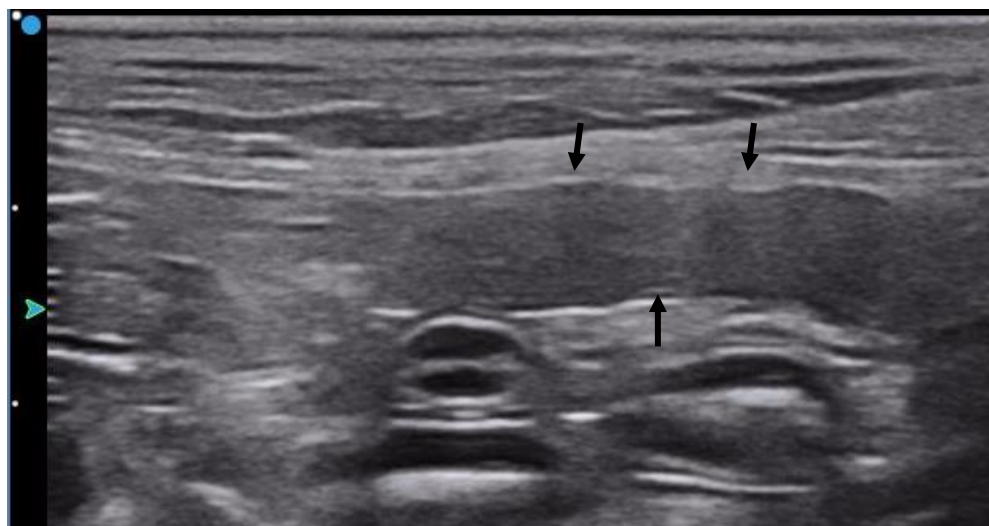


Рисунок 17 – Сонограмма левого рога матки ($\uparrow\downarrow$), продольный скан.

Толщина эндометрия тела матки в проэструс больше аналогичного показателя у собак в анэструс на 53,37%, 58,29% и 68,72% в 1, 2 и 3-й группе соответственно.

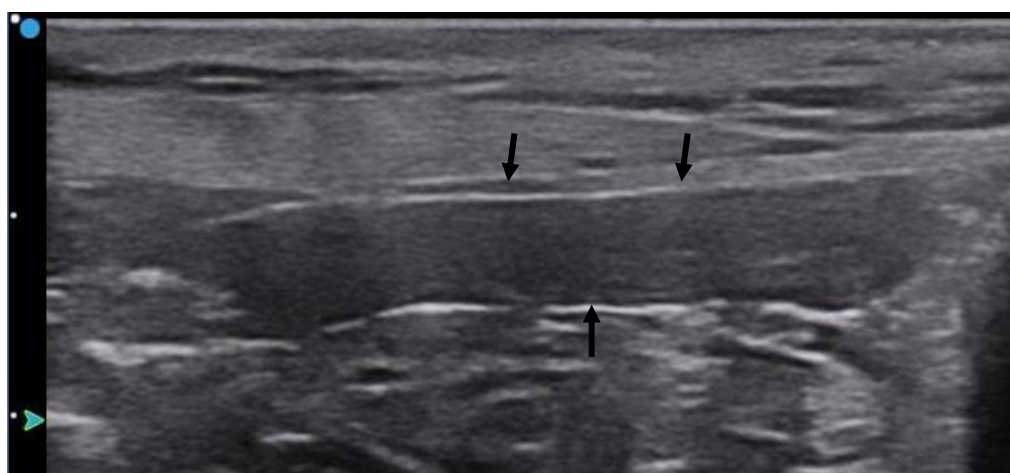


Рисунок 18 – Сонограмма правого рога матки ($\uparrow\downarrow$), продольный скан.

Диаметр рогов матки также пропорционально увеличивался в фазу проэструса во всех трёх группах животных на 25,11%, 28,027% и 29,79% в сравнении с анэструсом в группе ≤ 5 кг, 6-15 кг и ≥ 16 кг, соответственно

(рисунок 17-20, таблица 3). Отношение миометрия к толщине эндометрия в рогах матки составляет 45,50%, 48,88% и 42,42% в 1, 2 и 3-й группе соответственно.

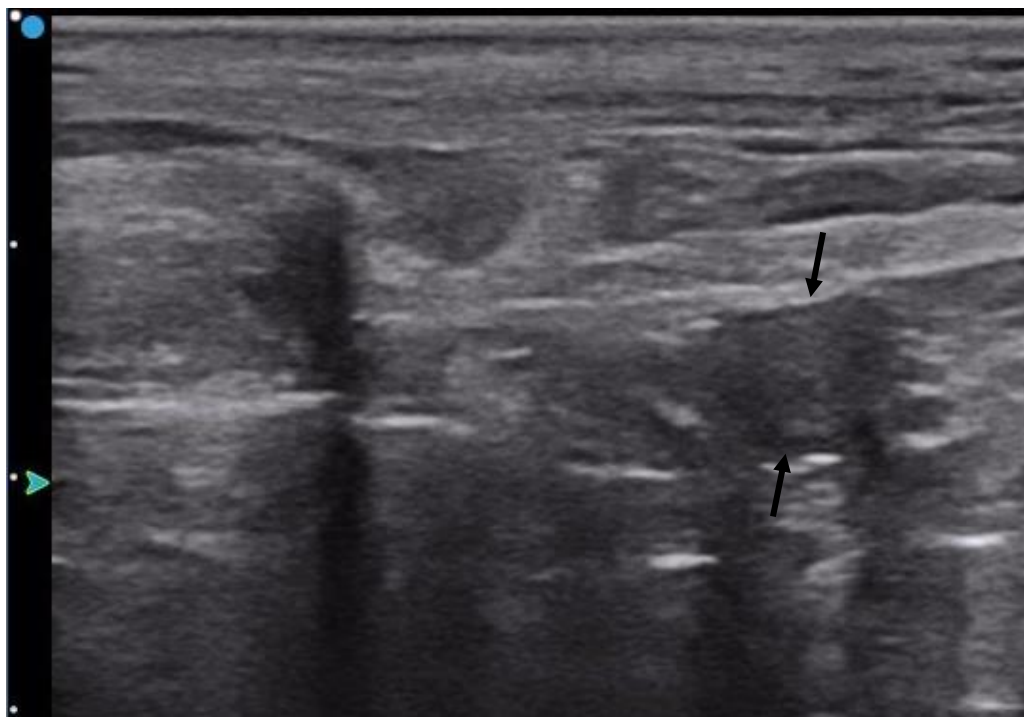


Рисунок 19 – Сонограмма правого рога матки (↑↓), поперечный скан.

Толщина эндометрия рогов матки в проэструс больше аналогичного показателя у собак в анэструс на 33,98%, 35,15% и 44,26% в группе ≤ 5 кг, 6-15 кг и ≥ 16 кг, соответственно.

Фолликулы яичников при ультрасонографии визуализируются в виде округлых или овальных гипоэхогенных структур, их картина меняется с течением фазы проэструса (рисунок 21 – 25). Так, в первые дни проэструса фолликулы определяются в виде точечных гипоэхогенных образований в яичниках с нечеткими неровными контурами, размер которых составляет 1-2 мм (рисунок 21).

В начале проэструса нами отмечено, что контуры фолликулов на сонограммах не четкие, однако на 8-12 день проэструса отмечается появление гиперэхогенной каймы по границе фолликулов толщиной 0,6-0,7 мм с приобретением четкости контуров фолликулов (рисунок 24-25).

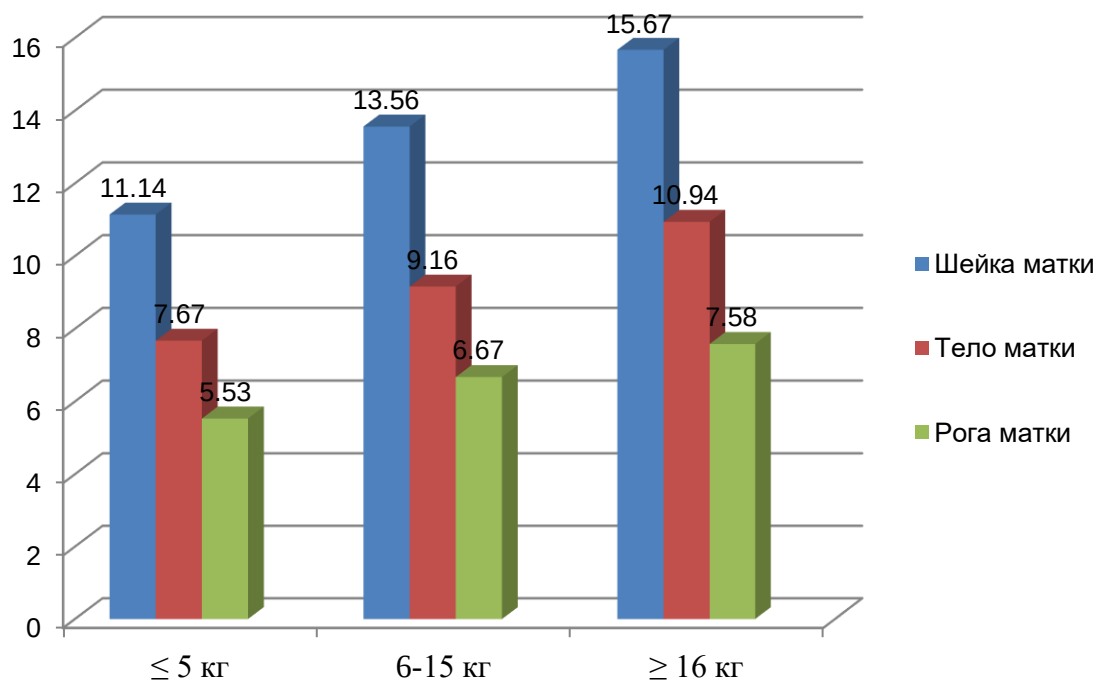


Рисунок 20 – Диаметр структур матки собак в проэструс, мм (n=54).

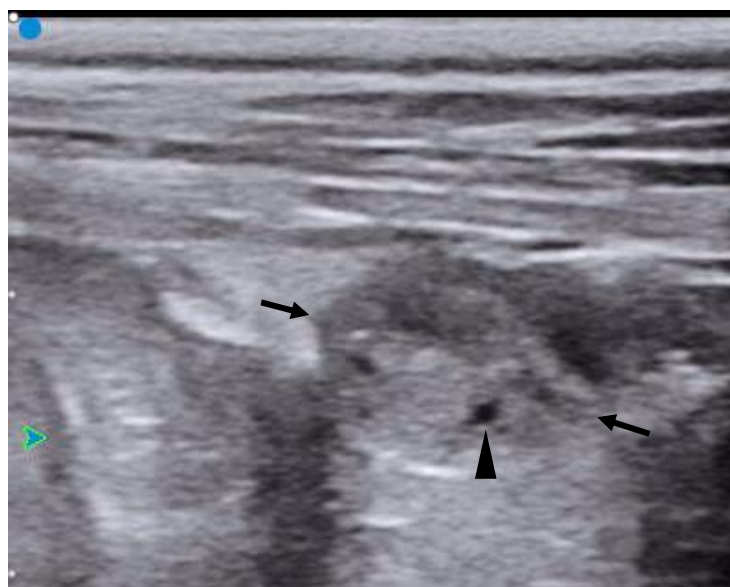


Рисунок 21 – Сонограмма правого яичника (→) в начале фазы проэструс. Визуализируются гипозоногенные округлые образования, соответствующие фолликулам (Δ). Продольный скан в правой подвздошной области.

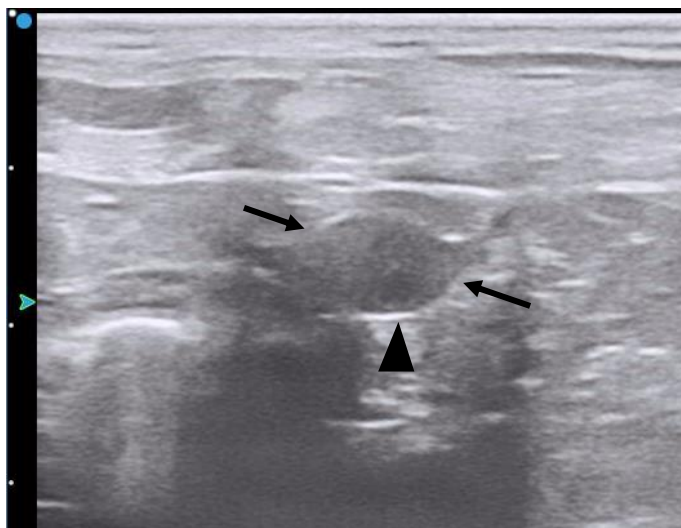


Рисунок 22 – Сонограмма левого яичника (→) в фазу проэструс (4 день цикла). Размер фолликулов (Δ) до 3 мм. Продольный скан в левой подвздошной области.

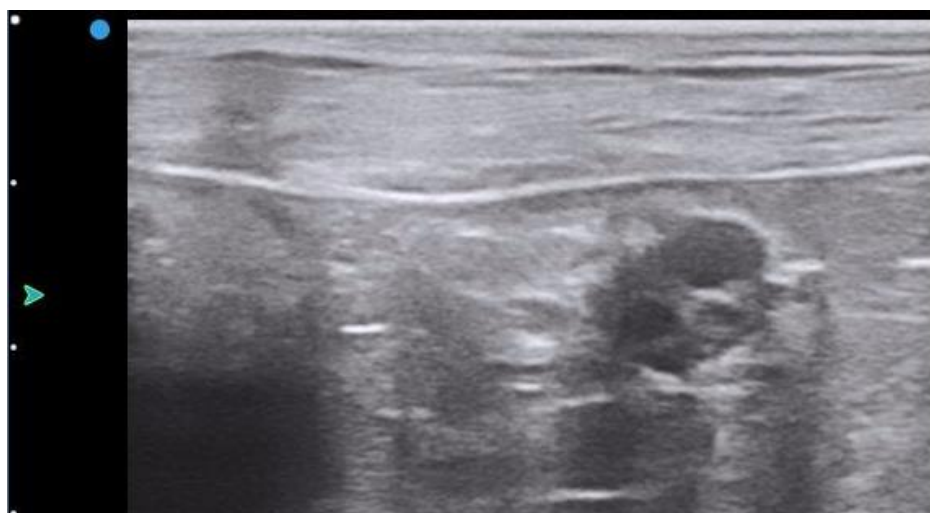


Рисунок 23 – Сонограмма левого яичника в фазу проэструс (6 день цикла), продольный скан, фолликулы 3,2 мм. Продольный скан в левой подвздошной области.

Максимальный размер фолликулов в конце проэструса отличался у животных разных групп. Так, в 1 группе он составил 7,13 мм, во второй 9,61 мм, в 3-й 12,24 мм. Таким образом, увеличение произошло в 2,833, 2,73 и 3,16 раз в сравнении с начальными измерениями, соответственно по трём группам.

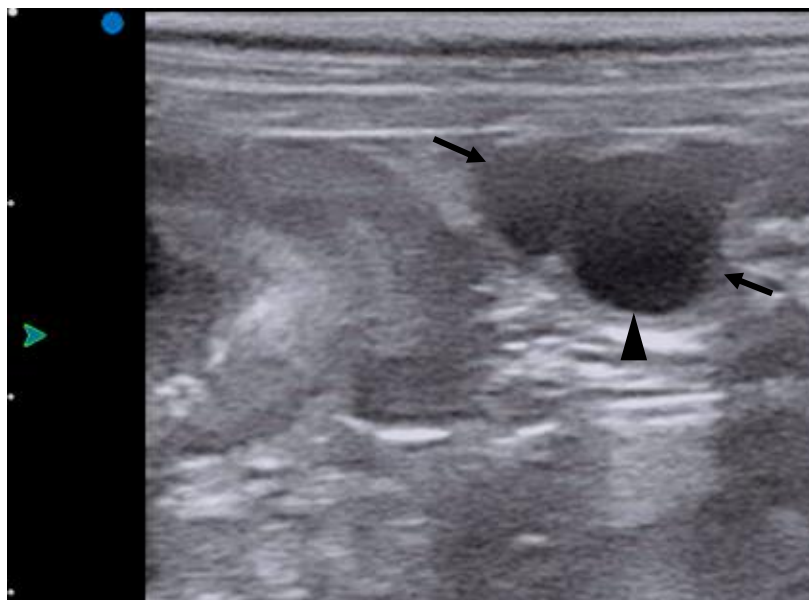


Рисунок 24 – Сонограмма левого яичника (→) в фазу проэструс (12 день цикла), фолликулы 6,2 мм (Δ), перифолликулярная кайма 0,6 мм. Продольный скан в левой подвздошной области.

Среднее количество фолликулов составило $4,18 \pm 0,73$ в левом яичнике и $3,56 \pm 0,54$ в правом яичнике.

При дальнейших ультразвуковых исследованиях гиперэхогенная фолликулярная кайма в фолликулах утолщалась до 1-2 мм (рисунок 26-27). Данная особенность сопровождалась повышением концентрации прогестерона в сыворотке крови до значений 16,00 нмоль/л (см. главу 2.2.3.), а размеры фолликулов, измеренные по наибольшему внутреннему диаметру гипоэхогенной области в яичнике, уменьшались на 15-20%, что расценивалось нами как наступление овуляции.

При дальнейших измерениях размер фолликулов уменьшается на 25-30%, их контуры становятся не четкими, что расценивалось нами как наступление фазы диэструс (таблица 4, рисунок 28-31).

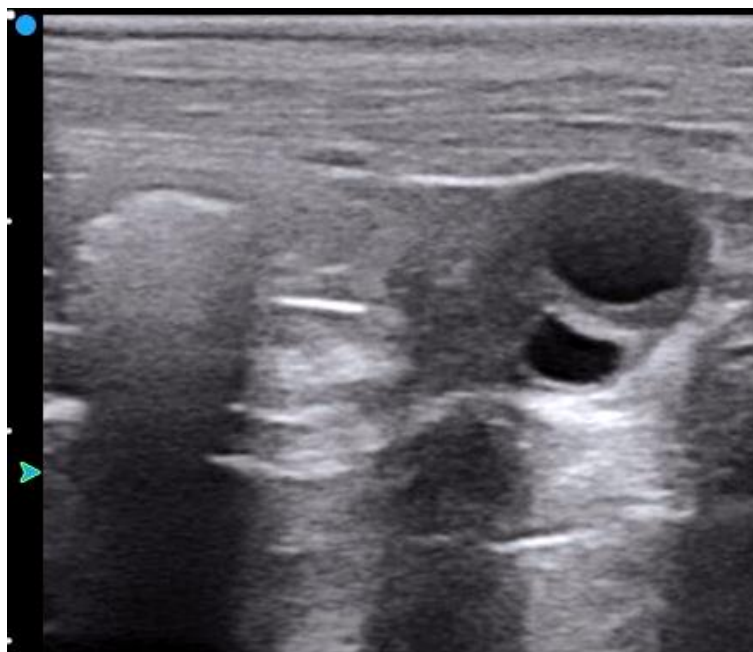


Рисунок 25 – Сонограмма правого яичника в фазу проэструс, (14 день цикла), фолликулы 7,4 мм, перифолликулярная кайма 0,8 мм. Продольный скан в правой подвздошной области.

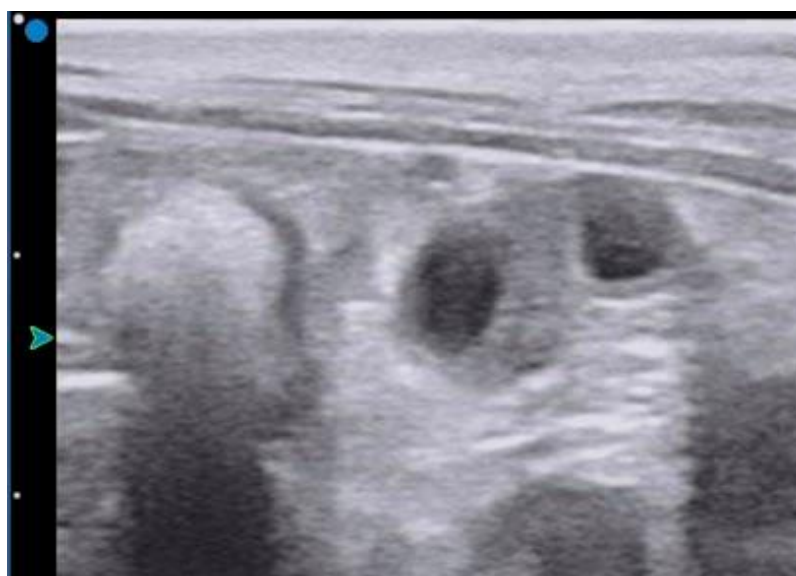


Рисунок 26 – Сонограмма правого яичника, овуляция, уменьшение размера фолликулов, перифолликулярная кайма 1,2 мм. Продольный скан в левой подвздошной области.

