

## АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ


УДК 619:618.2/.7:636.32/.38.082.451

### Цитологічна характеристика вагінальних мазків у вівцематок впродовж статевого циклу та за вагітності

Власенко С.А.<sup>1</sup> , Жулінська О.С.<sup>2</sup> , Єрошенко О.В.<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Білоцерківський національний аграрний університет

<sup>2</sup> Інститут тваринництва степових районів ім. М. Ф. Іванова «Асканія-Нова»

 E-mail: Власенко С.А. sveta.vet9@gmail.com; Жулінська О.С. oksana.jul@gmail.com;  
Єрошенко О.В. sacha.yeroshenko@gmail.com

Кореспондентний автор – Єрошенко О.В. akysherstva@ukr.net



Власенко С.А., Жулінська О.С., Єрошенко О.В. Цитологічна характеристика вагінальних мазків у вівцематок впродовж статевого циклу та за вагітності. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 1. С. 6–13.

Vlasenko S., Zhulinska O., Yeroshenko O. Cytological characteristics of vaginal smears in ewes during the sexual cycle and during pregnancy. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 1. PP. 6–13.

Рукопис отримано: 01.04.2022 р.

Прийнято: 20.04.2022 р.

Затверджено до друку: 24.06.2022 р.

10.33245/2310-4902-2022-173-1-6-13

Розроблені нові критерії цитологічного аналізу мазків з піхви овець (цитовагінальне дослідження) під час статевої охоти, впродовж статевого циклу, після осіменіння та залежно від результативності осіменіння. Забір цитологічного матеріалу проводили з ділянки верхнього склепіння піхви за допомогою стерильного піхвового дзеркала, корнцанга та ватно-марлевого тампона. Фарбування мазків-відбитків проводили за Гімза-Романовським.

Для удосконалення методики цитовагінального дослідження запропоновано поділ епітеліоцитів мазка на групи: функціональні, зруйновані, без'ядерні та клітини з пікнозом ядра. Серед функціональних клітин доцільно розрізняти клітини глибоких шарів епітелію (базальні-парабазальні), проміжних і поверхневого шару (суперфіційні ядерні). Виявлено основні типи співвідношення часток різних груп і підгруп та їх прогностичне значення у парувальному сезоні під час статевої охоти.

Встановили, що під час стадії гальмування відбувається інтенсивна десквамація епітеліального шару, що проявлялося зменшенням у мазках у 2,5 рази кількості базальних/парабазальних епітеліоцитів та майже вчетверо – зруйнованих епітеліоцитів. А вже з 13-ої доби відмічається збільшення клітин функціонального шару за рахунок частки клітин глибоких та проміжних шарів.

На 18-ту добу клітинний склад вагінальних мазків у овець набував характеристики, притаманної для стадії збудження. Зокрема, порівняно з 6–8-ою добою циклу знов зростала удвічі (до  $12,0 \pm 0,7$ ) кількість зруйнованих епітеліоцитів ( $p < 0,001$ ) та оголених ядер (до  $8,3 \pm 1,6$ ) на тлі зниження у 4 рази (до початкового рівня) клітин з пікнозом ядра.

Основною цитологічною ознакою вагітності уже з четвертої доби після осіменіння була підвищена у 2,7 рази кількість зруйнованих клітин та «голих» ядер. У наступні дні досліджень, окрім 13-ої доби, ця різниця коливалася в межах 1,3–4,3 рази ( $8,3 \pm 5,4$ – $14,7 \pm 3,6$  %), порівняно з відповідними показниками у незапліднених вівцематок. Також на 13-ту добу після введення сперми у запліднених самок відмічається тенденція до зростання кількості клітин глибокого шару та набуття на 18-ту добу вірогідної різниці у співвідношенні між кількістю глибоких та поверхневих клітин – 5:1. Зміни у розподілі часток глибоких та поверхневих клітин у незапліднених тварин вказують на прояв наступної стадії збудження та переважання у них диференціації епітеліальних клітин. Натомість у вагітних самок посилювалася проліферація глибоких шарів епітелію піхви.

**Ключові слова:** вівцематки, статевий цикл, статеві охота, вагінальний мазок, цитологічний склад, вагітність.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Попри очевидну економічну ефективність виробництва, вівчарство в Україні зазнало значних змін, зокрема поголів'я овець скоротилося з 9-ти до 1,3 млн і на сьогодні становить лише 10 % від кількості у 80–90-х роках і надалі спостерігається перманентне скорочення чисельності поголів'я [1, 2]. Відомо [3, 4], що плодючість вітчизняних порід овець становить у межах 120–130 %, хоча світові максимальні показники сягають 230–320 %. Збільшення чисельності та продуктивності овець можливе лише за впровадження сучасних технологій інтенсивного відтворення, селекційного удосконалення і забезпечення їх репродуктивного здоров'я. Цим питанням присвячені сучасні роботи вітчизняних та зарубіжних дослідників [2, 5–8].

На відміну від молочного скотарства, штучне осіменіння овець недостатньо поширене, що ускладнює селекційну еволюцію як за продуктивністю, так і підвищенням репродуктивного потенціалу. За використання технології штучного осіменіння не визначені критерії оцінки повноцінності підготовки самок до осіменіння, а звідси – можливості прогнозування і корекції їх заплідненості, що не дає змоги раціонального використання кріоконсервованої сперми та забезпечення максимального отримання приплоду [9, 10]. Важливими ділянками в технологічному забезпеченні інтенсивної репродукції вівцепоголів'я є використання контрольних прогностичних критеріїв перебігу статевого циклу та рання діагностика вагітності [11].

