**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS**

**VETERINARIJOS AKADEMIJA**

Veterinarijos fakultetas

**Ieva Orlauskaitė**

**GnRH agonisto, metų laiko bei kalės veislės dydžio ir amžiaus įtaka ovuliacijos pasireiškimo laikui**

**Influence of GnRH agonist, seasonality, size and age of the bitch on ovulation time**

Veterinarinės medicinos vientisųjų studijų

**MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS**

Darbo vadovė: Prof., dr. Vita Riškevičienė

KAUNAS 2014

DARBAS ATLIKTAS UŽKREČIAMŲ LIGŲ KATEDROJE

PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas

**„****GnRH agonisto, metų laiko bei kalės veislės dydžio ir amžiaus įtaka ovuliacijos pasireiškimo laikui“***.*

1. Yra atliktas mano pačios;
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje;
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą panaudotos literatūros sąrašą.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| *(data)* | *(autoriaus vardas, pavardė)* | *(parašas)* |

**PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ ATLIKTAME DARBE**

Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklingumą atliktame darbe.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| *(data)* | *(autoriaus vardas, pavardė)* | *(parašas)* |

**MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADOS DĖL DARBO GYNIMO**

|  |
| --- |
|  |
|  |  |  |
| *(data)* | *(darbo vadovo vardas, pavardė)* | *(parašas)* |

**MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE/KLINIKOJE**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| *(aprobacijos data)* | *(katedros/klinikos vedėjo/jos vardas, pavardė)* | *(parašas)* |

**Magistro baigiamojo darbo recenzentas**

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| *(vardas, pavardė)* | *(parašas)* |

**Magistro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
| *(data)* | *(gynimo komisijos sekretorės (-riaus) vardas, pavardė)* | *(parašas)* |

**Magistro baigiamasis darbas yra įdėtas į ETD IS**

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
|  | *(gynimo komisijos sekretorės (-riaus) parašas)* |

Turinys

[Sutrumpinimai 6](#_Toc377035843)

[Santrauka 7](#_Toc377035844)

[Summary 7](#_Toc377035845)

[Įvadas 9](#_Toc377035846)

[1. Literatūros apžvalga 11](#_Toc377035847)

[1.1. Kalės lytinio ciklo fiziologija 11](#_Toc377035848)

[1.2. Kalių lytinis ciklas ir jo neurohumoralinė reguliacija 12](#_Toc377035849)

[1.2.1. Priešrujis (proestrus) 13](#_Toc377035850)

[1.2.2. Ruja (estrus) 14](#_Toc377035851)

[1.2.3. Porujis (diestrus) 16](#_Toc377035852)

[1.2.4. Tarprujis (anestrus) 17](#_Toc377035853)

[1.4. Ovuliacijos laiko nustatymas pagal progesterono koncentraciją kraujyje 18](#_Toc377035854)

[1.5.GnRH bei GTH svarba kalės lytiniam ciklui 18](#_Toc377035855)

[1.6. Rujos sukėlimas bei sinchronizavimas 19](#_Toc377035856)

[1.7. GnRH agonistai ir jų veikimas 20](#_Toc377035857)

[1.8. GnRH agonistų panaudojimas gyvūnų lytinei funkcijai reguliuoti 20](#_Toc377035858)

[2. Metodai ir medžiagos 23](#_Toc377035859)

[3. Tyrimo rezultatai 27](#_Toc377035860)

[3.1.Vidutinis kalių ovuliacijos pasireiškimo laikas 28](#_Toc377035861)

[3.2. Kalės ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybė nuo veislės dydžio 29](#_Toc377035862)

[3.3. Kalės ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybė nuo kalės amžiaus 31](#_Toc377035863)

[3.4. Kalės ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybė nuo metų laiko 32](#_Toc377035864)

[3.5. Kalės rujos sukėlimas panaudojus GnRH agonistų poodinius implantus 34](#_Toc377035865)

[3.5.1. Pirmas atvejis 34](#_Toc377035866)

[3.5.2. Antras atvejis 35](#_Toc377035867)

[3.5.3. Trečias atvejis 36](#_Toc377035868)

[3.5.4. Ketvirtas atvejis 37](#_Toc377035869)

[3.6. GnRH agonisto *Suprelorin* įtakotos ovuliacijos pasireiškimo laiko su natūraliai pasireiškusios rujos ovuliacijos laiku palyginimas 38](#_Toc377035870)

[4. Rezultatų aptarimas 40](#_Toc377035871)

[6. Išvados 42](#_Toc377035872)

[7. Rekomendacijos 43](#_Toc377035873)

[8. Priedai 43](#_Toc377035874)

[Padėka 53](#_Toc377035875)

Sutrumpinimai

FSH – folikulus stimuliuojantis hormonas

GnRH – gonadotropinus atpalaiduojantis hormonas

GTH – gonadotropiniai hormonai

hCG – žmonių choriongonadotropinas

hMG – žmonių menopauzės gonadotropinas

IgG – imunoglobulinas G

JT – Jorkšyrų terjeras

KA – Kaukazo aviganis

KKSG – kumelingų kumelių kraujo serumo gonadotropinai

LH – liuteinizuojantis hormonas

M – mišrūnas

VA – Vokiečių aviganis

# Santrauka

Šio darbo tikslas buvo nustatyti ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybę nuo kalės veislės dydžio ir amžiaus bei metų laiko, bei palyginti GnRH agonisto *Suprelorin* implanto sukeltos ovuliacijos pasireiškimo laiką su natūraliai pasireiškusios rujos ovuliacijos laiku. Šiam tikslui pasiekti pirmiausiai buvo ištirta 194 kalių (51 skirtingos veislės) progesterono koncentracija kraujo serume. Iš šių kalių buvo atrinktos tos kalės, kurioms pagal progesterono koncentraciją pasireiškė ovuliacija (53 kalės). Nustatyta, kad progesterono koncentracija kraujo serume siekė 20-30 nmol/l. Kalės buvo suskirstytos į grupes: pagal amžių (2 grupės – iki 5 metų (n=41); 5 metų ir vyresnės (n=12) ), pagal veislės dydį (3 grupės – mažos (n=22), vidutinės (n=14) ir didelės (n=17) veislės), pagal sezoną (4 grupės – žiema (n=3), pavasaris (n=16), ruduo (n=11), vasara (n=23) ). Pagal kiekvieną požymį statistiškai buvo įvertinti ovuliacijos pasireiškimo laiko skirtumai tarp grupių, bei įvertinta ovuliacijos priklausomybė nuo kalės amžiaus, dydžio, metų laiko. Statistiškai patikimų skirtumų tarp grupių ir koreliacinių ryšių tarp ovuliacijos pasireiškimo laiko ir kalės amžiaus ir dydžio, bei metų laiko nebuvo nustatyta. Panašių tyrimų iki šiol buvo atlikta labai mažai, todėl informacija yra vertinga.

Paskutiniame tyrimųetape4 kalėms buvo panaudoti GnRH agonisto *Suprelorin* implatai rujai sukelti. Implantas buvo įvedamas po oda, bambos srityje. Po įvedimo buvo imamas kraujas kelis kartus kas 3-5 dienas, kad ištirti progesterono koncentraciją. Tyrimai buvo atliekami iki ovuliacijos momento (20-30 nmol/l). Kalės nebuvo kergiamos ar sėklinamos, todėl *Suprelorin* implantas buvo paliktas lytiniam ciklui blokuoti. Gautus rezultatus palyginome su natūraliai pasireiškusios ovuliacijos laiku. Nustatėme, kad ovuliacija po GnRH agonisto panaudojimo pasireiškė 1,05d. vėliau nei natūraliai rujojusių kalių.

# Summary

The main goal of this paper was to determine whether or not there is a significant influence of GnRH agonist, seasonality, age and size of the bitch on ovulation time, and to compare ovulation time induced by GnRH agonist *Suprelorin* implant and the ovulation time that occured naturally. To achieve this goal we tested the blood of 194 bitches (51 breeds) for progesterone levels in blood serum. Out of these 194 bitches we selected the ones (53 bitches) that ovulated. Meaning, the progesterone levels for these 53 bitches varied between 20-30 nmol/l. These 53 bitches were divided into groups: by age (2 groups – younger than 5 years (n=41); 5 years old and older (n=12),, by size (3 groups – small (n=22), medium (n=14), large (n=17), and by season (4 groups – winter (n=3), spring (n=16), summer (n=11), autumn (n=23). All the groups were statistically analyzed to determine whether or not there is a significant difference between the groups, and to determine if there are correlations between the ovulation time and the size and age of the bitch and time of year (season). No significant difference or correlations were determined. We have found a little information about influence of seasonality, and age and size of the bitch on ovulation time, so the information in this paper is valuable.

For the last step to achieving the goal of the paper, GnRH agonist *Suprelorin* implant was used on 4 bitches. The agonist was implanted subcutaneously around the navel area. After the implantation blood was drawn several times every 3 to 5 days to test for progesterone levels in blood serum. This was continued until progesterone levels reached 20-30 nmol/l (ovulation time). The implants were left subcutaneously to block the sexual cycle, because the bitches were not used for breeding or insemination. The results from this step were compared with the natural ovulation time results. We determined that GnRH agonist *Suprelorin* implant induced ovulation 1,05days later compare with naturally manifested ovulation.

# Įvadas

Lytinis ciklas yra fiziologinių, hormoninių, elgsenos bei kitų pokyčių visuma vykstanti cikliškai (Feldman & Nelson, 2004). Kalių augintojams norintiems, kad jų gyvūnas atsivestų palikuonių svarbiausia žinoti kada įvyksta ovuliacija kalės lytinio ciklo metu.

Ovuliacija, tai lytinio ciklo momentas, kuomet kiaušialąstė išsilaisvina iš folikulo ir pradeda judėti kiaušintakio link. Šis laikas svarbus todėl, kad žinant ovuliacijos laiką, galima nustatyti optimalų kergimo ar sėklinimo laiką ir tokiu būdu išspręsti kalių apsivaisinimo problemą ir padidinti vados dydį, su kuria susiduria daugelis veisėjų (van Klaveren et al., 2001; Laurusevičius, 2009). Laurusevičius, (2009) savo darbe rašė, kad didžiausios šuniukų vados atvedamos tada, kai kalė būna sėklinama ar kergiama po ovuliacijos praėjus 2-4 dienoms .

Tačiau iškyla klausimas – ar visų veislių kalių ovuliacija pasireiškia tuo pačiu metu? Ar ovuliacijos pasireiškimo laikui įtakos turi kalės amžius ir kalės dydis? Ar ovuliacijos pasireiškimo laikas yra priklausomas nuo metų laiko? Į šiuos klausimus literatūroje nepavyko rasti aiškaus atsakymo.

Praktikoje, norint, kad kalė rujotų reikiamu metu, rują bandoma sukelti dirbtiniu būdu. Rujos sukėlimui naudojami hormoniniai preparatai, kaip pavyzdžiui sintetiniai estrogenai, dopamino agonistai, GnRH agonistai, bei egzogeniniai gonadotropinai. Sintetiniai estrogenai skatina formuotis daugiau folikulų kiaušidėse, tuo pačiu padidindami ovocitų gamybą; dopamino agonistai stimuliuodami natūralaus GnRH išsiskyrimą, sukelia rują; GnRH agonistai veikdami hipofizę sukelia liuteinizuojančio ir folikulus stimuliuojančio hormonų sekreciją, kurie veikdami kiaušides sukelia rują; egzogeniniai gonadotropinai tiesiogiai veikia kiaušides sukeldami rują (Kutzler, 2005; Kutzler, 2007; Walter et al., 2011).

GnRH agonistas deslorelino acetatas – *Suprelorin* poodinis implantas dažniausiai yra naudojamas šunų bei šeškų cheminei sterilizacijai atlikti, tačiau yra keletas autorių (Trigg et al., 2001; Rubion et al., 2006; Maddison et al., 2008; Romagnoli et al., 2009; Arnold et al., 2010; Fontaine & Fontbonne, 2011; Walter et al., 2011), kurie šiuos implantus panaudojo kalių rujai sukelti arba blokuoti. Jų rezultatuose minima, kad lytinio ciklo blokavimas sėkmingiausias kai *Suprelorin* implantas įvedamas *diestrus* fazėje, o ruja sukeliama implantą įvedus *anestrus* fazėje.

Tačiau literatūroje taip pat nebuvo rasta pakankamai informacijos kaip GnRH agonistai sukelia kalių rują ir ovuliaciją, ar panaudojus GnRH agonisto implantą rujai sukelti, ovuliacija pasireiškia greičiau nei natūralios rujos metu?

Tuo vadovaudamiesi mes iškėlėme sau **darbo tikslą** nustatyti ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybę nuo kalės veislės dydžio ir amžiaus bei metų laiko, bei palyginti GnRH agonisto sukeltos ovuliacijos pasireiškimo laiką su natūraliai pasireiškusios rujos ovuliacijos laiku.

Šiam tikslui įgyvendinti buvo sprendžiami šie **uždaviniai**:

1. Nustatyti kalės veislės dydžio įtaką ovuliacijos pasireiškimo laikui;
2. Nustatyti kalės amžiaus įtaką ovuliacijos pasireiškimo laikui;
3. Nustayti metų laiko įtaką ovuliacijos pasireiškimo laikui;
4. Nustatyti koreliacinius ryšius tarp ovuliacijos pasireiškimo laiko ir kalės veislės, amžiaus ir metų laiko;
5. Individualiai įvertinti GnRH agonisto *Suprelorin* įtaką kalių ovuliacijos pasireiškimo laikui;
6. Palyginti GnRH agonisto *Suprelorin* įtakotos ovuliacijos pasireiškimo laiką su natūraliai pasireiškusios rujos ovuliacijos laiku.

# 1. Literatūros apžvalga

## 1.1 Kalės lytinio ciklo fiziologija

Daugelio naminių gyvūnų patelių ruja vidutiniškai pasireiškia kas 21 diena. Jei sėklinimo metu patelė apsivaisina kiaušidėse esančių nesubrendusių folikulų progresinis vystymasis sustoja iki atvedimo ir vėl tampa aktyvus po jauniklių atjunkymo (Jeffcoate & England, 1998; Laurusevičius, 2009).

Skirtingai nuo žemės ūkio gyvulių, kalės yra monocikliniai gyvūnai (Walter et al., 2011), jos rujos sezoniškumą prarado per ilgai trukusį prijaukinimo (domestikacijos) laikotarpį. Šiandieninių naminių kalių lytinis ciklas vidutiniškai užtrunka apie 5 mėnesius. Todėl natūraliai kalių ruja dažniausiai pasireiškia 2 kartus per metus, o tarp lytinio ciklo būna ramybės fazė ir šuningumo periodas savo trukme lygus porujo stadijai (Jeffcoate & England, 1998; Farstad, 2000; Laurusevičius, 2009). Šuningų kalių ramybės stadijos trukmė svyruoja nuo 56-58 dienų iki 60-100 dienų jei kalė per tą laiką neapsivaisina (Marti, 2008).