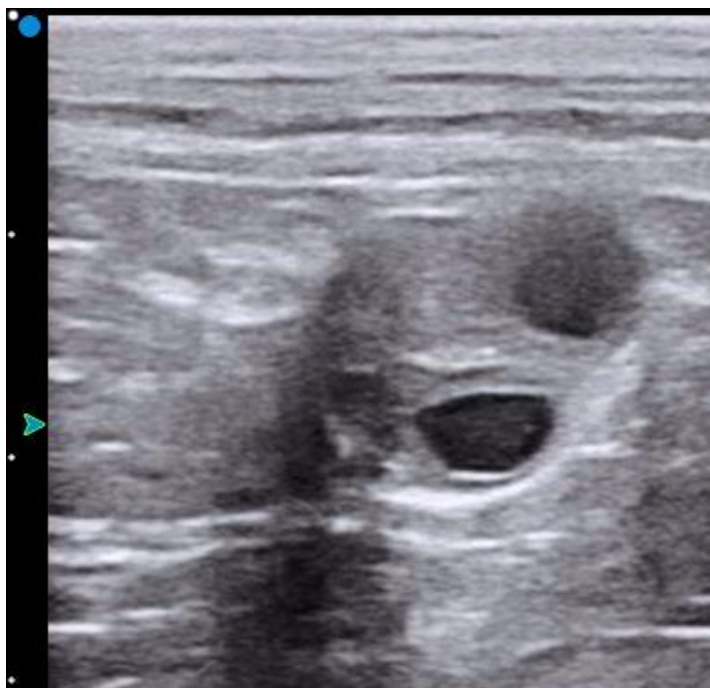


Рисунок 27 – Сонограмма правого яичника, овуляция, уменьшение размера фолликулов, перифолликулярная кайма 1,8 мм. Продольный скан в левой подвздошной области.

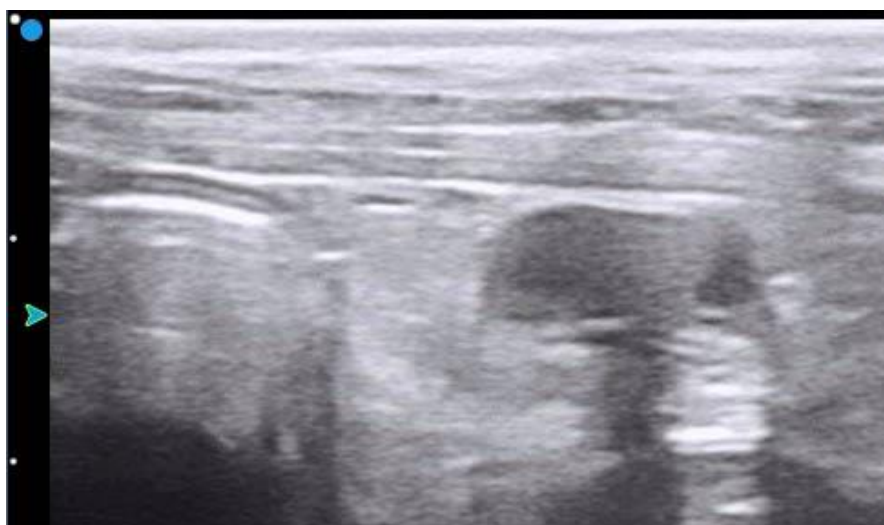


Рисунок 28 – Сонограмма левого яичника в фазу диэструс (18 день цикла), утрата четкости контуров фолликулов, повышение их эхогенности. Продольный скан в левой подвздошной области.

Таблица 4 – Динамика размеров фолликулов у собак 2 группы в фазы проэструс, эструс, диэструс (n=14), измеренные при УЗИ

№	Порода	Макс. размер фолликулов, мм	День наблюдения									
			2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
1.	сиба-ину		1,73	2,55	3,15	3,32	3,62	4,07	5,08	7,70	6,58	5,53
2.	французский бульдог		-	3,24	3,67	5,11	6,41	8,23	7,94	6,21	5,25	-
3.	басенджи		-	3,46	4,35	6,53	8,31	7,42	6,82	-	-	-
4.	бигль		2,12	3,27	3,45	4,34	4,70	5,41	6,13	8,08	7,64	6,34
5.	французский бульдог		-	2,71	-	5,53	6,15	8,22	7,81	6,83	-	-
6.	вельш-корги пемброк		-	3,32	4,23	5,03	7,67	7,14	5,76	-	-	-
7.	американский кокер-спаниель		3,14	3,83	5,22	6,15	7,82	8,90	7,60	7,02	-	-
8.	цвергшнауцер		1,84	2,70	3,41	3,88	4,55	5,65	5,93	6,51	8,73	7,25
9.	бигль		2,03	3,16	3,76	4,49	4,67	5,73	7,42	7,07	5,82	-
10.	джек рассел терьер		2,51	3,24	3,84	4,50	5,11	6,32	8,47	7,54	-	-
11.	французский бульдог		2,71	3,11	3,64	4,32	6,50	6,07	5,81	4,92	-	-
12.	бигль		-	3,52	4,18	5,37	6,43	7,25	9,61	7,51	6,81	-
13.	американский кокер-спаниель		2,07	2,70	3,63	-	4,23	4,82	5,62	7,91	6,42	5,70
14.	вельш-корги пемброк		2,23	2,54	3,21	3,80	4,31	4,70	6,33	8,46	7,34	6,42

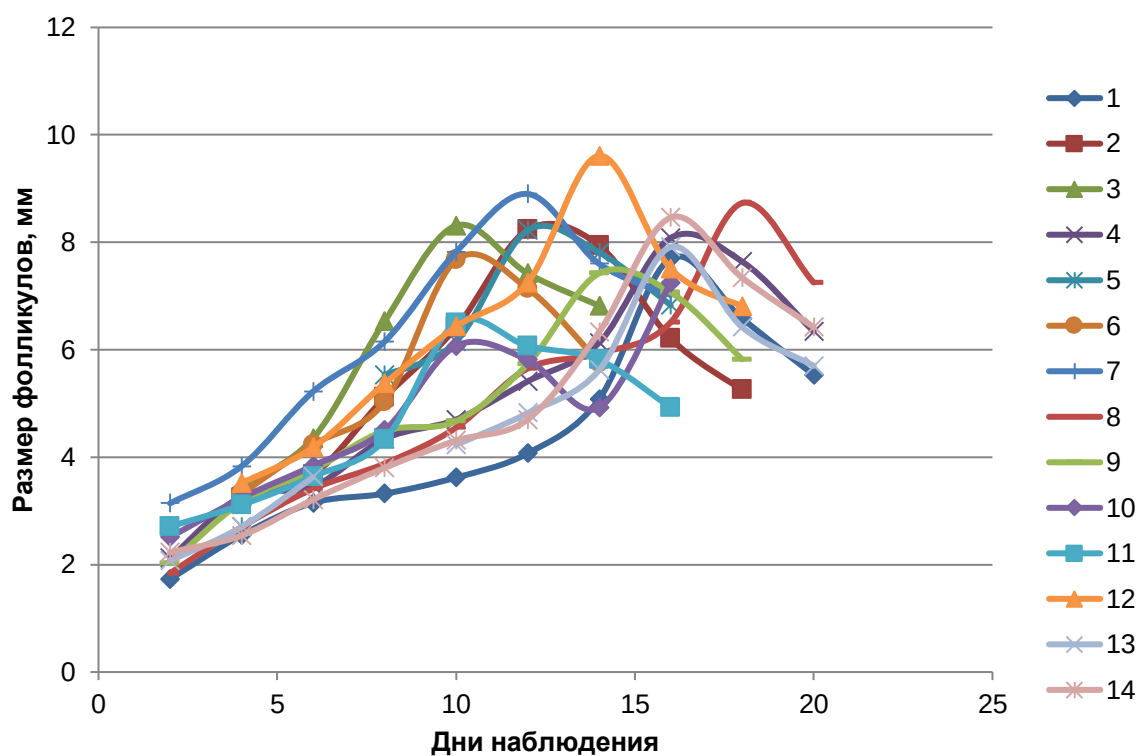


Рисунок 29 – Динамика размера фолликулов у собак 2 группы в фазы проэструс, эструс, диэструс (1-14 собаки, табл.4)

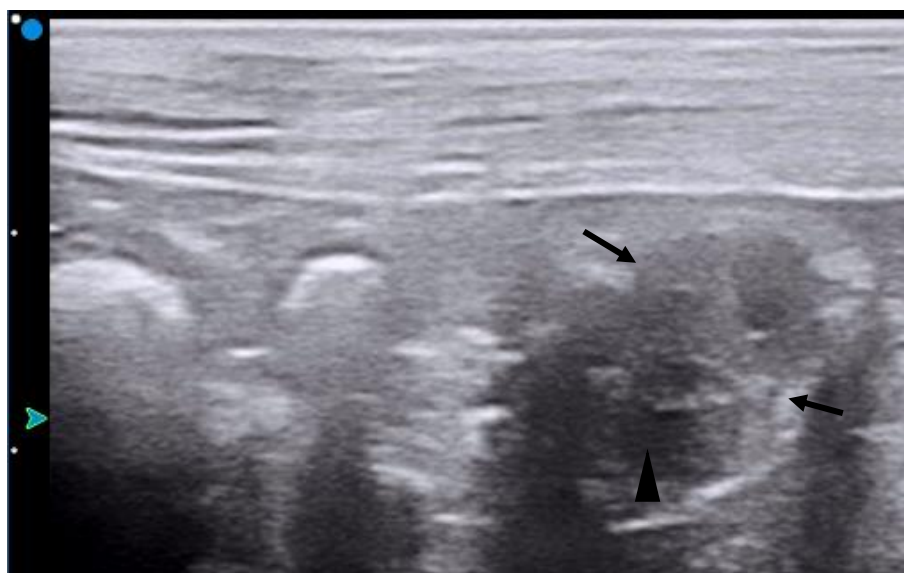


Рисунок 30 – Сонограмма правого яичника (→) в фазу диэструс (20 день цикла), утрата четкости контуров фолликулов (Δ), повышение их эхогенности. Продольный скан в правой подвздошной области.

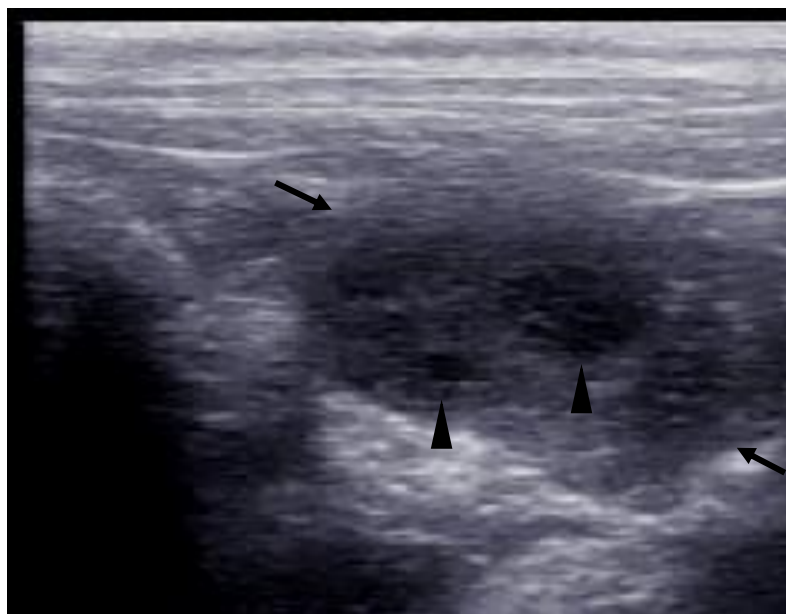


Рисунок 31 – Сонограмма правого яичника (→) в фазу диэструс (22 день цикла), утрата четкости контуров фолликулов ($\Delta\Delta$), повышение их эхогенности. Продольный скан в правой подвздошной области.

Таким образом, ультразвуковое исследование органов репродуктивной системы у собак является высокоинформативным, неинвазивным методом получения информации об их функциональном состоянии. Полученные морфометрические и эхографические данные матки и яичников у здоровых собак могут использоваться как основа для оценки их состояния в норме и патологии при ультразвуковом исследовании. Представленные сонографические и морфометрические характеристики позволяют идентифицировать различные структуры органов репродуктивной системы собак в разные фазы полового цикла. Критериями для фазы проэструса являются: размер фолликулов менее 7,13 мм (для собак с массой тела до 5 кг), менее 9,61 мм (для собак с массой тела 6-15 кг), менее 12,24 см (для собак с массой тела более 16 кг), контуры фолликулов не четкие; критериями для предовуляции являются: наличие перифолликулярной гиперэхогенной каймы 0,6-0,7 мм, наличие четкости контуров фолликула, максимальный размер фолликулов 7,13 мм (для собак с массой тела до 5 кг), 9,61 мм (для собак с массой тела 6-15 кг), 12,24 см (для собак с массой тела более 16 кг); критериями для овуляции являются: перифолликулярная гиперэхогенная

кайма толщиной 1-2 мм, отсутствие четкости контура фолликулов, отсутствие симметрии фолликулов, размер фолликулов менее 7,13 мм (для собак с массой тела до 5 кг), менее 9,61 мм (для собак с массой тела 6-15 кг), менее 12,24 см (для собак с массой тела более 16 кг); критериями для фазы диэструса являются: размер фолликулов менее 5,00 мм (для собак с массой тела до 5 кг), менее 7,00 см (для собак с массой тела 6-15 кг), менее 9,00 мм (для собак с массой тела более 16 кг), контуры фолликулов не четкие, эхогенность фолликулов повышена, фолликулы слабо различимы со стромой яичника.

2.2.1.3. Количественные показатели эхогенности яичников собак в фазы проэструса, эструса и диэструса

Для определения количественных параметров структур яичника на его цифровом изображении в графическом редакторе в черно-белом режиме сравнивали две зоны стромы и фолликула (рисунок 32). Обводили зону, которую необходимо исследовать (зона 2, рисунок 32) и сравниваемую зону (зона 1, рисунок 32), с помощью инструмента «лассо», при этом числовые значения параметров «среднее значение» и «отклонение» отображаются автоматически в окне гистограммы (рисунок 33). Показатель «среднее значение» или $S_{ярк}$ представляет собой средневзвешенный уровень яркости пикселей изображения, которое автоматически рассчитывает компьютер путём умножения каждого уровня яркости на число пикселей данного уровня, а затем делением на общее число уровней яркости.

Для сравниваемой зоны (зона 1 рисунок 32) дополнительно определяли «погрешность отклонения в сравниваемой зоне», для чего эту зону делят на несколько участков, определяя значение «отклонение» в каждом участке данной зоны, выбирая максимальное (Откл доп max) отклонение и минимальное отклонение (Откл доп min). Производили расчет погрешности отклонения в сравниваемой зоне $ПОткл2 = Откл доп max - Откл доп min$ и расчет разницы отклонений в исследуемой зоне и в сравниваемой зоне:

$\Delta\text{Откл} = \text{Откл}1 - \text{Откл}2$. Далее производили сравнение погрешности отклонения в сравниваемой зоне с разницей отклонений в исследуемой и сравниваемой зоне и определяли критерий эхооднородности исследуемой зоны: $\text{КЭО} = \text{ПОткл}2 - \Delta\text{Откл}$. Далее определяли соотношение количественных единиц эхогенности стромы ($\text{Ср}_{\text{яркС}}$) и фолликулов ($\text{Ср}_{\text{яркФ}}$) и рассчитывали фолликулярный индекс эхогенности (ФИЭ).

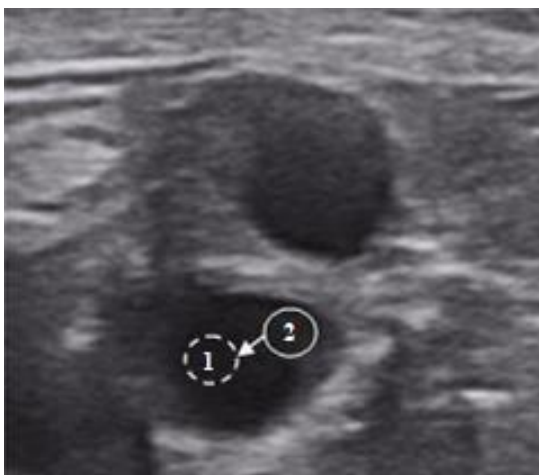


Рисунок 32 – Выделение двух сравниваемых зон фолликула на эхографическом изображении яичника для определения средневзвешенного уровня яркости пикселей ($\text{Ср}_{\text{ярк}}$).

При определении количественных показателей эхогенности (таблица 5) и расчете однородности стромы яичников и фолликулов нами установлено, что строма яичника у здоровых собак эхооднородна, поскольку расчётный критерий однородности (КЭО) имел положительное значение, то есть был выше 0, а критерий изоэхогенности (КИЗ) не превышал значение 0. Строма является гиперэхогенной, поскольку относительно фолликулов расчётные критерии соответствуют положению: $0 \leq \text{КЭО}, 0 < \text{КИЗ}, 0 < \Delta\text{Ср}_{\text{ярк}}$. Эхогенность фолликулов ($\text{Ср}_{\text{яркФ}}$) колебалась в пределах $43,89 \pm 5,15$ до $110,74 \pm 12,62$ в зависимости от стадии цикла, причем наименьшие значения регистрировались к завершению проэструса и соответствовали предовуляторным фолликулам, а наибольшие значения регистрировались с продолжением диэструса. Так, количественные показатели эхогенности

фолликулов перед овуляцией снижались в среднем на 36,77%. После овуляции данный показатель увеличивался в среднем на 59,54%, превышая значения, полученные в начале проэструса (таблица 5, рисунок 33). Эхогенность стромы ($C_{яркC}$) колебалась в диапазоне от $95,02 \pm 7,19$ до $152,34 \pm 9,28$.

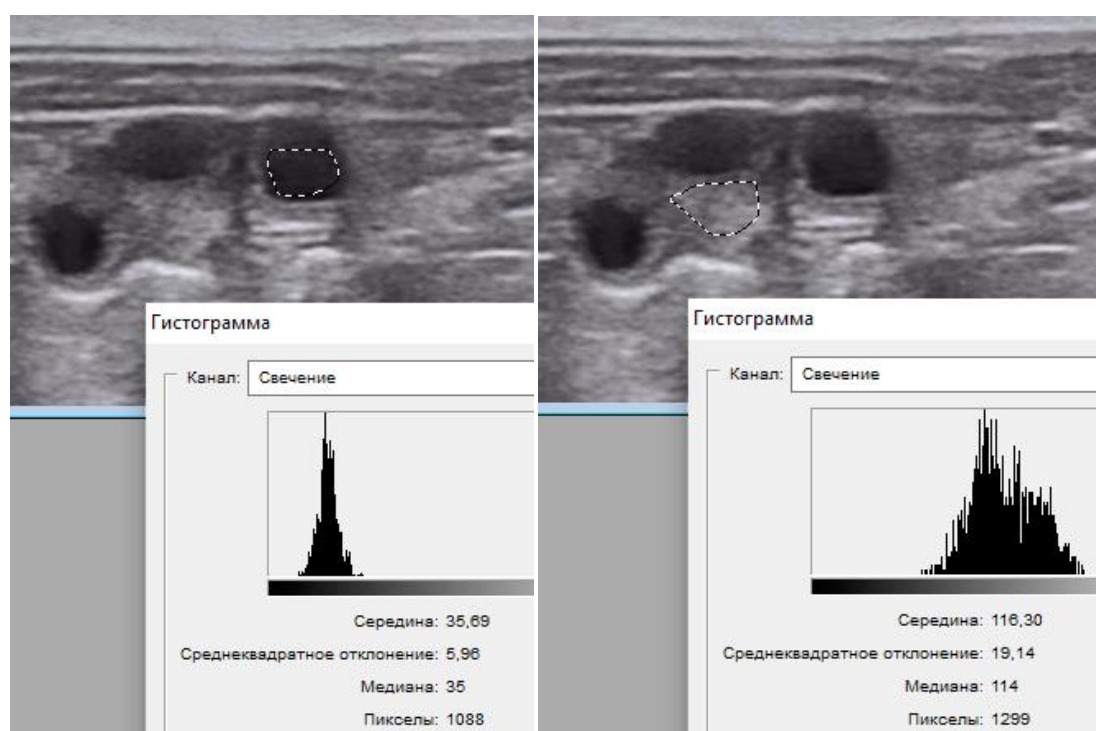


Рисунок 32 – Определение числовых значений параметров «среднее значение» и «отклонение» для стромы и фолликула на эхограмме яичника при помощи яркостной гистограммы в графическом редакторе.