Багатьма науковцями [12–14] відзначається синхронна залежність між гістологічною характеристикою слизової оболонки піхви та змінами в ендометрії. Відмічають так званий ступінь дозрівання вагінального епітелію, який регулюється статевими гормонами. Зокрема, під впливом естрогенів посилюються проліферативні процеси, а прогестерон сприяє розростанню та десквамації клітин поверхневого та проміжного шарів епітелію. Якщо запліднення не відбулося, то поряд з частковим відторгненням функціонального шару ендометрію відбувається відторгнення також і клітин вагінального епітелію, які належать до проміжного та частково парабазального шарів [14]. Встановлено [15, 16], що під час естральної фази статевого циклу в цитології клітин слизової оболонки піхви в овець переважали поверхневі клітини з синхронним підвищенням температури, рН піхви та загальної температури. Також встановлено, що модель залежності відшарування вагінальних клітин від концентрації прогестерону може бути використана для визначення репродуктивних стадій

у вівцематок [17]. Іншими дослідженнями [18] встановлено позитивна кореляція змін у популяціях клітин вагінального мазка із застосуванням інтравагінальних гормональних препаратів у овець та обґрунтовано вагінальну цитологію як інструмент для прогнозування часу овуляції у кіз і овець [19].

Актуальність вивчення цитологічного складу піхвових мазків у овець обґрунтована, насамперед, інформативністю цього підходу у дослідженні відтворної функції овець у різні фізіологічні періоди, легкістю в опануванні, доступністю та мінімальною кількістю використовуваних засобів. Перевагою цього методу над іншими лабораторними дослідженнями є можливість зберігання зразків для повторних аналізів. Цитологічний аналіз ґрунтується на пошуку та ідентифікації у цервікальному слизу десквамованих епітеліальних клітин, що відповідають трьом шарам піхвового епітелію. Кількісне їх співвідношення в мазку та морфологічна характеристика є незмінною основою гормональної цитодіагностики у медицині [20–22].

**Мета дослідження.** Визначити динаміку змін цитологічного складу вагінальних мазків у вівцематок впродовж статевого циклу та за вагітності.

**Матеріал та методи дослідження.** Статеву охоту в овець виявляли за допомогою баранів-пробників з фартухом, з розрахунку один самець на п'ятдесят самок. Штучне осіменіння овець проводили нативною спермою згідно з наявними інструкціями [23, 24]. Відбір цитологічного матеріалу проводили з ділянки верхнього склепіння піхви за допомогою стерильного піхвового дзеркала, корнцанга та ватно-марлевого тампона. Перед введенням дзеркала вульву обтирали та обмивали теплим розчином фурациліну (0,02 %). Тампоном проводили по верхньому склепінню піхви ближче до шийки матки та робили ним кілька відбитків на предметному скельці. Під час нанесення мазків-відбитків максимально уникали потрапляння пилу, вологи та дії прямих сонячних променів.

Мазки фіксували 96 % етиловим або метиловим спиртом. Фарбування проводили за Гімза-Романовським [25, 26], використовуючи заводський барвник «Азур-еозін» (ВАТ «Шосткинський завод хімічних реактивів») – 60 крапель барвника на 25 мл дистильованої води. Експозиція барвника становила 20–30 хв. Мікроскопію мазків проводили за допомогою біокулярного мікроскопа за збільшення об'єктива 20 та/або 40<sup>x</sup>.

Статистичний матеріал оброблено за допомогою комп'ютерної програми MS Excel.

Діагностику вагітності проводили ультразвуковим методом, використовуючи сканер

«KAIXIN», модель MSU1 виробництва Китай за частоти 5 МГц трансабдомінально на 35–45 добу після осіменіння.

Дослідження проводили на 14 вівцематках 2–3-річного віку асканійської тонкорунної породи, яких після настання статевої охоти розділили на дві групи по 7 тварин у кожній. Вівцематок першої групи не осіменяли, а самкам другої груп проводили штучне осіменіння. Відбір цитологічного матеріалу починали у день прояву статевої охоти (СО) і на 4-у, 6-, 8-, 11-, 13-, 15- та 18-у добу статевого циклу. В подальшому був проведений аналіз цитологічних показників вагінальних мазків у овець залежно від результативності осіменіння.

**Результати досліджень.** Динаміку змін у цитологічному складі вагінальних мазків неплідних овець наведено у таблиці 1. Відповідно до даних, під час стадії гальмування відбувається інтенсивна десквамація епітеліального шару, що проявлялося зменшенням у мазках у 2,5 рази кількості базальних/парабазальних епітеліоцитів та майже

вчетверо – зруйнованих епітеліоцитів. А вже з 13-ої доби відмічали збільшення клітин функціонального шару за рахунок частки клітин глибоких та проміжних шарів. На нашу думку, це відбувається на тлі лютеїнової фази статевого циклу, під час якої прогестеронова домінанта зумовлює інтенсивні проліферативні процеси для передгравідарної морфологічної підготовки статевих органів. Ця динаміка цитологічних змін продовжується до 15-ої доби статевого циклу.

На 18-ту добу клітинний склад вагінальних мазків у овець набував характеристики, притаманної для стадії збудження. Зокрема, порівняно з 6–8-ою добою циклу знов зросла удвічі (до 12,0±0,7) кількість зруйнованих епітеліоцитів ( $p < 0,001$ ) та оголених ядер (до 8,3±1,6) на тлі зниження у 4 рази (до початкового рівня) клітин з пікнозом ядра.

Для порівняльного аналізу були проведені аналогічні дослідження вагінальних мазків у вівцематок, яких, на відміну від попередніх самок, під час виявленої статевої охоти штучно осіменяли (табл. 2).

