

Indukcja rui u suk w anestrus przy użyciu kabergoliny lub gonadotropin

ANDRZEJ JURCZAK, TOMASZ JANOWSKI

Zespół Rozrodu Zwierząt Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn

Jurczak A., Janowski T.

Induction of estrus in anoestrus bitches using cabergoline and gonadotropins (eCG, hCG)

Summary

The aim of the study was to estimate the effectiveness of oestrus induction in bitches using cabergoline as well as equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG). The study was performed on a total number of 59 mixed bitches. The 53 canines were randomly divided into two groups. Bitches from group I (n = 28) were administered cabergoline for 21 days. In group II (n = 25) eCG was administered for 10 consecutive days in a dose of 20 I.U. per kg. b.w. Additionally, on the 10th day of induction each bitch received 500 I.U. of hCG. Effectiveness of estrus induction in group I was 52%, while in group II 64%. In bitches treated with cabergoline, clinical signs of estrus were similar to signs which were observed in bitches with spontaneous heat. In bitches of group II, edema of the vulva, vulvar discharge and standing behavior were not as visible nor as sharp as estrus signs in bitches from the control group.

Percentage of bitches with ovulation was in group I – 76.9% and in group II – 83.3%.

Keywords: bitch, estrus, gonadotropine eCG, hCG

Suki należą do zwierząt monoestralnych, przejawiających aktywność płciową jeden lub dwa razy do roku. W sezonie rozrodczym występuje jedna ruja, a po niej długi okres spokoju płciowego (*anestrus*). Przejście od *anestrus* do *proestrus*, czyli fazy przedrujowej jest złożonym procesem neurohormonalnym. W fazie przedrujowej dochodzi do pojawiania się klinicznych objawów hormonalnej aktywności jajników, takich jak: obrzęk sromu, krwisty wypływ z dróg rodnych, rozpulchnienie błony śluzowej pochwy; brak jest natomiast akceptacji samca. Prawidłowe diagnozowanie rui właściwej (*estrus*) i wyznaczenie optymalnych dni do krycia lub inseminacji w dużej mierze decyduje o płodności i plenności. Nieskuteczne krycie lub inseminacja powodują konieczność długiego oczekiwania na kolejną cieczkę.

Stymulacja czynności jajników u suk w celu skrócenia fizjologicznego lub patologicznego *anestrus*, staje się coraz częstszą koniecznością terapeutyczną wynikającą ze względów lekarskich lub hodowlanych. Dotychczasowe próby indukcji rui podejmowano głównie przy użyciu iniekcyjnych preparatów zawierających gonadotropiny FSH i LH. Stosowano przy tym różne dawki oraz odmienne schematy terapeutyczne, uzyskując w nich skuteczność od 50% do 100% (2-4, 23, 24, 26, 29-31). W badaniach tych uwzględniano

zwykle małe grupy zwierząt, zaś reakcje suk były oceniane głównie na podstawie ich zachowań behawioralnych oraz płodności (2, 7, 23, 29, 30). Nieliczne tylko prace wykonano w oparciu o obiektywne metody diagnozowania faz cyklu, takie jak badanie cytologiczne, wagnioskopowe lub oznaczanie poziomu progesteronu (6, 28, 30). Brakuje w nich także dokładnej oceny i charakterystyki wielu klinicznych objawów cieczek indukowanych, istotnych z praktycznego punktu widzenia.

Znacznie mniej znana jest metoda indukowania cieczki u suk przy pomocy kabergoliny, substancji powszechnie znanej jako inhibitor wydzielania prolaktyny (13, 18-20). W dotychczasowych badaniach stosowano przy tym długą terapię trwającą kilka tygodni, zaś skuteczność indukcji wahała się w granicach 80-100% (11, 19, 27). W piśmiennictwie krajowym niewiele jest dotychczas publikacji poświęconych problematyce indukcji cieczki u suk gonadotropinami (14, 17), brak zaś zupełnie badań z zastosowaniem kabergoliny.