Нами установлено, что в течение проэструса меняется фолликулярный индекс эхогенности (ФИЭ), т.е. соотношение количественных единиц эхогенности стромы и фолликулов (рисунок 33). Так, в начале проэструса данный индекс составлял 1,5-1,7, а к концу проэструса достигал 2,0-2,5, что указывает на снижение эхогенности фолликулов в процессе фолликулогенеза. После овуляции данный индекс также менялся, снижаясь менее значения 2,0 (рисунок 34).

Таблица 5 – Количественные показатели эхогенности яичников собак в фазы проэструс, эструс и диэструс полового цикла (n=54)

День	Структура яичника	Среднее значение яркости пикселей ($C_{ярк}$)	Степень разброса значений яркостей пикселей	Фолликулярный индекс эхогенности (ФИЭ) $C_{ярк} C / C_{ярк} \Phi$
		M±m		
4	строма	98,26±6,64	16,39±2,43	1,41
	фолликул	69,41±9,63	5,21±1,57	
6	строма	95,02±7,19	14,56±2,57	1,48
	фолликул	63,98±8,52	6,01±1,84	
8	строма	125,47±10,63	17,54±3,18	1,55
	фолликул	80,86±7,55	6,34±2,04	
10	строма	152,34±9,28	16,94±3,41	1,77
	фолликул	85,79±7,04	8,18±2,26	
12	строма	130,27±10,64	15,48±3,22	1,98
	фолликул	65,64±8,41**	6,27±1,95	
14	строма	107,31±8,12	12,33±2,14	2,44
	фолликул	43,89±5,15*/**	4,86±1,32	
16	строма	107,30±9,83	14,59±3,48	1,84
	фолликул	58,16±5,28**	5,22±1,64	
18	строма	139,25±9,33	16,11±3,52	1,56
	фолликул	89,36±7,42	9,22±2,67	
20	строма	137,86±11,50	15,28±3,16	1,24
	фолликул	110,74±12,62*	12,43±3,72	

Примечание: * – достоверная разница с исходными значениями ($p \leq 0,05$)

** – достоверная разница со стромой ($p \leq 0,05$)

При сравнении фолликулярного индекса эхогенности с размером фолликулов у собак нами отмечено, что данный индекс увеличивается с увеличением размера фолликулов. После достижения максимального размера, фолликулы начинают уменьшаться, примечательно, что фолликулярный индекс эхогенности при этом также снижается (рисунок 34), т.е. происходит достоверное повышение эхогенности фолликулов, что, на наш взгляд, связано с замещением жидкостного компонента клеточными элементами в процессе формирования желтого тела.

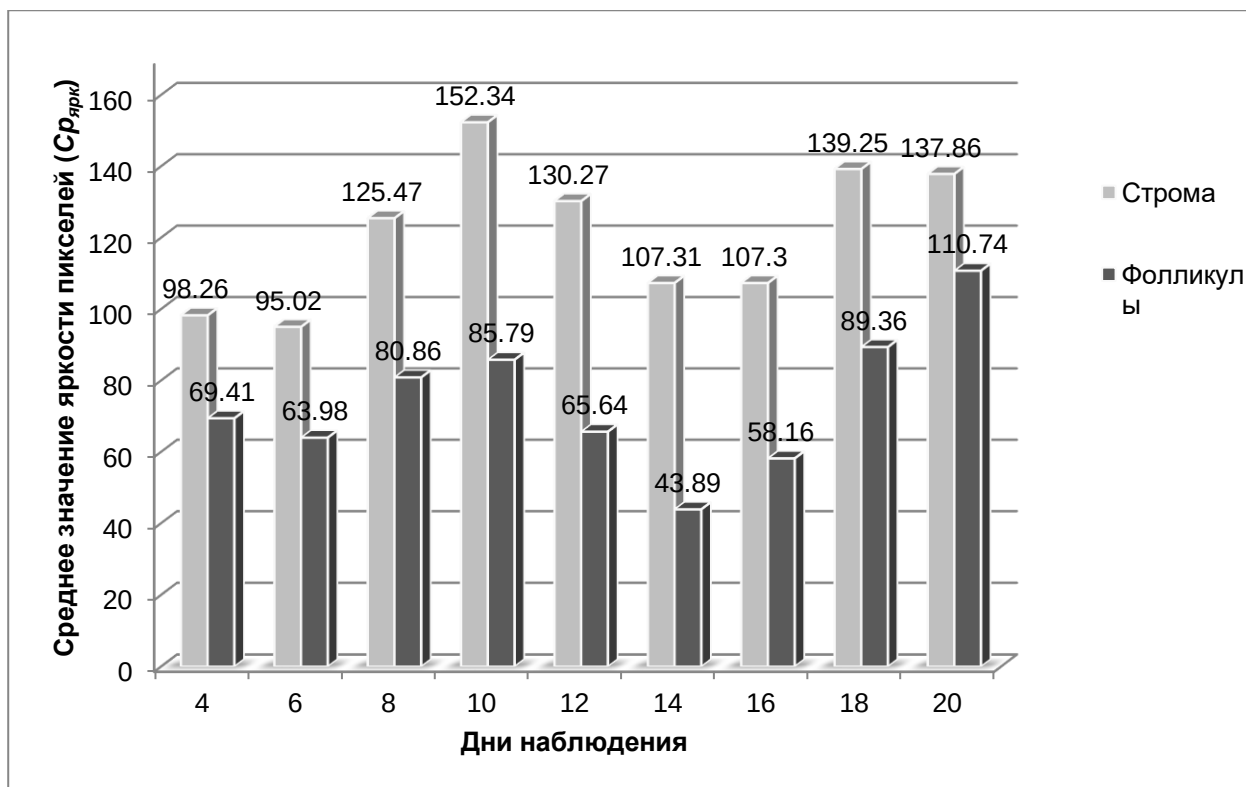


Рисунок 33 – Количественные показатели эхогенности ($Sr_{ярк}$) стромы и фолликулов яичников собак в фазы проэструс, эструс, диэструс.

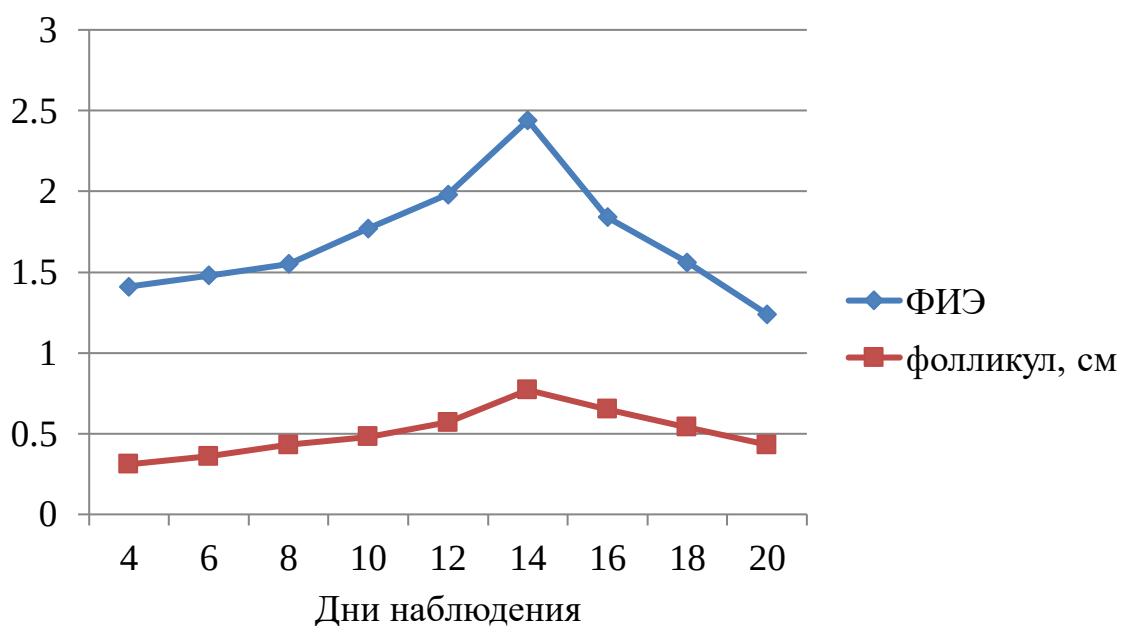


Рисунок 34 – Динамика фолликулярного индекса эхогенности (ФИЭ) и максимального размера фолликулов (см) у собак массой до 5 кг в фазы проэструс, эструс и диэструс полового цикла.

Фолликулярный индекс эхогенности даёт информацию о соотношении количественных показателей эхогенности стромы и фолликулов в процессе

фолликулогенеза, овуляции и формировании желтых тел. На количественные показатели экзогенности могут влиять настройки самого сканера, однако данный индекс позволяет проводить объективную оценку структур яичников с учетом вариабельности настроек различных сканеров.

Полученные нами количественные сонографические данные яичников у здоровых собак, могут служить основой для их оценки у данного вида животных в норме и патологии при ультразвуковом исследовании, а также способствовать определению фазы полового цикла. Критерием для фазы проэструс является значение фолликулярного индекса экзогенности ФИЭ 1,5-1,8 для предовуляции ФИЭ $>2,0$, для овуляции ФИЭ $<2,0$, для фазы диэструс ФИЭ 1,1-1,4.

2.2.2. ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВАГИНАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ У СОБАК В ФАЗЫ АНЭСТРУС, ПРОЭСТРУС, ЭСТРУС И ДИЭСТРУС

В стадию проэструса полового цикла в мазках влагалищного эпителия у самок собак регистрировали округлые или слегка овальные клетки с большим, хорошо окрашенным однородным ядром, относительно небольшим количеством цитоплазмы (рисунок 35). Площадь данного типа клеток составляла в среднем $486,52 \pm 46,87$ мкм², площадь цитоплазмы $393,73 \pm 38,64$ мкм², площадь ядра $92,49 \pm 6,39$ мкм², ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО) $0,23 \pm 0,16$. Данный тип клеток в мазках, полученных в эту стадию цикла составлял $26,31 \pm 4,55\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища в начале проэструса и до $8,43 \pm 1,86\%$ в конце проэструса.

Также в фазу проэструс полового цикла в мазках отмечали наличие преимущественно округлых или слегка овальных клеток, с большим пузырчатым ядром и относительно небольшим количеством цитоплазмы (рисунок 36).

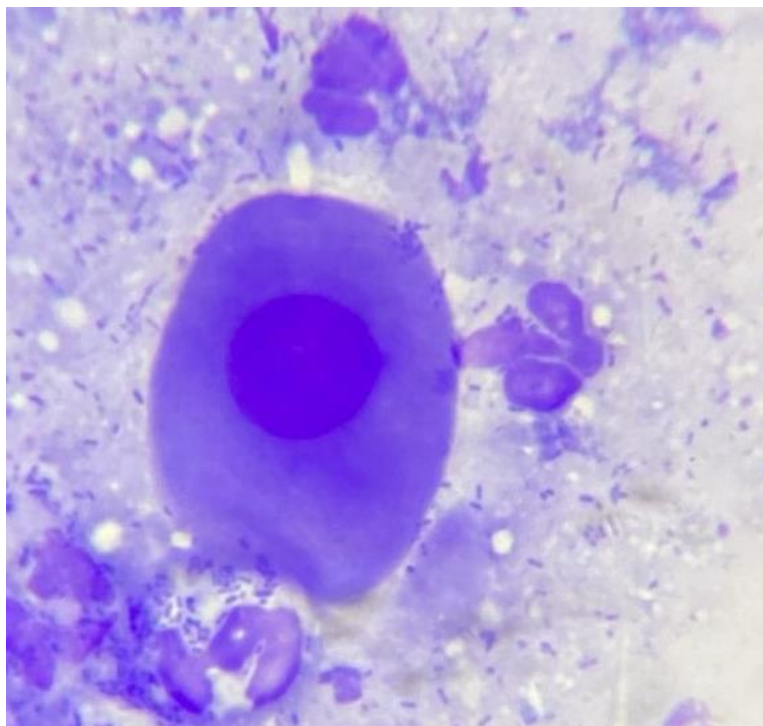


Рисунок 35 – Парабазальная клетка влагалищного эпителия собаки.
Увеличение $\times 60$.

Площадь данного типа клеток составляла в среднем $576,63 \pm 41,22 \text{ мкм}^2$, площадь цитоплазмы $497,73 \pm 42,31 \text{ мкм}^2$, площадь ядра $78,54 \pm 5,86 \text{ мкм}^2$, ядерно-цитоплазматическое соотношение $0,16 \pm 0,07$.

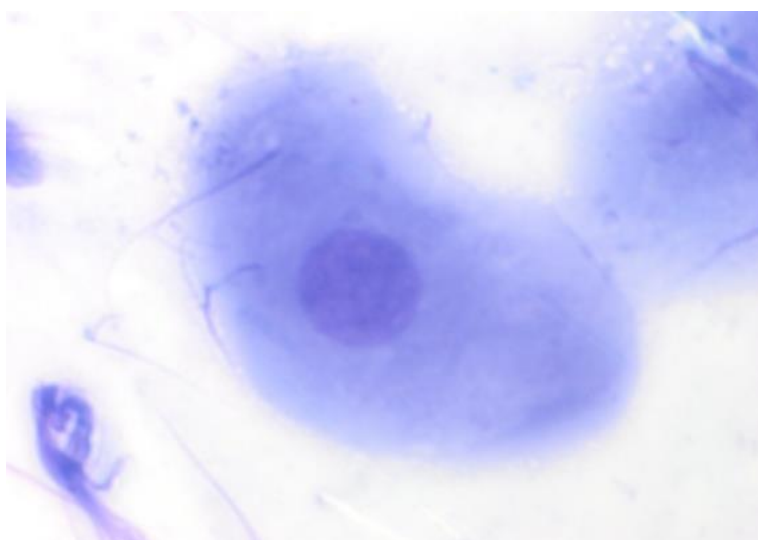


Рисунок 36 – Промежуточная клетка влагалищного эпителия собаки.
Увеличение $\times 60$.

Данный тип клеток в мазках, полученных в эту стадию цикла составлял $32,3 \pm 5,32\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища в начале проэструса и $17,38 \pm 3,67\%$ в конце проэструса.

Кроме указанных типов клеток в мазках регистрировали наличие отличающихся неправильной формой и меньшими размерами ядра клеток вагинального эпителия (рисунок 37, 38). Площадь данного типа клеток составляла в среднем $834,59 \pm 113,61$ мкм², площадь цитоплазмы $767,07 \pm 48,55$ мкм², площадь ядра $67,52 \pm 8,78$ мкм², ЯЦО $0,09 \pm 0,04$. Данный тип клеток в мазках, полученных в эту стадию цикла составлял $41,34 \pm 4,18\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища в начале проэструса и до $27,83 \pm 6,21\%$ в конце проэструса.

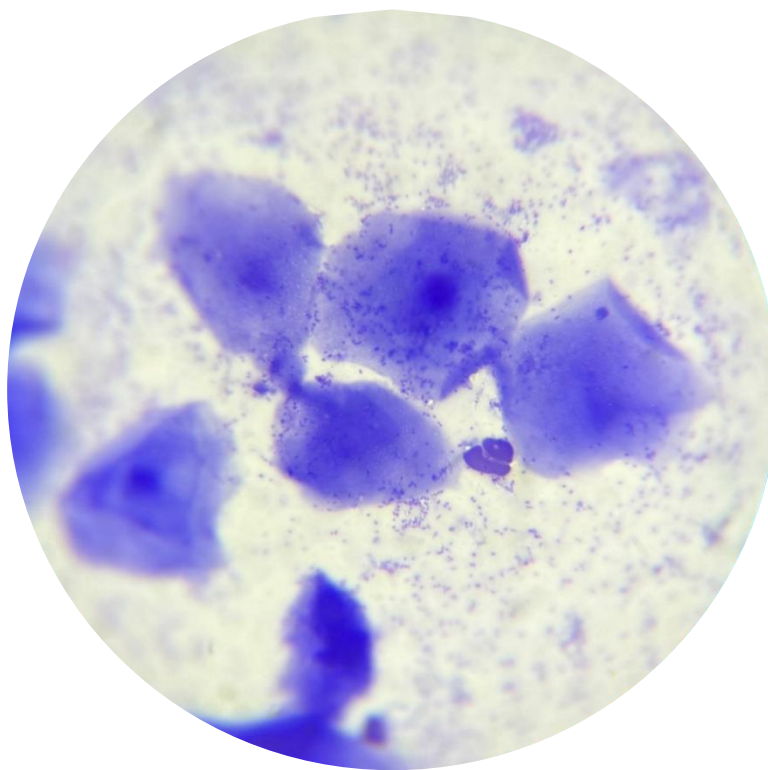


Рисунок 37 – Цитологическая картина влагалищного мазка в фазу проэструс: поверхностные и поверхностно-промежуточные клетки. Увеличение $\times 40$.

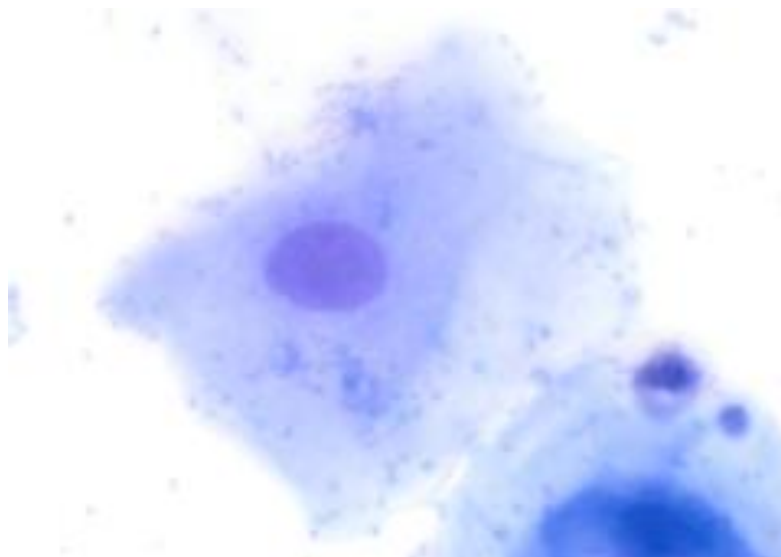


Рисунок 38 – Поверхностно-промежуточная клетка влагалищного эпителия собаки. Увеличение $\times 60$.

В конце проэструса полового цикла, при концентрации прогестерона в среднем $14,63 \pm 2,56$ нмоль/л, в мазках дополнительно регистрировали эпителиальные клетки, отличающиеся большим размером в сравнении с предыдущими типами, острыми, угловатыми контурами и меньшего размера ядрами, которые отличались слабой интенсивностью окраски и нечетким контуром с признаками пикноза (рисунок 39).

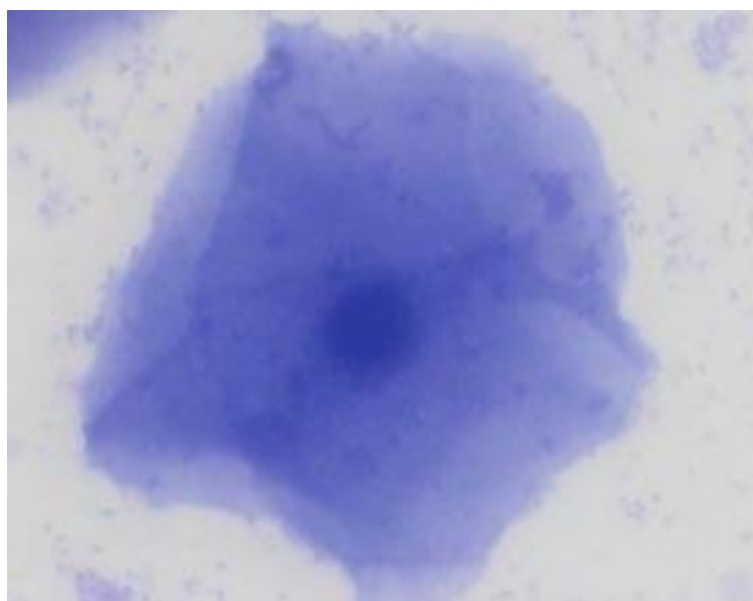


Рисунок 39 – Поверхностная клетка влагалищного эпителия собаки. Увеличение $\times 60$.