Таблиця 1 – Динаміка цитологічних змін у вагінальних мазках неплідних овець впродовж статевого циклу, n=8

Доба циклу	Функціональні епітеліоцити, %				Зруйновані епітеліоцити, %		Без'ядерні епітеліоцити, %	Клітини з пікнотизованим ядром, %
	загалом	підгрупи клітин			загалом	в т. ч. голі ядра		
		базальні, парабазальні	проміжні	суперфіційні ядерні				
СО	79,6±6,4 <sup>c</sup>	11,5±6,0	24,5±5,1	43,6±9,7 <sup>a</sup>	12,5±3,8 <sup>b</sup>	0,6±0,7	3,6±1,2 <sup>a</sup>	5,5±2,2 <sup>a</sup>
4	81,6±7,0	4,6±1,1	28,0±5,3	49,1±4,5 <sup>7</sup>	3,0±1,0 <sup>a</sup>	1,25±0,7	3,4±2,0	12,0±2,0 <sup>b</sup>
6	70,1±4,3	10,3±2,4 <sup>b</sup>	25,8±3,1	34,1±3,5	5,9±2,0 <sup>a</sup>	0	2,0±1,5	20,6±3,2 <sup>c</sup>
8	66,0±5,1	2,6±1,9 <sup>a</sup>	24,3±3,6	39,1±4,6	5,5±1,2 <sup>a</sup>	4,1±1,0	7,4±4,0	20,5±3,6 <sup>c</sup>
11	62,0±1,7 <sup>a</sup>	9,7±2,0	24,7±2,6	27,7±4,2	16,0±2,7 <sup>db</sup>	5,2±1,2	8,2±1,3 <sup>b</sup>	13,8±3,1 <sup>b</sup>
13	72,8±15,1	18,0±5,4 <sup>bc</sup>	33,0±4,7	21,8±7,1 <sup>b</sup>	13,5±2,7	7,8±11,3	5,5±1,8	8,1±1,7 <sup>ab</sup>
15	74,0±4,0 <sup>bef</sup>	24,2±6,2 <sup>bcd</sup>	34,2±3,9	15,7±7,3 <sup>b</sup>	10,8±3,2	4,5±1,3	1,5±0,8	12,0±2,5 <sup>b</sup>
18	80,3±0,8 <sup>f</sup>	13,0±7,2	31,3±12,1	36,0±17,8	12,0±0,7 <sup>bde</sup>	8,3±1,6	2,7±0,4	5,0±0,7 <sup>a</sup>

**Примітка.** Показники однієї колонки з різними субскриптами різняться між собою з рівнем вірогідності: a:b –  $p < 0,05$ , a:c –  $p < 0,01$ , a:d –  $p < 0,005$ , a:e –  $p < 0,001$ , a:f –  $p < 0,0005$ .

Таблиця 2 – Динаміка цитологічних змін у вагінальних мазках овець після осіменіння, n=6

Доба циклу	Функціональні епітеліоцити, %				Зруйновані епітеліоцити, %		Без'ядерні епітеліоцити, %	Клітини з пікнотизованим ядром, %
	загалом	підгрупи клітин			загалом	в т. ч. голі ядра		
		базальні, парабазальні	проміжні	суперфіційні ядерні				
СО	81,0±2,9 <sup>a</sup>	3,5±1,4 <sup>b</sup>	24,5±7,4 <sup>b</sup>	53,0±8,5	5,75±1,7 <sup>a</sup>	0,5±0,6 <sup>a</sup>	8,0±4,2	5,2±4,4 <sup>b</sup>
4	77,3±3,5	2,2±1,1 <sup>5</sup>	16,7±3,4	58,5±1,7	5,0±2,0	2,7±1,5	7,5±2,8	10,2±2,3
6	70,8±5,1	0,2±0,2 <sup>a</sup>	8,2±1,7 <sup>a</sup>	62,5±6,5 <sup>d</sup>	7,3±2,3	1,3±1,1	8,0±2,4 <sup>5a</sup>	12,2±2,9
8	68,2±5,4 <sup>b</sup>	1,3±1,3	21,3±5,6	45,3±3,4	7,7±3,7	3,2±1,6	5,2±1,5	18,3±2,8 <sup>a</sup>
11	68,3±2,3 <sup>bd</sup>	5,2±2,1 <sup>b</sup>	25,8±3,3	37,3±4,4 <sup>a</sup>	11,5±2,2 <sup>b</sup>	5,3±2,3 <sup>b</sup>	3,0±1,6	17,2±3,9
13	68,6±12,1	6,2±2,2 <sup>b</sup>	23,0±4,5	56,2±5,0 <sup>cd</sup>	12,6±3,8 <sup>b</sup>	7,2±2,2 <sup>bc</sup>	8,8±5,8	10,0±3,7
15	79,8±5,0	18,8±8,1	34,8±4,0 <sup>f</sup>	26,2±6,9	3,8±2,3 <sup>a</sup>	0,3±0,4 <sup>a</sup>	3,5±3,2	12,8±4,2
18	83,0±3,1 <sup>a</sup>	21,8±10,3 <sup>b</sup>	25,8±5,3	35,3±14,4	7,8±2,9	2,2±1,8	2,2±1,2 <sup>b</sup>	7,2±2,3 <sup>bc</sup>

**Примітка.** Показники однієї колонки з різними субскриптами різняться між собою з рівнем вірогідності: a:b –  $p < 0,05$ , a:c –  $p < 0,01$ , a:d –  $p < 0,005$ , a:e –  $p < 0,001$ , a:f –  $p < 0,0005$ .

За даними таблиці 2, з 6–8-ої доби у овець, яких осіменяли, подібно до першої групи, спостерігали поступове зменшення загальної кількості функціональних епітеліоцитів, переважно, через зменшення кількості клітин глибоких та проміжних шарів. До 11-ої доби кількість функціональних епітеліоцитів продовжувала зменшуватись, однак за рахунок клітин поверхневих шарів. Також проходило поступове підвищення вмісту глибоких та проміжних епітеліоцитів, яке сягало максимуму на 15-ту добу статевого циклу. Отже, підсилення проліферативних процесів у епітеліальному пласті піхви осіменених овець відбувалося на 6–8-у добу після осіменіння. Це супроводжувалося зростанням зруйнованих епітеліоцитів та клітин з пікнозом ядра, що вказувало на гальмування процесів диференціації і, відповідно, зниження рівня естрогенів.

