

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/290084703>

Influence of ovarian activity on vaginal electrical resistance in the bitch during proestrus and estrus

Article · January 2015

CITATIONS

0

READS

30

3 authors:



[Anton Antonov](#)

Trakia University

21 PUBLICATIONS 64 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Julieta Dineva](#)

Institute of Biology and Immunology of Repr...

30 PUBLICATIONS 36 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Plamen Georgiev](#)

Trakia University

38 PUBLICATIONS 221 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

ВЛИЯНИЕ НА ОВАРИАЛНАТА АКТИВНОСТ ВЪРХУ ЕЛЕКТРИЧЕСКОТО СЪПРОТИВЛЕНИЕ НА ВЛАГАЛИЩЕТО ПРИ КУЧКАТА ПО ВРЕМЕ НА ПРОЕСТРУС И ЕСТРУС

А. Антонов¹, Ж. Динева², П. Георгиев¹

*¹Катедра „Акушерство, репродукция и репродуктивни нарушения“, ВМФ, Тракийски
Университет, 6000, Стара Загора, България
E-mail: anton.antonov@abv.bg*

*²Катедра „Имунобиология на размножаването“, Институт по биология и имунология
на размножаването“, 1113, София, България*

INFLUENCE OF OVARIAN ACTIVITY ON VAGINAL ELECTRICAL RESISTANCE IN THE BITCH DURING PROESTRUS AND ESTRUS

A. Antonov¹, J. Dineva², P. Georgiev¹

*¹Department of Obstetrics, Reproduction and Reproductive Disorders, Faculty of Veterinary
Medicine, Trakia University, 6000, Stara Zagora, Bulgaria*

*²Department of Immunobiology of Reproduction, Institute of Biology and Immunology of
Reproduction "Acad. K. Bratanov", Tzarigradsko shose 73, 1113 Sofia, Bulgaria*

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящето изследване бе да установим взаимовръзката между стойностите на електрическото вагинално съпротивление по време на проеструс и еструс, настъпването на овулацията и нивата на яйчниковите хормони 17 β -естрадиол и прогестерон в организма на кучката.

В проучването бяха включени 16 бр. женски кучета от различни породи и на различна възраст. Измерването на електрическото съпротивление на влагалището извършвахме ежедневно, стартирайки от първия ден на проеструса и продължи до настъпване на цитологичен диеструс. Освен това на всички животни се изготвяха цитовагинални намазки и бе проследена динамиката на серумните 17 β -естрадиол и прогестерон с цел определяне точния момент на овулацията и влиянието им върху

SUMMARY

The aim of this study was to determine the relationship between the values of vaginal electrical resistance during proestrus and oestrus, ovulation and the levels of ovarian hormones estradiol-17 β and progesterone in the bitch.

Sixteen bitches from different breeds and age were included in this investigation. Vaginal electrical resistance of each bitch was measured once daily, starting from the first day of vulval bleeding and continuing until the first day of cytological diestrus.

In each bitch vaginal smears were taken to determine the onset of estrus and diestrus and bloodsamples were taken to determine serum progesterone (ng/ml) and estradiol-17 β (pg/ml) for detection of the onset of ovulation and their influence

стойностите и динамиката на вагиналният импеданс.

Концентрациите на 17 β -естрадиол достигнаха максималните си стойности между 5-и и 9-и ден (7.5 ± 1.15 ден) от началото на проеструса, като винаги предхождаха овулацията с 2 – 5 дни (3.56 ± 0.81 дни), която настъпваше между 9-и и 13-и ден от началото на разгонването (11.06 ± 1.24 ден). През първия ден на еструса стойностите на прогестерона варираха от 2.64 до 4.37 ng/ml, достигайки до нива между 31.62 и 33.90 ng/ml в началото на диеструса. Освен това беше установено, че вагиналното съпротивление при кучката се повишава по време на проеструса и в началото на еструса, като при 14 (87.5%) от опитните животни бяха регистрирани статистически достоверни ($P < 0.001$) пикови стойности в деня на овулацията ($683\pm 231.46 \Omega$), след което настъпи постепенното им понижаване. Все още остава неясна ролята на 17 β -естрадиола и прогестерона за стойностите на вагиналното съпротивление при този вид животни.

Ключови думи: кучка, влагалище, електрическо съпротивление, прогестерон, 17 β естрадиол.

УВОД

Сравнително нов нетрадиционен подход за диагностициране на различни репродуктивни състояния при бозайниците предлага измерването на електрическото съпротивление на влагалището (импеданс). Промяната в стойностите му е тясно свързана с настъпването на LH-пика преди овулацията, а също така се обуславя от количеството на естрогени и прогестерон в

on values and the dynamics of vaginal impedance.

The concentrations of estradiol-17 β reached their top values between 5th and 9th day (7.5 ± 1.15 days) from the onset of proestrus and were determined always 2 – 5 days (3.56 ± 0.81 days) before ovulation, which was detected between 9th and 13th day (11.06 ± 1.24 day) from the first day of vulval bleeding.