Lytinis ciklas yra fiziologinių, hormoninių, elgsenos bei kitų pokyčių visuma, vykstanti cikliškai (Feldman & Nelson, 2004). Kalių lytinis cikliškumas pasireiškia pasiekus lytinę brandą, kurios kalės sulaukia būdamos 6-20 mėnesių amžiaus (Arthur, 2001; Cunningham & Klein, 2007; Concannon, 2011). Taigi vertinant skirtingų autorių nuomonę matyti, kad lytinio ciklo pradžia yra susijusi ir su kalių veisle (dydžiu), nes, kaip nurodo Feldman & Nelson, (2004) pirmasis mažų veislių kalių lytinis ciklas gali pasireikšti joms sulaukus 6-13 mėnesių amžiaus, o didelių veislių kalių - iki 1 metų amžiaus, tačiau kai kurioms didelių veislių kalėms lytinis ciklas pasireiškia tik 18-24 mėnesių amžiaus. Paprastai pirmasis kalės lytinis ciklas pasireiškia keletą mėnesių po to, kai kalė pasiekia suaugusio šuns ūgį bei svorį (Feldman & Nelson, 2004). Atlikti tyrimai parodė, kad įprastai biglių veislės kalės pirmą kartą pradeda rujoti sulaukusios 7-10 mėnesių amžiaus, tačiau eksperimento metu biglių veislės kalių ruja pasireiškė nuo 6 iki 13 amžiaus mėnesio (Concannon, 1987; Laurusevičius, 2009).

Kaip ir kitų gyvūnų rūšių patelės taip ir kalėms kartais pasireiškia taip vadinama tyli ruja. Kurios metu jokie išoriniai rujos pažymiai nepasireiškia, nors iš tiesų kiaušidėse folikulai subręsta ir įvyksta ovuliacija (Concannon, 1980). Laurusevičius (2009) yra nustatęs, kad jei kalė nesurujoja iki dviejų metų amžiaus, to vadinti lytinio ciklo pasireiškimo sutrikimu nereiktų, nes laisvėje laikomos kalės rujoti pradeda anksčiau nei laikomos namuose. Tačiau, pasak M. A. Kutzler (2005), rujos nepasireiškimas iki 24 mėnesių amžiaus gali rodyti pagumburio-hipofizės-kiaušidžių humoralinio ryšio sutrikimą, nors tai iki galo dar nėra įrodytas faktas.

Kalių lytinis ciklas yra monoestrinis, taigi ruja pasireiškia 1-2 kartus per metus (Concannon, 2011; Walter et al., 2011). Tačiau, Ajala et al., (2012) teigia, kad kai kurios mažų veislių kalės gali turėti net 3-4 ciklus per metus, o didelių veislių – tik 1 ciklą. Tarp ciklų gali būti 5-11 mėnesių pertrauka, ir kiekvienas ciklas gali trukti nuo 3,5 mėnesio iki 13 mėnesių, tačiau lytinio ciklo trukmė gali būti skirtinga kiekvienai veislei (Kutzler, 2005; Aydin et al., 2011).

Yra nustatyta, kad tarprujo intervalas Šiurkščiakailiams koliams trunka 37 savaites (9,25 mėnesio), Vokiečių aviganiams – 26 savaites (6,5 mėnesio), Skalikams – vidutiniškai 8,1 mėnesio, o vidutiniškai bendrai visoms kalėms apie 31 savaitę (7,75 mėnesio) (Ajala et al., 2012).

## 1.2. Kalių lytinis ciklas ir jo neurohumoralinė reguliacija

Lytinio ciklo reiškiniai bei ritmiškumas priklauso nuo organizmo neurohumoralinės sistemos veiklos. Daugiausiai lytinės veiklos funkcija priklauso nuo hipofizės, dar vadinamos posmegenine liauka bei lytinių liaukų (Mockutė, 2010).

Nervų sistema reguliuoja greitai įvykstančias ir bendras visam organizmui reakcijas, o humoralinė reguliacija pasižymi specifiškesniu ir ilgesniu veikimu (Feldman & Nelson, 2004; Mockutė, 2010; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013).

Hipofizė, tai mažas neporinis organas, esantis tiesiai po smegenimis, kaulinėje duobelėje (Sjaastad et al., 2010). Hipofizės lokalizacija parodyta 1 paveiksle. Hipofizė susideda iš trijų dalių:

1. Priekinės - *pars distalis*;
2. Vidurinės – *pars intermedia*;
3. Užpakalinės – *pars nervosa*;

Priekinė ir vidurinė dalys kartu vadinamos adenohipofize, o užpakalinė – neurohipofize. Hipofizės hormonų išsiskyrimą įtakoja nervų sistema, bei pagumburys. Hipofizė atsakinga ne tik už lytinę reguliaciją. Adenohipofizė išskiria tokius hormonus kaip augimo hormonas (atsakingas už gyvūno augimą), prolaktinas (pieno liaukos vystymasis, laktacija), skydliaukę stimuliuojantis hormonas (skydliaukės reguliacija).

Pagumburys, dar vadinamas hipotalamusu, kuris yra tarpinėse smegenyse, po regos gumburais(1 pav.), gamina į hormonus panašias medžiagas – „releasing“ faktorių. Jis veikia kaip tarpininkas tarp nervų sistemos bei endokrininės sistemos. Jis skatina posmegeninės liaukos trofinių hormonų išsiskyrimą. Pagumburyje išskiriamo GnRH dėka hipofizėje išskiriami hormonai – gonadotropinai, kuriems priklauso: FSH – folikulus stimuliuojantis hormonas, skatinantis folikulų augimą ir brendimą kiaušidėse; bei LH – liuteizuojantis hormonas, kuris skatina susiformavusių folikulų liuteinizaciją. Susiformavę folikulai išskiria estrogenus, o liuteinizavę – progesteroną (Feldman & Nelson, 2004; Cunningham & Klein, 2007; Mockutė, 2010; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013).

****

**1 pav. – Hipofizės ir pagumburio lokalizacija šuns organizme.** *http://brainmind.com/LimbicLanguage.html*

Lytinis ciklas susideda iš keturių fazių:

* priešrujis (*proestrus*);
* ruja (*estrus*);
* porujis (*diestrus*);
* tarprujis (*anestrus*)

(Feldman & Nelson, 2004; Cunningham & Klein, 2007; Mockutė, 2010; Sjaastad et al., 2010;Klein, 2013)

Tuo tarpu Ajala et al., (2012) kalių lytinio ciklo fazes įvardina kitaip: estrogeninės arba folikulinės, susidedančios iš priešrujo ir rujos, bei progesteroninės arba liuteininės, susidedančios iš porujo, tuo tarp tarprujis yra reprodukcinės tylos periodas.

### 1.2.1.Priešrujis (proestrus)

Priešrujis yra pirmoji lytinio ciklo fazė. Šios fazės metu pasireiškia ryškus lytinės sistemos aktyvumo padidėjimas. Ši fazė dažniausiai nustatoma iš klinikinių požymių, kaip kraujavimas iš makšties (pagrindinis požymis), lytinių lupų paraudimas, makšties gleivinės paburkimas, padidėjęs patinų susidomėjimas kale, bei kalės atgrasumas patino atžvilgiu (Feldman & Nelson, 2004). Ši fazė trunka nuo 6 iki 11 dienų (vidutiniškai 9 dienos) (Feldman & Nelson, 2004), tuo metu kalė pradeda prisileisti patiną (Laurusevičius, 2009).

Priešrujo metu sustiprėja su šlapimu išskiriamų hormonų (feromonų) sintezė kalės makšties prieangio gleivinėje. Tuo tikslu kalė pradeda daug dažniau šlapintis ir feromonais skleisti informaciją aplinkoje, tampa draugiška ir atkreipia į save patinų dėmesį, tačiau nesileidžia kergiama (Laurusevičius, 2009), kartais gali pasireikšti ir priešingas elgesys – net agresyvumas (Feldman & Nelson, 2004). Makštis būna paraudusi, edemiška ir sustorėjusi, tai sudaro kliūtį patinui kergti. Tačiau būdingiausias priešrujo požymis – kraujingos išskyros iš makšties, tai pasireiškia dėl gimdos kapiliarų plyšimo (Cunningham & Klein, 2007; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013). Kraujingos išskyros teka pro atvirą gimdos kaklelį, patenka į makštį, o iš šios per lytinį plyšį laukan (Feldman & Nelson, 2004; Klein, 2013;). Kai kurios kalės gali švariai nusilaižyti tarpvietę, dėl ko pirmoji priešrujo diena gali būti ir nepastebėta (Feldman & Nelson, 2004).

Kalės organizme priešrujo metu dominuoja estrogenai, nes šios fazės metu pradeda vystytis kiaušidžių folikulai, kurie ir sekretuoja estrogenus (estradiolį). Estrogenų koncentracija kraujyje priešrujo pradžioje padidėja iki 25 pg/ml ir daugiau, o pabaigoje siekia 60-70 pg/ml (Feldman & Nelson, 2004). Ajala et al., (2012) metais atliktuose tyrimuose su 10 Nigerijos laukinių kalių, buvo nustatyta, kad priešrujo metu estradiolio koncentracija būna 50.00 ± 30.68 pg/ml. Kraujo estradiolio koncentracija piką pasiekia likus 1-2 paroms iki rujos pradžios. Šis hormonas ir yra atsakingas už vaginalinę sekreciją, patinų susidomėjimą, bei gimdos pasiruošimą nėštumui.

Priešrujo pabaigoje estradiolio kiekis pradeda mažėti ir mažėja tol, kol pasiekia bazinę ribą, o progesterono koncentracija kraujyje viso priešrujo metu buvusi baziniame lygyje (<0,5 ng/ml) tik paskutines 24-72 valandas pradeda didėti ir pasiekia 1,0 ng/ml ribą. Progesterono po truputį pradeda didėti kiaušidžių folikulams pradėjus palaipsniui liuteinizuotis (Nett et al., 1975; Feldman & Nelson, 2004). Progesteronui pasiekus didesnę nei 1,0 ng/ml koncentraciją kraujo plazmoje, pradeda pasireikštirujai būdingi elgsenos pokyčiai. Stiprėjant kiaušidžių folikulų liuteinizacijai ir estrogeno sekreciją keičiant progesterono didėjančia sekrecija prasideda ruja. Estradiolio sumažėjimas ir progesterono padaugėjimas dažnai yra vadinami rujos pradžios rodikliais (Feldman & Nelson, 2004).

Tyrimuose atliktuose su Nigerijos laukinėmis kalėmis, buvo nustatyta, kad priešrujo metu progesterono koncentracija kraujyje pasiekė 7,80 ± 1,07 ng/ml (Ajala et al., 2012).

### 1.2.2.Ruja (estrus)

Jos metu sumažėja ar net išnyksta vaginalinė feromonų sekrecija. Sumažėja estrogenų sekrecija, o padidėja progesterono koncentracija. Tai sukelia rujai būdingus elgsenos pokyčius, kalė pradeda prisileisti patiną (Feldman & Nelson, 2004).

Kalių ruja vidutiniškai tęsiasi 9 dienas, tačiau gali būti ir daug trumpesnė (1-2 dienos) arba užsitęsti net iki 18-20 dienų (Blendinger, 2007).

Rujos metu kalė prisileidžia patiną, leidžiasi kergiama, pasireiškia sąstingio refleksas kai prie jos liečiamasi. Makštis rujos metu pasidaro minkštesnė nei įprastai ir tai sudaro palankias sąlygas patinui įvesti varpą į kalės lytinius takus, nors makšties išskyrų kiekis ir būna sumažėjęs. Rujos pabaiga fiksuojama tada kai kalė nustoja prisileisti patiną (Laurusevičius, 2009).

Dėl lytinių steroidų koncentracijos pokyčių teigiamu grįžtamuoju poveikiu perduodamas signalas pagumburiui bei hipofizei, ko pasėkoje sukeliamas LH antplūdis ir FSH sekrecijos padidėjimas rujos pradžioje (Feldman & Nelson, 2004; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013;).

Kiaušidžių folikuluose besiformuojančios liuteininės ląstelės sekretuoja progesteroną dar prieš geltonojo kūno susiformavimą. Tik praėjus 24-48 valandoms po LH bangos antplūdžio prasideda ovuliacija, po kurios susiformuoja geltonasis kūnas (Feldman & Nelson, 2004).Progesterono koncentracijos didėjimas po LH bangos nurodytas 2 paveiksle. Geltonajam kūnui pradėjus sekretuoti progesteroną, jo koncentracija pradeda intensyviai didėti ir didėja 1-3 savaites po geltonojo kūno susiformavimo (Nett et al., 1975).

Rujos pradžioje estradiolio koncentracija sumažėja 50proc., tuo tarpu progesterono koncentracija 30 proc. padidėja. Progesterono koncentracija prieš LH antplūdį siekia 2-4 ng/ml (6-13nmol/l), o 2 dienos po jo progesterono koncentracija vidutiniškai svyruoja tarp 4-10 ng/ml (13-32 nmol/l). Tai vadinama ovuliacijos laiku, (Rota et al., 2007). Tuo tarpu Laurusevičius (2009) savo tyrimuose paminėjo, kad ovuliacija pasireiškia kai progesterono koncentracija yra 20-30 nmol/l.

Mokslininkai van Klaveren et al., (2001) ir Laurusevičius (2009) yra nustatę, kad kiekvienai kalei ovuliacijos laikas yra individualus. Vidutiniškai ovuliacija pasireiškia nuo priešrujo praėjus 12 dienų arba 2-3 dieną skaičiuojant nuo tikrosios rujos pradžios. Yra duomenų, kad kartais ovuliacija įvyksta po 7 ar po 13 d. skaičiuojant nuo lytinio ciklo pradžios.

Hori et al., (2012) nustatė, kad 1-3 metų amžiaus kalių ovuliacija vidutiniškai pasireiškia 11,0 ± 0,2 dieną, 4-6 metų amžiaus kalių – 11,0 ± 0,2, o 7 metų ir vyresnių kalių – 11,0 ± 0,6. Jie padarė išvadą, kad ovuliacijos laikas yra nepriklausomas nuo kalės amžiaus.