До 18-ої доби кількість функціональних епітеліоцитів відновлювалася до рівня під час СО, однак розподіл їх підгруп відрізнявся від початкового, що вказує на зрівноваженість процесів проліферації та диференціації. Вірогідне, на відміну від овець, яких не осіменяли, зниження до 6-ої доби кількості клітин проміжного шару та інтенсивне збільшення їх частки з 6-ої до 15-ої доби ( $p < 0,0005$ ), на нашу думку, може вказувати на зростання рівня прогестерону, особливо за рахунок запліднених самок.

Зважаючи на те, що розвиток вагітності, безперечно, зумовлює специфічні зміни цитологічного профілю вагінального мазка, був проведений аналіз, враховуючи результативність осіменіння. У таблиці 3 наведено цитологічну характеристику мазків в окремі дні статевого циклу у осіменених вівцематок, які стали вагітними (З,  $n=3$ ) і які залишилися неплідними (Н,  $n=3$ ).

Аналіз отриманих даних показав, що основною цитологічною ознакою вагітності уже з четвертої доби після осіменіння є підвищення у 2,7 рази кількості у мазках зруйнованих клітин та «голих» ядер. У наступні дні досліджень, окрім 13-ої доби, ця різниця коливалася в межах 1,3–4,3 рази ( $8,3 \pm 5,4$ – $14,7 \pm 3,6$  %), порівняно з відповідними показниками у незапліднених вівцематок. Також на 13-ту добу після введення сперми у запліднених самок відмічається тенденція до зростання кількості клітин глибокого шару та набуття на 18-ту добу вірогідної різниці у співвідношенні між кількістю глибоких та поверхневих клітин – 5:1. Зміни у розподілі часток глибоких та поверхневих клітин у незапліднених тварин вказують на прояв наступної стадії збудження та переважання у них диференціації епітеліальних клітин. Натомість у вагітних самок посилювалася проліферація глибоких шарів епітелію піхви.

Таблиця 3 – Цитологічна характеристика вагінальних мазків вівцематок за різної результативності осіменіння

Доба циклу	Репродуктивний статус	Функціональні епітеліоцити, %				Зруйновані епітеліоцити, %		Без'ядерні епітеліоцити, %	Клітини з пікнотизованим ядром, %
		загалом	підгрупи клітин			загалом	в т. ч. голі ядра		
			базальні, парабазальні	проміжні	суперфіційні ядерні				
4	З	81,7±5,8	3,1±2,1	21,3±4,3	57,3±3,3	7,3±3,6	4,3±2,9	3,7±1,1	7,3±3,3
	Н	73,0±3,7	1,3±1,6	12,0±4,4	59,7±2,5	2,7±2,2	1,0±1,2	11,3±5,0	13,0±3,1
6	З	77,0±9,9	0	5,7±2,7	71,3±11,5	8,3±5,1	2,0±2,5	5,0±3,2	9,7±2,5
	Н	64,7±2,7	0,3±0,4	10,7±1,5	53,7±3,6	6,3±2,5	0,7±0,8	11,0±3,7	14,7±6,1
8	З	63,0±11,8	0,3±0,4	17,0±10,4	45,3±1,5	11,0±8,1	6,3±7,8	6,3±2,3	18,3±6,9
	Н	73,3±2,5	2,33±2,9	25,7±7,6	45,3±5,9	4,3±1,8	0	4,0±2,5	18,3±0,4
11	З	69,3±5,0	5,3±22,9	30,0±4,3	34,0±6,7	14,7±3,6	8,7±3,9	3,3±4,1	12,7±7,3
	Н	67,3±2,7	5,0±4,4	21,7±4,7	40,7±7,6	8,3±1,1	2,0±1,4	2,7±0,4	21,7±3,3
13	З	77,0±18,4	10,0±2,8	25,5±10,6	41,5±10,6	12,5±10,6	11,3±4,3	5,5±3,5	5,0±4,2
	Н	63,0±20,9	3,7±2,3	21,3±6,9	36,7±14,3	12,7±5,5	5,3±0,8	11,0±11,1	13,3±5,4
18	З	84,7±5,5	42,7±3,9 <sup>a</sup>	33,7±2,5	8,3±4,1 <sup>a</sup>	11,3±5,7	4,3±3,6	0 <sup>a</sup>	4,3±0,8
	Н	81,3±5,0	1,0±1,2 <sup>f</sup>	18,0±8,9	62,3±13,6 <sup>c</sup>	4,3±0,8	0	4,3±1,5 <sup>b</sup>	10,0±4,6

**Примітка.** Показники з різними субскриптами по різних групах тварин, що відповідають кожній добі дослідження, різняться між собою з рівнем вірогідності: a:b –  $p < 0,05$ , a:c –  $p < 0,01$ , a:d –  $p < 0,005$ , a:e –  $p < 0,001$ , a:f –  $p < 0,0005$ .

З метою встановлення ранніх прогностичних цитологічних ознак вагітності та мінімізації подразнення слизової піхви, що виникає під час багаторазового забору біоматеріалу, ми провели наступні цитологічні дослідження двічі: під час статевої охоти та через десять днів після осіменіння ( $n=12$ ). Встановлено, що у вівцематок, які стали плідними, на десятю добу відмічалася тенденція до зростання загальної кількості функціональних клітин за одночасного зменшення частки клітин проміжного шару та суперфіційних ядерних епітеліоцитів. Водночас кількість клітин з пікнозом ядра знижувалась від  $24,0 \pm 7,5$  до  $14,2 \pm 3,7$  %. У невагітних вівцематок подібних змін не спостерігали. На 10-ту добу у цих тварин уміст клітин глибоких шарів (базальні-парабазальні епітеліоцити) був дещо меншим порівняно з заплідненими вівцями –  $5,7 \pm 4,3$  проти  $17,28 \pm 6,2$  ( $p > 0,05$ ,  $td=1,538$ ).

**Обговорення.** Отже, клітинний вміст вагінальних мазків у неплідних овець впродовж статевого циклу зазнає динамічних змін і відображає морфологічну реакцію епітелію піхви на естроген-прогестеронове співвідношення впродовж статевого циклу, що надає перспективу визначення статевого періоду за цитологічними показниками без визначення ендокринних показників та клінічних критеріїв.