At the first day of estrus progesterone values ranged from 2.64 to 4.37 ng/ml, reaching levels between 31.62 and 33.90 ng/ml at the beginning of diestrus. It was also found, that vaginal electrical resistance in the bitch increases during proestrus and early estrus. In 14 (87.5%) of bitches significant peak values ($P < 0.001$) were detected at the day of ovulation ($683\pm 231.46 \Omega$) and then slowly decreased until the first day of diestrus.

The role of estradiol-17 β and progesterone on the values of vaginal resistance in the bitch is not yet fully understood.

Key words: bitch, vagina, electrical resistance, progesterone, estradiol-17 β .

INTRODUCTION

A relatively new and a non-traditional approach at the diagnostics of various reproductive disorders in mammals is the measurement of the electrical resistance of the vagina (impedance).

The changes of vaginal impedance are temporarily associated with the preovulatory luteinizing hormone (LH) peak and are significantly correlated with

кръвния серум (Rezac, 2008). Чрез него би могло да се проследи протичането на половия цикъл, отчитане на отделните му фази, предвиждане настъпване на раждането, отчитане ефекта след лекуване на възпалителни процеси в половата система, установяване на фоликулни цисти и неопластични образувания (Rezac, 2008). Всичко това разкрива потенциалните му възможности като метод за определяне на подходящия момент за осеменяване.

При преживните (Scipioni et al., 1982, Bartlewski et al., 1999, Gupta and Purohit, 2001, Rezac et al., 2001), свинете (Rezac et al., 2002) и приматите (Albrecht et al., 1985, Fischer et al., 1990) стойностите на вагиналния импеданс са по-ниски по време на еструса в сравнение с останалите фази на половия цикъл. За разлика от другите видове животни, по време на фоликулната фаза при кучката те се увеличават значително (Gunzel et al., 1986).

До този момент изследванията в тази насока при кучки са оскъдни (Klötzer, 1974, Günzel et al., 1986), а получените резултати противоречиви. Според Günzel et al. (1986) повишаването на влагалищното съпротивление започва с настъпване на проеструса и достига най-високите си

systemic levels of estradiol and progesterone (Rezac, 2008).

Findings of a number of studies suggest the possibility of using vaginal resistance to predict and confirm the fertile period of the estrous or menstrual cycle, it may be a reliable indicator of impending parturition and to confirm the existence of ovarian follicular cysts, endometriosis and cervical neoplasia (Rezac, 2008).

The detection of vaginal impedance values allows us to improve our ability to predict more precisely various reproductive processes as it is the determination of optimum time for insemination.

In ruminants (Scipioni et al., 1982, Bartlewski et al., 1999, Gupta and Purohit, 2001, Rezac et al., 2001), swines (Rezac et al., 2002) and primates (Albrecht et al., 1985, Fischer, et al., 1990) the values of vaginal impedance are lowest during the estrus than in other stages of the sexual cycle. In contrast to other species during the follicular stage in the bitch the impedance increases considerably (Gunzel et al., 1986).

Until now there are a limited number of studies on the vaginal electrical resistance in the bitch (Klötzer 1974, Günzel et al., 1986) and the results are contradictory. According to Günzel et al. (1986)

стойности в неговия край и началото на еструса. Същите автори наблюдават плато на нива 700 – 900 Ω в продължение на 6 – 7 дни, при добре проявено естрално поведение, след което следва плавно понижение през втората половина на еструса. Klötzner (1974) също установява повишаване на вагиналния импеданс при кучката през проеструса. Същият автор обаче не регистрира продължително задържане на високите му нива по време на еструса, а измерва пикови стойности (250 – 1216 Ω) през последните 2 дни на проеструса или първия ден на еструса.

Проучванията, при които се съпоставят нивата на репродуктивните хормони със стойностите на вагиналния импеданс са оскъдни. За нашата страна липсват данни за приложението на подобна методика при кучки. Наличието на определени закономерности и зависимости би могло да служи като обективен критерий при определяне на подходящия момент за осеменяване чрез измерване на вагиналното съпротивление.

Целта на настоящето изследване бе да установим взаимовръзката между стойностите на вагиналното съпротивление по време на проеструс и еструс, настъпването на овулацията и нивата на яйчниковите хормони

the increase in vaginal resistance begins with the onset of proestrus and reaches its highest values at the end of this stage and the beginning of estrus.

The same authors observed plateau levels of 700 – 900 Ω for 6 – 7 days, followed by a gradual decrease at the second half of estrus. Klötzner (1974) also found an increase of vaginal impedance at proestrus of the bitch, but did not observe the prolonged detention of these high levels during estrus and measured peak values (250 – 1216 Ω) at the last two days of proestrus or at the first day of estrus stage.

There are not many studies which investigate the correlation between the levels of reproductive hormones and the vaginal impedance values.