Tyrimuose atliktuose su Nigerijos laukinėmis kalėmis, buvo nustatyta, kad rujos metu estradiolio koncentracija buvo 13,11 ± 5,89 pg/ml, o progesterono koncentracija buvo 28,00 ± 8,79 ng/ml (Ajala et al., 2012). Taip pat šie mokslininkai nustatė, kad po 2 dienų nuo rujos pradžios estradiolio ir progesterono koncentracijos suvienodėja, tai yra abi koncentracijos tampa lygios – 20,5 pg/ml. Mokslininkai teigia, kad tai ovuliacijos laikas. Progesterono koncentracija didėja per visą rujos periodą ir keletą savaičių porujo fazės metu (Nett et al., 1975). 

**2 pav. Fiziologiniai ir elgsenos pokyčiai kalės lytinio ciklo metu***http://www.oldefashion.com/PROGESTERONETESTING.html***.**

### 1.2.3.Porujis (diestrus)

Porujo fazės metu pagrindinis veikėjas yra geltonasis kūnas, dėl ko ši fazė kartais dar vadinama geltonojo kūno faze (Ajala et al., 2012). Gimdos liaukos hiperplazuojasi bei hipertrofuoja, gimdos kaklelis užsidaro, lytinių takų sekrecija menka, makšties gleivinė pabąla (Arthur, 2001). Porujo trukmė svyruoja nuo 56-58 dienų šuningoms kalėms, iki 60-100 dienų jei kalė neapsivaisina (Marti, 2008).

Porujo metu, 20-30 dienų po ovuliacijos (2-3 porujo savaitę), yra pasiekiamas progesterono sintezės pikas. Šis trumpalaikis progesterono koncentracijos pikas tęsiasi apie 1-2 savaites (Nett et al., 1975). Progesterono koncentracija nuolat auga nuo 1-2 ng/ml prieš LH bangą iki 15-90 ng/ml praėjus 15-30 dienų po LH bangos (Feldman & Nelson, 2004; Marti, 2008).

Ajala et al., (2012) tyrimai parodė, kad porujo metu estradiolio koncentracija siekia 5,39 ± 2,83 pg/ml, o progesterono koncentracija – 52,36 ± 11,96 pg/ml. Įrodyta, kad šuningos kalės kraujo serume didesnė progesterono koncentracija, nei tų, kurios buvo neapsivaisinusios (Feldman & Nelson, 2004). Tačiau kiti autoriai teigia, kad šuningų bei nekergtų kalių kraujo serume progesterono koncentracija būna panaši (Marti, 2008; Beste et al., 2008). Nešuningų kalių geltonasis kūnas išlieka funkcionuojantis kiaušidėje ilgiau nei šuningų (Feldman & Nelson, 2004).

Mokslininkų atliktais tyrimais nustatyta, kad nešuningų kalių kraujo plazmoje estradiolio koncentracija siekė 23,41±7,28 pg/ml, o progesterono koncentracija – 18,20 ± 6,06 ng/ml, tuo tarpu šuningų kalių kraujo plazmoje estradiolio koncentracija siekė 14,28 ± 1,60 pg/ml, o progesterono – 14,88 ± 10,32 ng/ml (Nett et al., 2006; Rota et al., 2007).

Šuningų kalių geltonasis kūnas funkcionuoti nustoja atvedimo metu, kuomet prostaglandinai sukelia jo regresiją. Nešuningų kalių geltonasis kūnas funkcionuoja 10-30 dienų ilgiau. Manoma, kad prostaglandinai yra vienintelis liuteolitinis faktorius tiek šuningų, tiek nešuningų kalių atveju (Feldman & Nelson, 2004; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013).

Estrogenų koncentracija šio periodo metu būna bazinė, tačiau yra pastebėta, kad paskutines 1-2 nėštumo savaites estrogenų koncentracija neženkliai padidėja. Šis estrogenų padidėjimas nesukelia jokių elgsenos pokyčių susijusių su priešruju. Estrogenų koncentracijos nežymus padidėjimas, bei progesterono koncentracijos mažėjimas rodo, kad artėja atvedimo metas. Nešuningoms kalėms šie estrogenų pokyčiai nepasireiškia (Feldman & Nelson, 2004).

Antroje porujo pusėje pradėjus mažėti progesterono koncentracijai, pasireiškia prolaktino koncentracijos didėjimas (Feldman & Nelson, 2004). Prolaktino koncentracijos priešrujo, rujos bei tarprujo metu būna minimalios, kadangi jis yra svarbus pieno liaukos funkcijai aktyvuoti prieš atvedimą (Rota et al., 2007). Atvedimo dieną progesterono koncentracija svyruoja 1,15 ± 0,22 ng/ml, o estradiolio – 12,98 ± 7,38 pg/ml (Nett et al., 1975).

### 1.2.4.Tarprujis (anestrus)

Tarprujis yra kiaušidžių tylos arba ramybės fazė. Visi priešrujo, rujos bei porujo požymiai bei elgsena išnyksta. Šios fazės metu vyksta minimali kiaušidžių folikulų proliferacija, geltonasis kūnas būna regresavęsis ir nefunkcionuojantis, ir, jei buvo nėštumas, vyksta gimdos involiucija. *Anestrus* trukmė turi plačias svyravimų ribas ir svyruoja nuo trijų iki penkių mėnesių ar daugiau (Feldman & Nelson, 2004; Laurusevičius, 2009; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013).

Klinikiniais požymiais ši fazė nepasižymi. Sporadiški LH protrūkiai pasireiškia tarprujo metu. Šie trumpalaikiai LH koncentracijos padidėjimai priveda prie dviejų svarbių etapų. Pirmasis – prieš priešrujo pradžią, antrasis – rujos pradžioje. Taigi galima teigti, kad GTH yra atsakingi už priešrujo bei ovuliacijos pasireiškimą.

FSH koncentracija didėja viso tarprujo metu. Estrogenų koncentracija tarprujo metu yra nepastovi, pasireiškia trumpalaikiai estrogenų padidėjimai. Tai yra dėl to, kad susiformavus kiaušidžių folikulams, jie pradeda sekretuoti estrogenus. Tačiau šie folikulai yra trumpalaikiai ir greitai regresuoja, taigi estrogenų sekrecija greitai baigiasi (Feldman & Nelson, 2004; Sjaastad et al., 2010; Klein, 2013). Tarprujo metu progesterono koncentracija sumažėja iki minimalios (Nett et al., 1975). Ajala et al., (2012) tyrimų duomenimis tarprujo metu estradiolio koncentracija siekia 4,80 ± 1,46 pg/ml, o progesterono - 13,00 ± 1,14 ng/ml.

## 1.4. Ovuliacijos laiko nustatymas pagal progesterono koncentraciją kraujyje

Kalių ovuliacija dažniausiai nustatoma matuojant progesterono koncentraciją kraujyje (Manothaiudom et al., 1995; van Klaveren et al., 2001; Laurusevičius, 2009). Progesterono koncentracija pradeda kilti keletą dienų prieš ovuliacijos laiką. Šis kilimas prasideda iš karto po LH bangos, kuris ir skatina geltonojo kūno susiformavimą, tuo pačiu ir progesterono koncentracijos didėjimą. Progesterono koncentracija prieš LH antplūdį siekia 2-4 ng/ml (6-13nmol/l), o 2 dienos po šios bangos progesterono koncentracija tipiškai svyruoja tarp 4-10 ng/ml (13-32 nmol/l) (Feldman & Nelson, 2004).

Laurusevičius (2009) savo tyrimuose nurodo, kad norint nustatyti tikslų ovuliacijos laiką tinkamo kergimo laiko parinkimui, progesterono tyrimai atliekami tol, kol nustatyta progesterono koncentracija būna pasiekusi 20-30 nmol/l arba 6-10 ng/ml.

## 1.5.GnRH bei GTH svarba kalės lytiniam ciklui

GnRH yra pagumburio išskiriamas neurohormonas (Feldman & Nelson, 2004; Maddison et al., 2008; Sjaastad et al., 2010; Fontaine & Fontbonne, 2011; Boothe, 2012; Klein, 2013). Jo sekrecija yra ne nuolatinė, bet pulsuojanti. Jis yra išskiriamas kas 70-90 minučių (Kutzler, 2005). GnRH neurohormonai jungdamiesi su gondotropiniais receptoriais hipofizės priekinėje dalyje stimuliuoja hipofizės priekinės dalies gonadotrofus sintetinti gonadotrofinius hormonus (GTH) (Kutzler, 2005). Į šių receptorių dirginimą hipofizė atsako išskirdama FSH ir LH. FSH ir LH folikulogenezės ir ovuliacijos metu kiaušidėseveikia sinergetiškai. FSH veikia kiaušides skatindamas kiaušidžių folikulų vystymąsi. LH skatina susidariusių folikulų liuteinizaciją. Susiformavę kiaušidžių folikulai išskiria estrogenus (estradiolį), o liuteinizavęsi folikulai pradeda išskirti progesteroną (Arthur, 2001; Feldman & Nelson, 2004; Cunningham & Klein, 2007; Maddison et al., 2008; Sjaastad et al., 2010; Fontaine & Fontbonne, 2011; Boothe, 2012; Klein, 2013).

Padidėjusi estrogenų koncentracija sukelia dar didesnę GnRH sekreciją – teigiamas grįžtamasis ryšys (Kutzler, 2007). Įvykus ovuliacijai, bei susiformavus geltonajam kūnui išskiriama vis daugiau progesterono. Pasireiškia neigiamas grįžtamasis ryšys, tai yra progesteronas pradeda slopinti GnRH sekreciją (Arthur, 2001). Taigi mažiau išsiskiria FSH ir LH, kurie nėštumo periodo metu (jei kalė buvo apvaisinta) yra nereikalingi.

Geltonajam kūnui porujo antroje pusėje pradėjus regresuoti, mažėja išskiriamo progesterono koncentracija. Kraujo plazmoje sumažėjus progesteronoiki minimalios koncentracijos GnRH sekrecija yra nebeslopinama.GnRH pradėjus išsiskyrinėti ciklas prasideda iš naujo (Arthur, 2001; Feldman & Nelson, 2004; Cunningham & Klein, 2007; Maddison et al., 2008; Sjaastad et al., 2010; Fontaine & Fontbonne, 2011; Boothe, 2012; Klein, 2013).

GnRH veikimo mechanizmas parodytas 3 paveiksle.



**3 pav. Endokrininė lytinio ciklo reguliacija** [*http://img.medscape.com/pi/emed/ckb/obstetrics\_gynecology/252558-1336968-252928-1453260.jpg*](http://img.medscape.com/pi/emed/ckb/obstetrics_gynecology/252558-1336968-252928-1453260.jpg)

## 1.6. Rujos sukėlimas bei sinchronizavimas

Rujos gali būti sukeliama dėl keleto priežasčių: pirma, laiku nebuvo pastebėta ruja ir optimalaus sėklinimo, kergimo laikas praėjo; Antra, sėklinimas ar kergimas buvo nesėkmingas; Trečia, gydymo tikslais, esant užsitesusiam *anestrus* periodui (rujos nebuvimui) ar esant nevaisingumui (Walter et al., 2011); Ketvirta, siekiant, kad šuniukai būtų atvedami tam tikru,metų laiku. (Kutzler, 2005; Kutzler, 2007).

Rujos sukėlimui šiuo metu yra sukurta daug įvairių hormoninių preparatų, tokių kaip: sintetiniai estrogenai (dietilstilbesterolis); dopamino agonistai (bromokriptinas, kabergolinas); GnRH agonistai (lutrelinas, buserelinas, fertirelinas, deslorelinas, ir leuprolidas); bei egzogeniniai gonadotropinai (LH, FSH, hCG, KKSG, hMG) (Kutzler, 2005; Kutzler, 2007; Walter et al., 2011). Taip pat galima naudoti opiatų antagonistus, kaip pavyzdžiui naloksonas (Kutzler, 2007).

Yra pastebėta, kad laikant kelias kales vienuose namuose, kai vienos yra *anestrus* periodo viduryje ar pabaigoje, o kitos yra priešrujo ar rujos periode, *anestrus* periodas gali sutrumpėti 30 ar daugiau dienų. Manoma, kad šis fenomenalus „natūralus“ rujos sukėlimas įvyksta dėl rujos metu išskiriamų feromonų, tačiau pilnas reiškinio mechanizmas nėra pilnai išaiškintas (Kutzler, 2005).

## 1.7. GnRH agonistai ir jų veikimas

Agonistas, tai medžiaga, kuri prisijungia prie receptorių ir imituoja natūraliai pasigaminančios medžiagos poveikį, tai yra dirgina receptorių (Klein, 2013).

GnRH agonistas, tai sintetinis peptidas, savo chemine struktūra panašus į natūralų pagumburio gaminamą GnRH (Romagnoli et al., 2009). GnRH agonistai veikia analogiškai natūraliam GnRH. Tai yra medžiaga pasiekia adenohipofizėje esančius receptorius ir juos dirgina, kaip ir natūralus GnRH (Boothe, 2012). Adenohipofizė į tai atsako išskirdama FSH ir LH (Maddison et al., 2008). Sukeliama ruja.

Naudojant ilgalaikius GnRH agonistų implantus, receptoriai gali būti perdirginami ir užsiblokuoja (veikimas iš agonistinio virsta antagonistiniu), adenohipofizė nebeišskiria FSH ir LH (Kutzler, 2007). Taigi lytinis ciklas yra blokuojamas.

Vienintelis Lietuvoje registruotas preparatas su GnRH agonistu deslorelinu – *Suprelorin (Cyton Bioscience)*. Jis išleidžiamas po 4,7 mg ir 9,4 mg veikliosios medžiagos dozėje. Tai ilgalaikio naudojimo hormoninis preparatas, poodinio implanto formoje. Implantas yra įvedamas pooda, sprando srityje tarp menčių. Priklausomai nuo veikliosios medžiagos dozės įvestos pooda preparatas gali išlikti veiksmingu nuo 6 mėnesių (4,7 mg) iki 1 metų (9,4mg) laiko (Trigg et al., 2006; Fontaine & Fontbonne, 2011).

## 1.8. GnRH agonistų panaudojimas gyvūnų lytinei funkcijai reguliuoti

GnRH agonistai plačiai naudojami lytinės funkcijos reguliacijai, bei ligoms gydyti (Boothe, 2012). Šis hormoninis preparatas kalėms gali būti naudojamas siekiant sukelti rują (Fontaine & Fontbonne, 2011), bei ovuliaciją (Walter et al., 2011), atidėti lytinę brandą (Rubion et al., 2006; Romagnoli et al., 2009), slopinti lytines funkcijas (Trigg et al., 2001; Romagnoli et al., 2009), o taip pat ir kiaušidžių folikulų cistoms gydyti (Maddison et al., 2008). Kiti autoriai (Romagnoli et al., 2009; Arnold et al., 2010) teigia, kad GnRH gali būti panaudojami gydyti kalių šlapimo nelaikymą.