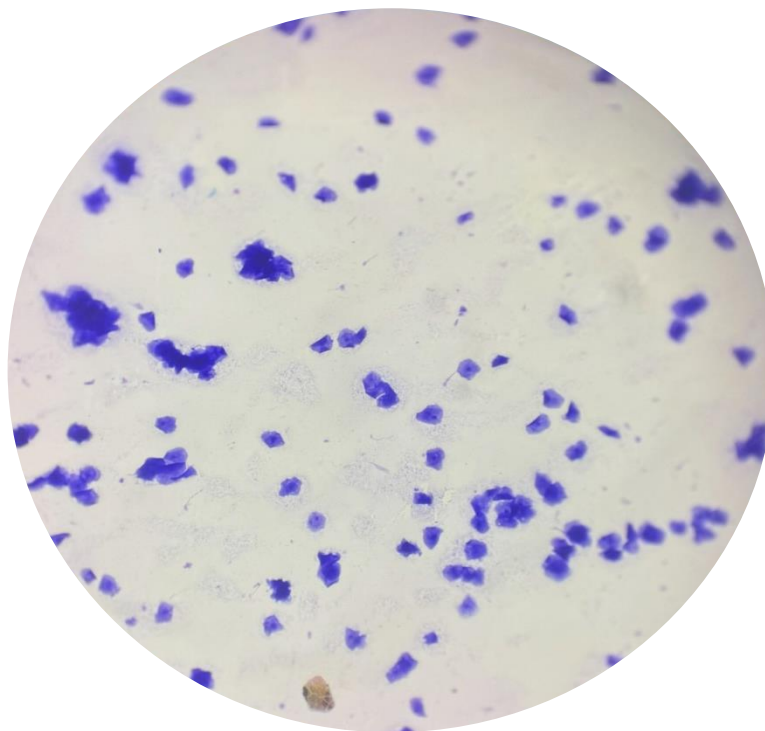


Рисунок 40 – Цитологическая картина влагалищного мазка: поверхностные клетки. Эструс. Увеличение $\times 20$

Средняя площадь данного типа клеток составляла $1180,59 \pm 157,62 \text{ мкм}^2$, площадь цитоплазмы $1112,75 \pm 125,24 \text{ мкм}^2$, площадь ядра $55,66 \pm 13,21 \text{ мкм}^2$, ЯЦО $0,05 \pm 0,01$.

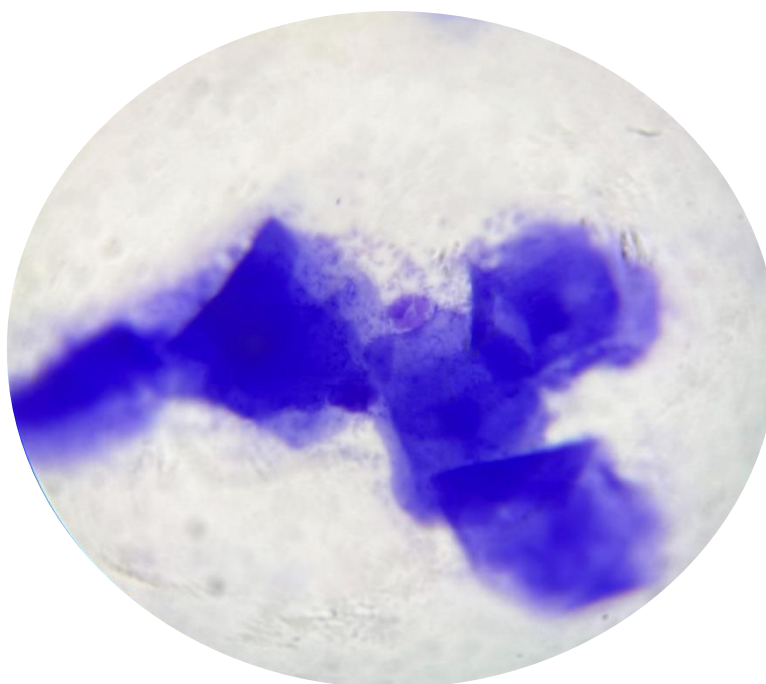


Рисунок 41 – Цитологическая картина влагалищного мазка: поверхностные клетки с признаками ороговения. Эструс. Увеличение $\times 40$

Данный тип клеток в мазках, полученных в эту стадию цикла составлял $45,26 \pm 8,34\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища.

Последний тип клеток являлся преобладающим в фазу эструса, когда концентрация прогестерона в сыворотке крови превышала $16,00$ нмоль/л, и составлял $92,38 \pm 6,22\%$. $6,47 \pm 1,38\%$ составляли клетки, представленные на рисунке 38.

Мазки, полученные в фазу диэструса (рисунок 43), были представлены всеми описанными типами клеток (рисунок 35-36, 38-39) в соотношении $5,24 \pm 1,32\%$, $14,51 \pm 2,54\%$, $11,43 \pm 2,41\%$ и $68,32 \pm 5,38\%$ соответственно.

Таблица 6 – Морфометрические показатели клеток вагинального эпителия у сук ($n=54$)

Вагинальный эпителий	Площадь клетки (мкм ²)	Площадь цитоплазмы (мкм ²)	Площадь ядра (мкм ²)	ЯЦО (отн.ед.)
	M $\pm$ m			
Парабазальные клетки	$486,52 \pm 46,87$	$393,73 \pm 38,64$	$92,49 \pm 6,39$	$0,23 \pm 0,16$
Промежуточные клетки	$576,63 \pm 41,22$	$497,73 \pm 42,31$	$78,54 \pm 5,86$	$0,16 \pm 0,07$
Поверхностно-промежуточные клетки	$834,59 \pm 113,61^*$	$767,07 \pm 48,55^*$	$67,52 \pm 8,78^*$	$0,09 \pm 0,04^*$
Поверхностные клетки	$1180,59 \pm 157,62^{**/**}$	$1112,75 \pm 125,75^{**/**}$	$55,66 \pm 13,21^{**/**}$	$0,05 \pm 0,02^{**/**}$

Примечание: * – достоверная разница с парабазальными клетками ($p \leq 0,05$)

** – достоверная разница с промежуточными клетками ($p \leq 0,05$)

Представленные данные отражают тенденцию к уменьшению относительного размера ядра и снижению ЯЦО по мере увеличения концентрации прогестерона.

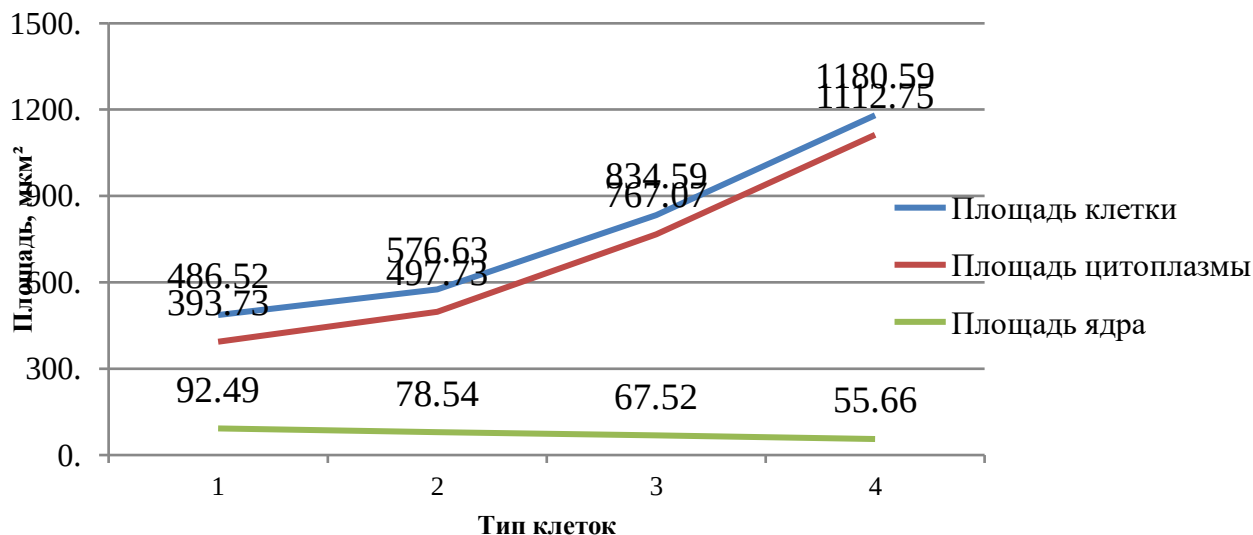


Рисунок 42 – Динамика изменения площади ядра (мкм²), ядерно-цитоплазматического отношения (отн.ед.) в клетках вагинального эпителия у суек (1 – парабазальная клетка, 2 – промежуточная клетка, 3 – поверхностно-промежуточная клетка, 4 – поверхностная клетка).

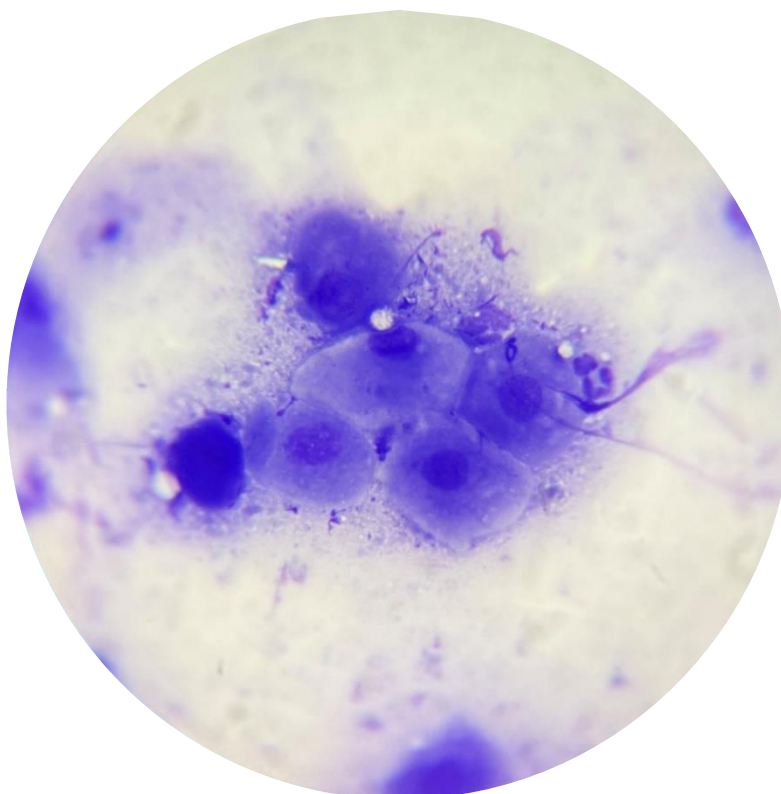


Рисунок 43 – Цитологическая картина влагалищного мазка: промежуточные клетки. Диэструс. Увеличение $\times 40$

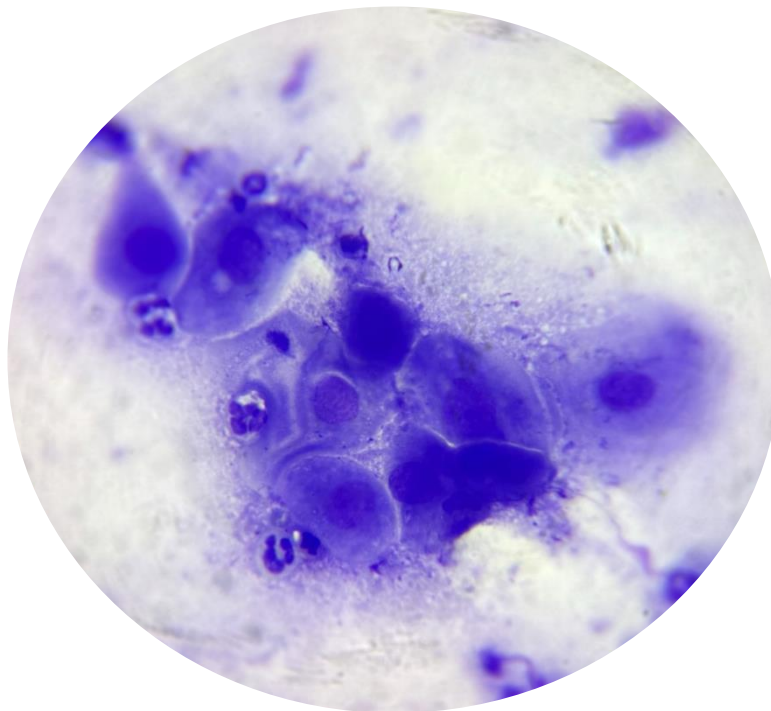


Рисунок 44 – Цитологическая картина влагалищного мазка: парабазальные и промежуточные клетки, единичные нейтрофилы. Анэструс. Увеличение $\times 40$

Картина вагинального эпителия отличается у собак в фазу анэструса (рисунок 44). В мазках преобладающими клетками являются парабазальные (около 90%), регистрируются единичные промежуточные клетки, единичные базальные клетки и зрелые лейкоциты нейтрофильного ряда.

2.2.3. КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОГЕСТЕРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ СОБАК В ФАЗЫ ПРОЭСТРУС, ЭСТРУС, ДИЭСТРУС

Для получения объективной информации о наступлении овуляции нами отслеживалась динамика концентрации прогестерона крови у исследуемых животных. Результаты анализов показали, что средняя концентрация прогестерона в начале проэструса составляла $9,86 \pm 1,45$ нмоль/л и нарастала в среднем до $14,63 \pm 2,56$ нмоль/л на 10 день цикла (рисунок 45). Данные параметры соответствуют фазе проэструса.

Концентрацию прогестерона свыше 16,00 нмоль/л характеризовали как наступление эструса [95]. У большинства исследуемых животных данный порог регистрировали в 12-14 с начала проэструса.

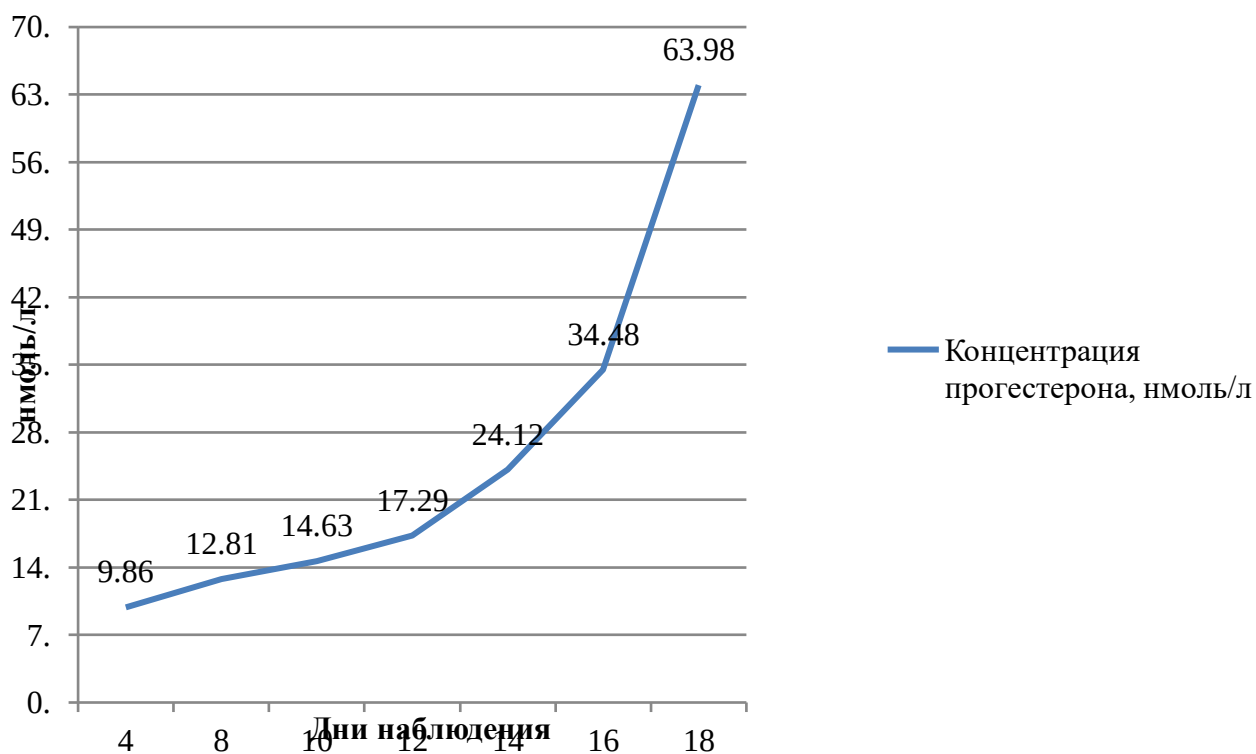


Рисунок 45 – Динамика средних значений концентрации прогестерона крови (нмоль/л) у сук в период проэструса, эструса, диэструса (n=54).

Полученные результаты сопоставляли с данными эхографии и цитологического исследования мазков вагинального эпителия (см. главы 2.2.2., 2.2.1.2., 2.2.1.3.)

2.2.4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ НЕЙРОННОЙ СЕТИ TENSORFLOW ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У САМОК СОБАК

2.2.4.1. Обучение и тестирование нейросети Tensorflow определению фаз полового цикла у собак на основе анализа изображений клеток вагинального эпителия

В связи с существующей разницей во мнениях некоторых авторов относительно типа клеток влагалища самок собак в различные фазы полового цикла, а также потенциальной возможностью искусственного интеллекта распознавать и анализировать диагностические изображения, для нас представляло интерес изучение параметров клеток вагинального эпителия собак и их анализ при помощи искусственных нейронных сетей.

Вагинальные мазки после идентификации каждой стадии полового цикла были оцифрованы, полученные изображения разных типов эпителиальных клеток были классифицированы, стандартизированы по размерам и разрешению. Размер каждого изображения составлял 256x256 пикселей. После чего их загрузили в кроссплатформенную библиотеку Keras для обучения нейросети TensorFlow (рисунок 46-47).

На следующем этапе была создана модель с определением архитектуры нейронной сети. Нами был использован последовательный тип (Sequential) обработки и преобразования данных. Затем произвели компиляцию модели с помощью оптимизатора, функции потерь и метрик. Затем обучили модель на основе входных данных (рисунок 48). На финальном этапе оценили модель с помощью тестовых данных, чтобы проверить её эффективность (рисунок 49).