The presence of certain regularities and relationships could serve as an objective criterion for determining the optimum time for insemination by measuring vaginal resistance.

The aim of our investigation was the determination of the relationship between the values of vaginal electrical resistance, ovulation and the levels of estradiol-17 β and progesterone during proestrus and estrus in the bitch.

17 β -естрадиол и прогестерон в организма на кучката.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В изследването бяха включени 16 бр. женски кучета (12 раждали и 4 нераждали) от различни породи, на възраст между 2 и 5 години и с телесно тегло между 5.2 и 27 кг., приети като пациенти в „Клиниката за дребни животни“ на ВМФ при Тракийски университет, гр. Стара Загора.

Изследванията стартираха от първия ден на проеструса (началото на кървави вагинални изтечения) и продължаваха ежедневно до настъпване на цитологичен диеструс. При всеки преглед на животните се определяше общото им здравословно състояние. Успоредно с измерването на електрическото съпротивление на влагалището се изготвяше цитовагинална намазка. Допълнително се получаваше кръв за определяне на серумните нива на прогестерон и 17 β -естрадиол. По време на еструса кучките не бяха покривани от мъжко куче.

За определяне нивата на прогестерон (P₄) и естрадиол (E₂) получавахме кръв от vena serhalica в количество 2 милилитра. За отделяне на серума поставяхме така взетата проба при температура 25°C за 90 – 120 min, след което я центрофугирахме при 3000

MATERIAL AND METHODS

Sixteen bitches (12 multiparous and 4 nulliparous) of different breeds, aged 2-5 years, weighing between 5.2 and 27 kg were presented at the “Small Animal Clinic” of the Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria.

The animals were judged healthy on the basis of routine clinical examinations.

The investigation started on the first day of proestrus (appearance of serosanguineous vulvar discharge) and continued daily until the first day of cytological diestrus.

Daily measurement of the vaginal electrical resistance was made and vaginal smears were taken.

Additionally blood samples were taken to determine progesterone and estradiol-17 β levels.

During the estrus stage bitches were not mated by male dog.

To determine the levels of progesterone (P₄) and estradiol-17 β (E₂) blood samples (~2 ml) were collected from each bitch by

U/min за 10 min. и разделяхме на две. След номериране поставяхме пробите във фризер при температура -18°C до момента на изследване.

Серумните нива на прогестерона определихме чрез ELISA кит (Human, PROG ELISA, GmBh, Germany) с аналитична чувствителност $0.03 - 0.07 \text{ ng/ml}$ ($0 - 40 \text{ ng/ml}$), а за тези на 17β -естрадиола-посредством кит за естрадиол (Human, Estradiol ELISA, GmBh, Germany) с аналитична чувствителност $3 - 6 \text{ pg/ml}$ ($0-2000 \text{ pg/ml}$).

Овулацията детерминирахме при нива на прогестерона между 4 и 10 ng/ml (Jonston and Root, 1995).

Цитовагиналните намазки изсушавахме на въздух за няколко минути, след което фиксирахме и оцветявахме с „Хемаколор“ (Haemacolor®, Merck KGaA). След изсъхването им ги наблюдавахме със светлинен микроскоп и увеличение от 160 до 400 пъти.

За начало на еструса приемахме деня, в който вроговените епителни клетки в цитовагиналната намазка достигнеха 80% от общото количество (Ehlers, 2000). Настъпването на цитологичен диеструс регистрирахме, когато рязко намаляваше процента на повърхностните епителни клетки и се увеличаваха парабазалните и интермедиерните, които понякога надхвърляха 50% от

venipuncture of the cephalic vein. Upon collection, blood samples, drawn into tubes without anticoagulant, were centrifuged (3000xg for 10 min) and sera stored at -20°C until assayed for progesterone and estradiol- 17β .

Serum progesterone levels were measured by an enzyme immunoassay (EIA) using progesterone kit (Human, PROG ELISA, GmBh, Germany).

The analytic sensitivity of progesterone ELISA test was $0.03 - 0.07 \text{ ng/ml}$ (range of $0 - 40 \text{ ng/ml}$). Serum estradiol- 17β levels were measured by an enzyme immunoassay (EIA) using estradiol kit (Human, Estradiol ELISA, GmBh, Germany).

The analytic sensitivity of estradiol ELISA test was $3 - 6 \text{ pg/ml}$ (range of $0 - 2000 \text{ pg/ml}$).

Ovulation was determined at progesterone levels between 4 and 10 ng/ml (Jonston and Root, 1995).

Vaginal smears were taken with sterile cotton swabs (size $\text{Ø}2.5 \times 170$) to evaluate the changes in vaginal cells, which were stained with Haemacolor® (Merck KGaA).

A minimum of 10 fields of view were observed with a light microscope and the magnification of 160 to 400 times.

общото количество в цитовагиналната намазка (Ehlers, 2000).