Celem badań było określenie skuteczności hormonalnej indukcji cieczek przy zastosowaniu kabergoliny oraz gonadotropin, a także porównanie klinicznych cech cieczek indukowanych u suk w fazie spokoju płciowego (*anestrus*).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 59 zdrowych klinicznie sukach mieszańcach w wieku od 2 do 6 lat. U 53 zwierząt na podstawie przeprowadzanych trzykrotnie w odstępie tygodnia badań klinicznych, waginoskopowych, cytologicznych oraz oznaczania poziomu progesteronu stwierdzono *anestrus*. Następnie zwierzęta podzielono losowo na dwie grupy doświadczalne: grupa I (n = 25) obejmowała zwierzęta, którym w celu pobudzenia czynności jajników podawano kabergolinę (Galastop®, Vetem S.p.A.), w dawce 5 µg/kg m.c. *per os*, przez okres 21 dni, zaś grupę II (n = 28) stanowiły suki, u których stymulację jajników przeprowadzono przy użyciu gonadotropiny (eCG, Folligon®, Intervet International B.V.) podawanej w dawce 20 I.U. na kg m.c. s.c. przez 10 dni oraz dodatkowo ostatniego dnia 500 I.U. gonadotropiny kosmówkowej hCG (Chorulon®, Intervet International B.V.) na zwierzę. Grupę kontrolną, stanowiło 6 suk, które ciecзки przejawiały spontanicznie. Zwierzęta wszystkich grup były poddawane badaniom klinicznym, waginoskopowym i cytologicznym co 2 dni przed indukcją, w jej trakcie oraz po jej zakończeniu. Okres badań i obserwacji w każdej grupie wynosił co najmniej 6 tygodni. W czasie badań pobierano także krew do oznaczania poziomu progesteronu.

Na podstawie badań i obserwacji klinicznych oceniano przebieg indukowanej ciecзки, określając długość trwania faz przedrujowej (*proestrus*) i rui właściwej (*estrus*), występowanie i termin owulacji, dynamikę i intensywność towarzyszących im objawów klinicznych. Waginoskopię wykonywano przy użyciu zestawu do wziernikowania firmy Wolf (Austria). W trakcie tego badania oceniano stan błony śluzowej pochwy (kolor, wilgotność oraz ewentualny jej obrzęk), a ponadto pobierano śluz do badania cytologicznego. Używano do tego celu sterylnych pałeczek do pobierania wymazów. Przy ich pomocy wykonywano rozmazy, które były barwione zmodyfikowaną metodą Shorra i oceniane pod mikroskopem optycznym Olympus BX50F4, połączonym z torem wizyjnym, najpierw przy powiększeniu 125, a następnie 250-500 razy.

Próbki krwi w celu określania poziomu progesteronu pobierano z żyły odpromieniowej. Poziom tego hormonu oznaczano metodą radioimmunologiczną z ekstrakcją (8).

Fazy cyklu oraz owulację diagnozowano według ogólnie przyjętych kryteriów (5, 6). Uzyskane w obu grupach wyniki porównywano z fizjologicznym przebiegiem cyklu u suk z cieczką spontaniczną.

Obliczono średnie arytmetyczne oraz odchylenia standardowe dotyczące długości *proestrus* i *estrus*, okresu od początku objawów ciecзки do wystąpienia owulacji oraz skuteczności obu metod indukcji hormonalnej. Porównania średnich wartości między grupami dokonano przy pomocy testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Przeprowadzone badania wykazały różną skuteczność ocenianych metod hormonalnej indukcji ciecзки u suk w *anestrus*. W grupie zwierząt otrzymujących kabergolinę odsetek suk wykazujących behawioralne objawy ciecзки wyniósł 52%, podczas gdy u samic sty-

Tab. 1. Skuteczność indukcji rui i owulacji oraz charakterystyka stymulowanej ciecзки