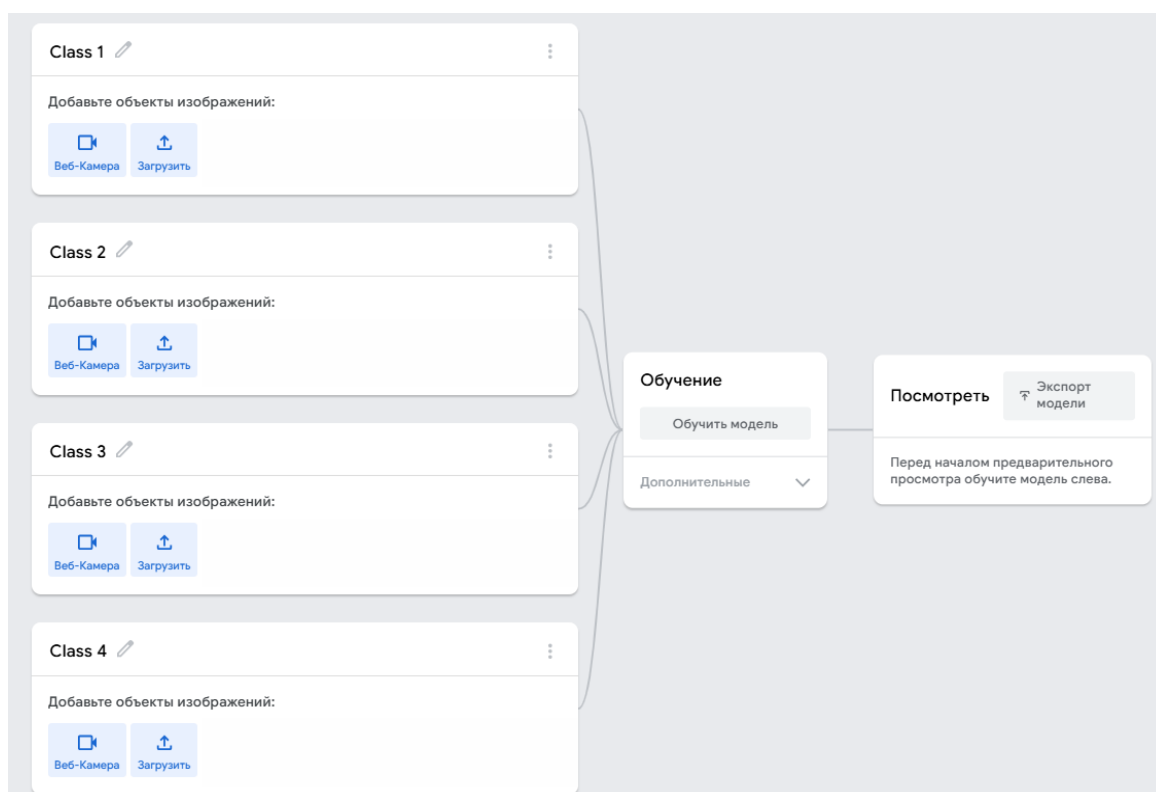


Рисунок 46 – Интерфейс библиотеки Keras в исходном виде

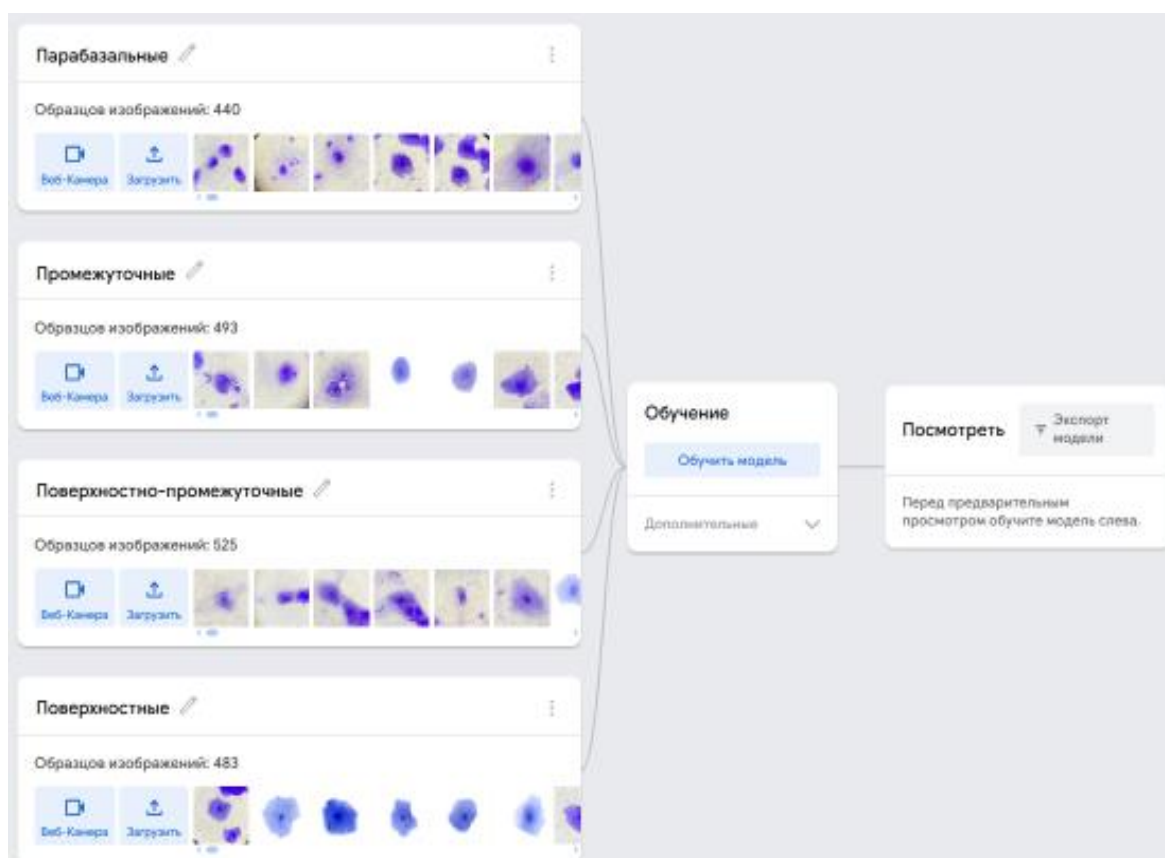


Рисунок 47 – Интерфейс библиотеки Keras в процессе создания 4х групп вагинальных клеток: парабазальные, промежуточные, поверхностно-промежуточные, поверхностные

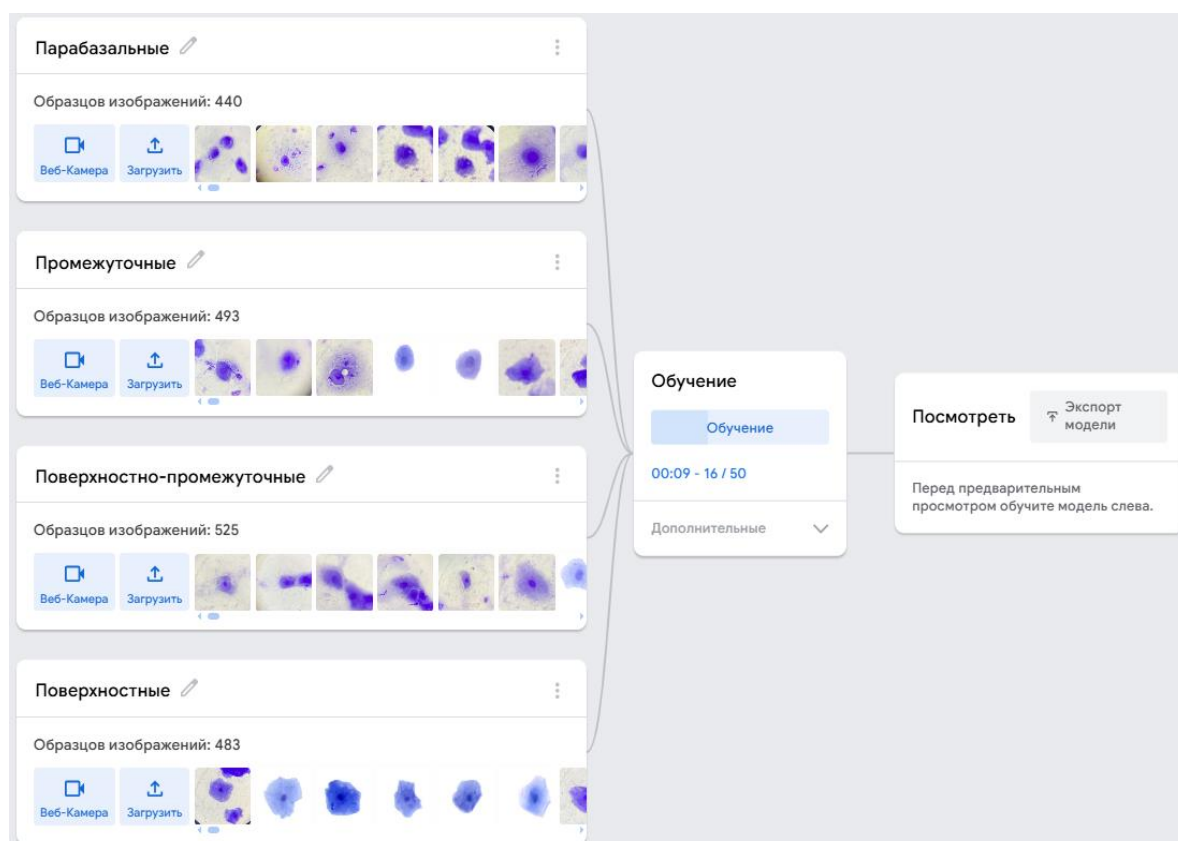


Рисунок 48 – Интерфейс библиотеки Keras в процессе обучения нейросети TensorFlow созданным классам

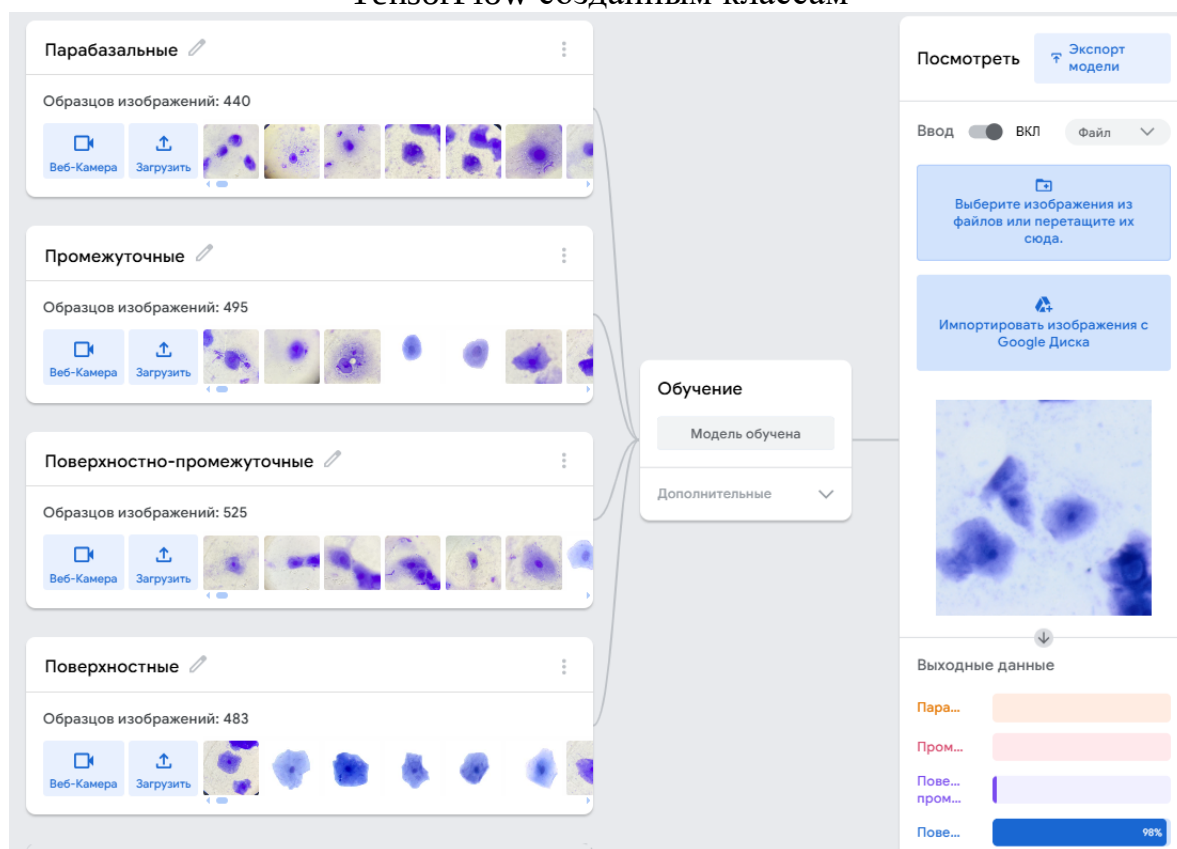


Рисунок 49 – Интерфейс библиотеки Keras в процессе обучения нейросети TensorFlow распознаванию стадий полового цикла по изображению вагинального эпителия

Значения чувствительности и специфичности для стадий проэструса, эструса и диэструса составили $0,97 \pm 0,028$ и $0,91 \pm 0,032$, $0,99 \pm 0,041$ и $1,0 \pm 0,022$, $0,96 \pm 0,036$ и $0,87 \pm 0,027$ соответственно, что демонстрирует способность модели достаточно точно определять фазы эстрального цикла.

Стадии проэструса и диэструса схожи по клеточному составу, однако наблюдается отличие в процентном соотношении между различными типами клеток с преобладанием поверхностных в диэструсе. Так, в конце проэструса количество парабазальных, промежуточных, поверхностно-промежуточных и поверхностных клеток составляло $8,43 \pm 1,86$, $17,38 \pm 3,67$, $27,83 \pm 6,21$ и $45,26 \pm 8,34$ процентов соответственно. В фазу диэструса процентное соотношение между данными типами клеток распределилось следующим образом $5,24 \pm 1,32\%$, $14,51 \pm 2,54\%$, $11,43 \pm 2,41\%$ и $68,32 \pm 5,38\%$ соответственно. Видимо по этой причине значение специфичности для диэструса составило $0,87 \pm 0,027$, что на 4,6 и 9,1% ниже, чем показатель специфичности для фаз проэструса и эструса.

2.2.4.2. Обучение и тестирование нейросети Tensorflow основанной на детекции цифровых эхографических изображений яичников

Цифровые сонограммы яичников, были классифицированы по фазам полового цикла стандартизированы по размерам и разрешению. Размер каждого изображения составлял 256×256 пикселей. После чего их загрузили в кроссплатформенную библиотеку Keras для обучения нейросети TensorFlow (рисунок 50). На следующем этапе была создана модель с определением архитектуры нейронной сети. Нами был использован последовательный тип (Sequential) обработки и преобразования данных. Затем произвели компиляцию модели с помощью оптимизатора, функции потерь и метрик. Затем обучили модель на основе входных данных. На финальном этапе оценили модель с помощью тестовых данных, чтобы проверить её эффективность.

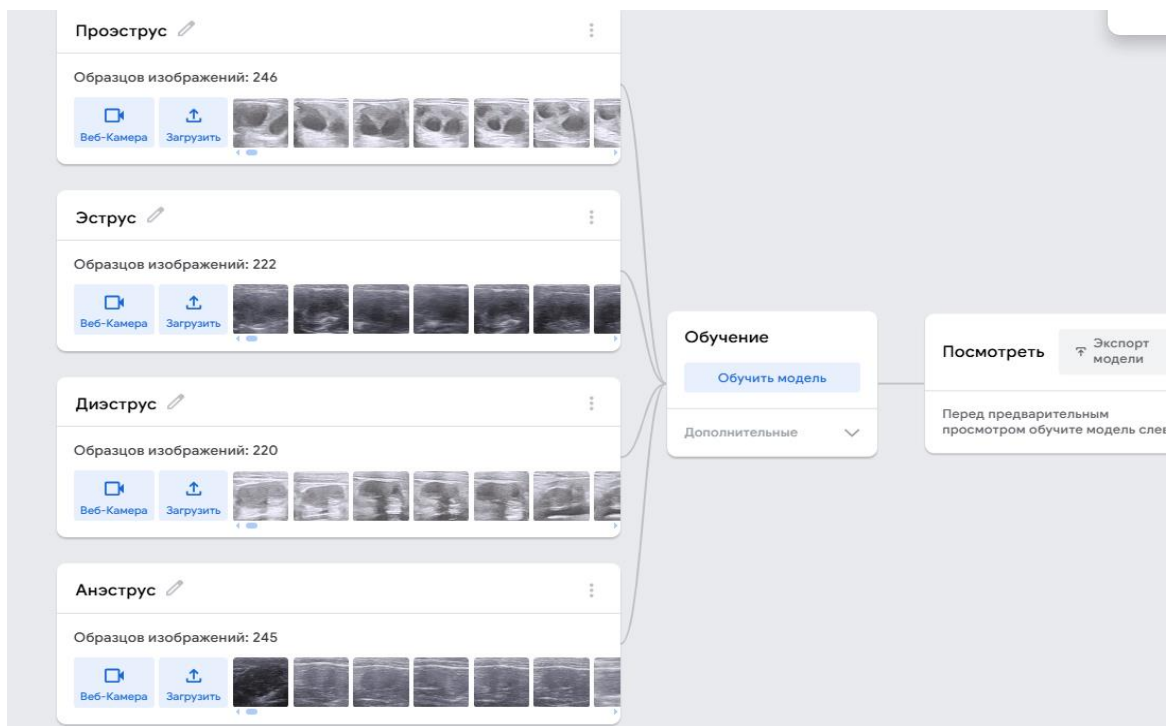


Рисунок 50 – Интерфейс библиотеки Keras в процессе создания 4х групп эхограмм соответствующих фазам полового цикла: проэструс, эструс, диэструс, анэструс

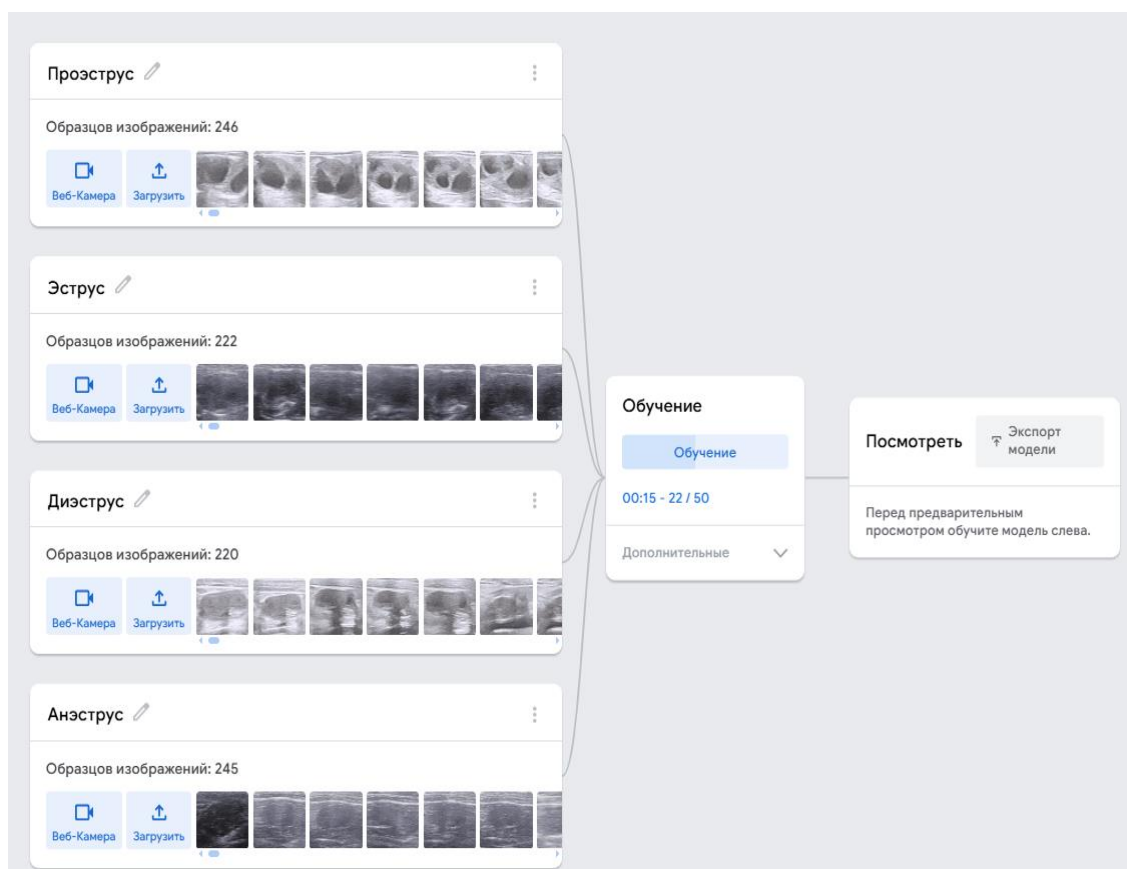


Рисунок 51 – Интерфейс библиотеки Keras в процессе обучения нейросети TensorFlow распознаванию эхограмм яичников

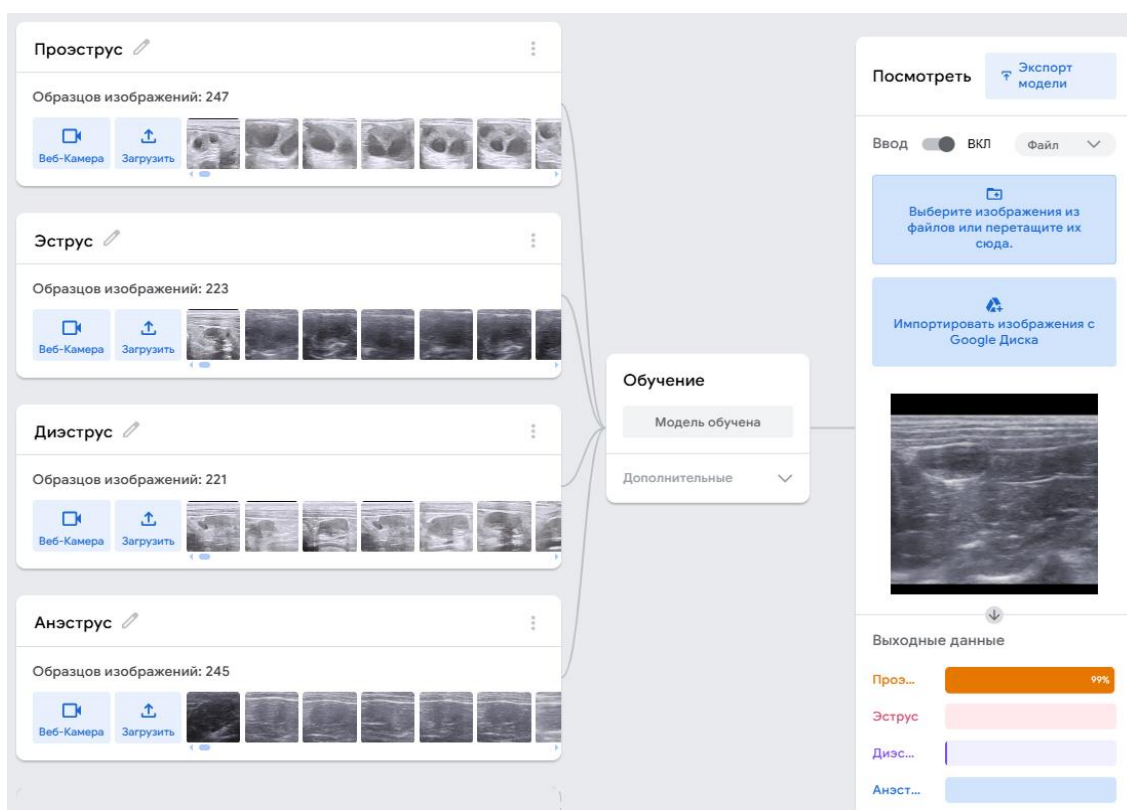


Рисунок 52 – Интерфейс библиотеки Keras в процессе тестирования обученной нейросети TensorFlow распознаванию эхограмм яичников

Значения чувствительности и специфичности для стадий проэструса, эструса и диэструса составили $0,98 \pm 0,06$ и $0,93 \pm 0,07$, $0,92 \pm 0,05$ и $0,95 \pm 0,04$, $0,87 \pm 0,06$ и $0,82 \pm 0,07$ соответственно.