GnRH agonistai gali būti naudojami kaip alternatyva chirurginei šeškų ir šunų kastracijai, šunims skatinti libido ir slopinti agresyvumą, kontroliuoti hiperseksualumą, katėms slopinti arba skatinti lytines funkcijas, o taip pat šunų kriptorchizmo bei prostatos ligų gydymui (Maddison et al., 2008; Romagnoli et al., 2009).

Kai kurie autoriai kalėms implantą *Suprelorin* siūlo įvesti ne sprando srityje, kaip daroma patinamas, bet bambos srityje. Iš šios vietos yra lengviau ir patogiau implantą pašalinti, jei pasireiškia šalutiniai efektai, arba siekiama išvengti ankstyvo hipofizės perdirginimo (Arnold et al., 2010).

Arnold et al., (2010) atliktų tyrimų duomenimis, 47 kalėms įvedus *Suprelorin* implantus tarprujo metu, 46 kalėms rujos požymiai pasireiškė per savaitę (2-7d.) po implanto įvedimo. Praėjus 30 dienų po implanto panaudojimo 43 kalės nebeturėjo rujos požymių, o 16 kalių pasireiškė anovuliacinis ciklas.

Rujos pradžioje (prieš ovuliaciją) 10 kalių įvedus implantus, 4 kalėms pasireiškė anovuliacinis ciklas. Praėjus 30 dienų po implanto įvedimo, jokiu rujos požymių nebuvo. Tuo vadovaujantis buvo padaryta išvada, kad geriausias GnRH agonisto implanto įvedimo laikas kalių rujai sukelti, yra tarprujis (*anestrus*). Jei kalė naudojama kergimui, implantas turi būti pašalinamas iš karto kai prasideda ovuliacija (progesteronas siekia >5-6 ng/ml) (Arnold et al., 2010).

Heimendahl & Miller (2012) atliko tyrimą, kuomet 16 skirtingų veislių kalių įvedė *Suprelorin* implantus į poodį. Ruja pasireiškėper 1-10 dienų po implanto įvedimo, o ovuliacija – 4-16 dienų po įvedimo. Iš viso ovuliacija pasireiškė 13 kalių. Pasireiškus ovuliacijai implantai buvo pašalinti, o kalės buvo kergiamos. Iš 13 kergtų kalių 11 apsivaisino, vaisiai buvo išnešioti visą nėštumo laikotarpį,vidutinisvados dydis buvo 7,6 šuniukai.

Fontaine et al., (2011) kalėms po oda įvedę *Suprelorin* implantus, padarė išvadą, kad panaudojus šiuos implantuos ir sukergus kales gaunamos didesnės palikuonių vados dėl to, kad GnRH agonistams stimuliuojant vystosi ir subręsta daugiau kiaušidžių folikulų. Kitų autorių (Walter et al., 2011) duomenimis, visoms tyrimui naudotoms kalėms (17/17) po agonisto panaudojimo buvo sukelta ruja, bei ovuliacija.

Nuolatinis GnRH agonistų naudojimas mažomis dozėmis gali būti naudojamas kaip metodas lytinei funkcijai slopinti. Tačiau, ilgą laiką naudojant šiuos implantus pirmiausiai pasireiškia rujos požymiai dėl pirminio stimuliuojančio poveikio gonadotropinų sekrecijai ir gonadosteroidų produkcijai nei pagumburio-hipofizės-kiaušidžių hormoninės ašies slopinimas (Trigg et al, 2001).

Romagnoli et al., (2009) atliko eksperimentus su 10 kalių kurioms buvo diagnozuoti pieno liaukos navikai. Visoms kalėms buvo įvesti GnRH agonistų implantai: 5 kalėms *anestrus* fazėje ir 5 kalėms *diestrous* fazėje, lytinei funkcijai slopinti. Visoms kalėms GnRH agonistų implantacija buvo kartojama kas 5 mėnesius. Visoms 5 kalėms, kurioms implantas buvo įvestas *diestrous* fazėje, nei rujos požymiai, nei ruja nepasireiškė. Toks rujos slopinimas buvo tęsiamas nuo 1 iki 4 metų. Lytinių funkcijų slopinimas buvo sėkmingas 6/10 tyrime dalyvavusiu kalių. Kalės, kurioms implantai buvo įvesti *anestrus* fazėje, rujos požymiai pasireiškė per pirmąsias 4-15 dienų nuo preparato naudojimo pradžios.

Panašius rezultatus gavo ir Sung et al., (2006) panaudojęs *Suprelorin* implantus kalėms esančioms *anestrus* ir *diestrus* fazėse. *Anestrus* fazėje esančios kalės surujojo per 7-10 dienų nuo implanto įvedimo, tuo tarpu kalių, kurioms implantas buvo įvestas *diestrus* fazėje, rujos požymiai nepasireiškė. Šie tyrimai parodė, kad norint kalių lytinę funkciją slopinti galima panaudoti *deslorelin*implantą, jį įvedant į poodį *diestrus* fazėje, o norint sukelti ovuliaciją ir rują šį preparatą reikėtų implantuoti *anestrus* fazės metu.

# 2. Metodai ir medžiagos

Darbas atliktas 2012-13 m. Kaune esančioje veterinarijos klinikoje „Kauno veterinarijos praktika“.

Statistinė analizė, palyginimas

**Tiriamieji gyvūnai (n =53)**

Statistinė analizė, priklausomybė

**Kalės veislės dydis**

**Mažos veislės (n=22)**

**Vidutinės veislės (n=14)**

**Didelės veislės (n=17)**

**Kalės amžius**

**Iki 5 metų amžiaus (n=41)**

**5 metų ir vyresnės (n=12)**

**Metų laikas**

**Žiema (n=3)**

**Pavasaris (n=16)**

**Vasara (n=11)**

**Ruduo (n=23)**

**Ovuliacijos diena**

**GnRH agonistas *Suprelorin***

**Jorkšyrų terjerų veislės kalė**

**Vokiečių aviganių veislės kalė**

**Kaukazo aviganių veislės kalė**

**Mišrūnė**

**5 pav. Bandymų schema**

**Tyrimo objektas**: Įvairaus amžiaus bei veislių kalės.

Bandymų schema pateikiama 5 paveiksle.

**Tyrimai vyko keturiais etapais:**

**1 etapas.**

Pavasario, vasaros, rudens bei žiemos sezonų metu buvo tiriama įvairių veislių kalių, atvedamų į kliniką, kad sužinoti optimalų sėklinimo ar kergimo laiką, kitaip tariant - ovuliacijos laiką, šuningumo monitoringui atlikti, įvertinti geltonkūnio funkciją, įvertinti kiaušidžių funkciją, arba nustatyti tikslią šuniavimosi datą, kraujo serumo progesterono koncentraciją. Buvo ištirta 51 veislės kalės, iš viso 194 kalės. Iš viso buvo surinkti 264 kraujo mėginiai.

Kraujas tyrimui buvo imamas laikantis aseptikos reikalavimų iš priekinės kojos venos - *vena antebrachii,* į vaakuminį mėgintuvėlį be antikoagulianto, kad kraujas sukrešėtų ir atsiskirtų kraujo serumas. Kraujo tyrimai buvo atliekami „Kauno veterinarijos praktika“ veterinarijos klinikoje naudojantis ACCESS Immunoassay System aparatu (BECKMAN COULTER Inc., JAV, 2006). Tyrimas atliekamas paramagnetinių dalelių chemiliuminescenciniu (imunofermentiniu) metodu. Tyrimui atlikti buvo naudojamas progesterono konjugatas su paramagnetinėmis dalelėmis dengtomis IgG buferiniame tirpale, baltymai (ožkos, triušio) acetato buferyje, triušių anti-progesteronas acetato buferyje. Tyrimui naudojamų reagentų pakuotė parodyta 4 paveiksle.



**4 pav. Progesterono tyrimui naudojami reagentai.**

1. **etapas.**

Buvo renkami duomenys apie kalės veislę, amžių, bei apytikslę rujos dieną. Rinktų duomenų lentelės pavyzdys pateikiamas 1 lentelėje, o visi duomenys 1 priedų lentelėje.

Vidutinio kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko nustatymui buvo naudojami duomenys tik tų kalių, kurios, pagal progesterono koncentraciją kraujo serume, buvo pasiekusios ovuliaciją. Iš viso tokių kalių buvo 53 vnt.

Antrojo etapo metu surinkta informacija buvo išanalizuota statistiškai naudojant statistinį IBM SPSS Statistics Professional 22.0 paketą, (2013) ir Microsoft Excel (2010) statistinę programą.

Analizuojat duomenis buvo atliekamas jų aprašymas naudojantis aprašomąja statistika (aritmetinis vidurkis ir standartinis nuokrypis (M ± m), nustatyta koreliacija, sudarytos lentelės bei grafikai, nustatytas skirtumų patikimumas tarp grupių. Duomenys buvo laikomi statistiškai patikimas, kai p < 0,05.

Koreliaciniai ryšiai tarp kintamųjų įvertinti naudojant Pearson‘o koreliaciją. Buvo nustatyta kaip progesterono koncentracija (ovuliacijos laikas) kraujo serume koreliuoja su kalės veisle pagal dydį, amžiumi bei metų laiku. Rezultatai buvo laikomi patikimi, kai p < 0,05.

**1 lentelė. Rinktų duomenų lentelės pavyzdys.**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Eil. Nr. | Kalės veislė | Amžius, mėn. | Kūno svoris, kg | Dienos nuo lytinio ciklo pradžios | Progesterono koncentracija, nmol/l |
|  |  |  |  |  |  |

Kalių veislės buvo suskirstytos į 3 grupes pagal veislės dydį (veislei būdingą vidutinį ūgį).

**I grupę** sudarė veislės, kurių vidutinis ūgis ties ketera siekia iki 30 cm. (n=22)

Šiai grupei buvo priskirtos šios veislės: Tojterjerai, Čihuahua, Japonų chinai, Nykštukiniai špicai, Jorkšyro terjerai, Trumpaplaukiai triušiniai taksai, Maltos bišonai, Vakarų Škotijos terjerai, Kinų koduotieji, Mopsai, bei Džeko Raselo terjerai.

**II grupę** sudarė veislės, kurių vidutinis ūgis ties ketera yra nuo 31 iki 50 cm. (n = 14)

Šiai grupei buvo priskirtos šios veislės: Bigliai, Bulterjerai, Prancūzų buldogai, Čiau-čiau, Anglų buldogai, Leiklendo terjerai, bei Šelti.

**III grupę** sudarė veislės, kurių vidutinis ūgis ties ketera siekia daugiau nei 50 cm. (n=17)

Šiai grupei buvo priskirtos šios veislės: Akita Inu, Vengrų vižliai, Sibiro haskiai, Koli, Pudeliai, Dogai, Bordo dogai, Berno zenenhundai, Amerikiečių buldogai, Vokiečių aviganiai, Boseronai, Auksaspalviai retriveriai, bei Airių seteriai.

Kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybei nuo kalės amžiaus nustatyti, visos 53 kalės, kurioms pasireiškė ovuliacija, buvo suskirstytos į 2 grupes:

I grupė - iki 5 metų amžiaus kalės, n = 41;

II grupė - vyresnės kaip 5 metų amžiaus kalės, n =12.

Kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomumui nuo metų laiko nustatyti, kalės buvo suskirstytos į 4 grupes pagal sezoną kada joms pasireiškė ovuliacija: žiema (gruodis) n = 3 kalės; pavasaris (kovas-gegužė) n = 16 kalės; vasara (birželis-rugpjūtis) n = 11 kalės; ruduo (rugsėjis-lapkritis) n = 23 kalės.

1. **etapas**

**Kalių rujos sukėlimas panaudojus GnRH agonistų poodinius implantus**

Šio etapo metu keturioms skirtingų veislių bei amžiaus kalėms buvo įvestas GnRH agonistinis poodinis implantas *Suprelorin 4,7 mg*. Preparato panaudojimui pasirinkta *anestrus* lytinio ciklo fazė, nes tada tinkamiausias laikas rujai sukelti. Implantas buvo vedamas į paodį, bambos srityje. Ši vieta pasirinkta dėl dviejų priežasčių : pirma, bambos srityje kailis yra retesnis, todėl įvedimo metunesugadinamas kalės eksterjeras,; antra, patogiau implantą pašalinti.

Po implanto įvedimo kraujas buvo imamas kas 3-5 dienas, ir tiriama progesterono koncentracija kraujo serume. Kraujo tyrimai buvo atliekami tol, kol buvo pasiektas ovuliacijos laikas, tai yra progesterono koncentracija pasiekė 20-30 nmol/l.

Po implanto poveikyje sukeltos rujos nebuvo rengiamasi kalių kergti ar sėklinti, todėl implantai buvo palikti ir stebimas rujos blokavimas (2 lentelėje).

**2 lentelė - Eksperimente dalyvavusių kalių veislės bei amžius**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Eilės Nr.** | **Kalių veislė** | **Amžius, mėn.** |
| 1. | Jorkšyro terjeras (JT) | 30 |
| 2. | Vokiečių aviganis (VA) | 18 |
| 3. | Kaukazo aviganis (KA) | 24 |
| 4. | Mišrūnė (M) | >72 |

1. **etapas**

Ketvirtojo etapo metu buvo įvertinta, ar panaudojus GnRH agonisto *Suprelorin* implantą ovuliacija pasireiškia greičiau, nei ji pasireiškia natūraliai. Tam buvo lyginami bendri vidurkiai. Tai yra vidutinis ovuliacijos pasireiškimo laikas po *Suprelorin* implanto panaudojimo buvo lyginamas su natūraliai įvykusios ovuliacijos pasireiškimo laiku. Toliau kiekviena kalė, kuriai buvo panaudotas *Suprelorin* implantas, buvo lyginama individualiai pagal veislės dydį, bei amžių.

# 3. Tyrimo rezultatai

## 3.1.Vidutinis kalių ovuliacijos pasireiškimo laikas

Vidutinio kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko nustatymui buvo naudojami duomenys tų kalių, kurios, pagal progesterono koncentraciją kraujo serume, buvo pasiekusios ovuliaciją, tai yra kalės, kurių progesterono koncentracija vidutiniškai buvo 25,31 ± 5,47 nmol/l.

Iš viso tokių kalių, tiriamųjų kalių tarpe, buvo 53 (27,3 proc.).