Определянето на вагиналното съпротивление беше извършено чрез детектор за овулация на кучки („Draminski Dog Ovulation Detector“). След фиксиране на животното и странично изместване на опашката му почиствахме външният полов орган със суха хартиена кърпа, след което разтваряхме двете лабии и поставяхме дезинфекцираният с етилов алкохол (70°) и подсушен предварително включен уред. Първоначално го насочвахме краниодорзално под ъгъл около 45° в продължение на няколко сантиметра, което зависеше от размера на кучката, след което променяхме посоката му в почти хоризонтална до достигане дъното на влагалището. След трикратно натискане на бутона и последователно завъртане на електродите по надлъжната им ос се осъществяваше и самото измерване на влагалищния импеданс.

Получените данни обработвахме с компютърна статистическа програма (StatSoft, Microsoft Corp. 1984-2004 Inc.). Използвахме метода ANOVA, LSD-тест за многофакторни сравнения (post hoc). Резултатите представихме като средното аритметично и стандартно отклонение (mean±SD). За достоверна

Estrus was defined when keratinized epithelial cells in the vaginal smears were more than 80% of the total (Ehlers, 2000).

Occurrence of cytological diestrus was registered when the percentage of keratinized epithelial cells abruptly shed and parabasal and intermediate cells appeared, which sometimes exceeded 50% of the total amount in vaginal smear (Ehlers, 2000).

Vaginal electrical resistance was measured using the “Draminski Dog Ovulation Detector” (Draminski®, Poland).

The vulva was cleaned with a dry paper towel and the probe was inserted into the vagina. It was followed by a three times pressing the button and full rotation (360°), so that the electrodes come into full contact with the vaginal mucus.

The results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and a non-parametric analysis for comparison of proportions, using the Student's t-criterion using statistical software (StatSoft 1984-2000 Inc. Copyright © 1990-1995 Microsoft Corp.). Differences were considered significant at the $P < 0.05$.

приемахме разликата при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Чрез настоящето изследване за първи път се прави опит да се съпоставят фазата на половия цикъл, настъпване на овулацията, серумните нива на прогестерона и естрадиола със стойностите на вагиналното съпротивление при кучки.

Продължителността на проеструса при отделните животни варираше от 7 до 10 дни (8.62 ± 0.96), тази на еструса от 6 до 10 дни (8.12 ± 1.02), а цитологичния диеструс настъпваше между 17-и и 20-и ден (17.87 ± 1.02 ден) след началото на проеструса.

Установените от нас хормонални нива са в унисон с тези, посочени в различни литературни източници (Jonston and Root, 1995, De Gier et al., 2006), отнасящи се за съответните фази на половия цикъл при кучката.

Максимално измерените концентрации на 17β -естрадиол бяха между 50.13 и 123.47 pg/ml и бяха достигнати между 5-и и 9-и ден (7.5 ± 1.15) от началото на проеструса или 2 – 5 дни (3.56 ± 0.81) преди овулацията, която настъпваше съответно между 9-и и 13-и ден от началото на проеструса (11.06 ± 1.24) и от 0 до 2 дни (1.25 ± 0.77) след началото на

RESULTS AND DISCUSSION

Through our investigation for the first time an attempt is made to compare the estrous stage, ovulation, serum progesterone and estradiol values to vaginal electrical resistance in the bitch.

The duration of proestrus ranged from 7 to 10 days (8.62 ± 0.96 days), the estrus-from 6 to 10 days (8.12 ± 1.02 days) and the onset of cytological diestrus started between 17 and 20 days (17.87 ± 1.02 days) after the onset of proestrus.

The steroid hormone levels in our study during the different sexual stages are similar to those in previous reports (Jonston and Root, 1995, De Gier et al., 2006).

Maximal concentrations of estradiol- 17β in individual animals varied between 50.13 and 123.47 pg/ml and were detected between 5 and 9 days (7.5 ± 1.15 days) after the onset of proestrus, or 2 – 5 days (3.56 ± 0.81 days) before ovulation, which occurred between 9 and 13 days from the first day of proestrus (11.06 ± 1.24 days) and from 0 to 2 days (1.25 ± 0.77 days) after the onset of estrus.

During the first day of proestrus vaginal electrical

еструса.

През първия ден на проеструса вагиналното електрическо съпротивление бе между 60 и 120 Ω ($102.5 \pm 17.32 \Omega$). С напредване на тази фаза на половия цикъл стойностите му постепенно се увеличаваха, варирайки в границите от 60 до 790 Ω ($277.8 \pm 157.53 \Omega$). При 12 кучки (75%) в средата на проеструса установихме краткотраен пик, последван от леко понижение още на следващия ден. След това колебание стойностите отново тръгнаха в посока към нарастване. В рамките на проеструса при останалите 4 (25%) животни се наблюдаваше устойчиво постепенно повишение на вагиналното съпротивление.