Parametry	Kabergolina (grupa I)	Gonadotropiny (grupa II)
Efektywność stymulacji (%)	52%	64%
Okres od początku terapii do pierwszych objawów <i>proestrus</i> (dni)	8,98 ± 1,61	6,72 ± 1,22
Długość <i>proestrus/estrus</i> (dni)	10,15 ± 2,75 / 10,00 ± 2,00	5,90 ± 1,82 / 6,3 ± 1,54
Odsetek zwierząt z owulacją (%)	76,92%	83,3%
Okres od początku <i>proestrus</i> do owulacji (dni)	12,28 ± 3,84	5,51 ± 1,04
Poziom progesteronu w momencie owulacji (nmol/l)	15,23 ± 2,04	17,47 ± 3,12
Charakterystyka kliniczna objawów rujujących	generalnie zbliżone do cieczek spontanicznych, wolniejsze narastanie objawów ciecзки	słabsze krwawienie, obrzęk sromu, wypływ z dróg rodnych i akceptacja samca, niepełny odruch tolerancji, skrócenie <i>pro- i estrus</i>

mulowanych przy pomocy gonadotropin objawy rui stwierdzono u 64% osobników (tab. 1). Uzyskana w niniejszych badaniach skuteczność indukcji ciecзки przy użyciu gonadotropin jest generalnie zbliżona z wynikami innych autorów. Z reguły wynosiła ona 50-80% (23, 24, 28, 31), a jedynie w niektórych przypadkach uzyskiwano skuteczność bliską 100% (29, 30). W grupie zwierząt stymulowanych kabergoliną efektywność była niska – wynosiła 52%. Według danych z piśmiennictwa (11, 15) efektywność tej metody jest dużo wyższa, wynosi bowiem 80-100%. Niższa skuteczność tej metody w badaniach własnych mogła być następstwem krótszego okresu podawania kabergoliny, wynoszącego 21 dni. Inni autorzy (11, 25, 27) preparat ten stosowali na ogół dłużej (40-50 dni), niekiedy aż do uzyskania klinicznego skutku. Jednakże tak długi okres podawania preparatu ogranicza praktyczną przydatność metody ze względu na towarzyszące jej uciążliwości.

Indukcja aktywności jajników u suk jest postępowaniem trudnym. Jego skuteczność w sposób istotny zależy także od uwarunkowań indywidualnych, rasowych, żywieniowo-metabolicznych oraz psychiczno-behawioralnych zwierząt (5, 15). Ponadto znany jest fakt, że stymulacja funkcji jajników w dużym stopniu jest również uwarunkowana fazą *anestrus*, przy czym jest ona łatwiejsza w okresie późnego *anestrus* (2, 13, 26). Wzrost receptywności tkanek jajników na gonadotropiny, przy stopniowym wzroście sekrecji tych hormonów w tym okresie jest bowiem uznawany za główny fizjologiczny mechanizm powrotu jajników suk do funkcji (5). Metody hormonalnej indukcji

czynności jajników u suk powinny bowiem w sposób najpełniejszy naśladować fizjologiczne procesy rozpoczynające sezonową aktywność płciową. Są one związane z pojawiającą się ponownie sekrecją gonadotropin oraz wrażliwością receptorową na nie tkanek jajnika (9, 10, 21).