Nustatyta, kad kalių ovuliacija vidutiniškai pasireiškė nuo pirmos rujos dienos praėjus 9,25 ± 3,37 dienoms (6 pav.).

**6 pav. Vidutinis kalių ovuliacijos pasireiškimo laikas.**

Vertinant atskirai kiekvieną ovuliacijos pasireiškimo dieną, nustatyta kada ovuliacija pasireiškia dažniausiai.

7 paveiksle matyti, kad daugiausiai kalių ovuliacija pasireiškė praėjus 8 (8/53 arba 15 proc. kalių) bei 10 (9/53 arba 17 proc. kalių) dienų nuo pirmos rujos dienos.

Šiek tiek rečiau ovuliacija pasireiškė praėjus 6 dienoms (5/53 arba 9 proc. kalių), 7 dienoms (4/53 arba 7,5 proc. kalių), 11 dienų (6/53 arba 11 proc. kalių), 12 dienų (4/53 arba 7,5 proc. kalių) bei 13 dienų (4/53 arba 7,5 proc. kalių) nuo pirmosios rujos dienos.

Rečiausiai ovuliacija pasireiškė 3 (2/53 arba 4 proc. kalių), 4 (2/53 arba 4 proc. kalių), 5 (3/53 arba 6 proc. kalių), 9 (2/53 arba 4 proc. kalių), 15 (2/53 arba 4 proc. kalių), 16 (1/53 arba 2 proc. kalių), 19 (1/53 arba 2 proc. kalių) rujos dieną.

**7 pav. Ovuliacijos pasireiškimo laiko dažnumas**

## 3.2.Kalės ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybė nuo veislės dydžio

Vertinant visų trijų veislių dydžių grupių vidutinį ovuliacijos pasireiškimo laiką, nustatyta, kad mažosioms kalėms (I gr.) ovuliacija vidutiniškai pasireiškė per 8,8 ± 3,0 dienas nuo rujos pradžios, vidutinio dydžio kalėms (II gr.) ovuliacija vidutiniškai pasireiškė 0,8 dienos vėliau negu mažųjų veislių kalėms (9,6 ± 3,6), o didelių veislių kalėms (III gr.) ovuliacija pasireiškė vos 0,10 dienos anksčiau nei vidutinių veislių kalėms (8 pav.). Statistiškai patikimo skirtumo tarp skirtingo dydžio veislių kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko nustatyta nebuvo (p > 0,05).

Įvertinus kaip ovuliacijos pasireiškimo diena koreliuoja su kalės veislės dydžiu (9 pav.), nustatytas silpnas koreliacinis ryšys (r = 0,101; p > 0,05).

**8 pav. Kalių grupių pagal veislės dydį vidutiniai ovuliacijos pasireiškimo laikai.**

**9 pav. Kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomumas nuo kalės veislės dydžio**

## 3.3. Kalės ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybė nuo kalės amžiaus

Kalių ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybei nuo kalės amžiaus nustatyti, visos 53 kalės, kurioms pasireiškė ovuliacija, buvo suskirstytos į 2 grupes: iki 5 metų amžiaus, ir vyresnes kaip 5 metų amžiaus. Jauniausia tyrime dalyvavusi kalė buvo 12 mėnesių (1 metų) amžiaus, o vyriausia 108 mėnesių (9 metų) amžiaus.

Vertinant abiejų grupių kalių vidutinį ovuliacijos pasireiškimo laiką, nustatyta, kad iki 5 metų amžiaus kalėms ovuliacija vidutiniškai pasireiškė praėjus 9,34 ± 3,12 dienoms po pirmos rujos dienos, o vyresnės nei 5 metų amžiaus kalėms – 0,42 dienos anksčiau (8,92 ± 4,25) (10 pav.). Patikimo skirtumo tarp amžiaus grupių nebuvo nustatyta (p > 0,05).

Įvertinus kaip ovuliacijos diena koreliuoja su kalės amžiumi (11 pav.), nustatyta, kad kalės amžius ovuliacijos pasireiškimo laikui patikimos įtakos neturėjo (r = - 0,033; p>0,05).

**10pav. Skirtingo amžiaus kalių vidutinis ovuliacijos pasireiškimo laikas dienomis.**

**11 pav. Ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomumas nuo kalės amžiaus, mėn.**

## 3.4. Kalės ovuliacijos pasireiškimo laiko priklausomybė nuo metų laiko

Ovuliacijos laiko priklausomybei nuo metų laiko nustatyti, visos 53 tyrime dalyvavusios kalės buvo suskirstytos į 4 grupes pagal tai kada joms pasireiškė ovuliacija: I grupė – žiemą, II grupė – pavasarį, III grupė – vasarą ir IV grupė – rudenį.

Vertinant vidutinį ovuliacijos pasireiškimo laiką visose 4 grupėse buvo nustatyta, kad žiemos metu kalių ovuliacija pasireiškė greičiausiai (8,0 ± 2,65) dieną, pavasarį ovuliacija pasireiškė 1,30 diena vėliau nei žiemą, vasarą ovuliacija pasireiškė vėliausiai (9,5 ± 3,14), o rudenį – 9,3 ± 3,79 dieną skaičiuojant nuo pirmos rujos dienos (12 pav.).

Įvertinus kaip ovuliacijos laikas koreliuoja su metų laikais (13 pav.), buvo nustatyta, kad metų laikas patikimo įtakos ovuliacijos pasireiškimo laikui neturėjo (r = 0,044; p > 0,05).

**12 pav. Skirtingų metų laikų vidutiniai ovuliacijos pasireiškimo laikai dienomis.**

**13 pav. Ovuliacijos laiko priklausomumas nuo metų laiko**

## 3.5. Kalės rujos sukėlimas panaudojus GnRH agonistų poodinius implantus

### 3.5.1.Pirmas atvejis

Jorkšyro terjerė, 2,5 metų, laikoma bute. Paskutinė ruja, prieš implanto panaudojimą, buvo 2013 04 25. Implantas įvestas 2013 07 23.

Po implanto įvedimo šeimininkas jau kitą dieną pastebėjo priešrujui būdingus požymius: dažnas tarpvietės laižymas, kraujingos išskyros iš makšties, patinų susidomėjimas kale.

Po implanto įvedimo praėjus 3 dienoms progesterono koncentracija buvo tik 2,15 nmol/l. Progesterono koncentracijos kitimo dinamika pateikiama 14 paveiksle.

Praėjus dar 3 dienoms po pirmojo tyrimo, progesterono koncentracija padidėjo iki 19,41 nmol/l. Šeimininko paklausus apie kalės elgseną, sužinota, kad vedžiojant kalė dažnai šlapinosi, namuose dažnai laižėsi tarpvietę, taip pat pastebėta, kad kalės lytinės lūpos paburkusios, paraudusi gleivinė.

Trečiąjį kartą progesterono koncentracija buvo nustatyta praėjus 7 d. skaičiuojant nuo implanto įvedimo ir buvo 7,33 nmol/l didesnė nei 6 dieną ir 24,59 nmol/l didesnė nei trečią dieną po implanto įvedimo. Tai rodo, kad kalei įvyko ovuliacija.

Kadangi savininkas kalės kergti ar sėklinti nenorėjo, *Suprelorelin* implantas buvo paliktas, kad ruja ateinančius šešis mėnesius būtų blokuojama.

Praėjus šiek tiek daugiau kaip mėnesiui po implanto panaudojimo šeimininkas pastebėjo priešrujui būdingus simptomus: dažnas tarpvietės laižymasis, kraujingos išskyros iš lytinio plyšio, patinų susidomėjimas, lytinių lupų paburkimas. Tai parodė, kad kalės lytinis ciklas užblokuotas nebuvo.

**14 pav. Progesterono koncentracijos kitimas panaudojus *Suprelorin* implantą JT 30 mėn. amžiaus, vasara**

### 3.5.2. Antras atvejis

1,5 metų Vokiečių aviganė, laikoma voljere. Paskutinė ruja, prieš implanto panaudojimą, buvo 2013 04 28, tai buvo pirmoji kalės ruja. Implantas įvestas 2013 07 23.

Po implanto įvedimo ryškūs rujos požymiai pastebėti ketvirtą dieną: lytinių lūpų paburkimas, kraujingos išskyros iš lytinio plyšio, patinų susidomėjimas, neprisileidimas kergtis pabrukant uodegą, bei puolant patiną.

Po implanto įvedimo praėjus 3 dienoms progesterono koncentracija buvo 3,76 nmol/l. Progesterono koncentracijos kitimo dinamika pateikiama 15 paveiksle.

Praėjus dar 3 dienoms po pirmojo tyrimo, progesterono koncentracija padidėjo iki 15,12 nmol/l.

Trečiąjį kartą progesterono koncentracija buvo nustatyta praėjus 9 d. skaičiuojant nuo implanto įvedimo ir buvo 27,34 nmol/l (12,22 nmol/l didesnė nei 6 dieną ir 23,58 nmol/l didesnė nei trečią dieną po implanto įvedimo). Tai rodo, kad kalei įvyko ovuliacija.

Šeimininko noru, implantas buvo paliktas, kad lytinis ciklas būtų blokuojamas.

#

**15 pav. Progesterono koncentracijos kitimas panaudojus *Suprelorin* implantą VA, 18 mėn. amžiaus, vasara**

### 3.5.3. Trečias atvejis

Trečioji eksperimente dalyvavusi kalė – 2 metų Kaukazo aviganė, laikoma voljere. Paskutinė ruja, prieš implanto panaudojimą, buvo 2013 04 15. Implantas įvestas 2013 08 09.

Po implanto įvedimo priešrujui ar rujai būdingų požymių pastebėta nebuvo. Progesterono koncentracijos kitimo dinamika pateikiama 16paveiksle.

Pirmasis kraujo tyrimas progesteronui nustatyti buvo atliktas praėjus 5 dienoms po implanto įvedimo. Gauta progesterono koncentracija – 1,21 nmol/l. Kalė ir toliau jokių rujos požymių nerodė.

Antrą kartą progesteronas nustatytas praėjus 10 dienų nuo implanto įvedimo. Progesterono koncentracija padidėjo vos 0,19 nmol/l. Trečiasis tyrimas atliktas praėjus dar po 5 dienų. Progesterono koncentracija sumažėjo iki 0,31 nmol/l. Tai rodo, kad ruja nebuvo sukelta.

**16 pav. Progesterono koncentracijos kitimas panaudojus *Suprelorin* implantą KA, 24 mėn amžiaus, vasara.**

### 3.5.4. Ketvirtas atvejis

Ketvirtoji kalė – vyresnė kaip 6 metų mišrūnė, laikoma voljere. Paskutinė ruja, prieš implanto panaudojimą, buvo 2013 05 03. Implantas įvestas 2013 08 09. Po implanto įvedimo iki kraujo mėginio paėmimo nebuvo pastebėta jokių rujai būdingų požymių.

Po implanto įvedimo praėjus 5 dienoms progesterono koncentracija buvo 0,5 nmol/l. Kalė ir toliau nerodė jokių ryškių rujai būdingų požymių.

Antrasis kraujo tyrimas atliktas praėjus 10 dienų po implanto įvedimo. Progesterono koncentracija padidėjo 2,22 nmol/l.

Trečiasis tyrimas atliktas praėjus 15 dienų po implanto įvedimo parodė (17 pav.), kad kalei pasireiškė ovuliacija, nes jos progesterono kiekis pasiekė ovuliacijai būdingą lygį – 23,15 nmol/l, . tačiau rujai būdingi požymiai kalei nepasireiškė.

**17 pav. Progesterono koncentracijos kitimas panaudojus *Suprelorin* implantą M, >72 mėn. amžiaus, vasara.**

## 3.6. GnRH agonisto *Suprelorin* įtakotos ovuliacijos pasireiškimo laiko su natūraliai pasireiškusios rujos ovuliacijos laiku palyginimas

Norint palyginti GnRH agonisto sukeltos ovuliacijos laiką su natūraliai įvykusios ovuliacijos laiku, pirmiausiai duomenys buvo įvertinti bendrai. Vienos iš kalių (KA) duomenys nebuvo naudojami šiam palyginimui, nes jos lytinis ciklas buvo blokuotas iš karto.

Kaip anksčiau buvo minėta, natūraliai įvykusios ovuliacijos vidutinis pasireiškimo laikas buvo 9,25 ± 3,37 dienos. Po GnRH agonisto panaudojimo, nustatytas vidutinis ovuliacijos laikas buvo 1,05 diena ilgesnis, tai yra 10,3 ± 4,2 dienos.

Lyginant pagal veislių dydį, gauti rezultatai pateikiami 3 lentelėje.

Jorkšyrų terjerų kalė buvo lyginama su I grupe (mažos veislės), Vokiečių aviganių kalė su III grupe (didelės veislės), o mišrūnė su II grupe (vidutinės veislės).

Nustatėme, kad JT ovuliacija po GnRH agonisto panaudojimo pasireiškė 1,80 diena anksčiau negu mažų veislių kalių ruja pasireiškusi natūraliai. Mišrūnė, po implanto įvedimo, buvo lyginama su vidutinio dydžio veislių kalėmis ir ovuliaciją pasiekė 5,40 dienomis vėliau, nei šios. Tuo tarpu natūrali didžiųjų veislių kalių ovuliacija pasireiškė tik 0,50 dienos vėliau negu VA, kuriai ovuliacija pasireiškė 9 dieną po implanto įvedimo.

**3lentelė – Individualus palyginimas pagal veislės dydį.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Eilės Nr.** | **Veislė, dydis** | **Ovuliacijos laikas dienomis po GnRH agonisto** | **Ovuliacijos laikas po natūralios rujos** |
| 1. | JT, maža | 7 | 8,8 ± 3 |
| 2. | VA, didelė | 9 | 9,5 ± 3,7 |
| 3. | M, vidutinė | 15 | 9,6 ± 3,6 |

Jorkšyrų terjerų bei Vokiečių aviganių kalės buvo lyginamos su kalėmis iki 5 metų amžiaus, o mišrūnė su 5 metų ir vyresnėmis kalėmis.

Jauniausiai - 18 mėn. amžiaus kalei (VA) ovuliacija pasireiškė tik 0,34 dienos anksčiau negu vidutiniškai pasireiškė kalėms iki 5 metų amžiaus. Jorkšyrų terjerų veislės 30 mėn. amžiaus kalei ovuliacija pasireiškė 2,34 dienomis anksčiau negu vidutiniškai pasireiškė jos amžiaus grupei. Vyriausiai 72 mėn. kalei (M) ovuliacija pasireiškė 6,08 dienomis vėliau negu vidutiniškai pasireiškė 5 metų ir vyresnėms kalėms (4 lentelė).