По отношение динамиката на този показател получените от нас стойности по време на проеструса са сходни с тези на Klötzner (1974) и [Gunzel et al. \(1986\)](#). Би могло да се обобщи, че за разлика от останалите видове животни, при кучката през тази фаза на половия цикъл вагиналното електрическо съпротивление се повишава.

Особен интерес представляват резултатите ни, касаещи еструса. Нивата на естрадиола по време на овулацията (ден 0) варираха между 22.58 и 29.53 pg/ml и бяха достоверно по-ниски ($P < 0.001$) в сравнение с пиковите им

resistance values varied between 60 and 120 Ω ($102.5 \pm 17.32 \Omega$) and in progress of this stage gradually increased and were from 60 to 790 Ω ($277.8 \pm 157.53 \Omega$).

In 12 of bitches (75%) a transient peak at the middle of proestrus was observed, followed by a mild decrease on the next day and after that the values started to increase again.

In the remaining 4 (25%) animals a gradual increase of impedance during proestrus was observed.

The dynamics of this parameter obtained during proestrus are similar to those of Klötzner (1974) and Gunzel et al. (1986).

It could be concluded that in contrast to the other species, at this stage of the sexual cycle vaginal electrical resistance in the bitch increases.

Our results during the estrus stage are of particular interest. At the day of ovulation (Day 0) estradiol-17 β levels were significantly lower ($P < 0.001$) compared to their peak and varied between 22.58 and 29.53 pg/ml.

On the first day of estrus progesterone values ranged from 2.64 to 4.37 ng/ml and on the first day of diestrus-between 31.62 and 33.90 ng/ml.

стойности по време на проеструса. През първия ден на еструса стойностите на прогестерона варираха от 2.64 до 4.37 ng/ml, достигайки до нива между 31.62 и 33.90 ng/ml в началото на диеструса.

През еструса вагиналното съпротивление беше по-високо в сравнение с проеструса ($P<0.05$) и варираше от 90 до 1180 Ω ($408.65\pm 184.93 \Omega$). Измерените през първия ден от тази фаза стойности бяха между 230 и 720 Ω ($460\pm 34.76 \Omega$) и също бяха достоверно по-високи от тези през последния ден на проеструса ($P<0.01$), когато варираха между 120 и 490 Ω ($346.25\pm 94.58 \Omega$). Максималните концентрации на 17β -естрадиол винаги предхождаха с 2 – 5 дни (3.56 ± 0.73) настъпването на пиковите стойности на вагиналното съпротивление, установени от нас по време на еструса, между 9-и и 13-и ден от началото на проеструса (11.06 ± 1.28 ден).

Така представени общите закономерности не отразяват добре някои индивидуални колебания. При 14 (87.5%) от опитните животни бе регистрирано статистически достоверно ($P<0.001$) пиково повишаване на импеданса, съвпадащо с деня на овулацията, което варираше в границите между 250 и 1180 Ω ($683.75\pm 231.46 \Omega$). Характерна особеност за тази категория бе,

During the estrus vaginal resistance values were higher compared to proestrus ($P<0.05$) and ranged from 90 to 1180 Ω ($408.65\pm 184.93 \Omega$).

On the first day of this stage the values were between 230 and 720 Ω ($460\pm 34.76 \Omega$) and were significantly higher than those in the last day of proestrus ($P<0.01$) when ranged between 120 and 490 Ω ($346.25\pm 94.58 \Omega$).

Maximal levels of estradiol- 17β always occurred 2-5 days (3.56 ± 0.73) before the peak values of vaginal resistance during estrus observed between 9th and 13th day after the onset of proestrus (11.06 ± 1.28 day).

Some individual variations were observed.

In 14 (87.5%) of the experimental animals was recorded statistically significant ($P<0.001$) peak of the impedance between 250 and 1180 Ω ($683.75\pm 231.46 \Omega$), coinciding with the day of ovulation, followed by a sharp decline on the next day ($P<0.001$), and the trend to decrease was maintained until the end of estrus.

In the remaining 13.5% of the animals the difference between the occurrence of the peak values of vaginal impedance and the

че достигнатите върхови стойности бяха последвани от рязък спад още на следващия ден ($P < 0.001$), като тенденцията към понижаване се запазваше до края на еструса.

При останалите 13.5% от животните разликата между настъпването на пиковата стойност на вагиналното съпротивление и момента на овулацията бе в рамките на един ден. При една кучка (6.25%) овулацията настъпи при съпротивление 480 Ω един ден преди отчетената пикова стойност от 590 Ω , а при другоедин ден след нея при съпротивление 310 Ω (максимална измерена стойност при това животно 440 Ω).

Средните стойности при всички опитни животни на 1-и, 2-и, 3-и и 4-и ден след овулацията бяха съответно 406.25 \pm 111.77 Ω , 433.75 \pm 138.41 Ω , 361.88 \pm 103.36 Ω и 321.25 \pm 107.45 Ω . Същите бяха по-ниски в сравнение с деня на настъпването ѝ ($P < 0.001$), но липсваше достоверна разлика помежду им ($P > 0.05$) (Фигура 1).