Дослідження цитології піхвового мазка овець впродовж статевого циклу дозволили встановити певні зміни, які, насамперед, мали залежність від результативності осіменіння. На 11–13 добу у запліднених овець встановлено тенденцію до зростання, порівняно з незаплідненими самками, частки клітин глибоких шарів та її вірогідне збільшення на 18 добу. Починаючи з четвертої доби впродовж дослідного періоду (18 днів) відмічали постійну чітку тенденцію до переважання часток зруйнованих епітеліоцитів та «голих» ядер у запліднених овець, що було розцінено як ознака зростання активності жовтого тіла вагітності. У овець, що не запліднилися, наростання клітинної маси відбулося за рахунок клітин поверхневого шару (суперфіційні ядерні та суперфіційні без'ядерні) після 11-ї доби статевого циклу.

Встановлено, що наступні критерії оцінки мазка є ознаками певних порушень та відповідають сумнівному і несприятливому прогнозу, а саме:

– інтенсивний синій (базофільний) колір елементів мазка – зсув рН середовища піхви у лужну сторону – прогноз сумнівний;

– розмитість контурів ядра і контурів цитоплазми, наявність вакуоль у епітеліоцитах – ознака лізису клітин, що настає за хронічно-

го запалення через наявність значної кількості мікроорганізмів та лейкоцитів (++) – більше кількох десятків у полі зору, лізис ядер епітеліоцитів та явище «брудного мазка») – прогноз від сумнівного до несприятливого;

– передчасний пікноз клітин глибоких та проміжних шарів (нетипові клітини мазка, які є темними і меншими за відповідні нормальні) – ознака атрофії та дисплазії епітелію піхви у пришийковій ділянці – прогноз несприятливий.

Отже, застосування методу піхвового мазка під час статевої охоти є доцільним як складової гінекологічної диспансеризації та для вивчення біологічних особливостей овець різних порід.

Наші дослідження цитології піхвового мазка овець впродовж статевого циклу дозволили встановити певні зміни, які, насамперед, мали залежність від успішності запліднення. На 11–13 добу у запліднених овець встановлено тенденцію до зростання, порівняно з незаплідненими, частки клітин глибоких шарів та її вірогідне збільшення на 18 добу. При цьому тип розподілу часток підгруп функціональних епітеліоцитів, встановлений нами як естральний ( $G < Pr < C$ ), набув вигляду  $G > Pr > C$ . Починаючи з четвертої доби впродовж дослідного періоду (18 днів) відмічали постійну чітку тенденцію до переважання часток зруйнованих епітеліоцитів та «голих» ядер у запліднених овець, що було розцінено як ознака зростання активності жовтого тіла вагітності.

**Висновок.** Отже, основною цитологічною ознакою вагітності вже з четвертої доби після осіменіння була підвищена у 2,7 рази кількість зруйнованих клітин та «голих» ядер у піхвових мазках. У наступні дні, окрім 13 доби, ця різниця коливалася в межах 1,3–4,3 рази ( $8,3 \pm 5$ – $14,7 \pm 3,6$  %), порівняно з відповідними показниками у незапліднених вівцематок.

**Перспектива подальших досліджень** полягає у розробці ранніх діагностико-прогностичних показників результатів осіменіння вівцематок за цитологічною характеристикою вагінальних мазків.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Визначення статевої охоти, осіменіння, відбір вагінальних мазків та вагітності проводили неінвазивними методами із дотриманням біоетичних вимог щодо ставлення до тварин і відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006) та Європейської конвенції «Про захист тварин» (1987).

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори (Власенко С.А., Жулінська О.А., Єрошенко О.В.) статті «Цитологічна характеристика вагіналь-

них мазків у вівцематок впродовж статевого циклу та за вагітності» стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження. Матеріали статті можуть бути опубліковані.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вівчарство України в світлі тенденцій світового розвитку/ І.І. Ібатуллин та ін. Ефективне тваринництво. 2014. № 2. С. 12–16.

2. Стан та перспективи розвитку вівчарства в державних підприємствах дослідних господарств мережі НААН/ Ю.В. Вдовиченко та ін. Вівчарство та козівництво. 2018. Вип. 3. С. 3–17. URL:nbuv.gov.ua/UJRN/vivkoz\_2018\_3\_3.

3. Нежлукченко Н.В. Відтворювальні якості та адаптаційна здатність ліній овець таврійського типу асканійської тонкорунної породи: дис. ... канд. с.-г. наук: 06.02.01. Херсон, 2013. 152 с.

4. Жулінська О.С., Дрозд С.Л., Могильницька С.В. Аналіз показників відтворення в овець асканійської селекції. Біологія тварин. 2016. Т. 18. № 3. С. 36–45. URL:nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\_2016\_18\_3\_7.

5. Польська П.І., Калашук Г.П. Методологія попередньої оцінки племінної цінності баранів-плідників і вівцематок інтенсивних типів асканійської м'ясо-вовнової породи з кросбредною вовною. Вівчарство. Нова Каховка: ПИЕЛ, 2014. Вип. 37. С. 56–62.

6. Могильницька С. В. Відтворювальна здатність овець різних типів асканійської каракульської породи. Науковий вісник «Асканія-Нова». Нова Каховка: Пиел, 2016. Вип. 9. С. 83–90.

7. Зведений короткий звіт головної установи про виконання ПНД № 32 «Селекційно-технологічна система трансформування виробничих напрямків вівчарства України («Вівчарство»)» за 2017 рік (№ держреєстрації 0116U001276).

8. Складов П.М., Кошевой В.П., Бугров О.Д. Біотехнологічні методи регуляції репродукції овець та кіз: здобутки і перспективи. Науково-технічний бюлетень. 2015. № 113. С. 225–230. URL:nbuv.gov.ua/UJRN/Ntb\_2015\_113\_40.