**4 lentelė. Individualus palyginimas pagal amžių.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Eilės Nr.** | **Kalės veislė, amžius mėn.** | **Ovuliacijos laikas dienomis po GnRH agonisto** | **Ovuliacijos laikas po natūralios rujos** |
| 1. | JT, 30 mėn. | 7 | 9,34 ± 3,12 |
| 2. | VA, 18 mėn. | 9 | 9,34 ± 3,12 |
| 3. | M, >72 mėn. | 15 | 8,92 ± 4,25 |

# 4. Rezultatų aptarimas

Išanalizavus 2012-2013 m. atliktus natūraliai rujojusių kalių progesterono koncentracijos kraujyje tyrimus, nustatėme, kad vidutinė progesterono koncentracija kraujo serume ovuliacijos metu buvo 25,31 ± 5,47 nmol/l. Rota et al., (2007) teigia, kad progesterono koncentracija ovuliacijos momentu vidutiniškai svyruoja tarp 4-10 ng/ml (13-32 nmol/l).

Mūsų atveju visų kalių ovuliacija vidutiniškai pasireiškė 9,25 ± 3,37 dieną, skaičiuojant nuo pirmos rujos dienos. Įvertinus kaip dažnai kurią dieną ovuliacija pasireiškė, nustatėme, kad dažniausiai kalės ovuliacija pasireiškė 8 arba 10 dieną nuo rujos pradžios, o rečiausiai – praėjus daugiau kaip 2 savaitėms nuo lytinio ciklo pradžios.

Kiti mokslininkai (van Klaveren et al., 2001; Laurusevičius, 2009) teigia, kad vidutiniškai ovuliacija įvyksta 12 dieną nuo lytinio ciklo pradžios arba 2-3 dieną skaičiuojant nuo tikrosios rujos pradžios, retais atvejais ovuliacija įvyksta po savaitės nuo lytinio ciklo pradžios, ar vėliau nei 12-13 dieną nuo lytinio ciklo pradžios. Hori et al., (2012), nustatė, kad kalėms ovuliacija pasireiškia 11,1 ± 0,2 dieną skaičiuojant nuo lytinio ciklo pradžios.

Įvertinus ovuliacijos pasireiškimo laiką pagal kalių amžių, buvo nustatyta, kad iki 5 metų amžiaus (n = 41) kalių ovuliacija pasireiškia praėjus 9,34 ± 3,12 dienoms po lytinio ciklo pradžios, o vyresnių nei 5 metų amžiaus (n = 12) kalių – 0,42 dienos anksčiau (8,92 ± 4,25). Nustačius kaip koreliuoja ovuliacijos pasireiškimo laikas su kalės amžiumi, galima daryti prielaidą, kad kalės amžius neturėjo įtakos ovuliacijos pasireiškimo laikui (r = - 0,033; p>0,05).

Hori et al., (2012) taip pat nustatė, kad ovuliacijos pasireiškimo laikui kalės amžius įtakos neturi.

Ištyrus ovuliacijos pasireiškimo laiką pagal kalių veislių dydį, nustatyta, kad mažųjų veislių kalių ovuliacija vidutiniškai pasireiškia 8,8 ± 3,0 dieną, vidutinio dydžio veislių – 9,6 ± 3,6, o didžiųjų veislių – 9,5 ± 3,7 dieną skaičiuojant nuo lytinio ciklo pradžios. Įvertinus kaip koreliuoja ovuliacijos pasireiškimo diena su kalės veislės dydžiu, nustatyta, kad patikimo priklausomumo tarp šių rodiklių nėra (r = 0,101; p > 0,05). Literatūroje nepavyko aptikti analogiškų tyrimų duomenų ar interpretacijų.

Vertinant vidutinį ovuliacijos pasireiškimo laiką pagal metų laiką nustatyta, kad žiemos metu kalių ovuliacija pasireiškia 8,0 ± 2,65 dieną, pavasarį - 9,3 ± 3,21 dieną, vasarą – 9,5 ± 3,14 dieną, o rudenį – 9,3 ± 3,79 dieną, skaičiuojant nuo pirmos lytinio ciklo dienos. Įvertinus ovuliacijos laiko priklausomumą nuo metų laiko, buvo nustatyta, kad metų laikas patikimos įtakos ovuliacijos pasireiškimo laikui neturėjo (r = 0,044; p > 0,05). Literatūroje nepavyko aptikti analogiškų tyrimų duomenų ar interpretacijų.

Įvedę GnRH agonisto *Suprelorin* implantą keturioms kalėms, mes nustatėme, kad panaudojus preparatą ovuliacija vidutiniškai buvo pasiekiama per 10,3 ± 4,2 dienas, skaičiuojant nuo implanto įvedimo dienos.

Heimendahl&Miller(2012) taip pat gavo panašius rezultatus. Jis nustatė, kad 16 skirtingų veislių kalių ruja pasireiškė per 1-10 dienų po implanto įvedimo, o ovuliacija per 4-16 dienų po įvedimo. Tuo tarpu, Fontaine & Fontbonne (2011) nustatė, kad po implanto įvedimo ruja vidutiniškai prasidėjo po 4,2 ± 1,4 dienų, o ovuliacija pasireiškė tik 12,0 ± 2,0 dieną. Kito eksperimento metu Fontaine et al., (2011) nustatė, kad ovuliacija pasireiškia tarp 8 ir 16 dienos (vidutiniškai 11,8 ± 2,1) nuo GnRH agonisto *Suprelorin* panaudojimo.

Walter et al., (2011) nustatė, kad ovuliacija po *Suprelorin* implanto panaudojimo pasireiškia gerokai anksčiau - tarp 4 ir 15 dienos (vidutiniškai 8,2 dieną) nuo implanto įvedimo.

Mūsų eksperimento metu vienai iš kalių (JT) praėjus *Suprelorin* implanto sukeltai rujai, lytinis ciklas liko neužblokuotas. Tai yra po implanto įvedimo praėjus maždaug 30 dienų vėl pasireiškė ruja.

Arnoldet al., (2010) atliktų tyrimų duomenimis, 43/47 kalėms, kurioms buvo įvestas *Suprelorin* implantas, praėjus 30 dienų nebeturėjo rujos požymių. Fontaine et al., (2011) duomenimis, 25/32 kalėms pasireiškė ovuliacija po *Suprelorin* implanto panaudojimo. Taigi galima būtų daryti, prielaidą, kad ne visuomet pasireiškia blokuojamasis poveikis. Tačiau, Walter et al., (2011) duomenimis, visoms tyrimui naudotoms kalėms (17/17) po agonisto panaudojimo buvo sukelta ruja, bei ovuliacija.

Vienai iš mūsų eksperimentinių kalių (KA) ruja visiškai nepasireiškė. Tai yra, nebuvo rujai būdingų požymių, o progesterono koncentracija pasiekė tik 1,4 nmol/l koncentraciją. Kodėl ruja nepasireiškė tiksliai atsakyti negalime, tačiau manome, kad tai gal būt galėjo įvykti dėl neteisingo implanto įvedimo, tai yra implantas galėjo būti įvestas per giliai į poodžio riebalinį sluoksnį, kur kraujotaka yra palyginti silpna ir preparato pasisavinimas buvo per menkas ir jis veikė per silpnai. Kita hipotezė, kodėl implantas nesukėlė ovuliacijos, galėtų būti ta, kad gal būt implantas buvo įvestas ne *anestrus* fazėje, ir lytinis ciklas buvo iškarto užblokuotas.

Romagnoli et al., (2009) ir Sung et al., (2006) nustatė, kad įvedus *Suprelorin* implantą *diestrus* fazėje lytinis ciklas yra blokuojamas, tuo tarpu jį panaudojus *anestrus* fazėje – sukeliama ruja.

*Suprelorin* vaistiniame apraše nurodyta, kad implanto negalima implantuoti į riebalus, nes negausios vaskuliarizacijos srityse veikliosios medžiagos atpalaidavimas gali būti prastesnis[[1]](#footnote-1).

Palyginus kales, kurioms buvo įvesti *Suprelorin* implantai, individualiai su jų amžiaus ir dydžio natūraliai rujojusių kalių atitinkamomis grupėmis didžiausias skirtumas tarp ovuliacijos pasireiškimo laiko po implanto panaudojimo ir be jo gautas lyginant mišrūnės kalės (M) ovuliacijos laiką (su implantu) su vidutinio dydžio kalėmis (natūrali ovuliacija). Mišrūnės kalės (M) ovuliacija pasireiškė 5,40 dienomis vėliau, ir 6,08 dienomis vėliau nei 5 metų ir vyresnėms kalėms.

Mažiausias dienų skirtumas tarp ovuliacijos pasireiškimo laiko po implanto panaudojimo ir be jo nustatytas Vokiečių aviganių veislės kalei (su implantu) rezultatus palyginus su didžiųjų veislių kalėmis (natūrali ovuliacija) - tai yra stimuliuotai GnRH agonistu VA veislės kalei ovuliacija pasireiškė tik 0,50 dienos vėliau, o lyginant su iki 5 metų amžiaus kalėmis - 0,34 dienos anksčiau.

Analizuojant literatūrą analogiškų tyrimų duomenų ar interpretacijų nepavyko rasti.

# 6. Išvados

1. Mažųjų veislių kalių ovuliacija, skaičiuojant nuo rujos pradžios, pasireiškė 8,8 ± 3,0 d., tai yra 0,8 d. anksčiau nei vidutinio dydžio ir 0,7 d. anksčiau nei didelių veislių kalių. Tačiau kalės veislės dydis patikimos reikšmės ovuliacijos pasireiškimo laikui neturėjo (p > 0,05);
2. Kalės amžius patikimos įtakos ovuliacijos pasireiškimo laikui neturėjo (p > 0,05). Iki 5 metų amžiaus kalių ovuliacija pasireiškė 0,42 dienos (9,34 ± 3,12 d.), skaičiuojant nuo pirmos rujos dienos, vėliau nei vyresnių nei 5 metų amžiaus kalių.
3. Metų laikas patikimos įtakos ovuliacijos pasireiškimo laikui neturėjo (p > 0,05). Žiemą ovuliacija pasireiškė anksčiausiai - 8,0 ± 2,65 dieną, o vasarą vėliausiai – 9,5±3,14 dieną skaičiuojant nuo pirmos rujos dienos.
4. Tarp požymių nustatyti labai silpni ir statistiškai nepatikimi koreliaciniai ryšiai: ovuliacijos laikas-veislės dydis (r = - 0,005), ovuliacijos laikas-kalės amžius (r = - 0,033), ovuliacijos laikas-metų laikas (r = 0,044).
5. Po GnRH agonisto *Suprelorin* implanto panaudojimo ovuliacija pirmajai kalei pasireiškė 7 dieną, antrajai – 9 dieną, trečiajai lytinis ciklas buvo blokuotas iš karto, o ketvirtajai - ovuliacija pasireškė tik 15 dieną. Vidutiniškai visų kalių ovuliacija pasireiškė po 10,30 ± 4,20 d.
6. Lyginant kalių po GnRH agonisto panaudojimo ovuliacijos laiką su kalių ovuliacijos laiku po natūralios rujos nustatyta, kad natūraliai rujojusių kalių ovuliacija pasireiškė 1,05 dienos anksčiau (9,25 ± 3,37 d.).
7. Mišrūnės kalės (M) ovuliacija po stimuliacijos GnRH agonistu pasireiškė vėliausiai (5,40 dienomis vėliau) nei kitų vidutinio dydžio kalių natūrali ovuliacija, ir 6,08 dienomis vėliau nei 5 metų ir vyresnių kalių.
8. Mažiausias ovuliacijos pasireiškimo laiko skirtumas su natūraliai pasireiškusia ruja nustatytas GnRH agonistu stimuliuotai VA veislės kalei. Jos ovuliacija pasireiškė tik 0,50 dienos vėliau lyginat su didžiųjų veislių kalėmis, o lyginant su iki 5 metų amžiaus kalėmis - 0,34 dienos anksčiau.

# 7. Rekomendacijos

* + - 1. GnRH agonisto implantą rujai sukelti ir ovuliacijos pasireiškimui skatinti rekomenduojame naudoti tik gerai įvertinus ekonominį efektą ir nesant kitų būdų norimam rezultatui pasiekti.
			2. Prieš įvedant GnRH agonistini implantą *Suprelorin* svarbu ištirti progesterono koncentraciją kraujo serume, kad įsitikinti ar kalė yra *anestrus* fazėje.
			3. Įvedus implantą būtina įsitikinti, kad *Suprelorin* implantas įvestas tinkamai - į poodį, o ne giliau į riebalus.