Получените от нас резултати са свидетелство за определена специфика при кучката, която не би могла да се открие в резултатите на предходни изследвания (Klötzer, 1974, Gunzel et al., 1986).

В посочените проучвания авторите използват различни модификации на електроди и

ovulation was within a day. In one of bitches (6.25%) ovulation occurred at 480 Ω on the days before the estimated peak value of 590 Ω , and in the other (6.25%) on the day after it at 310 Ω (maximal measured value in this animal was 440 Ω).

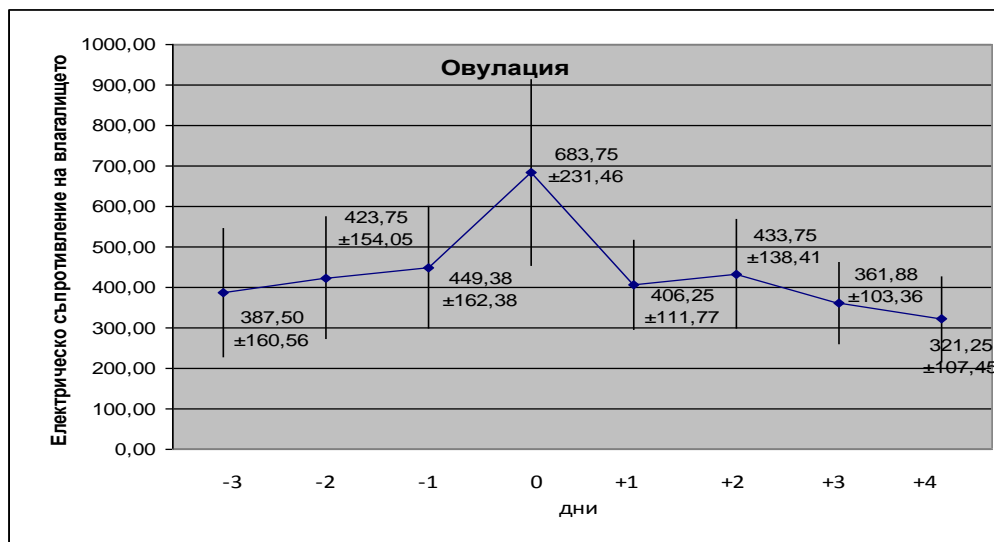
The average values of all the experimental animals on the 1st, 2nd, 3rd and 4th day after ovulation were 406.25 \pm 111.77 Ω , 433.75 \pm 138.41 Ω , 361.88 \pm 103.36 Ω and 321.25 \pm 107.45 Ω , respectively.

They were lower in comparison with the day of its occurrence ($P < 0.001$), but there was no significant difference among them ($P > 0.05$) (Figure 1).

Our results show some specifics in the bitch which could not be found in the previous studies (Klötzer, 1974, [Gunzel et al., 1986](#)).

In these investigations various modifications of electrodes and ommeters were used with a range from 0 to 1000 Ω , while our measurements were performed by specially developed detector for use in the bitch ("Draminski Dog Ovulation Detector").

омметри с диапазон на изследване от 0 до 1000Ω, докато в нашия опит извършихме измерванията със специално разработен за приложение при кучета детектор за овулация („Draminski Dog Ovulation Detector”).



Фиг. 1. Динамика на средните стойности на електрическото съпротивление (Ω) на влагалището при кучки в дните преди и след овулацията (n=16)

Fig. 1. Dynamics of mean values of vaginal electrical resistance (Ω) in bitches in days around ovulation (n=16)

Според упътването за използване на апарата в стойностите на вагиналния импеданс се регистрират два пика (във втората половина на проеструса и в деня на овулацията), които ние също установихме, макар и първият от тях по различно време през проеструса при 75% от животните. Освен това, при някои от нашите опитни животни пиковите стойности надхвърлиха

According to the instruction manual of the device there are two peaks of the values of vaginal impedance (“false peak” at the second half of proestrus and second on the day of ovulation), which we also found, although the first of them was registered at different times during proestrus in 75% of animals.

Furthermore, in some of our experimental animals the peak

1000 Ω , докато при посочените до момента изследвания с изключение на Klótzner (1974) липсва такава информация поради ограничението в диапазона на измерванията им. По наше мнение значителните вариации в стойностите на вагиналното съпротивление свидетелстват за наличие на индивидуални особености между отделните животни. В повечето случаи най-високите стойности на съпротивлението съвпадат с момента на овулацията, което беше установено и в предходно наше проучване (Antonov et al., 2012), проведено при по-малък брой опитни животни. Друга важна особеност е, че на този етап не би могло да се посочат определени стойности на импеданса, които да корелират с момента на настъпването ѝ.