9. Власенко С.А., Жулінська О.С., Єрошенко О.В. Клініко-лабораторні прогностичні показники щодо заплідненості в овець. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2019. № 1. С. 6–14. DOI:10.33245/2310-4902-2019-149-1-6-14.

10. Reduced ovulation rate, failure to be mated and fertilization failure/embryo loss are the underlying causes of poor reproductive performance in juvenile ewes/ S.J. Edwards et al. Anim Reprod Sci. 2016. 167. P. 125–132. DOI:10.1016/j.anireprosci.2016.02.017.

11. Reddy K.C.S., Raju K.G.S., Rao K.S., Rao K.B.R. Vaginalcytology, vaginos copy and progesterone profile: Breeding tools in bitches. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 2011. Vol. 25, no. 2. P. 51–54. URL: vetmedmosul.com/article\_5656.html.10.14737/journal.aavs/2016/4.6.283.288.

12. Sharma M., Sharma N. Vaginal cytology: An historical perspective on its diagnostic use. Adv. Animal Veterinary Science. 2016. 4(6). P. 283–288. DOI:10.14737/journal.aavs/2016/4.6.283.288.

13. Siti D.R., Ranga S. Cytological Characteristics of Mucose Cell and Vaginal Temperature and pH During Estrous Cycle in Local Sheep. Animal Production. 2017. 19(1). P. 21–27. URL: media.neliti.com/media/publications/177414-EN-cytological-characteristics-of-mucose-ce.pdf.

14. Rhendyka P.A., Suzanita U., Hana E. The Relation of Body Temperature and Vaginal Cytology Examination in Time Artificial Insemination Rate Fat-tailed Sheep (Ovis Aries) in The District Sidoarjo East Java. The Veterinary Medicine International Conference. KnE Life Sciences, 2017. P. 642–649. DOI:10.18502/kls.v3i6.1193.

15. Exfoliative Vaginal Cytology and Serum Progesterone during the Estrous Cycle of Indigenous Ewes in Bangladesh/ F. Z. Begum et al. Journal of Embryo Transfer 2014. 29(2). P. 183–188. DOI:10.12750/JET.2014.29.2.188.

16. Morphological characterization of vaginal epithelial cells of santainês ewes subjected to estrus synchronization/ C. Ribeiro et al. Comunicata Scientiae. 2019. 10(1). P. 5–9. DOI:10.14295/CS.v10i1.2756.

17. Vaginal cytology as a tool to predict the time of ovulation in goats and sheep. Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE); Florianópolis, SC, Brazil, August 16th to 18th/ V.L. Brair et al. Anim. Reprod. 2018. Vol. 15. no. 3. 492 p. URL:ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/182469/1/cnpc2018-Vaginal.pdf.

18. Складов П.Н. Нарушение репродуктивной функции овец и коз и ее коррекция. Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных: материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию со дня рождения и 50-летию науч.-практ. деятельности доктора ветеринарных наук, профессора Г. Ф. Медведева. Беларусь. Горки, 10–12 октября 2013. Горки: БГСХА, 2013. С. 57–62.

19. Sharma M., Sharma N. Vaginal cytology: An historical perspective on its diagnostic use. Adv. Animal Veterinary Science. 2016. 4(6). P. 283–288. DOI:10.14737/journal.aavs/2016/4.6.283.28.

20. Жарук П.Г., Жарук Л.В. Фактори формування ефективності галузі вівчарства. Науковий вісник «Асканія-Нова». 2015. Вип. 8. С. 133–140. URL:nbuv.gov.ua/UJRN/nvan\_2015\_8\_17.

21. Інструкція зі штучного осіменіння овець і кіз: Наказ Міністерства агрополітики України № 395 від 13.12.2002. URL:zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0105-03#Text.

22. Лобачова І.В., Шинкаренко І.С., Болотов Ю.І., Іванина О.В. Технологія штучного осіменіння: методичні рекомендації. ІТСП «Асканія-Нова». Асканія-Нова, 2014. 23 с.

23. Влізло В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: СПО-ЛОМ, 2012. 764 с.

24. Теске Е. Цитологічні дослідження в клінічній практиці дрібних домашніх тварин. Ветеринарна практика: наук.-практ. журн. 2013. № 7. С. 20–29.