# 8. Priedai

**1 lentelė Progesterono koncentracijos tyrimų duomenys.**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Eil. Nr.** | **Veislė** | **Amžius, mėn.** | **Kūno masė, kg** | **Rujos diena** | **Progesterono konc. Nmol/l** |
| 1 | Airių seteris | 60 | 25 | 10 | 19.84 |
| 2 | Akita | 24 | 23 | 5 | 29.49 |
| 7 | Akita | 24 | 30 | 16 | 2.72 |
| 6 | Akita | 30 | 25 | 13 | 7.2 |
| 4 | Akita | 36 | 30 | 7 | 2.14 |
| 3 | Akita | 48 | 30 | 6 | 1.98 |
| 5 | Akita | 60 | 32 | 10 | 5.28 |
| 8 | Akita | 72 | 30 | 19 | 17.97 |
| 9 | Amerikiečių buldogas | 60 | 44.3 | 3 | 33.06 |
| 16 | Anglų buldogas | 16 | 22 | 11 | 5.98 |
| 11 | Anglų buldogas | 24 | 20 | 6 | 0.33 |
| 12 | Anglų buldogas | 24 | 21.2 | 8 | 19.83 |
| 17 | Anglų buldogas | 24 | 23.5 | 14 | 87.34 |
| 10 | Anglų buldogas | 36 | 22 | 3 | 1.53 |
| 13 | Anglų buldogas | 36 | 21.9 | 9 | 128.48 |
| 14 | Anglų buldogas | 39 | 22 | 9 | 0.62 |
| 15 | Anglų buldogas | 60 | 22.8 | 10 | 59.56 |
| 21 | Auksaspalvis retriveris | 24 | 29 | 12 | 8.03 |
| 22 | Auksaspalvis retriveris | 24 | 29 | 14 | 120.58 |
| 23 | Auksaspalvis retriveris | 36 | 35 | 14 | 10.2 |
| 20 | Auksaspalvis retriveris | 66 | 32 | 10 | 33.57 |
| 18 | Auksaspalvis retriveris | 72 | 36 | 6 | 16.7 |
| 19 | Auksaspalvis retriveris | 72 | 29 | 8 | 12.84 |
| 37 | Berno zenenhundas | 18 | 44 | 12 | 30.81 |
| 25 | Berno zenenhundas | 24 | 40 | 5 | 4.69 |
| 26 | Berno zenenhundas | 24 | 43 | 7 | 6.06 |
| 27 | Berno zenenhundas | 24 | 40 | 7 | 9.11 |
| 30 | Berno zenenhundas | 24 | 46 | 8 | 19.28 |
| 31 | Berno zenenhundas | 24 | 35 | 8 | 33.77 |
| 34 | Berno zenenhundas | 24 | 42 | 9 | 10.1 |
| 35 | Berno zenenhundas | 24 | 43 | 10 | 37.39 |
| 38 | Berno zenenhundas | 31 | 45.8 | 12 | 15.23 |
| 28 | Berno zenenhundas | 36 | 38.5 | 7 | 2.93 |
| 33 | Berno zenenhundas | 36 | 38.5 | 9 | 75.11 |
| 36 | Berno zenenhundas | 48 | 49 | 12 | 36.6 |
| 24 | Berno zenenhundas | 72 | 45 | 5 | 0 |
| 29 | Berno zenenhundas | 72 | 45 | 8 | 5.18 |
| 32 | Berno zenenhundas | 72 | 44 | 9 | 1.59 |
| 48 | Biglis | 18 | 14.6 | 15 | 19.18 |
| 40 | Biglis | 24 | 15 | 7 | 13.48 |
| 45 | Biglis | 24 | 10 | 12 | 128.48 |
| 47 | Biglis | 25 | 13.3 | 14 | 51.4 |
| 42 | Biglis | 36 | 12.7 | 9 | 23.46 |
| 43 | Biglis | 36 | 13 | 10 | 59.48 |
| 44 | Biglis | 36 | 14.5 | 10 | 14.12 |
| 46 | Biglis | 36 | 15 | 12 | 63.07 |
| 39 | Biglis | 48 | 27 | 7 | 34.21 |
| 41 | Biglis | 72 | 11.8 | 7 | 9.14 |
| 49 | Bordo dogas | 48 | 52 | 8 | 5.8 |
| 51 | Bordo dogas | 48 | 52 | 11 | 22.41 |
| 53 | Bordo dogas | 60 | 48 | 13 | 84.46 |
| 50 | Bordo dogas | 72 | 47 | 10 | 54.82 |
| 52 | Bordo dogas | 78 | 54 | 13 | 2.73 |
| 54 | Bordo dogas | 78 | 54 | 16 | 2.42 |
| 55 | Boseronas | 18 | 32 | 10 | 23.18 |
| 61 | Bulterjeras | 15 | 22.8 | 12 | 13.39 |
| 58 | Bulterjeras | 24 | 23.8 | 8 | 10.98 |
| 59 | Bulterjeras | 24 | 22.8 | 9 | 11.85 |
| 60 | Bulterjeras | 24 | 22.8 | 11 | 8.11 |
| 62 | Bulterjeras | 24 | 22.8 | 13 | 23.61 |
| 63 | Bulterjeras | 24 | 23.7 | 14 | 13.2 |
| 64 | Bulterjeras | 24 | 23.7 | 16 | 25.31 |
| 57 | Bulterjeras | 42 | 22.8 | 8 | 5.18 |
| 56 | Bulterjeras | 96 | 22.8 | 6 | 4.47 |
| 81 | Čiau-čiau | 17 | 27 | 19 | 68.69 |
| 69 | Čiau-čiau | 21 | 30 | 4 | 0.59 |
| 72 | Čiau-čiau | 21 | 25.5 | 5 | 1.85 |
| 75 | Čiau-čiau | 21 | 25 | 8 | 28.62 |
| 76 | Čiau-čiau | 21 | 27 | 9 | 11.6 |
| 78 | Čiau-čiau | 21 | 25.5 | 10 | 57.89 |
| 65 | Čiau-čiau | 36 | 30 | 2 | 1.69 |
| 67 | Čiau-čiau | 36 | 30 | 3 | 1.89 |
| 66 | Čiau-čiau | 60 | 30 | 3 | 3.41 |
| 68 | Čiau-čiau | 60 | 17 | 3 | 2.86 |
| 71 | Čiau-čiau | 60 | 30 | 4 | 5.59 |
| 74 | Čiau-čiau | 60 | 17 | 6 | 17.85 |
| 77 | Čiau-čiau | 60 | 30 | 9 | 1.55 |
| 79 | Čiau-čiau | 60 | 30 | 11 | 1.23 |
| 70 | Čiau-čiau | 96 | 25 | 4 | 4.7 |
| 73 | Čiau-čiau | 96 | 25 | 5 | 3.51 |
| 80 | Čiau-čiau | 132 | 25 | 16 | 14.94 |
| 83 | Čihuahua | 24 | 2.2 | 8 | 6.43 |
| 84 | Čihuahua | 48 | 3.5 | 10 | 20.89 |
| 82 | Čihuahua | 108 | 2.1 | 6 | 32.18 |
| 85 | Cvergpinčeris | 29 | 4.5 | 11 | 76.5 |
| 86 | Dogas | 36 | 70 | 7 | 20.84 |
| 88 | Dogas | 36 | 70 | 10 | 5.69 |
| 91 | Dogas | 36 | 70 | 12 | 8.48 |
| 87 | Dogas | 60 | 58.8 | 8 | 4.45 |
| 89 | Dogas | 60 | 58.8 | 10 | 5.95 |
| 90 | Dogas | 72 | 63 | 10 | 33.05 |
| 92 | Džeko Raselo terjeras | 24 | 7 | 8 | 18.58 |
| 94 | Foksterjeras | 36 | 7.9 | 14 | 8.22 |
| 93 | Foksterjeras | 60 | 7.9 | 12 | 2.08 |
| 95 | Garbanotasis maltos bišonas | 24 | 6 | 13 | 33.67 |
| 96 | Ilgaplaukis kolis | 18 | 19.7 | 1 | 7.61 |
| 97 | Ilgaplaukis kolis | 18 | 19.7 | 3 | 6.02 |
| 98 | Ilgaplaukis kolis | 18 | 19.7 | 5 | 12.48 |
| 99 | Ilgaplaukis kolis | 18 | 19.7 | 6 | 16.05 |
| 100 | Japonų chinas | 54 | 2.2 | 3 | 4.01 |
| 101 | Japonų chinas | 54 | 2.2 | 6 | 11.79 |
| 102 | Japonų chinas | 54 | 2 | 8 | 7.47 |
| 103 | Japonų chinas | 54 | 2.2 | 10 | 15.08 |
| 104 | Japonų chinas | 54 | 2.2 | 11 | 22.07 |
| 107 | Jorkšyro terjeras | 24 | 3 | 7 | 5.06 |
| 110 | Jorkšyro terjeras | 24 | 3 | 10 | 23.62 |
| 112 | Jorkšyro terjeras | 24 | 3.3 | 14 | 128.48 |
| 106 | Jorkšyro terjeras | 32 | 3 | 6 | 7.19 |
| 105 | Jorkšyro terjeras | 36 | 4.5 | 4 | 7.21 |
| 108 | Jorkšyro terjeras | 36 | 3 | 7 | 59.4 |
| 111 | Jorkšyro terjeras | 36 | 2.3 | 10 | 15.24 |
| 109 | Jorkšyro terjeras | 48 | 3.4 | 8 | 3.35 |
| 113 | Kinu kuoduotasis | 36 | 4.6 | 5 | 34.72 |
| 114 | Koli | 27 | 16 | 1 | 44.21 |
| 115 | Koli | 36 | 16.9 | 9 | 10.75 |
| 116 | Koli | 36 | 16.9 | 13 | 1.37 |
| 117 | Koli | 36 | 16.9 | 15 | 23.78 |
| 118 | Labradoro retriveris | 27 | 31 | 6 | 1.43 |
| 122 | Labradoro retriveris | 27 | 31 | 9 | 5.89 |
| 123 | Labradoro retriveris | 27 | 31 | 11 | 14.21 |
| 121 | Labradoro retriveris | 36 | 34 | 8 | 2.74 |
| 124 | Labradoro retriveris | 36 | 34 | 13 | 4.52 |
| 125 | Labradoro retriveris | 48 | 34 | 15 | 20.2 |
| 119 | Labradoro retriveris | 72 | 45 | 6 | 15.6 |
| 120 | Labradoro retriveris | 78 | 32 | 7 | 2.38 |
| 133 | Leiklendo terjeras | 36 | 9.5 | 15 | 13.1 |
| 126 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 3 | 0.98 |
| 127 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 5 | 2.16 |
| 128 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 5 | 1.3 |
| 129 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 6 | 2.37 |
| 130 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 7 | 3.35 |
| 131 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 10 | 25.9 |
| 132 | Leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 13 | 26.73 |
| 138 | Maltos bišonas | 15 | 4.6 | 5 | 15.37 |
| 147 | Maltos bišonas | 15 | 4.6 | 11 | 20.67 |
| 140 | Maltos bišonas | 17 | 2.8 | 7 | 6.54 |
| 134 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 4 | 19.04 |
| 139 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 6 | 27.37 |
| 141 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 7 | 30.67 |
| 143 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 8 | 25.24 |
| 145 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 9 | 56.82 |
| 148 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 11 | 37.61 |
| 150 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 12 | 41.19 |
| 151 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 12 | 51.62 |
| 152 | Maltos bišonas | 24 | 4 | 13 | 25.69 |
| 144 | Maltos bišonas | 30 | 3.2 | 9 | 44.38 |
| 146 | Maltos bišonas | 30 | 2.2 | 10 | 67.9 |
| 136 | Maltos bišonas | 36 | 2 | 4 | 7.17 |
| 137 | Maltos bišonas | 36 | 3 | 4 | 5.15 |
| 142 | Maltos bišonas | 36 | 3.7 | 7 | 15.64 |
| 135 | Maltos bišonas | 48 | 4 | 4 | 6.8 |
| 149 | Maltos bišonas | 60 | 2.7 | 11 | 71.72 |
| 153 | Maskvos sargybinis | 24 | 44 | 7 | 11.6 |
| 158 | Mopsas | 24 | 8.2 | 6 | 1.59 |
| 160 | Mopsas | 24 | 7.6 | 7 | 6.78 |
| 162 | Mopsas | 24 | 7.6 | 9 | 15.29 |
| 163 | Mopsas | 26 | 13 | 10 | 15.67 |
| 156 | Mopsas | 30 | 8.9 | 3 | 30.24 |
| 164 | Mopsas | 36 | 14.2 | 11 | 33.35 |
| 155 | Mopsas | 48 | 10 | 3 | 3.75 |
| 157 | Mopsas | 48 | 10 | 5 | 12.95 |
| 161 | Mopsas | 48 | 10 | 8 | 6.73 |
| 165 | Mopsas | 48 | 10 | 11 | 20.6 |
| 159 | Mopsas | 60 | 14.2 | 7 | 6.4 |
| 154 | Mopsas | 84 | 9.5 | 2 | 2.17 |
| 166 | Mopsas | 84 | 9.5 | 13 | 82.18 |
| 167 | Niufaundlendas | 24 | 62.5 | 6 | 7.99 |
| 169 | Niufaundlendas | 24 | 62.5 | 8 | 51.65 |
| 168 | Niufaundlendas | 48 | 56 | 6 | 13.66 |
| 170 | Norvidžo terjeras | 54 | 8 | 8 | 9.81 |
| 171 | Norvidžo terjeras | 54 | 8 | 10 | 16.56 |
| 172 | Nykštukinis Špicas | 24 | 3 | 4 | 3.57 |
| 174 | Nykštukinis Špicas | 24 | 3 | 6 | 11.76 |
| 175 | Nykštukinis Špicas | 24 | 5 | 7 | 14.22 |
| 178 | Nykštukinis Špicas | 24 | 2.2 | 9 | 15.29 |
| 181 | Nykštukinis Špicas | 30 | 2.2 | 11 | 23.49 |
| 182 | Nykštukinis Špicas | 36 | 2.5 | 12 | 111.07 |
| 173 | Nykštukinis Špicas | 48 | 2.5 | 5 | 4.92 |
| 177 | Nykštukinis Špicas | 48 | 2.5 | 8 | 5.83 |
| 179 | Nykštukinis Špicas | 48 | 3.9 | 9 | 80.57 |
| 180 | Nykštukinis Špicas | 48 | 2.5 | 9 | 14.73 |
| 176 | Nykštukinis Špicas | 72 | 2.5 | 7 | 9.78 |
| 183 | Papiljonas | 24 | 3 | 12 | 11.5 |
| 184 | Parsono Raselo terjeras | 24 | 7.8 | 6 | 2.88 |
| 186 | Prancūzų buldogas | 12 | 10.5 | 8 | 18.51 |
| 187 | Prancūzų buldogas | 12 | 9 | 9 | 84.61 |
| 188 | Prancūzų buldogas | 36 | 9.9 | 10 | 34.16 |
| 185 | Prancūzų buldogas | 60 | 12.4 | 6 | 24.14 |
| 189 | Pudelis | 42 | 96 | 6 | 33.61 |
| 190 | Pudelis | 84 | 4.2 | 6 | 38.76 |
| 191 | Rusų žaisliukas | 24 | 2.5 | 3 | 3.93 |
| 193 | Rusų žaisliukas | 24 | 3 | 7 | 5.32 |
| 192 | Rusų žaisliukas | 48 | 2.6 | 4 | 2.73 |
| 194 | Rusų žaisliukas | 48 | 2.6 | 8 | 10.74 |
| 195 | Samojedas | 30 | 22 | 9 | 5.23 |
| 196 | Samojedas | 36 | 24 | 11 | 7.34 |
| 197 | Samojedas | 36 | 24 | 14 | 14.4 |
| 198 | Šantė | 54 | 9 | 10 | 8.98 |
| 199 | Šantė | 54 | 9 | 12 | 12.41 |
| 201 | Šeltis | 18 | 9.3 | 4 | 34.77 |
| 204 | Šeltis | 24 | 9 | 12 | 19.07 |
| 202 | Šeltis | 36 | 10 | 5 | 10.59 |
| 203 | Šeltis | 36 | 9 | 7 | 1.42 |
| 200 | Šeltis | 48 | 10 | 1 | 1.64 |
| 205 | Shiba inu | 84 | 9 | 7 | 8.66 |
| 206 | Shiba inu | 84 | 9 | 9 | 14.47 |
| 207 | Sibiro haskis | 24 | 20 | 7 | 13.91 |
| 208 | Sibiro haskis | 24 | 20 | 8 | 20.3 |
| 209 | Sibiro haskis | 24 | 22 | 8 | 16.3 |
| 210 | Toyterjeras | 72 | 2 | 5 | 19.82 |
| 211 | Trumpaplaukis leiklendo terjeras | 60 | 9.5 | 12 | 4.75 |
| 212 | Trumpaplaukis triušinis taksas | 36 | 3.8 | 7 | 25.38 |
| 215 | Vakarų škotijos terjeras | 18 | 10 | 5 | 11.72 |
| 231 | Vakarų škotijos terjeras | 18 | 7.7 | 12 | 61.35 |
| 213 | Vakarų škotijos terjeras | 24 | 7.6 | 3 | 0.87 |
| 217 | Vakarų škotijos terjeras | 24 | 11.2 | 6 | 12.66 |
| 219 | Vakarų škotijos terjeras | 24 | 11 | 7 | 5.34 |
| 226 | Vakarų škotijos terjeras | 24 | 11 | 10 | 15.75 |
| 220 | Vakarų škotijos terjeras | 30 | 7.7 | 7 | 13.82 |
| 229 | Vakarų škotijos terjeras | 30 | 9.9 | 12 | 23.78 |
| 234 | Vakarų škotijos terjeras | 30 | 9.9 | 14 | 9.7 |
| 214 | Vakarų škotijos terjeras | 36 | 8.4 | 3 | 1.06 |
| 224 | Vakarų škotijos terjeras | 36 | 10.3 | 9 | 10.35 |
| 225 | Vakarų škotijos terjeras | 36 | 9 | 10 | 2.61 |
| 233 | Vakarų škotijos terjeras | 36 | 7.8 | 12 | 11.94 |
| 223 | Vakarų škotijos terjeras | 39 | 7.5 | 9 | 14.27 |
| 228 | Vakarų škotijos terjeras | 42 | 8.4 | 11 | 74.69 |
| 227 | Vakarų škotijos terjeras | 48 | 7 | 11 | 29.18 |
| 230 | Vakarų škotijos terjeras | 48 | 7 | 12 | 26.37 |
| 216 | Vakarų škotijos terjeras | 60 | 9.7 | 6 | 13.74 |
| 232 | Vakarų škotijos terjeras | 60 | 9 | 12 | 128.48 |
| 218 | Vakarų škotijos terjeras | 72 | 8 | 7 | 44.13 |
| 221 | Vakarų škotijos terjeras | 72 | 9.7 | 8 | 35.57 |
| 222 | Vakarų škotijos terjeras | 72 | 11 | 9 | 18.54 |
| 236 | Vengrų vižla | 24 | 21 | 4 | 1.24 |
| 243 | Vengrų vižla | 31 | 28 | 11 | 8.5 |
| 245 | Vengrų vižla | 31 | 28 | 12 | 15.64 |
| 235 | Vengrų vižla | 36 | 21 | 1 | 3.33 |
| 237 | Vengrų vižla | 36 | 21 | 6 | 3.82 |
| 239 | Vengrų vižla | 36 | 21 | 8 | 8.79 |
| 241 | Vengrų vižla | 36 | 21 | 9 | 11.08 |
| 242 | Vengrų vižla | 36 | 21 | 10 | 20.6 |
| 238 | Vengrų vižla | 60 | 25 | 7 | 9.37 |
| 240 | Vengrų vižla | 60 | 25 | 9 | 34.96 |
| 244 | Vengrų vižla | 60 | 27 | 11 | 8.52 |
| 246 | Vengrų vižla | 60 | 27 | 12 | 15.38 |
| 247 | Vidurio azijos aviganis | 60 | 60 | 9 | 124.48 |
| 248 | Vipetas | 36 | 14 | 7 | 17.07 |
| 249 | Vokiečių aviganis | 24 | 25 | 5 | 1 |
| 251 | Vokiečių aviganis | 24 | 35 | 7 | 10.85 |
| 252 | Vokiečių aviganis | 24 | 25 | 7 | 10.75 |
| 255 | Vokiečių aviganis | 24 | 28.2 | 10 | 9.23 |
| 258 | Vokiečių aviganis | 24 | 31.5 | 11 | 86.86 |
| 259 | Vokiečių aviganis | 24 | 28.2 | 12 | 14.99 |
| 250 | Vokiečių aviganis | 36 | 49 | 6 | 6.1 |
| 257 | Vokiečių aviganis | 36 | 49 | 10 | 14.9 |
| 260 | Vokiečių aviganis | 36 | 49 | 12 | 58.42 |
| 256 | Vokiečių aviganis | 48 | 34.7 | 10 | 32.65 |
| 253 | Vokiečių aviganis | 60 | 35 | 9 | 63.36 |
| 254 | Vokiečių aviganis | 72 | 30 | 10 | 7.47 |
| 261 | Vokiečių aviganis | 72 | 31 | 29 | 56.21 |
| 262 | Vokiečių dogas | 60 | 58.8 | 12 | 56.87 |
| 263 | Vokiečių špicas | 24 | 2.6 | 4 | 4.85 |
| 264 | Vokiečių špicas | 24 | 2.4 | 12 | 34.4 |