В нашей модели мы использовали около тысячи эхографических изображений яичников. Обученная распознавать эхографические изображения яичников нейросеть TensorFlow показала достаточно высокую чувствительность для определения стадий полового цикла у собак.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе диссертационного исследования была достигнута цель изучить эхографические и морфофункциональные характеристики органов репродуктивной системы самок собак в различные стадии полового цикла и разработать алгоритм определения функционального состояния репродуктивной системы с использованием искусственных нейронных сетей и решены следующие задачи: выявлены качественные эхографические и количественные эходенситометрические маркеры органов репродуктивной системы при различных стадиях полового цикла у самок собак, разработана неинвазивная методика фолликулометрии в зависимости от массы тела для определения овуляции у собак, разработан комплексный алгоритм диагностики функционального состояния репродуктивной системы у самок собак используя искусственную нейронную сеть основанную на детекции цифровых изображений яичников и клеток вагинального эпителия.

В результате анализа данных литературного обзора и ранее проведенных исследований биологической особенности полового цикла собак, в отличие от других видов животных, созревание ооцитов происходит до овуляции, суки овулируют не дозревшие ооциты и затем в течении 2-3 дней отмечается первое мейотическое деление, а в течении 3-5 последующих дней наступает второе мейотическое деление, что открывает фертильное окно не в момент овуляции, а после нее и осеменение на данном этапе может быть менее эффективным, так как яйцеклетки еще не способны к оплодотворению. Так же у собак существует феномен преовуляторной лютеинизации фолликулов, в то время как большинство млекопитающих увеличивают концентрацию прогестерона в крови после овуляции, собаки секретируют его клетками фолликула до овуляции под воздействием пика лютеинизирующего гормона. Это позволяет использовать мониторинг уровня прогестерона в сыворотке крови как основной предиктор овуляции.

Исследования проводимые М. Hase, Т. Hory et al. (2000) доказывают, что овуляцию можно было обнаружить у шести из 11 собак (54,5%) путем

наблюдения за изменениями и уменьшением формы фолликулов яичников с помощью УЗИ. Через несколько дней после овуляции фолликул яичника имел ту же форму, что и до овуляции, и определялся как безэховый участок. Время между пиком ЛГ и овуляцией у шести собак, у которых можно было наблюдать овуляцию, составляло 24-48 часов, в среднем $38,0 \pm 48,4$ часа. Уровень прогестерона в плазме в день овуляции составлял 5,98-8,94 нмоль/л, в среднем $7,44 \pm 0,54$ нмоль/л. День овуляции был первым днем, когда уровень прогестерона составлял 6,36 нмоль/л или выше у остальных пяти собак. При овуляции уровень прогестерона быстро повышался до 7,66-19,05 нмоль/л, в среднем $12,59 \pm 1,72$ нмоль/л, на следующий день после овуляции.

Сурогин М.В. (2017) предлагает проводить осеменение собак при концентрации прогестерона свыше 25,44 нмоль/л., в то время, как I. Karre et al. (2012) указывают, что референсом овуляции является концентрация прогестерона в крови сук не менее 15,9 нмоль/л. По данным J.S. Boyd et al. (1993) процесс овуляции может длиться 12-36 часов, при этом концентрация прогестерона продолжает увеличиваться. Поэтому концентрации прогестерона с $9,86 \pm 1,45$ нмоль/л до $14,63 \pm 2,56$ нмоль/л характеризовали как проэструс. Концентрации прогестерона свыше 16,0 нмоль/л мы характеризовали как эструс, а сонограммы для характеристики фазы диэструса получали в течение 6 дней после регистрации повышения уровня прогестерона выше овуляторного референса. Необходимо отметить, что у 4-х животных мы не регистрировали при сонографии изменения фолликулов, характерные для овуляции когда значения прогестерона превышали 40-60 нмоль/л, что является достаточно высоким уровнем, соответствующим состоявшейся овуляции.

Цитология влагалищного мазка позволяет определить фазу цикла (проэструс, эструс, диэструс, анэструс), но не позволяет точно предсказать день овуляции. Максимальный индекс кариопикноза лишь указывает на эстрогеновый пик, который предшествует овуляции. Некоторые авторы классифицируют клетки эпителия влагалища на базальные, парабазальные,

промежуточные, поверхностные и сквамозные, причем промежуточные клетки разделяют на клетки двух типов, малые – 20 мкм и большие – 30 мкм. В других источниках приводится следующая классификация клеток эпителия влагалища: базальные, парабазальные, промежуточные, поверхностно-промежуточные и поверхностные. По-видимому, в разных классификациях под поверхностно-промежуточными и большими промежуточными понимается один и тот же тип клеток. В наших исследованиях клетки эпителия влагалища мы обозначали как парабазальные, промежуточные, поверхностно-промежуточные и поверхностные. Необходимо отметить, что в разные фазы полового цикла в мазках эпителия влагалища мы обнаруживали базальные и сквамозные клетки, однако их количество не превышало 2%, поэтому мы не учитывали данные клетки в качестве маркёров для определения фаз полового цикла.

Нами впервые были изучены количественные показатели экзогенности стромы яичников и фолликулов и их соотношение в течение эструса, а так же проведена количественная эходенситометрия структур матки в течение эструса. Появление фолликулярной гиперэхогенной каймы, по видимому, связано с предовуляторной лютеинизацией фолликулов. Подобные изменения описаны и другими исследователями. Наличие фолликулярной гиперэхогенной каймы может служить дополнительным эхографическим маркёром завершения стадии проэструса. Так, I. Karre et. al. (2012) при микроскопии ооцитов, полученных из половых путей через 2 и 4 дня после однократного интравагинального осеменения сук с помощью баллонного катетера, проведенного в течение 12 часов с момента обнаружения овуляции отмечали, что, несмотря на концентрацию прогестерона, превышающую 47,7 нмоль/л, оплодотворения не происходит. K. Reynaud et. al. (2005) исследовав 195 ооцитов, полученных от 50 сук, установили, что в большинстве случаев оплодотворение происходило в течение 90 часов после овуляции. В связи с этим, концентрация прогестерона в крови сук в качестве маркёра для определения времени оплодотворения не является высокопрогностичным

методом. Метод ультразвуковой диагностики эструса у собак имеет существенно более низкую себестоимость в сравнении с лабораторными методами.

В ходе исследований разработана методика и впервые использована с помощью технологии искусственного интеллекта для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путем распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия и диагностических эхографических изображений яичников на основе TensorFlow. P.D.F. Curti et al. (2023) приводят обзор использования машинного обучения в животноводстве, подчеркивая его роль в процессах принятия решений по производству и воспроизводству сельскохозяйственных животных. Характеризуя потенциальные проблемы и критические моменты, которые могут повлиять на результаты и применение методов искусственного интеллекта в практических ситуациях, авторы указывают важность использования больших объемов данных при машинном обучении. Большинство систем опираются на обширные наборы данных. В нашей модели мы использовали около четырёх с половиной сотен изображений для каждого типа клеток и около тысячи изображений яичников. Несмотря на полученную точность, совершенствование модели часто требует экспериментов с различными архитектурами, гиперпараметрами и методами оптимизации, что в последующем может достигаться добавлением в базу данных модели дополнительных изображений.

Полученные результаты определения стадий полового цикла у собак, создают предпосылки для применения модели в промышленном животноводстве, поскольку клеточный состав каждой фазы эстрального цикла демонстрирует сходство между различными видами животных.

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы и представить рекомендации по их практическому использованию.

Выводы

1. Эхографическими маркёрами для фазы проэструса являются: размер фолликулов менее 7,13 мм (для собак с массой тела до 5 кг), менее 9,61 мм (для собак с массой тела 6-15 кг), менее 12,24 см (для собак с массой тела более 16 кг), контуры фолликулов не четкие; маркёрами для предовуляции являются: наличие перифолликулярной гиперэхогенной каймы 0,6-0,7 мм, наличие четкости контуров фолликула, максимальный размер фолликулов 7,13 мм (для собак с массой тела до 5 кг), 9,61 мм (для собак с массой тела 6-15 кг), 12,24 см (для собак с массой тела более 16 кг); маркёрами для овуляции являются: перифолликулярная гиперэхогенная кайма толщиной 1-2 мм, отсутствие четкости контура фолликулов, отсутствие симметрии фолликулов, размер фолликулов менее 7,13 мм (для собак с массой тела до 5 кг), менее 9,61 мм (для собак с массой тела 6-15 кг), менее 12,24 см (для собак с массой тела более 16 кг); критериями для фазы диэструса являются: размер фолликулов менее 5,00 мм (для собак с массой тела до 5 кг), менее 7,00 см (для собак с массой тела 6-15 кг), менее 9,00 мм (для собак с массой тела более 16 кг), контуры фолликулов не четкие, эхогенность фолликулов повышена, фолликулы слабо различимы со стромой яичника.
2. Эходенситометрическим критерием для фазы проэструс является значение фолликулярного индекса эхогенности ФИЭ 1,5-1,8, для предовуляции ФИЭ >2,0, для овуляции ФИЭ <2,0, для фазы диэструс ФИЭ 1,1-1,4.
3. В проэструс в мазках влагалищного эпителия у собак регистрируются округлые или овальные клетки с большим, хорошо окрашенным однородным ядром, относительно небольшим количеством цитоплазмы. Площадь данного типа клеток составляла в среднем $486,52 \pm 46,87$ мкм², площадь цитоплазмы $393,73 \pm 38,64$ мкм², площадь

ядра $92,49 \pm 6,39$ мкм², ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО) $0,23 \pm 0,16$. Данный тип клеток в мазках, полученных в эту стадию цикла составлял $26,31 \pm 4,55\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища в начале проэструса и $8,43 \pm 1,86\%$ в конце проэструса.

4. В стадию проэструса полового цикла в мазках отмечали наличие преимущественно округлых или овальных клеток, с большим пузырчатым ядром и относительно небольшим количеством цитоплазмы. Площадь данного типа клеток составляла в среднем $576,63 \pm 41,22$ мкм², площадь цитоплазмы $497,73 \pm 42,31$ мкм², площадь ядра $78,54 \pm 5,86$ мкм², ядерно-цитоплазматическое соотношение $0,16 \pm 0,07$. Данный тип клеток в мазках, полученных в эту стадию цикла составлял $32,3 \pm 5,32\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища в начале прэструса и $17,38 \pm 3,67\%$ в конце проэструса.
5. В мазках в проэструс регистрировали наличие отличающихся неправильной формой и меньшими размерами ядра клеток вагинального эпителия (поверхностно-промежуточные клетки). Площадь данного типа клеток составляла в среднем $834,59 \pm 113,61$ мкм², площадь цитоплазмы $767,07 \pm 48,55$ мкм², площадь ядра $67,52 \pm 8,78$ мкм², ЯЦО $0,09 \pm 0,04$. Данный тип клеток в мазках составлял $41,34 \pm 4,18\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища в начале проэструса и до $27,83 \pm 6,21\%$ в конце проэструса.
6. В конце проэструса полового цикла, при концентрации прогестерона в среднем $14,63 \pm 2,56$ нмоль/л, в мазках дополнительно регистрировали эпителиальные клетки, отличающиеся большим размером в сравнении с предыдущими типами, острыми, угловатыми контурами и меньшего размера ядрами, которые отличались слабой интенсивностью окраски и нечетким контуром с признаками пикноза. Средняя площадь данного типа клеток составляла $1180,59 \pm 157,62$ мкм², площадь цитоплазмы $1112,75 \pm 125,24$ мкм², площадь ядра $55,66 \pm 13,21$ мкм², ЯЦО $0,05 \pm 0,01$.

Данный тип клеток в мазках, полученных в стадию проэструса составлял $45,26 \pm 8,34\%$ от всех эпителиальных клеток влагалища. Последний тип клеток являлся преобладающим в фазу эструса, когда концентрация прогестерона в сыворотке крови превышала $16,0$ нмоль/л, и составлял $92,38 \pm 6,22\%$.

7. Обученная распознавать разные типы клеток вагинального эпителия нейросеть TensorFlow показала следующие значения чувствительности и специфичности для стадий проэструса, эструса и диэструса $0,97 \pm 0,028$ и $0,91 \pm 0,032$, $0,99 \pm 0,041$ и $1,0 \pm 0,022$, $0,96 \pm 0,036$ и $0,87 \pm 0,027$ соответственно
8. При обучении нейросети TensorFlow распознавать эхографические изображения яичников собак в разные стадии полового цикла значения чувствительности и специфичности для стадий проэструса, эструса и диэструса составили $0,98 \pm 0,06$ и $0,93 \pm 0,07$, $0,92 \pm 0,05$ и $0,95 \pm 0,04$, $0,87 \pm 0,06$ и $0,82 \pm 0,07$ соответственно.

Практические предложения

1. Разработанный нами способ ультразвукографического определения оптимального времени осеменения собак (патент РФ № 2849174) может быть использован в ветеринарии для своевременного неинвазивного выявления овуляции и выбора оптимального времени осеменения собак.
2. Разработанный нами способ ультразвукографического определения стадий полового цикла у собак (патент РФ № 2849175) может быть использован в ветеринарии для неинвазивной дифференциальной диагностики стадий полового цикла у собак.
3. Программа для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия может быть использована

в ветеринарии для автоматизации диагностики стадий полового цикла у собак с применением нейросетевых моделей на базе фреймворка TensorFlow.

4. Программа для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических эхографических изображений яичников может быть использована в ветеринарии для автоматизации диагностики стадий полового цикла у собак с применением нейросетевых моделей на базе фреймворка TensorFlow.
5. Результаты исследований могут быть использованы при проведении научных исследований, в учебном процессе при подготовке специалистов ветеринарного и медико-биологического профиля, подготовке интернов по визуальной диагностике, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий по ветеринарной репродуктологии.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Установлены качественные и количественные показатели структур матки и яичников в течение разных фаз цикла у собак. Определены маркёры овуляции и применены технологии искусственного интеллекта для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путём распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия и диагностических эхографических изображений яичников на основе TensorFlow. Все это создает предпосылки для исследования и применения данной технологии у других видов животных. Использование технологии искусственного интеллекта для обучения нейронной сети распознаванию диагностических изображений открывает перспективы для изучения патологий различных органов и тканей с определением специфических эхографических маркеров, а также других методов визуальной диагностики.

4. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулразак М. Современные методы диагностики репродуктивной функции у собак / М. Абдулразак, Р.Т. Сафиуллин // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022.
2. Акаевский А.И. Анатомия домашних животных / А.И. Акаевский, Ю.Ф. Юдичев, С.Б. Селезнев [и др.]; под редакцией С.Б. Селезнева. – Москва: Аквариум, 2005. – 640 с.
3. Акаевский А. И. Анатомия домашних животных / А.И. Акаевский, Ю.Ф. Юдичев, С.Б. Селезнев; под редакцией С.Б. Селезнева. – 6-е изд. – Москва: Аквариум, 2009. – 638 с.
4. Антонов А.Л. Применение цитологического исследования влагалищного мазка при воспроизводстве собак: обзор / А.Л. Антонов // Зооинформ. – 2018. – URL: <https://zooinform.ru/vete/primenenie-tsitologicheskogo-issledovaniya-vlagalishhnogo-mazka-pri-vosproizvodstve-sobak-obzor/> (дата обращения: 22.04.2024)
5. Банин, В.В. Terminologia histologica. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов / В.В. Банин [и др.]; под ред. В.В. Банина, В.Л. Быкова; Federativ einternational committee on anatomical terminology (FICAT), Российская гистологическая номенклатурная комис., Российское мед. науч. о-во анатомов, гистологов и эмбриологов. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 272 с.: табл.; 29 см.; ISBN 978-5-9704-1443-9.
6. Валиуллина Д.Ф. Разработка метода электрокоагуляции яйцепроводов у собак: диссертация ... кандидата ветеринарных наук: 06.02.04 / Валиуллина Дания Фанильевна; [Место защиты: С.-Петерб. гос. акад. вет. медицины]. – Казань, 2013. – 155 с.: ил.
7. Волкова О.В. Функциональная морфология женской репродуктивной системы / О.В. Волкова. – Москва: Медицина, 1983. – 224 с.

8. Волкова О.В. Становление фолликулогенеза в неонатальном периоде развития яичника / О.В. Волкова, Н.С. Миловидова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1987. – Т. 92, вып. 5. – С. 71-77.
9. Гончаров В.П. Анатомо-физиологические особенности половой системы собак и кошек: учебное пособие / В.П. Гончаров, В.А. Карпов. – Москва: МГАВМиБ, 1994. – С. 35-46.
10. ГОСТ Р 7.0.100-2018. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления: национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 декабря 2018 г. № 1050-ст: дата введения 2019-07-01 / разработан ФГУП «Информационное телеграфное агентство России (ИТАР-ТАСС)» филиал «Российская книжная палата», ФГБУ «Российская государственная библиотека», ФГБУ «Российская национальная библиотека». – Москва: Стандартинформ, 2018. – 124 с.
11. ГОСТ Р 7.0.5-2008. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления = System of standards on information, librarianship and publishing. Bibliographic reference. General requirements and rules of making: национальный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 апреля 2008 г. № 95-ст: дата введения 2009-01-01 / разработан ФГУ «Российская книжная палата» Федерального агентства по печати и массовым коммуникациям. – Москва: Стандартинформ, 2020. – 20 с.
12. Дашко Д.В. Акушерские болезни мелких домашних животных / Д.В. Дашко, И.И. Силкин, В.Н. Лозовская, Е.А. Тарасевич // Методические

- указания по дисциплине «Акушерские болезни мелких домашних животных», «Акушерско-гинекологические болезни собак», Издательство ИрГАУ, 2015. – 51 с.
13. Дашко Д.В. Морфология и физиология животных / Д.В. Дашко. – Москва: Аквариум-Принт, 2015. – 320 с.
14. Дюльгер Г.П. Половой цикл собак / Г.П. Дюльгер, Г.А. Бурова // Ветеринар. – 2000. – № 6. – С. 27-29.
15. Дюльгер Г.П. Современные средства контрацепции и прерывания незапланированной беременности у собак / Г.П. Дюльгер, Г.А. Бурова // Ветеринар. – 2000. – № 3. – С. 31-34.
16. Дюльгер Г.П. Физиология размножения и репродуктивная патология собак / Г.П. Дюльгер. – Москва: Колос, 2002. – 152 с.
17. Дюльгер Г.П. Физиология размножения и репродуктивная патология собак / Г.П. Дюльгер, П.Г. Дюльгер. – Санкт-Петербург: Лань, 2017. – 236 с.
18. Ерохин А.С. Использование свежей, охлажденной и криоконсервированной спермы при искусственном осеменении собак / А.С. Ерохин, И.Л. Квичко // Сельскохозяйственная биология. – 1998. – № 4. – С. 114-120.
19. Ерохин А.С. Методы стимуляции эструса у сук / А.С. Ерохин // Ветеринария. – 2016. – № 4. – С. 32-36.
20. Зеленовский, Н.В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках. Nomina Anatomica Veterinaria: учебное пособие / Н.В. Зеленовский. – Санкт-Петербург: Лань, 2013. – 400 с. – ISBN 978-5-8114-1492-5. – Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/5706> (дата обращения: 12.04.2025). – Режим доступа: для авториз. пользователей.
21. Зеленовский Н.В. Анатомия собаки / Н.В. Зеленовский. – Санкт-Петербург, 1997. – 340 с.