## REFERENCES

1. Ibatullin, I.I., Zhukorsky, O.M., Vdovichenko, Y.V., Zharuk, P.G., Kudryk, N.A., Zharuk, L.V. (2014). Vivcharstvo Ukrainy v svitli tendentsiy svitovoho rozvytku [Sheep breeding of Ukraine in the light of world development trends]. *Efektivne tvarnyntstvo* [Effective animal husbandry]. no. 2, pp. 12–16.
2. Vdovychenko, Yu.V., Zharuk, P.H., Zaruba, K.V., Maslyuk, A.M., Zharuk, L.V. (2018). Stan ta perspektyvy rozvytku vivcharstva v derzhavnykh pidpryyemstvakh doslidnykh hospodarstvakh merezhi NAAN [Status and prospects of sheep breeding development in state-owned enterprises of research farms of NAAS]. *Vivcharstvo ta kozivnytstvo* [Sheep and goat breeding]. Issue 3, pp. 3–17. Available at: [nbuv.gov.ua/UJRN/vivkoz\\_2018\\_3\\_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vivkoz_2018_3_3).
3. Nezhlukchenko, N.V. (2013). Vidtvoryval'ni yakosti ta adaptatsiyna zdatsnist' liniy ovets' tavriys'koho typu askaniys'koyi tonkorunnoyi porody: dys. ... kand. s.-g. nauk: 06.02.01. [Reproductive qualities and adaptability of Tauriy type sheep lines of Askanian thin-wool breed: diss. ... candidate s.-g. Sciences: 06.02.01.]. 152 p.
4. Zhulins'ka, O.S., Drozd, S.L., Mohyl'nyts'ka, S.V. (2016). Analiz pokaznykiv vidtvorennya v ovets' askaniys'koyi selektsiyi [Analysis of reproduction indicators in sheep of Askanian selection]. *Biolojiya tvaryn* [Animal biology]. Vol. 18, no. 3, pp. 36–45. Available at: [nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2016\\_18\\_3\\_7](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2016_18_3_7).
5. Pol's'ka, P.I., Kalashchuk, H.P. (2014). Metodolohiya poperedn'oyi otsinky pleminnoyi tsinnosti baraniv-plidnykiv i vivsematok intensyvykh typiv askaniys'koyi m'iaso-vovnovoyi porody z krosbrednoyu vovnoyu [Methodology of preliminary assessment of breeding value of breeding rams and ewes of intensive types of Askanian meat-wool breed with crossbred wool]. *Vivcharstvo* [Sheep breeding]. Nova Kakhovka, Issue 37, pp. 56–62.
6. Mohyl'nyts'ka, S.V. (2016). Vidtvoryval'na zdatsnist' ovets' riznykh typiv askaniys'koyi karakul's'koyi porody [Reproductive ability of sheep of different types of Askanian Karakul breed]. *Naukovy visnyk «Askaniya-Nova»* [Scientific Bulletin "Askaniya-Nova"]. Nova Kakhovka: Piel, Issue 9, pp. 83–90.
7. Zvedenny korotkyy zvit holovnoyi ustanovy pro vykonannya PND № 32 «Selektsiyno-tekhnologichna systema transformuvannya vyrobnychyykh napryamkiv vivcharstva Ukrainy («Vivcharstvo»)» za 2017 rik (№ derzhreyestratsiyi 0116U001276) [Summary report of the main institution on the implementation of PND No. 32 "Selection and technological system of transformation of the production areas of sheep breeding of Ukraine ("Sheep breeding")" for 2017 (state registration number 0116U001276)].
8. Sklyarov, P.M., Koshevoy, V.P., Buhrov, O.D. (2015). Biotekhnologichni metody rehulyatsiyi reproduktsiyi ovets' ta kiz: zdobutky I perspektyvy [Biotechnological methods of reproduction control of sheep and goats: achievements and prospects]. *Naukovo-tekhnichnyy byuleten'* [Scientific and technical bulletin.]. no. 113, pp. 225–230. Available at: [nbuv.gov.ua/UJRN/Ntb\\_2015\\_113\\_40](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntb_2015_113_40).
9. Vlasenko, S.A., Zhulins'ka, O.S., Yeroshenko, O.V. (2019). Kliniko-laboratorni prohnostychni pokaznyky shchodo zaplidenosti v ovets' [Clinical and laboratory prognostic indicators of fertility in sheep]. *Naukovy visnyk veterynarnoyi medytsyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 1, pp. 6–14. DOI:10.33245/2310-4902-2019-149-1-6-14.
10. Edwards, S.J., Bronwyn, S.S., O'Connell, A.R., Johnstone, P.D., Stevens, D.R., Quirke, L.D., Farquhar, P.A., Juengel, J.L. (2016). Reduced ovulation rate, failure to be mated and fertilization failure/embryo loss are the underlying causes of poor reproductive performance in juvenile ewes. *Anim Reprod Sci.* 167, pp. 125–132. DOI:10.1016/j.anireprosci.2016.02.017.
11. Reddy, K.C.S., Raju, K.G.S., Rao, K.S., Rao, K.B.R. (2011). Vaginalcytology, vaginoscopy and progesterone profile: Breeding tools in bitches. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences.* Vol. 25, no. 2, pp. 51–54. Available at: [vetmedmosul.com/article\\_5656.html](http://vetmedmosul.com/article_5656.html).
12. Sharma, M., Sharma, N. (2016). Vaginal cytology: An historical perspective on its diagnostic use. *Adv. Animal Veterinary Science.* 4(6), pp. 283–28. DOI:10.14737/journal.aavs/2016/4.6.283.288.
13. Siti, D.R., Rangga, S. (2017). Cytological Characteristics of Mucose Cell and Vaginal Temperature and pH During Estrous Cycle in Local Sheep. *Animal Production.* Vol. 19(1), pp. 21–27. Available at: [media.neliti.com/media/publications/177414-EN-cytological-characteristics-of-mucose-ce.pdf](http://media.neliti.com/media/publications/177414-EN-cytological-characteristics-of-mucose-ce.pdf).
14. Rhendyka P.A., Suzanita U., Hana E. (2017). The Relation of Body Temperature and Vaginal Cytology Examination in Time Artificial Insemination Rate Fat-tailed Sheep (Ovis Aries) in The District Sidoarjo East Java. *The Veterinary Medicine International Conference. KnE Life Sciences*, pp. 642–649. DOI:10.18502/cls.v3i6.1193.
15. Begum, F.Z., Azizunnesa, Md., Faruk Islam, Md., Golam S.A., Farida Y.B. (2014). Exfoliative Vaginal Cytology and Serum Progesterone during the Estrous Cycle of Indigenous Ewes in Bangladesh. *Journal of Embryo Transfer.* Vol. 29(2), pp. 183–188. DOI:10.12750/JET.2014.29.2.188.
16. Ribeiro, C., Neves, T., Fagundes, G., do Nascimento, D.M., Cleidson da Silva, C.M., Arrivabene, M., Dias, F.E.F., Cavalcante, T.V. (2019). Morphological characterization of vaginal epithelial cells of saintainés ewes subjected to estrus synchronization. *Comunicata Scientiae.* Vol. 10(1), pp. 5–9. DOI:10.14295/CS.v10i1.2756.
17. Brair, V.L., Schmidt, A.P.P., Figueira, L.M., Vergani, G.B., Diógenes, Y.P., Rangel, P.S.C., Souza-Fabjan, J.M.G., Fonseca, J.F. (2018). Vaginal cytology as a tool to predict the time of ovulation in goats and sheep. *Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE); Florianópolis, SC, Brazil, August 16th to 18th.* *Anim. Reprod.* Vol. 15, no. 3, 492 p. Available at: [ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/182469/1/cnpc2018-Vaginal.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/182469/1/cnpc2018-Vaginal.pdf).
18. Sklyarov, P.N. (2013). Narushenie reproduktsiyi ovets' ta kiz: zdobutky I perspektyvy [Violation of the reproductive function of sheep and goats and its correction]. *Aktual'nye problemy veterynarnogo akush-*