9. Literatūros sąrašas

1. Aydin, I., Sur, E., Ozaydin, T., Dinc, D. A. Determination of the stages of the sexual cycle of the bitch by direct examination. *J. of Anim. Vet. Adv.* 2011. 10 (15). P. 1962 – 1967.
2. Ajala, O., Fayemi O.E., Oyeyemi, M. O. The Oestrous Cycle of the Nigerian Local Bitch. *Global Veterinaria*. 2012, 8 (6). P. 574 – 582.
3. Arnold, S., Navarro, C., Heimendahl, A., Gier, J., Vinke, C.M., Georicke-Pesch, S., Georgiev, P., Wehrend, A., Fontaine, E., Fontbonne, A., Reichler, I.M., Schoemaker. *In proceedings of 7th EVSSAR Congress. Symposium Deslorelin: Deslorelin in practice.* Belgium. 2010. P. 4 – 22.
4. Arthur, G.H. Arthur‘s veterinary reproduction and obstetrics. *Elsevier.* 2001. P. 4 – 11, 33 – 37
5. Beste N., Nottfort S., Eschricht F., Hoppen H. O., Dieleman S., Einspenier A., Gunzel-Apel A. R. Comparison of selected endocrine parameters during luteal phase and pregnancy in German Shepherd dogs and Beagles. *In proceedings of the 6th International Symposium on Canine and Feline reproduction.* Vienna, 9-11 July, 2008. P. 43 – 44.
6. Blendinger K. Physiologgy and pathology of the estrus cycle of the bitch. *In proceedings of the SCIVAC Congress.* 2007. P. 73 – 77.
7. Boothe, D.M. Small animal clinical pharmacology and therapeutics. *Elsevier*. 2012. P. 871 – 872, 875, 876 – 884.
8. Concannon P.W. Effects of hypophysectomy and of luteinizing hormone administration on the luteal phase plasma progesterone levels in the Beagle bitch. *Journal of Reproduction and Fertility.* 1980. Vol. 58. P. 407.
9. Concannon P.W. The physiology of ovarian cycles, pregnancy and parturition in the domestic dog. *In Proceedings of the society of Theriogenology*. 1987. P.159.
10. Concannon, P. W. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Animal Reproduction Science* 124*.* 2011. P. 200 – 210.
11. Cunningham, J.G., Klein, B. G. Textbook of Veterinary physiology. *Elsevier*. 2007. P. 418 – 419, 423 – 424, 466 – 473
12. Farstad W. Assisted reproductive technology in canid species. *Theriogenology 53*. 2000. P. 175 – 186.
13. Feldman E.C., Nelson R.W. Canine and feline endocrinology and reproduction. *Elsevier*, 2004. P. 752 – 769, 890.
14. Fontaine, E., Fontbonne, A. Clinical Use of GnRH Agonists in Canine and Feline Species. *Reprod Dom Anim 46,* 2011. P. 344 – 353.
15. Fontaine, E., Mira, F., Vanniera, A., Gerardina, M., Albouyb, M., Navarro, C., Fontbonne, A. Induction of fertile oestrus in the bitch using Deslorelin, a GnRH agonist. *Theriogenology 76.* 2011. P. 1561 – 1566.
16. Heimendahl, A. von, Miller, C. Clinical Evaluation of Deslorelin to Induce Oestrus, Ovulation and Pregnancy in the Bitch. *Reprod Dom Anim 47 (Suppl. 6),* 2012. P. 398 – 399.
17. Hori T., Tsutsui T., Amano Y., Concannon P.W. Ovulation Day After Onset of Vulval Bleeding in a Beagle Colony. *Reprod Dom Anim* 47 (Suppl. 6). 2012. P. 47 – 51.
18. Jeffcoate I.A., England G.C. Trinary LH, plasma LH and progesterone and their clinical correlates in the periovulatory period of domestic bitches. *Journal of Reproduction and neonatology*. Cheltenham. 1998. P. 1 – 9.
19. Klein B.G. Cunningham‘s textbook of veterinary physiology. Missouri, *Elsevier Sounders*. 2013. P. 366, 370, 410 – 429.
20. Kutzler, M.A. Induction and synchronization of estrus in dogs. *Theriogenology 64,* 2005. P. 766 – 775.
21. Kutzler, M.A. Estrus induction and synchronization in canids and felids. *Theriogenology 68, 2007.* P. 354 – 374.
22. Laurusevičius S.A. Kalių reprodukciniai parametrai ir makšties mikrofloros tyrimas skirtingomis lytinio ciklo fazėmis. Daktaro disertacija. Veterinarijos akademija, Kaunas, 2009. P. 12 – 21.
23. Maddison, J.E., Page, S.W., Church, D.B. Small animal clinical pharmacology. *Elsevier Saunders*. 2008. P. 528 – 531.
24. Manothaiudom K., Johnston S.D., Hegstad R.L. Evaluation of the accuracy of the ICAGEN-Target Canine Ovulation Timing Diagnostic Test in detecting canine plasma progesterone concentrations. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 1995. Vol. 31. P.57 – 64.
25. Marti S. Clinical aspects of normal female fertility. *Proceedings of the Southern European Veterinary Conference*. 17-19 October, Barcelona. 2008. P. 55 – 57.
26. Mockutė, E. Paršavedžių reprodukcijos rodiklių dinamika kiaulininkystės komplekse. Magistrinis darbas. Veterinarijos akademija, Kaunas. 2010. P. 6.
27. Nett, T. M., Akbar, R. D., Phemister, R. D., Holst, P. A., Reichert, L. E., Niswender, G. D. Levels of Luteinizing Hormone, Estradiol and Progesterone in Serum During the Estrous Cycle and Pregnancy in the Beagle Bitch. *Experimental medicine and biology 148*. 1975. P. 134 – 139.
28. Romagnoli, S., Stelleta, C., Milani, C., Gelli, D., Faloma, M.E., Mollo, A. Clinical Use of Deslorelin for the Control of Reproduction in the Bitch. *The Authors. Journal compilation 44.* 2009. P. 36 – 39.
29. Rota, A., Veronesi, M. C., Volpe, S., Riccardi, A., Battocchio, M. Estradiol-17b, Progesterone and Testosterone Plasma Concentrations during Estrus in the Bitch. *Veterinary Research Communications 31 (Suppl. 1),* 2007. P. 197 – 199.
30. Rubion, S., Desmoulins, P.O., Rivie‘re-Godet, E., Kinziger, M., Salavert, F., Rutten, F., Flochlay-Sigognault, A., Driancourt, M.A. Treatment with a subcutaneous GnRH agonist containing controlled release device reversibly prevents puberty in bitches. *Theriogenology 66,* 2006. P. 1651 – 1654.
31. Sjaastad O. V., Sand O., Hove K. Physiology of domestic animals, second edition. *Scandinavian veterinary press*. 2010. P. 229 – 239, 701 – 708.
32. Sung, M., Armour, A.F., Wright, P.J. The influence of exogenous progestin on the occurrence of proestrous or estrous signs, plasma concentrations of luteinizing hormone and estradiol in deslorelin (GnRHagonist) treated anestrus bitches. *Theriogenology 66,* 2006. P. 1513 – 1517.
33. Trigg, T.E., Doyle, A.G., Walsh J.D., Swangchan-uthai, T. A review of advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction.*Theriogenology 66,* 2006. P. 1507 – 1512.
34. Trigg, T.E., Wright, P.J., Armour, A.F., Williamson, P.E., Junaidi, A., Martin, G.B., Doyle, A.G., Walsh, J. Use of a GnRH analogue implant to produce reversible, long-term suppression of reproductive function of male and female domestic dogs. *Journal of Reproduction & Fertility (Suppl. 57), 2001.* P. 255 – 261
35. van Klavaren N.J., Kooistra H.S., Dieleman S.J., van Lith H.A., Schaefers-Okkens A.C. The optimal mating time in the bitch based on the blood progesterone concentrations in peripheral blood. A comparison of reliability between three IFA test kits and a 125-iodine radioimmunoassay. *Tijdschirft voor Diergeneeskunde*. 2001. Vol. 21. P. 680 – 685.
36. Walter, B., Otzdorff, C., Brugger, N., Braun, J. Estrus induction in Beagle bitches with the GnRH-agonist implant containing 4.7 mg Deslorelin. *Theriogenology 75,* 2011. P. 1125 – 1129.
37. <http://brainmind.com/LimbicLanguage.html> žiūrėta : 2013 10 28 12:24.
38. <http://img.medscape.com/pi/emed/ckb/obstetrics_gynecology/252558-1336968-252928-1453260.jpg> žiūrėta: 2013 06 15 15:45.
39. <http://www.oldefashion.com/PROGESTERONETESTING.html> žiūrėta : 2013 11 06 13:15.
40. [http://www.zoopharma.lt/Dokumentas/h1FrxNRtbN4+qEwipgBCxw](http://www.zoopharma.lt/Dokumentas/h1FrxNRtbN4%2BqEwipgBCxw)== žiūrėta : 2013 07 23 15:00, 2014 01 03 21:30.

# Padėka

Ačiū, veterinarinės klinikos “Kauno veterinarijos praktika” vadovui Sauliui A. Laurusevičiui ir visam klinikos kolektyvui už draugiškumą, konsultavimą, bei bendradarbiavimą tyrimo metu.

1. *Suprelorin* vaistinis aprašas, <[http://www.zoopharma.lt/Dokumentas/h1FrxNRtbN4+qEwipgBCxw](http://www.zoopharma.lt/Dokumentas/h1FrxNRtbN4%2BqEwipgBCxw)== > [↑](#footnote-ref-1)