Mechanizm stymulacji jajników gonadotropinami polega na kilkudniowym pobudzeniu wzrostu i rozwoju pęcherzyków jajnikowych (eCG), następnie zaś na indukcji procesu owulacji przez iniekcję hCG (3, 4, 16, 24, 30, 31). Trudniej jest wyjaśnić zjawisko oddziaływania na jajniki kabergoliny. Dowiedziono, że zmniejszone w wyniku jej podawania wydzielanie prolaktyny i ewentualnie progesteronu podnosi receptywność tkanek jajnika na FSH (18, 19). Jednakże mechanizm ten nie wydaje się nie odgrywać istotnej roli u suk w *anestrus* ze względu na niski w tym okresie poziom wymienionych hormonów. Istnieją także sugestie o bezpośrednim lub pośrednim oddziaływaniu dopaminergicznym kabergoliny na układ podwzgórze–przysadka i stymulacji wydzielania gonadotropin (19). Ponadto substancja ta pobudza aktywność aromatazy, enzymu istotnego dla biosyntezy estrogenów (19). Jak wynika z powyższego, każda z badanych metod jedynie częściowo wykorzystuje fizjologiczne mechanizmy istniejące w okresie fizjologicznego przejścia fazy *anestrus* w *proestrus*. Należy przy tym jednak dodać, że zjawiska te nie są jeszcze w pełni poznane. Kliniczna charakterystyka cieczki indukowanej także różniła obie oceniane metody. W grupie stymulowanej gonadotropinami długość *proestrus* i *estrus* była skrócona o około 3 dni w stosunku do cieczki fizjologicznej. Ponadto takie objawy kliniczne cieczki, jak obrzmienie sromu, krwawienie oraz wypływ z dróg rodnych były słabiej zaznaczone. Dotyczyło to także odruchu tolerancji (tab. 1). Zbliżony przebieg kliniczny cieczki indukowanej gonadotropinami obserwowali także inni autorzy (7, 24). Generalnie jednak opisów takich jest w piśmiennictwie niewiele. Cieczki indukowane kabergoliną były natomiast, zarówno odnośnie do długości *proestrus* i *estrus*, jak również towarzyszącej im symptomatyki, bardzo zbliżone do cieczki spontanicznej. Podobny pogląd reprezentuje Verstegen i wsp. (25-27). Obserwowano przy tym jedynie nieco wolniejsze narastanie charakterystycznych dla tego okresu objawów.

Dla klinicznej oceny metod stymulacji czynności jajników duże praktyczne znaczenie posiada również określenie długości okresu od rozpoczęcia terapii do pojawienia się pierwszych objawów klinicznych *proestrus*, takich jak obrzęk sromu i krwawienie. W badaniach własnych stwierdzono w tym względzie istotne różnice między grupami doświadczalnymi. Suki, które otrzymywały gonadotropiny, przejawiały te objawy już po 5-7 dniach, natomiast stymulowane kabergoliną zdecydowanie później, po 8-16 dniach. Obserwowano przy tym duże różnice osobnicze. W piśmiennictwie istnieje na ogół zgodność odnośnie do szyb-

kiej klinicznej reakcji zwierząt po stosowaniu gonadotropin (1, 2, 12, 22), natomiast przy stymulacji kabergoliną obserwowano w tym względzie ogromne osobnicze rozbieżności (11, 27). Odmienny przebieg kliniczny cieczki indukowanej gonadotropinami lub kabergoliną wynika zapewne z różnych, opisanych powyżej, mechanizmów hormonalnych towarzyszących podawaniu tych substancji. Wydaje się przy tym, że stosowanie gonadotropin ma cechy hyperstymulacji, podczas gdy podawaniu kabergoliny towarzyszą bardziej naturalne procesy.

Podstawowym warunkiem płodności suk w indukowanej cieczce jest zaistnienie w nich owulacji (1, 24). W niniejszych badaniach u 15-25% zwierząt stwierdzono cieczkę bezowulacyjną (tab. 1). Dotyczyło to zwłaszcza suk stymulowanych kabergoliną. Brak owulacji u niektórych zwierząt jest uznawany za czynnik ograniczający generalną zasadność stosowania hormonalnej indukcji jajników. Według danych piśmiennictwa (23) istnieją ogromne rozbieżności dotyczące odsetka suk z brakiem owulacji po hormonalnej stymulacji cieczki. Różnice te mogą wynikać zarówno z indywidualnego i odmiennego u każdego leczonego zwierzęcia statusu hormonalno-biochemicznego, jak i różnych metod stymulacji jajników oraz diagnozowania owulacji zastosowanych przez różnych autorów (12, 23, 24). W badaniach własnych owulacje diagnozowano poprzez wagnoskopię, badania cytologiczne oraz określanie poziomu progesteronu, które uznawane są za metody najbardziej do tego celu przydatne (5, 6). Interesujący jest fakt, że suki stymulowane gonadotropinami wykazywały szybszy wzrost koncentracji progesteronu w porównaniu z sukami otrzymującymi kabergolinę. Również poziom progesteronu w momencie owulacji był u nich odpowiednio wyższy, a różnice te były statystycznie istotne (tab. 1).