В проучването си Klótzner (1974) използва като ориентировъчен момент за започване на измерванията деня, в който женското куче започва да допуска мъжкото до коитус, поради което не се установяват резултати, които да намерят приложение за определяне фазата на половия цикъл и репродуктивния статус на животните. Същият автор счита, че измерването на вагиналното съпротивление няма диагностични стойности за този животински вид. Günzel et al. (1986) използват като изходен пункт първия ден на диеструса.

values exceeded 1000 Ω , while there is no such information in the present studies, except Klótzner (1974), because of the range of the detectors.

In our opinion, these significant variations in vaginal resistance values are indicative about the presence of personal features among animals.

In most cases, the highest resistance values coincided with the time of ovulation, which was also observed in our previous study (Antonov et al., 2012), but with less number of experimental animals. Another important feature is that there are no certain impedance values which could be defined at the time of ovulation.

Klótzner (1974) started the measurements of vaginal electrical resistance at the day when the bitch first accepted the male for mounting.

Therefore these results could not be used to determine the stage of the sexual cycle and reproductive status of the bitch.

According to Klótzner (1974) these measurements have no diagnostic value for this species.

Günzel et al. (1986) used as the starting point the first day of diestrus. Based on the hormone analysis, we could assume as an

Така те тълкуват ретроспективно резултатите и считат, че това е най-точния подход. На базата на проведените хормонални изследвания ние бихме могли да приемем, че важен и обективен момент при интерпретиране на резултатите от това изследване е настъпването на овулацията. Въпреки, че в нашите резултати се откриват индивидуални колебания в стойностите на вагиналното съпротивление, не би могло да се отрече, че съществува тенденция за понижаване на достигналите своя пик стойности на вагиналното съпротивление в деня след настъпване на овулацията. Това е момент, когато нивата на прогестерона продължават да се увеличават.

При кучката яйцеклетките се отделят като първични ооцити и завършват мейотично си делене, т. е. узряват 1 – 2 дни след нея (Farstad et al., 1989, Hyttel et al., 1990), поради което подходящият момент за осеменяване е 2 дни след овулацията. В тази връзка намереното от нас предлага нови перспективи за определянето ѝ. Измерването на вагиналното съпротивление придобива практическо значение при съществуваща възможност да се извършат серия от измервания по време на проеструса и еструса. Наличието на изключения в тази връзка налага задължителното

important and objective point when interpreting the results of our study the occurrence of ovulation.

Although we found some individual variations, we can conclude that there is a tendency to a sharp decrease of vaginal resistance peak values on the day after ovulation, when progesterone levels continue to increase.

In the bitch primary oocytes are ovulated and fertilization cannot occur until 48 to 72 hours after ovulation (Farstad et al., 1989, Hyttel et al., 1990).

Therefore, the most appropriate time for mating or artificial insemination is 2-3 days after ovulation.

In this regard, the measurement of vaginal impedance could find a practical application for determination of ovulation and optimal breeding time in the bitch if there is a scope to make series of measurements during proestrus and estrus.

The presence of exceptions in this context requires comparing of the obtained values with the results of other methods of analysis.

It is necessary our first results

съпоставяне на получените стойности с резултатите от други методи за изследване. Необходимо е тези наши първи изследвания да бъдат потвърдени при по-голям брой животни и впоследствие доказани чрез успешно заплождане.

През първия ден на диеструса регистрираните стойности на импеданса между 80 и 170 Ω ($126.88 \pm 27.74 \Omega$) бяха достоверно по-ниски в сравнение с тези през еструса ($P < 0.001$) при наличие на базални стойности на естрадиола и високи нива на прогестерона.

В проведените до този момент изследвания не е извършвано детайлно съпоставяне на нивата на прогестерона и естрадиола със стойностите на вагиналното съпротивление. Доколкото това е правено, то се е отнасяло за единични животни.

Намерените от нас резултати при изследваната група от 16 животни не ни дават основание да твърдим, че вагиналното съпротивление при кучките е в непосредствена зависимост единствено от абсолютните нива на естрадиола и прогестерона. Въпреки че пикът в стойностите на импеданса настъпва в момент, когато нивото на естрогените се понижава, а прогестерона започва да се

to be confirmed in a larger number of animals and subsequently proven by successful breeding.

On the first day of diestrus registered impedance values between 80 and 170 Ω ($126.88 \pm 27.74 \Omega$) were reliably lower than those in estrus ($P < 0.001$) in the presence of basal levels of estradiol-17 β and high progesterone levels.

Until now there was no detail comparison of the levels of progesterone and estradiol-17 β with the values of vaginal impedance.

Based on our results, we could not conclude that vaginal electrical resistance in bitches is correlated only by the levels of estradiol-17 β and progesterone.

Although the peak in the values of impedance occurred at a time when estrogens decreased and progesterone began to rise, it could not be claimed with certainty that the values of vaginal resistance are defined by combined or sequential action of these two hormones.