22. Иванов И. И. Введение в клиническую биохимию / И.И. Иванов. – Москва: Медицина, 1969. – 496 с.
23. Иванов И. Ф. Цитология, гистология и эмбриология / И.Ф. Иванов, П. А. Ковальский. – Москва: Колос, 1976. – 448 с.
24. Иванюк В.П. Современные средства контрацепции и прерывания беременности для собак и кошек / В.П. Иванюк, Л.Ю. Нестерова, О.В. Ильина, М.Н. Германенко // Учебно-методическое пособие. Луганск, 2010. – 69 с.
25. Карпов В. А. Акушерство и гинекология мелких домашних животных / В. А. Карпов. – Москва: Росагропромиздат, 1990. – 288 с.
26. Колядина Н.И. Алгоритм оценки репродуктивного потенциала самок собак: диссертация ... кандидата ветеринарных наук: 06.02.01 / Колядина Наталья Ивановна; [Место защиты: Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина]. – Москва, 2019. – 169 с. : ил..
27. Колядина Н.И. Ультразвуковой метод мониторинга фолликулов и ооцит-кумулюсных комплексов у собак при проведении вспомогательных репродуктивных технологий / Н.И. Колядина, Н.Ф. Хуснетдинова, С.В. Позябин [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2025. – № 2. – С. 6-14. – DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202502101.
28. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных / Майкл Д. Уиллард, Гарольд Тведтен, Грант Г. Торнвальд; перевод с английского Л.И. Евелевой [и др.]. – 3-е изд. – Москва: Аквариум, 2004. – 430 с.
29. Магда И.И. Оперативная хирургия с основами топографической анатомии сельскохозяйственных животных / И.И. Магда. – Москва: Колос, 1970. – 360 с.

30. Магда И.И. Оперативная хирургия с основами топографической анатомии домашних животных / И.И. Магда, Б.З. Иткин, И.И. Воронин. – Москва: Колос, 1979. – 360 с.
31. Меженин И.Н. Гормональный профиль у коров с гипофункцией яичников / И.Н. Меженин [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. – 2020.
32. Морфофизиологические особенности половых органов и молочных желез у животных разных видов: учебное пособие / Г.П. Дюльгер, А.А. Концевова, П.Г. Дюльгер [и др.]; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К. А. Тимирязева. – Москва : РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2017. – 59 с.
33. Патент 2398513 РФ, МПК А61В 8/00 (2006.01). Способ определения эхооднородности и степени эхогенности ультразвукового изображения / Т.Л. Силина, С.С. Голубков; заявитель и патентообладатель [...] – № 2008149311/14; заявл. 16.12.2008 ; опубл. 10.09.2010, Бюл. № 4.
34. Патент 2746439 РФ, МПК А61В 8/00 (2006.01). Способ определения эхогенности стенки желудка и тонкого кишечника у собак и кошек / Р.А. Цыганский; заявитель и патентообладатель [...] – № 2020106782 ; заявл. 12.02.2020.; опубл. 14.04.2021, Бюл. № 11.
35. Патент 2849174 Российская Федерация, СПК А61D 19/00 (2025.08); А61В 8/00 (2025.08) Способ ультрасонографического определения оптимального времени осеменения собак / Цыганский Р.А., Яковлева У.С.; заявитель и патентообладатель [...] – 2025103237 заявл. 14.02.2025.; опубл. 23.10.2025 Бюл. № 30.
36. Патент 2849175 Российская Федерация, СПК А61D 99/00 (2025.08) Способ ультрасонографического определения стадий полового цикла у собак / Цыганский Р.А., Яковлева У.С.; заявитель и патентообладатель [...] – 2025103526 заявл. 18.02.2025.; опубл. 23.10.2025 Бюл. № 30.

37. Рогожина Л.И. Ультразвуковые критерии стадий полового цикла у кошек / Л.И. Рогожина [и др.] // Ветеринарная патология. – 2021.
38. Силкин И.И. Диагностика и системные нарушения при гипотиреозе у собак, содержащихся в условиях города Иркутска / И.И. Силкин // Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных: материалы Международной научно-практической конференции (пос. Персиановский, 07 февраля 2020 г.). – Пос. Персиановский: Донской государственный аграрный университет, 2020. – С. 83-88.
39. Сурогин М.В. Повышение эффективности искусственного осеменения собак свежеполученной и охлажденной спермой: диссертация ... кандидата ветеринарных наук: 06.02.06 / Сурогин Михаил Витальевич; [Место защиты: Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина. Каф. внутр. незараз. болезней животных]. – Москва, 2017. – 111 с. : ил..
40. Федотов С.В. Андрология и репродукция собак / С.В. Федотов, В.В. Белобороденко, Д.В. Глинская. – Москва: ЗооМедВет, 2014. – 220 с. – ISBN 978-5-9904115-2-4.
41. Хромов Б.М. Анатомия собаки / Б.М. Хромов, Н.С. Короткевич, А.Ф. Павлова [и др.]. – Ленинград: Наука, 1972. – С. 163-168.
42. Хрусталёва И.В. Анатомия домашних животных / И.В. Хрусталёва, Н.В. Михайлов, Я.И. Шнейберг. – Москва: Колос, 1994. – 704 с.
43. Хрусталева И.В. Анатомия домашних животных / И.В. Хрусталева, Н.А. Слесаренко [и др.]; под редакцией И.В. Хрусталевой. – Москва: Колос, 1994. – 820 с.
44. Цыганский Р.А. Дифференциальная эхографическая диагностика матки у сук // Ветеринарный доктор. – 2012. – № 8. – С. 9-11.
45. Цыганский Р.А. Количественные характеристики эхогенности пищеварительного канала у собак / Р. А. Цыганский // Вестник Курской

- государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 5. – С. 113-120.
46. Цыганский Р.А. Количественное определение экзогенности кишечника при алиментарной лимфоме кошек / Р.А. Цыганский // Известия МААО, 2018. Вып. 42. Т.2. – С. 145-149.
47. Цыганский Р.А. Ультрасонографические особенности желудка и кишечника собак и кошек: диссертация ... доктора биологических наук: 06.02.01 / Р.А. Цыганский; [место защиты: ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»]. – Ставрополь, 2021. – 341 с. : ил..
48. Цыганский Р.А. Ультрасонографические особенности желудка и кишечника собак и кошек: автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора биологических наук: специальность 06.02.01 «Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных» / Р.А. Цыганский; [место защиты: ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»]. – Ставрополь, 2021. – 47 с..
49. Цыганский Р.А. Количественная и качественная эхографическая характеристика яичников у собак в период эструса / Р.А. Цыганский, У.С. Яковлева // Международный вестник ветеринарии, 2025, №1. – С. 354-363. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2025.1.354>.
50. Шумаков Н.И. Современные методы визуальной диагностики реминантного яичника у мелких домашних животных / Н.И. Шумаков, С.В. Позябин, А.Б. Ромидонов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. –2023. – № 10. – С. 6-15.
51. Шебиц Х. Оперативная хирургия собак и кошек / Х. Шебиц, В. Брасс. – Москва: Аквариум Принт, 2010. – 512 с.
52. Яковлева У.С. Методы определения овуляции у собак и анализ их эффективности / У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский // Молодые ученые – науке и практике АПК: материалы научно-практической конференции

- аспирантов и молодых ученых (г. Витебск, 27-28 апреля 2023 г.) / УО ВГАВМ; редколлегия: Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2023. – С. 238–241. – URL: <http://www.vsavm.by> (дата обращения: 03.03.2026).
53. Яковлева У.С. Роль искусственного интеллекта в практике ветеринарного специалиста / У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский // Инновационные достижения ветеринарной науки и практики: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию доктора ветеринарных наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации Тарнуева Юрия Абоевича (Улан-Удэ, 14-16 июля 2024 г.). – Улан-Удэ: ФГБОУ ВО БГСХА им. В.Р. Филиппова, 2024. – С 104-110.
54. Яковлева У.С. Ультразвуковое исследование полового цикла у собак / У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский // Актуальные проблемы ветеринарной медицины и биотехнологии: сборник научных трудов. – Кинель: ИБЦ Самарского ГАУ, 2024. – С. 200-204.
55. Яковлева У.С. Взаимосвязь цитологических изменений вагинального эпителия у собак с эхографическими параметрами яичников в проэструс / У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский // Наука и инновации: актуальные вопросы современных исследований в ветеринарной медицине. Материалы Международной конференции факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ. – Омск, 2024. – С. 46-49.
56. Яковлева У.С. Использование искусственного интеллекта для определения стадий полового цикла у собак на основе детекции вагинального эпителия / У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2026, № 2 (118). – С. 187-191. <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2026-118-2-187> – 191.
57. Яковлева У.С. Использование искусственного интеллекта для определения стадий полового цикла у собак на основе анализа

- эхографических изображений яичников / У.С. Яковлева, Р.А. Цыганский // Ветеринария, зоотехния, биотехнология. 2026, Том 1. – С. 21-28. DOI: 10.36871/vet.zoo.bio.202608103.
58. Akkus Z. Deep learning for brain MRI segmentation: state of the art and future directions / Z. Akkus, A. Galimzianova, A. Hoogi [et al.] // Journal of Digital Imaging. – 2017. – Vol. 30, No. 4. – P. 449-459.
59. Akkus Z. Reduction of thyroid nodule biopsies using deep learning / Z. Akkus, A. Boonrod, M. Stan [et al.] // Proceedings of SPIE – Medical Imaging 2019: Image Processing. – 2019. – Vol. 10949. – P. 109490W. – URL;<https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/10949/109490W/Reduction-of-unnecessary-thyroid-biopsies-using-deep-learning/10.1117/12.2512574.short> (датаобращения: 03.03.2026).
60. Antonov A. Application of exfoliative vaginal cytology in clinical canine reproduction – a review / A. Antonov // Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. – 2016. – No. 20. – P. 193-203.
61. Arsomngern P. Computer-aided diagnosis for lung lesion in companion animals from X-ray images using deep learning techniques / P. Arsomngern, N. Numcharoenpinij, J. Piriyataravet [et al.] // Proceedings of the 2019 IEEE 10th International Conference on Awareness Science and Technology (iCAST), Morioka, Japan, 23–25 October 2019. – 2019. – P. 1-6.
62. Awaysheh, A. Evaluation of supervised machine-learning algorithms to distinguish between inflammatory bowel disease and alimentary lymphoma in cats / A. Awaysheh, J. Wilcke, F. Elvinger [et al.] // Journal of veterinary diagnostic investigation. – 2016. – Vol. 28, № 6. – P. 679-687.
63. Aydin I. Determination of the stages of the sexual cycle of the bitch by direct examination / I. Aydin, E. Sur, T. Ozaydin, D. Dinc // Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2011. – No. 10. – P. 1962-1967.
64. Baan M. Induction of parturition in the bitch with the progesterone-receptor blocker aglepristone / M. Baan, M.A. M. Taverne, H.S. Kooistra [et al.] // Theriogenology. – 2005. – Vol. 63. – P. 1958-1972;

65. Banzato T. A methodological approach for deep learning to distinguish between meningiomas and gliomas on canine MR-images / T. Banzato, M. Bernardini, G.B. Cherubini, A. Zotti // BMC Veterinary Research. – 2018. – Vol. 14. – P. 317.
66. Banzato T. An AI-based algorithm for the automatic classification of thoracic radiographs in cats / T. Banzato, M. Wodzinski, F. Tauceri [et al.] // Frontiers in Veterinary Science. – 2021. – Vol. 8. – P. 731936.
67. Banzato T. Automatic classification of canine thoracic radiographs using deep learning / T. Banzato, M. Wodzinski, S. Burti [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – P. 3964;
68. Banzato T. Development of a deep convolutional neural network to predict grading of canine meningiomas from magnetic resonance images / T. Banzato, G.B. Cherubini, M. Atzori, A. Zotti // The Veterinary Journal. – 2018. – Vol. 235. – P. 90-92.
69. Banzato T. Texture analysis of magnetic resonance images to predict histologic grade of meningiomas in dogs / T. Banzato, M. Bernardini, G. B. Cherubini, A. Zotti // American Journal of Veterinary Research. – 2017. – Vol. 78. – P. 1156-1162.
70. Banzato T. Use of transfer learning to detect diffuse degenerative hepatic diseases from ultrasound images in dogs: a methodological study / T. Banzato, F. Bonsembiante, L. Aresu [et al.] // The Veterinary Journal. – 2018. – Vol. 233. – P. 35-40.
71. Banzato T. Use of deep learning for classification of canine reproductive cytology / T. Banzato [et al.] // Veterinary Record. – 2024.
72. Ben-Jonathan N. Dopamine: a prolactin-inhibiting hormone / N. Ben-Jonathan // Endocrine Reviews. – 1985. – Vol. 6, No. 4. – P. 564–589. – DOI 10.1210/edrv-6-4-564. – PMID 2866952.
73. Biercher A. Using deep learning to detect spinal cord diseases on thoracolumbar magnetic resonance images of dogs / A. Biercher, S. Meller,

- J. Wendt [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2021. – Vol. 8. – P. 721167.
74. Boissady E. Artificial intelligence evaluating primary thoracic lesions has an overall lower error rate compared to veterinarians or veterinarians in conjunction with the artificial intelligence / E. Boissady, A. de La Comble, X. Zhu, A. M. Hespel // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. – 2020. – Vol. 61. – P. 619-627.
75. Boissady E. Comparison of a deep learning algorithm vs. humans for vertebral heart scale measurements in cats and dogs shows a high degree of agreement among readers / E. Boissady, A. de La Comble, X. Zhu [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2021. – Vol. 8. – P. 764570.
76. Bostedt H. Exfoliative Vaginalzytologie und Uteruszytologie / H. Bostedt // *Reproduktionsmedizin und Neonatologie von Hund und Katze*. – Stuttgart : Schattauer Verlag, 2016. – P. 20-27.
77. Boyd J. S. Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation / J. S. Boyd, J. P. Renton, M. J. Harvey [et al.] // *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*. – 1993. – Vol. 47. – P. 101-105.
78. Briskin C. Prolactin controls mammary gland development via direct and indirect mechanisms / C. Briskin, S. Kaur, T. E. Chavarria [et al.] // *Developmental Biology*. – 1999. – Vol. 210, No. 1. – P. 96–106. – DOI 10.1006/dbio.1999.9271. – PMID 10364430.
79. Burti S. Use of deep learning to detect cardiomegaly on thoracic radiographs in dogs / S. Burti, V. Longhin Osti, A. Zotti, T. Banzato // *The Veterinary Journal*. – 2020. – Vol. 262. – P. 105512.
80. Camus M. S. Female reproductive tract / M. S. Camus, R. W. Allison, D. Miller // *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* / edited by A. C. Valenciano, R. L. Cowell. – 5th ed. – St. Louis : Elsevier, 2020. – P. 423-437.

81. Camus M. S. Laparoscopic assessment of ovaries in bitches with suspected ovarian remnant syndrome / M. S. Camus, A. P. Davidson // Journal of the American Animal Hospital Association. – 2020. – Vol. 56.
82. Chi J. Thyroid nodule classification in ultrasound images by fine-tuning deep convolutional neural network / J. Chi, E. Walia, P. Babyn [et al.] // Journal of digital imaging. – 2017. – Vol. 30, №4. – P. 477-486.
83. Christie D. W. Classification of cell types in vaginal smears during the canine oestrous cycle / D. W. Christie, J. B. Bailey, E. T. Bell // British Veterinary Journal. – 1972. – Vol. 128. – P. 301-310.
84. Clarkson J. Kisspeptin-GPR54 signaling is essential for preovulatory gonadotropin-releasing hormone neuron activation and the luteinizing hormone surge / J. Clarkson, X. d'Anglemont de Tassigny, A. S. Moreno [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2008. – Vol. 28, No. 35. – P. 8691–8697. – DOI 10.1523/JNEUROSCI.1775-08.2008. – PMID 18753370.
85. Cogen P.H. The effects of anterior hypothalamic disconnection on gonadotropin secretion in the female rhesus monkey / P. H. Cogen, J. L. Antunes, K. M. Louis [et al.] // Endocrinology. – 1980. – Vol. 107, No. 3. – P. 677–683. – DOI 10.1210/endo-107-3-677. – PMID 6772427.
86. Concannon P.W. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs / P. W. Concannon // Journal of Reproduction and Fertility. Supplement. – 1993. – Vol. 47. – P. 3-27.
87. Concannon P.W. Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch / P.W. Concannon, W. Hansel, K. McEntee // Biology of Reproduction. – 1997. – Vol. 17. – P. 604-615.
88. Concannon P.W. Pre-ovulatory LH surge and progesterone secretion in the bitch / P. W. Concannon, W. Hansel // Proceedings of the Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction. – 1975.
89. Concannon P.W. The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone / P.W. Concannon, W. Hansel, W.J. Vissek // Biology of

- Reproduction. – 1979. – Vol. 20, No. 3. – P. 640-647. – DOI 10.1095/biolreprod20.3.640. – PMID 572678.
90. Concannon P. W. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog / P. W. Concannon, J. P. McCann, M. Temple // Journal of Reproduction and Fertility. Supplement. – 1989. – Vol. 39. – P. 3–25.
 91. Curti P. D. F. Applications of livestock monitoring devices and machine learning algorithms in animal production and reproduction: an overview / P. D. F. Curti, A. Selli, D. L. Pinto [et al.] // Animal Reproduction. – 2023. – Vol. 20. – P. e20230077. – DOI 10.1590/1984-3143-ar2023-0077.
 92. Didelot, H. Apport de l'intelligence artificielle au diagnostic vétérinaire = Вклад искусственного интеллекта в ветеринарную диагностику: mémoire de master / H. Didelot; sous la direction de S.B.; Faculté de Médecine de Créteil, UPEC, ENVA. – 2024. – URL: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04660715v1/document> (дата обращения: 16.03.2035).
 93. Dore M. A. A classification of exfoliative cell types in the vaginal smear of the bitch / M. A. Dore // Irish Veterinary Journal. – 1978. – Vol. 32. – P. 182-185.
 94. Dreier H. K. Klinik der Reproduktionsmedizin des Hundes / H. K. Dreier. – Hannover : Schlütersche Verlag, 2010.
 95. Duda D. Multi-muscle texture analysis for dystrophy development identification in golden retriever muscular dystrophy dogs / D. Duda, N. Azzabou, J.D. de Certaines // Computer Information Systems and Industrial Management (CISIM 2018). – Lecture Notes in Computer Science. – 2018. – Vol. 11127. – P. 3-15.
 96. Dumortier L. Deep learning in veterinary medicine, an approach based on CNN to detect pulmonary abnormalities from lateral thoracic radiographs in cats / L. Dumortier, F. Guépin, M. L. Delignette-Muller [et al.] // Scientific Reports. – 2022. – Vol. 12. – P. 11460.

97. England G.C.W. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy / G.C.W. England, A.E. Yeager // *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement.* – 1993. – Vol. 47. – P. 107–117. – PMID 8229920.
98. England G.C. Ultrasonography of the canine ovary for ovulation timing and monitoring of the estrous cycle / G.C. England, A.E. Yeager // *Reproduction in Domestic Animals.* – 2018. – Vol. 53, Suppl. 3. – P. 51–58. – DOI 10.1111/rda.13283.
99. Ergun G. B. Classification of canine maturity and bone fracture time based on X-ray images of long bones / G. B. Ergun, S. Guney // *IEEE Access.* – 2021. – Vol. 9. – P. 145287-145299.
100. Fontbonne A. Ecografía ovárica y seguimiento del estro en la perra y la gata / A. Fontbonne, E. Malandain // *Veterinary Focus.* – 2006. – Vol. 16, No. 2. – P. 3-9. – ISSN 0965-4577.
101. Fontbonne A. Ovarian ultrasound for cycle monitoring in the bitch: practical recommendations / A. Fontbonne // *Le Point Vétérinaire.* – 2020.
102. Garthwaite T.L. Plasma prolactin-releasing factor-like activity in the amenorrhea-galactorrhea syndrome / T.L. Garthwaite, T.C. Hagen // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* – 1978. – Vol. 47, No. 4. – P. 885–888. – DOI 10.1210/jcem-47-4-885. – PMID 263474.
103. Gharib S.D. Molecular biology of the pituitary gonadotropins / S.D. Gharib, M.E. Wierman, M.A. Shupnik, W.W. Chin // *Endocrine Reviews.* – 1990. – Vol. 11, No. 1. – P. 177-199. – DOI 10.1210/edrv-11-1-177. – PMID 2108012.
104. Ginther O.J. Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare / O.J. Ginther // *Equine Veterinary Journal.* – 2017. – Vol. 49, No. 6. – P. 703-712. – DOI 10.1111/evj.12719.
105. Hase M. Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs / M. Hase, T. Hori, E. Kawakami, T. Tsutsui // *Journal of*

- Veterinary Medical Science. – 2000. – Vol. 62, No. 3. – P. 243-248. – DOI 10.1292/jvms.62.243. – PMID 10770594.
106. Hayer P. Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch / P. Hayer, A.R. Günzel-Apel, D. Lüerssen [et al.] // Journal of Reproduction and Fertility. Supplement. – 1993. – Vol. 47. – P. 93–100. – PMID 8229990.
107. Hespel A.-M. Comparison of error rates between four pretrained DenseNet convolutional neural network models and 13 board-certified veterinary radiologists when evaluating 15 labels of canine thoracic radiographs / A.-M. Hespel, E. Boissady, A. de La Comble [et al.] // Veterinary Radiology & Ultrasound. – 2022. – Vol. 63. – P. 456-468.
108. Hewitt D.A. The use of ultrasonography and vaginoscopy in the timing of mating in the bitch / D.A. Hewitt, G.C.W. England // The Veterinary Record. – 2000. – Vol. 147, No. 11. – P. 296–300. – DOI 10.1136/vr.147.11.296. – PMID 11030290.
109. Hinuma S. A prolactin-releasing peptide in the brain / S. Hinuma, Y. Habata, R. Fujii [et al.] // Nature. – 1998. – Vol. 394, No. 6690. – P. 272–275. – DOI 10.1038/28365. – PMID 9607765.
110. Holst P.A. The prenatal development of the dog: preimplantation events / P. A. Holst, R. D. Phemister // Biology of Reproduction. – 1971. – Vol. 5, No. 2. – P. 194-206. – DOI 10.1095/biolreprod5.2.194. – PMID 5171393.
111. Hooper B.E. The interval between ovulation and mating in the dog with particular reference to the occurrence of fertilization / B.E. Hooper, P.A. Holst, R.D. Phemister // Journal of Reproduction and Fertility. – 1961. – Vol. 2. – P. 342–350.
112. Hooper S.E. Using machine learning in veterinary medical education: an introduction for veterinary medicine educators / S.E. Hooper, K.G. Hecker, E. Artemiou // Journal of Veterinary Science. – 2023. – Vol. 10, No. 9. – P. 537. – DOI 10.3390/vetsci10090537.