Z praktyczno-hodowlanego punktu widzenia niezmiernie istotny jest również termin owulacji (6). W grupie zwierząt otrzymujących kabergolinę owulacja miała miejsce na ogół między 11-14 dniem cieczki, co odpowiada terminowi fizjologicznemu. Natomiast u zwierząt stymulowanych gonadotropinami, z reguły pojawiała się już 6. dnia cieczki, co, jak wcześniej wspomniano, było dodatkowo związane ze skróconą długością *proestrus* i *estrus*. Owulacja ta miała najczęściej miejsce ostatniego dnia *proestrus* lub występowała na przełomie *proestrus* i *estrus*. W porównaniu do cieczki spontanicznej termin ten należy uznać za znacznie przyspieszony. Zbliżony do uzyskanego w badaniach własnych termin owulacji u zwierząt po stymulacji gonadotropinami obserwowali Thun i wsp. (24). Natomiast w zdecydowanej większości badań poświęconych pobudzeniu czynności jajników u suk brak jest w ogóle odniesienia się ich autorów do tego problemu (22).

Podsumowując, należy stwierdzić, że w świetle badań własnych indukcja rui u suk gonadotropinami wydaje się cechować wyższą skutecznością, jednakże

pojawiająca się w jej efekcie cieciska odbiega klinicznie od spontanicznej aktywności płciowej. Różnice te dotyczą głównie skróconej długości *proestrus* i *estrus*, osłabionego odruchu tolerancji oraz wcześniejszej niż fizjologicznie owulacji. Natomiast przy użyciu kabergoliny aktywność płciowa została uzyskana u mniejszego odsetka zwierząt. Przy tym jednak cieciska ta była bardzo zbliżona do fizjologicznej, zaś owulacja miała miejsce w prawidłowym terminie. Bez wątpienia jednak za wadę tej metody należy uznać konieczność długotrwałej terapii. Niezmiernie istotne jest zatem dokładne śledzenie przebiegu klinicznego ciecisk oraz wykonywanie dodatkowych badań ginekologicznych, tak aby precyzyjnie wyznaczać moment krycia lub inseminacji. Z powyższego wynika, że każda z ocenianych metod indukcji czynności jajników cechuje się własną specyfiką, która powinna być brana pod uwagę przy ich doborze u indywidualnych zwierząt uwzględniającym wskazania lekarskie, życzenia właścicieli oraz możliwości praktyczne. Jako czynnik ograniczający płodność leczonych zwierząt należy brać pod uwagę możliwość pojawiania się cieciski bezowulacyjnej.

Należy także dodać, że badania własne były wykonane na dużym materiale zwierzęcym, znacznie przekraczającym liczbę zwierząt użytych przez innych autorów (1, 12, 23, 28, 30, 31). Tylko w badaniach Thuna i wsp. (24) użyto zbliżonej liczby zwierząt. Warto przy tym także podkreślić, że niniejsze badania zrealizowano głównie na sukach mieszańcach, co najbliższe odpowiada warunkom codziennej praktyki klinicznej. Szereg innych badań dotyczy głównie wybranych ras psów, przy czym najczęściej były to psy rasy beagle, które powszechnie traktowane są jako zwierzęta laboratoryjne (11, 13, 18-20). Żałować jedynie należy, że w badaniach własnych nie istniała możliwość weryfikacji płodności suk w indukowanej ciecisce poprzez ich krycie oraz późniejsze diagnozowanie ciąży i określenie liczby młodych i odchowanych szczeniąt. Niedostatek ten łagodzi jednak fakt, że do oceny aktywności płciowej badanych zwierząt zastosowano łącznie wszystkie najnowsze metody diagnostyczne (waginoskopia, cytologia, poziom progesteronu).