Perhaps there are other factors and mechanisms responsible for the dynamics of

увеличава, не би могло да се твърди със сигурност, че определящо за стойностите на вагиналното съпротивление е комбинираното или последователното въздействие на тези два хормона. Вероятно има и други фактори и механизми, отговорни за динамиката на съпротивлението. Един от тях би могъл да бъде LH-пика, хипотеза, която вече са изказали и Riesenbeck and Hoffman (1994).

Необходимо е да се отбележи, че при никоя от кучките включени в опитната постановка впоследствие не беше установена генитална патология за период от една година.

ИЗВОДИ

При проведеното от нас изследване върху 16 кучки установихме, че при 14 животни най-високото вагиналното съпротивление съвпаднаше с момента на овулация, като същевременно не бихме могли да посочим конкретни стойности на импенданса, които да корелират с момента на отделяне на яйцеклетките. Определянето на вагиналното съпротивление като диагностичен метод за детерминиране на момента на овулация има практическо значение, когато е възможно да се извършат серия от измервания по време на

impedance. One of them could be the LH-peak hypothesis (Riesenbeck and Hoffman, 1994).

It should be noted that in none of the bitches included in the experiment was diagnosed any genital pathology for a period of a year after it.

CONCLUSIONS

In our study it was found that in 14 of 16 bitches the highest vaginal electrical resistance coincided with ovulation, but we can not give certain values of impedance at this time.

This vaginal parameter could be used as a diagnostic method for determination of ovulation when it is possible to carry out a series of measurements during proestrus and estrus.

The results do not give us reason to specify a particular relationship between the levels of

проеструса и еструса. Получените резултати не ни дават основание да посочим конкретна взаимовръзка между нивата на 17 β -естрадиол, прогестерона и стойностите на вагиналното съпротивление при този вид животни.

estradiol-17 β , progesterone and the values of vaginal electrical resistance in the bitch.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Albrecht B., R. Fernando, J. Regas, G. Betz.** 1985. [A new method for predicting and confirming ovulation. Fertil Steril, Vol. 44: 200-205.](#)
2. **Bartlewski P., A. Beard, N. Rawlings.** 1999. [The relationship between vaginal mucous impedance and serum concentrations of estradiol and progesterone through the sheep estrous cycle. Theriogenology, Vol. 51: 813-827.](#)
3. **De Gier J., H. Kooistra, S. Djajadiningrat-Laanen.** 2006. [Temporal relations between plasma concentrations of LH, FSH, estradiol-17 beta, progesterone, prolactin and \$\alpha\$ -melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory and early luteal phase in the bitch. Theriogenology, Vol. 65:1346-1359.](#)
4. **Ehlers J.** 2000. [Standardisierung und Reproduzierbarkeit der Vaginalzytologie bei der Hundin und ihr Einsatz bei der Bestimmung des optimalen Belegungszeitraumers. Dissertation, Munchen.](#)
5. **Fischer L., G. Germain, G. Florence C. Milhaud.** 1990. [Changes in electrical impedance of the vaginal medium during the menstrual cycle of female rhesus monkeys \(Macaca mulatta\). J Med Primatol, Vol. 19: 573-582.](#)
6. **Gunzel A., P. Koivisto, J. Fougner.** 1986. [Electrical resistance of vaginal secretion in the bitch. Theriogenology, Vol. 25: 559-570.](#)
7. **Gupta K., G. Purohit.** 2001. [Use of vaginal electrical resistance \(VER\) to predict estrus and ovarian activityq its relationship with plasma progesterone and its use for insemination in buffaloes. Theriogenology, Vol. 56: 235-245.](#)
8. **Johnston S., M. Root.** 1995. [Serum progesterone timing of ovulation in the bitch. In: Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology, San Antonio, TX, September 13-15. Nashville, Society for Theriogenology, 195-203.](#)
9. **Klötzer I.** 1974. [Untersuchungen uber den elektrischen Widerstand des Vaginalschkeims der Hundin. Kleintierpraxis, Vol. 19: 125-133.](#)
10. **Rezac P., I. Krivanek, M. Poschl.** 2001. [Changes of vaginal and vestibular impedance in dairy goats during the estrous cycle. Small Ruminant Res, Vol. 42: 183-188.](#)
11. **Rezac P., R. Kukla, M. Poschl.** 2002. [Effect of sow parity on vaginal electrical impedance. Anim Reprod Sci, Vol. 72: 223-234.](#)
12. **Rezac P.** 2008. [Potential applications of electrical impedance techniques in female mammalian reproduction. Theriogenology, Vol. 70: 1-14.](#)
13. **Scipioni R., R. Foote, S. Lamb, C. Hall, D. Lein, S. Shin.** 1982. [Electronic probe measurements of cervico-vaginal mucus for detection of ovulation in dairy cows: sanitation, clinical observations and microflora. Cornell Vet, Vol. 72: 269-278.](#)