113. Janowczyk A. Deep learning for digital pathology image analysis: a comprehensive tutorial with selected use cases / A. Janowczyk, A. Madabhushi // *Journal of pathology informatics*. – 2016. – Vol. 26;7:29.
114. Jeong Y. An automated deep learning method and novel cardiac index to detect canine cardiomegaly from simple radiography / Y. Jeong, J. Sung // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – P. 11345.
115. Johnston S. D. Vaginal cytology / S. D. Johnston, M. V. R. Kustritz, P. N. S. Olson // *Canine and Feline Theriogenology*. – Philadelphia : Saunders, 2001. – P. 32-40.
116. Karre I. Distribution and viability of spermatozoa in the canine female genital tract during post-ovulatory oocyte maturation / I. Karre, A. Meyer-Lindenberg, C. Urhausen [et al.] // *Acta Veterinaria Scandinavica*. – 2012. – Vol. 54, No. 1. – P. 49. – DOI 10.1186/1751-0147-54-49.
117. Kim E. Comparison of artificial intelligence to the veterinary radiologist's diagnosis of canine cardiogenic pulmonary edema / E. Kim, A. J. Fischetti, P. Sreetharan [et al.] // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. – 2022. – Vol. 63. – P. 292–297.
118. Kinoshita M. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats / M. Kinoshita, H. Tsukamura, S. Adachi [et al.] // *Endocrinology*. – 2005. – Vol. 146, No. 10. – P. 4431–4436. – DOI 10.1210/en.2005-0195. – PMID 15976058
119. Knobil E. Control of the rhesus monkey menstrual cycle: permissive role of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone / E. Knobil, T. M. Plant, L. Wildt [et al.] // *Science*. – 1980. – Vol. 207, No. 4437. – P. 1371–1373. – DOI 10.1126/science.6766566. – PMID 6766566.
120. Knobil E. On the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey / E. Knobil // *Recent Progress in Hormone Research*. – 1974. – Vol. 30. – P. 1–46. – DOI 10.1016/b978-0-12-571130-2.50005-5. – PMID 4210416.

121. Kooi, T. Large scale deep learning for computer aided detection of mammographic lesions / T. Kooi, G. Litjens, B. van Ginneken [et al.] // Medical image analysis. – 2017. – Vol. 35. – P. 303-312.
122. Kooistra H. S. Concurrent pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during different phases of the estrous cycle and anestrus in beagle bitches / H. S. Kooistra, A. C. Okkens, M. M. Bevers [et al.] // Biology of Reproduction. – 1999. – Vol. 60, No. 1. – P. 65-71.
123. Kooistra H. S. Secretion of growth hormone and prolactin during progression of the luteal phase in healthy dogs: a review / H. S. Kooistra, A. C. Okkens // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2002. – Vol. 197, No. 1–2. – P. 167-172.
124. Kooistra H. S. Secretion of prolactin and growth hormone in relation to ovarian activity in the dog / H. S. Kooistra, A. C. Okkens // Reproduction in Domestic Animals. – 2001. – Vol. 36, No. 3–4. – P. 115–119. – DOI 10.1046/j.1439-0531.2001.00270.x. – PMID 11555356.
125. Krizhevsky A. ImageNet classification with deep convolutional neural networks / A. Krizhevsky, I. Sutskever, G. E. Hinton // Advances in Neural Information Processing Systems 25 / edited by F. Pereira, C. J. C. Burges, L. Bottou, K. Q. Weinberger. – Red Hook : Curran Associates, 2012. – P. 1097-1105.
126. Kustritz M. V. R. Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract / M. V. R. Kustritz // Canine and Feline Theriogenology. – 2006. – No. 66. – P. 567-574.
127. Lafuente A. Acute ethanol administration in diestrus-2 in the rat on pulsatile prolactin and LH release / A. Lafuente, J. Marco, A. I. Esquifino // Pharmacology, Biochemistry, and Behavior. – 1994. – Vol. 49, No. 4. – P. 789–794. – DOI 10.1016/0091-3057(94)90227-5. – PMID 7886085.
128. Lévy X. Suivi de l'oestrus chez la chienne : un outil indispensable du suivi de reproduction / X. Lévy // Le Point Vétérinaire. – 2007. – Vol. 38, No. 266. – P. 38-43.

129. Leblanc M. The use of progesterone assays for monitoring the estrous cycle in dogs / M. Leblanc [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2018. – Vol. 30, No. 4. – P. 532-539. – DOI 10.1177/1040638718777494.
130. Li S. Pilot study: application of artificial intelligence for detecting left atrial enlargement on canine thoracic radiographs / S. Li, Z. Wang, L. C. Visser [et al.] // Veterinary Radiology & Ultrasound. – 2020. – Vol. 61. – P. 611-618.
131. Lin D. Neural networks for computeraided diagnosis in medicine: a review / D. Lin, A.V. Vasilakos, Y. Tang [et al.] // Neurocomputing. – 2016. – Vol. 216. – P. 700-708.
132. Lin Y. Y. Transient elevation in plasma prolactin level in rats with temporal lobe status epilepticus / Y. Y. Lin, S. H. Yen, J. T. Pan [et al.] // Neurology. – 1999. – Vol. 53, No. 5. – P. 1070–1074. – DOI 10.1212/wnl.53.5.1070. – PMID 10489064.
133. Linde-Forsberg C. The use of hormone assays and vaginal cytology in the timing of mating in the bitch / C. Linde-Forsberg // Journal of the American Veterinary Medical Association. – 1991. – Vol. 199, No. 6. – P. 722-726. – PMID 1955389.
134. Litjens G. Deep learning as a tool for increased accuracy and efficiency of histopathological diagnosis / G. Litjens, C.I. Sánchez, N. Timofeeva [et al.] // Scientific reports. – 2016. – Vol. 23;6:26286.
135. Mantziaras G. Advanced ultrasound techniques in small animal reproduction imaging / G. Mantziaras, G. C. Luvoni // Reproduction in Domestic Animals. – 2020. – Vol. 55, No. 2. – P. 17-25.
136. Marschner C. B. Texture analysis of pulmonary parenchymateous changes related to pulmonary thromboembolism in dogs – a novel approach using quantitative methods / C. B. Marschner, M. Kokla, J. M. Amigo [et al.] // BMC Veterinary Research. – 2017. – Vol. 13. – P. 219.

137. McEvoy F. J. Deep transfer learning can be used for the detection of hip joints in pelvis radiographs and the classification of their hip dysplasia status / F. J. McEvoy, H. F. Proschowsky, A. V. Müller [et al.] // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. – 2021. – Vol. 62. – P. 387-393.
138. Meij B. P. Hypothalamus-pituitary system / B. P. Meij, H. S. Kooistra, A. Rijnberk // *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats* / edited by A. Rijnberk, H. S. Kooistra. – 2nd ed. – Hannover : Schlütersche, 2010. – P. 13-54.
139. Meij B. P. Residual pituitary function after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism / B. P. Meij, J. A. Mol, M. M. Bevers, A. Rijnberk // *Journal of Endocrinology*. – 1997. – Vol. 155, No. 3. – P. 531-539. – DOI 10.1677/joe.0.1550531. – PMID 9487998.
140. Mellon P. L. Immortalization of hypothalamic GnRH neurons by genetically targeted tumorigenesis / P. L. Mellon, J. J. Windle, P. C. Goldsmith [et al.] // *Neuron*. – 1990. – Vol. 5, No. 1. – P. 1-10. – DOI 10.1016/0896-6273(90)90028-9.
141. Moreira da Silva D. E. Active learning for data efficient semantic segmentation of canine bones in radiographs / D. E. Moreira da Silva, L. Gonçalves, P. Franco-Gonçalo [et al.] // *Frontiers in Artificial Intelligence*. – 2022. – Vol. 5. – P. 108765.
142. Moreira da Silva D. E. Semantic segmentation of dog's femur and acetabulum bones with deep transfer learning in X-ray images / D. E. Moreira da Silva, V. Filipe, P. Franco-Gonçalo [et al.] // *Intelligent Systems Design and Applications (ISDA 2021)*. – Cham : Springer, 2022. – P. 461-475.
143. Müller T. R. Accuracy of artificial intelligence software for the detection of confirmed pleural effusion in thoracic radiographs in dogs / T. R. Müller, M. Solano, M. H. Tsunemi // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. – 2022. – Vol. 63. – P. 573-579.

144. Oakley A. E. Kisspeptin signaling in the brain / A. E. Oakley, D. K. Clifton, R. A. Steiner // *Endocrine Reviews*. – 2009. – Vol. 30, No. 6. – P. 713–743. – DOI 10.1210/er.2009-0005. – PMID 19770291.
145. Okkens A. C. Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog / A. C. Okkens, M. M. Bevers, S. J. Dieleman, A. R. Willemse // *Veterinary Quarterly*. – 1990. – Vol. 12, No. 4. – P. 193–201. – DOI 10.1080/01652176.1990.9694270. – PMID 2124769.
146. Olson P. N. Concentrations of reproductive hormones in canine blood throughout the estrous cycle / P. N. Olson, R. A. Bowen, P. W. Concannon, T. M. Nett // *American Journal of Veterinary Research*. – 1982. – Vol. 43, No. 4. – P. 657-661.
147. Olson P. N. Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus / P.N. Olson, R.A. Bowen, M.D. Behrendt [et al.] // *Biology of Reproduction*. – 1982. – Vol. 27. – P. 1196-1206.
148. Olson P. N. *Clinical Cytology of the Dog and Cat* / P.N. Olson, M.A. Thrall. – Philadelphia : Lea & Febiger, 1986. – 240 p. – ISBN 978-0-8121-1026-7.
149. Onclin K. FSH secretion patterns during pregnant and nonpregnant luteal periods and 24-hour secretion patterns in male and female dogs / K. Onclin, F. Lauwers, J. P. Verstegen // *Advances in Reproduction in Dogs, Cats and Exotic Carnivores : proceedings of the Fourth International Symposium on Canine and Feline Reproduction (Oslo, Norway, 29 June – 1 July 2000)* / edited by P. W. Concannon [et al.]. – Cambridge : Journal of Reproduction and Fertility, 2001. – P. 303–311. – (Journal of Reproduction and Fertility. Supplement ; No. 57).
150. Ott J. Detecting pulmonary coccidioidomycosis with deep convolutional neural networks / J. Ott, D. Bruyette, C. Arbuckle [et al.] // *Machine Learning with Applications*. – 2021. – Vol. 5. – P. 100055.

151. Pérez C. C. Use of ultrafast Papanicolaou stain for exfoliative vaginal cytology in bitches / C. C. Pérez, I. Rodríguez, J. Dorado, M. Hidalgo // *Veterinary Record*. – 2005. – Vol. 156. – P. 648-650.
152. Phemister R. D. The time of ovulation in the beagle bitch / R. D. Phemister, P. W. Holst, J.S. Spano, W.C. Wagner // *Biology of Reproduction*. – 1973. – Vol. 8, No. 1. – P. 74-82.
153. Raskin R.E. Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide / R.E. Raskin, D.J. Meyer. – 3rd ed. – St. Louis, Missouri : Elsevier, 2016. – 544 p. – ISBN 978-1-4557-4083-3.
154. Reckers F. Canine vaginal cytology: a revised definition of exfoliated vaginal cells / F. Reckers, R. Klopfleisch, V. Belik [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2022. – Vol. 9. – P. 834031. – DOI 10.3389/fvets.2022.834031.
155. Reynaud K. In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch / K. Reynaud, A. Fontbonne, N. Marseloo [et al.] // *Reproduction*. – 2005. – Vol. 130. – P. 193-201.
156. Schaefer-Okkens A.C. The endocrine control of reproduction in the dog / A.C. Schaefer-Okkens // *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement. – 1996. – Vol. 51. – P. 1-13.
157. Schutte A.P. Canine vaginal cytology –I technique and cytological morphology / A.P. Schutte // *Journal of Small Animal Practice*. – 1967. – Vol. 8. – P. 301-306.
158. Shacham S. Mechanism of GnRH receptor signaling on gonadotropin release and gene expression in pituitary gonadotrophs / S. Shacham, D. Harris, H. Ben-Shlomo [et al.] // *Vitamins and Hormones*. – 2001. – Vol. 63. – P. 63-90. – DOI 10.1016/s0083-6729(01)63002-6. – PMID 11358118.
159. Shaker R. Machine learning model development for quantitative analysis of CT heterogeneity in canine hepatic masses may predict histologic malignancy / R. Shaker, C. Wilke, C. Ober, J. Lawrence // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. – 2021. – Vol. 62. – P. 711-719.

160. Shupnik M.A. Gonadal hormone feedback on pituitary gonadotropin genes / M. A. Shupnik // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 1996. – Vol. 7, No. 8. – P. 272-276. – DOI 10.1016/S1043-2760(96)00124-5. – PMID 18406760.
161. Shupnik M.A. Gonadotropin gene modulation by steroids and gonadotropin-releasing hormone / M.A. Shupnik // Biology of Reproduction. – 1996. – Vol. 54, No. 2. – P. 279-286. – DOI 10.1095/biolreprod54.2.279. – PMID 8788177.
162. Smith J.T. Kisspeptin is required for the preovulatory luteinizing hormone surge but not for the negative feedback of estrogen in mice / J. T. Smith, S. M. Popa, D. K. Clifton [et al.] // Endocrinology. – 2006. – Vol. 147, No. 3. – P. 1354-1363. – DOI 10.1210/en.2005-1139. – PMID 16322071.
163. Smith J. T. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse / J. T. Smith, M. J. Cunningham, E. F. Rissman [et al.] // Endocrinology. – 2005. – Vol. 146, No. 9. – P. 3686-3692. – DOI 10.1210/en.2005-0488. – PMID 15919746.
164. Spiteri M. Using machine learning to understand neuromorphological change and image-based biomarker identification in Cavalier King Charles Spaniels with Chiari-like malformation-associated pain and syringomyelia / M. Spiteri, S. P. Knowler, C. Rusbridge, K. Wells // Journal of Veterinary Internal Medicine. – 2019. – Vol. 33. – P. 2665-2674.
165. Tena-Sempere M. Kisspeptin signaling in the brain: recent developments and future challenges / M. Tena-Sempere // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2010. – Vol. 314, No. 2. – P. 164-169. – DOI 10.1016/j.mce.2009.05.004. – PMID 19464345.
166. Teodoro J.V.S. Avaliação da citologia vaginal do ciclo estral fisiológico de um grupo de fêmeas bovinas comparado a um grupo de fêmeas com ciclo estral induzido por um protocolo de IATF / J.V.S. Teodoro, F.C. Zuffo, W.J. Souza [et al.] // Brazilian Journal of Animal and Environmental

- Research. – 2023. – Vol. 6, No. 2. – P. 1883-1888. – DOI 10.34188/bjaerv6n2-074.
167. Tsygansky R.A. Dogs and cat's jejunal echoic characterization in the postprandial period / R.A. Tsygansky, I.I. Nekrasova, A.N. Shulunova [et al]. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – 677 052101. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/677/5/052101>
168. Tsygansky R.A. Quantitative intestinal ultrasonography for dogs' parvoviral enteritis / R.A. Tsygansky, I.I. Nekrasova, V.M. Mikhailenko // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – 677 042061. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/677/4/042061>
169. Valenciano A.C. Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat / A.C. Valenciano, R.L. Cowell. – 5th ed. – St. Louis : Elsevier, 2020. – 556 p. – ISBN 978-0-323-53314-0.
170. Verstegen J. P. The usefulness of progesterone and LH measurement for ovulation timing in the bitch / J. P. Verstegen, K. Onclin // Reproduction in Domestic Animals. – 2010. – Vol. 45, No. 2. – P. 121-126. – DOI 10.1111/j.1439-0531.2010.01628.x.
171. Vizcarra J.A. Effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse frequency on serum and pituitary concentrations of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone, GnRH receptors, and messenger ribonucleic acid for gonadotropin subunits in cows / J.A. Vizcarra, R.P. Wettemann, T.D. Braden [et al.] // Endocrinology. – 1997. – Vol. 138, No. 2. – P. 594-601. – DOI 10.1210/endo.138.2.4938. – PMID 9002995.
172. Wallace S. S. Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle / S. S. Wallace, M. B. Mahaffey, D. M. Miller [et al.] // American Journal of Veterinary Research. – 1992. – Vol. 53, No. 2. – P. 209-215.

173. Watts J. R. Vaginoscopy for estrous cycle diagnosis in the mare / J. R. Watts, J. M. Wright // Journal of Equine Veterinary Science. – 2019. – Vol. 73. – P. 65-70. – DOI 10.1016/j.jevs.2018.11.012.
174. Wolcott N. S. Automated classification of estrous stage in rodents using deep learning / N. S. Wolcott [et al.] // Scientific Reports. – 2022. – Vol. 12, №1. P. 17685. – DOI: 10.1038/s41598-022-22392-w.

5. ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Патент «Способ ультразвукографического определения стадий полового цикла у собак»



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Патент «Способ ультразвукографического определения оптимального времени осеменения собак»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2849174

**Способ ультразвукографического определения
оптимального времени осеменения собак**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Ставропольский государственный аграрный
университет" (RU)*

Авторы: *Цыганский Роман Александрович (RU), Яковлева
Ульяна Сергеевна (RU)*

Заявка № 2025103237

Приоритет изобретения **14 февраля 2025 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **23 октября 2025 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **14 февраля 2045 г.**



*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570e4f7add8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Свидетельство «Программа для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путем распознавания диагностических изображений клеток вагинального эпителия на основе TensorFlow»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2026619481

**Программа для обучения нейронной сети определению
стадий полового цикла у собак путём распознавания
диагностических изображений клеток вагинального
эпителия на основе TensorFlow**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный аграрный университет»
(RU)*

Авторы: *Цыганский Роман Александрович (RU), Яковлева
Ульяна Сергеевна (RU)*

Заявка № **2026618510**
Дата поступления **30 марта 2026 г.**
Дата государственной регистрации
в Реестре программ для ЭВМ **03 апреля 2026 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570a4f7d-5b531b4b8818a7522506
Владислав **Зубов Юрия Сергеевич**
Действителен с 04.07.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов



ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Свидетельство «Программа для обучения нейронной сети определению стадий полового цикла у собак путем распознавания диагностических эхографических изображений яичников на основе TensorFlow»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2026619423

**Программа для обучения нейронной сети определению
стадий полового цикла у собак путём распознавания
диагностических эхографических изображений
яичников на основе TensorFlow**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный аграрный университет»
(RU)*

Авторы: *Цыганский Роман Александрович (RU), Яковлева
Ульяна Сергеевна (RU)*

Заявка № **2026618514**
Дата поступления **30 марта 2026 г.**
Дата государственной регистрации
в Реестре программ для ЭВМ **02 апреля 2026 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570a477da3b531b4e881be75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.07.2025 по 26.11.2026

Ю.С. Зубов