Piśmiennictwo

1. Archbald L. F., Baker B. A., Clooney L. L., Godke R. A.: A surgical method for collecting canine embryos after induction of estrus and ovulation with exogenous gonadotropins. *Vet. Med. Small. Anim. Clin.* 1980, 75, 230-238.
2. Arnold S., Arnold P., Concannon P. W., Weilenmann R., Hubler M., Casal M., Döbeli M., Fairburn A., Eggenberger E., Rüschi P.: Effect of duration of PMSG treatment on induction of oestrus, pregnancy rates and the complications of hyper-oestrogenism in dogs. *J. Reprod. Fert.* 1989, Suppl. 39, 115-122.
3. Chaffaux S., Locci D., Pontois M., Deletang F., Thibier M.: Induction of ovarian activity in anoestrous beagle bitches. *Br. Vet. J.* 1984, 140, 191-195.
4. Chakraborty P. K., Wildt D. E., Seager S. W. J.: Induction of estrus and ovulation in the cat and dog. *Vet. Clin. N. Am. Small. Anim. Pract.* 1982, 12, 85-91.
5. Concannon P. W.: Canine physiology of reproduction, [w:] Burke T. J.: *Small Animal Reproduction and Infertility. A Clinical Approach to Diagnosis and Treatment*, Lea&Febiger, Philadelphia 1986, 23-77.
6. Günzel-Apel A.-R.: Kontrola owulacji u suk i kotek, [w:] *Problemy rozrodu i choroby psów i kotów. Materiały VI Polsko-Niemieckiego Symp. Fizjologii i Patologii Rozrodu Zwierząt*. Warszawa 16.09.2000, s. 4-6.
7. Handaja Kusuma P. S., Tainturier D.: Comparison of induction of oestrus in dogs using metergoline, metergoline plus human chorionic gonadotrophin, or pregnant mares' serum gonadotrophin. *J. Reprod. Fert.* 1993, Suppl., 47, 363-370.
8. Hoffman B., Kyrein H. J., Endler M. L.: An efficient procedure for the determination of progesterone by radioimmunoassay applied to bovine peripheral plasma. *Horm. Res.* 1973, 4, 302-310.
9. Hoffman B., Riesenbeck A., Klein R.: Reproductive endocrinology of bitches. *Anim. Reprod. Sci.* 1996, 42, 275-288.
10. Jeffcoate I. A.: Concentrations of luteinizing hormone and oestradiol in plasma and response to injection of gonadotrophin-releasing hormone analogue at selected stages of anoestrus in domestic bitches. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 47, 69-76.
11. Jeukenne P., Verstegen J.: Termination of dioestrus and induction of oestrus in dioestrous nonpregnant bitches by the prolactin antagonist cabergoline. *J. Reprod. Fert.* 1997, Suppl., 51, 59-66.
12. Jones G. E., Boyns A. R., Bell E. T., Christie D. W., Parkes M. F.: Immunoreactive luteinizing hormone and progesterone during pregnancy and following gonadotropin administration in beagle bitches. *Acta Endocrinol.* 1973, 72, 573-581.
13. Jöchle W., Arbeiter K., Post K., Ballabio R., D'Ver A. S.: Effects on pseudo-pregnancy, pregnancy and interoestrus intervals of pharmacological suppression of prolactin secretion in female dogs and cats. *J. Reprod. Fert.* 1989, Suppl., 39, 199-207.
14. Karczewski W.: Indukcja rui u suk. *Nowa Weterynaria* 1996, numer specjalny, X, 29-31.
15. Kutzler M. A.: Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology* 2005, 64, 766-775.
16. Nakao T., Yukiyo A., Fukushima S., Moriyoshi M., Kawata K.: Induction of estrus in bitches with exogenous gonadotropins, and pregnancy rate and blood progesterone profiles. *Jpn. J. Vet. Sci.* 1985, 47, 17-24.