erstva i reprodukcii zhivotnyh: Materialy mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvjashhennoj 75-letiju so dnja rozhdjenja i 50-letiju nauch.-prakt. dejatel'nosti doktora veterinarnyh nauk, professora G. F. Medvedeva. [Actual problems of veterinary obstetrics and animal reproduction: materials mezhdunar. scientific and practical conference dedicated to the 75th anniversary of the birth and the 50th anniversary of the scientific-practical activities of Doctor of Veterinary Sciences, Professor G. F. Medvedev. Belarus. Gorky, October 10–12, 2013]. Gorky: BGSNA, pp. 57–62.

19. Sharma, M., Sharma, N. (2016). Vaginal cytology: An historical perspective on its diagnostic use. *Adv. Animal Veterinary Science*. Vol. 4(6), pp. 283–288. DOI:10.14737/journal.aavs/2016/4.6.283.28.

20. Zharuk, P.H., Zharuk, L.V. (2015). Faktory formuvannya efektyvnosti haluzi vivcharstva [Factors of efficiency formation of sheep breeding industry]. *Naukovyy visnyk «Askaniya-Nova» [Scientific Bulletin "Askaniya-Nova"]*. Issue 8, pp. 133–140. Available at: nbuv.gov.ua/UJRN/nvan\_2015\_8\_17.

21. Instruktsiya zi shtuchnoho osimeninnya ovets' I kiz: Nakaz Ministerstva hropolityky Ukrainy № 395 vid 13.12.2002. [Instructions for artificial insemination of sheep and goats: Order of the Ministry of Agriculture of Ukraine No. 395 dated 13.12.2002.]. Available at: zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0105-03#Text.

22. Lobachova, I.V., Shynkarenko, I.S., Bolofov, Yu.I., Ivanyna, O.V. (2014). Tehnologija shtuchnoho osimeninnya: metodychni rekomendacii'. [Technology of artificial insemination: methodical recommendations]. *ITSR "Askaniya-Nova"*. Askaniya-Nova.

23. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratysh, I.B. (2012). Laboratorni metody doslidzhen' u biologiyi, tvarynnystv i veterynarniy medytsyni: dovidnyk [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: handbook]. Lviv: SPOLOM, 764 p.

24. Teske, E. (2013). Tsytolohichni doslidzhennya v klinichnij praktytsi dribnykh domashnykh tvaryn [Cytological studies in clinical practice of small domestic animals]. *Veterynarna praktyka: nauk.-prakt. zhurn [Veterinary practice: scientific-practical]*. no. 7, pp. 20–29.

### Cytological characteristics of vaginal smears in ewes during the sexual cycle and during pregnancy Vlasenko S., Zhulinska O., Yeroshenko O.

New criteria for cytological analysis of sheep vaginal swabs (cytovaginal examination) during sexual hunting, during the sexual cycle, after insemination and depending on the effectiveness of insemination have been devel-

oped. Cytological material was collected from the area of the upper vaginal vault using a sterile vaginal mirror, forceps and cotton gauze swab. Staining of brushstrokes was performed according to Gimza-Romanovsky.

To improve the method of cytovaginal examination, the division of smear epitheliocytes into groups: functional, destroyed, non-nuclear and cells with nuclear pyknosis is proposed. In turn, among the functional cells it is advisable to distinguish between cells of the deep layers of the epithelium (basal-parabasal), intermediate and surface layer (superficial nuclear). The main types of ratio of particles of different groups and subgroups and their prognostic value in the mating season during sexual hunting are revealed.

It was found that during the inhibition stage there is an intensive desquamation of the epithelial level, which was manifested by a 2.5-fold decrease in the number of basal / parabasal epitheliocytes and almost four - destroyed epitheliocytes. And already from the 13th day there is an increase in the cells of the functional level due to the proportion of cells of the deep and intermediate level.

On the 18th day, the cellular composition of vaginal smears in sheep acquired characteristics characteristic of the stage of arousal. Thus, compared with the 6-8th day of the cycle, the number of destroyed epitheliocytes ( $p < 0.001$ ) and naked nuclei (up to  $8.3 \pm 1.6$ ) doubled again (up to  $12.0 \pm 0.7$ ) against the background of a decrease in 4 times (to the initial level) of cells with pyknosis of the nucleus.

The main cytological sign of pregnancy from the fourth day after insemination was a 2.7-fold increase in the number of destroyed cells and "naked" nuclei. In the following days of the study, except for the 13th day, this difference ranged from 1.3 to 4.3 times ( $8.3 \pm 5.4$  to  $14.7 \pm 3.6\%$ ), compared with the corresponding figures in unfertilized ewes. Also on the 13th day after the introduction of sperm in fertilized females there is a tendency to increase the number of deep layer cells and the acquisition on the 18th day of a probable difference in the ratio between the number of deep and surface cells - 5: 1. Changes in the distribution of deep and surface cell particles in unfertilized animals indicate the manifestation of the next stage of excitation and the predominance of epithelial cell differentiation. In contrast, in pregnant females, the proliferation of the deep layers of the vaginal epithelium increased.

**Key words:** ewes, sexual cycle, sexual hunting, vaginal smear, cytological composition, pregnancy.



Copyright: Власенко С.А., Жулінська О.С., Єрошенко О.В. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ORCID iD:

Власенко С.А.

Жулінська О.С.

Єрошенко О.В.

<https://orcid.org/0000-0002-1291-1085>

<https://orcid.org/0000-0002-0599-2307>

<https://orcid.org/0000-0002-3461-6095>