17. Niżański W., Dejneka G. J.: Leczenie zaburzeń przebiegu cieciski u suk za pomocą niskich dawek gonadotropiny kosmówkowej klaczy (eCG). *Medycyna Wet.* 2003, 596-602.
18. Onclin K., Silva L. D. M., Donnay I., Verstegen J. P.: Luteotrophic action of prolactin in dogs and the effects of a dopamine agonist, cabergoline. *J. Reprod. Fert.* 1993, Suppl., 47, 403-409.
19. Onclin K., Verstegen J. P.: In vivo investigation of luteal function in dogs: Effects of cabergoline, a dopamine agonist, and prolactin on progesterone secretion during mid-pregnancy and -dioestrus. *Dom. Anim. Endocrin.* 1997, 14, 25-38.
20. Onclin K., Verstegen J., Silva L. D. M., Concannon P.: Patterns of circulating prolactin, LH and FSH during dopamine-agonist induced termination of anoestrus in beagle dogs. *Biol. of Reprod.* 1995, 52, Suppl. 1, 35, abstr. 314.
21. Riesenbeck A.: Untersuchungen über die Verfügbarkeit von LH bei graviden und graviden Hündinnen und zur Behandlung des Regelfaktors PGF2 α für die Luteolyse im peripartalen Zeitraum. *Praca dokt.*, Giessen 1997.
22. Scroggie N. J.: The treatment of sterility in the bitch, by use of gonadotropic hormones. *Vet. Rec.* 1939, 51, 265-268.
23. Shille V. M., Thatcher M. J., Simmons K. J.: Efforts to induce estrus in the bitch, using pituitary gonadotropins. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1984, 184, 1469-1473.
24. Thun R., Watson P., Jackson G. L.: Induction of estrus and ovulation in the bitch, using exogenous gonadotropins. *Am. J. Vet. Res.* 1977, 38, 483-486.
25. Verstegen J. P. L., Onclin K., Silva L. D. M., Concannon P. W.: Early termination of anoestrus and induction of fertile estrus in dogs by the dopamine superagonist cabergoline. *Biol. of Reprod.* 1994, 50, Supplement 1 str. 157, abstr. 410.
26. Verstegen J., Onclin K., Silva L., Concannon P.: Termination of obligate anoestrus and induction of fertile ovarian cycles in dogs by administration of purified pig LH. *J. Reprod. Fert.* 1997, 111, 35-40.
27. Verstegen J. P., Onclin K., Silva L. D. M., Concannon P. W.: Effect of stage of anoestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs. *Theriogenology* 1999, 51, 597-611.
28. Wanke M. M., Farina J., Loza M. H., Rebutello M., Concannon P. W.: Induction of estrus in bitches with normal and persistent anoestrus using human menopausal gonadotropin (hMG). *Theriogenology* 1997, 47, 935-942.
29. Weilenmann R., Arnold S., Döbeli M., Rusch P., Zerobin K.: Estrus induction in bitches by the administration of PMSG and HCG. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 1993, 135, 236-241.
30. Wright P. J.: The induction of oestrus and ovulation in the bitch using pregnant mare serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. *Aust. Vet. J.* 1980, 56, 137-140.
31. Wright P. J.: The induction of oestrus in the bitch using daily injections of pregnant mare serum gonadotrophin. *Aust. Vet. J.* 1982, 59, 123-124.

Adres autora: dr Andrzej Jurczak, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn;
e-mail: docand@uwm.edu.pl