

## OESTRUSINDUCTIE BIJ DE HOND MET ERGOLINEDERIVATEN

T. Rijsselaere, A. Van Soom, W. Van Den Broeck, A. de Kruif

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde  
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

Tom.Rijsselaere@rug.ac.be

### SAMENVATTING

Regelmatig wordt de vraag gesteld of het mogelijk is bij de hond medicamenteus een fertiele oestrus te induceren. Vaak is de onderliggende reden de onvoorspelbaar lange anoestrusperiode na een mislukte dekking of kunstmatige inseminatie. In dit beknopt overzicht worden enkele protocols beschreven voor oestrusinductie bij de teef met de bijhorende resultaten en de voor- en nadelen. Er wordt voornamelijk dieper ingegaan op een groep geneesmiddelen, de ergolinederivaten, die recentelijk zeer succesvol gebleken is. Dagelijkse orale toediening van cabergoline of bromocryptine tijdens de anoestrus induceert niet alleen pro-oestrussymptomen en ovulatie maar resulteert, na dekking, ook in aanvaardbare drachtigheidspercentages. Wanneer de behandeling reeds gestart wordt tijdens de metoestrusfase, kan er wel een oestrus geïnduceerd worden maar deze blijkt vaak niet fertiel te zijn. Het gebruik van metergoline geeft tegenstrijdige resultaten.

### INLEIDING

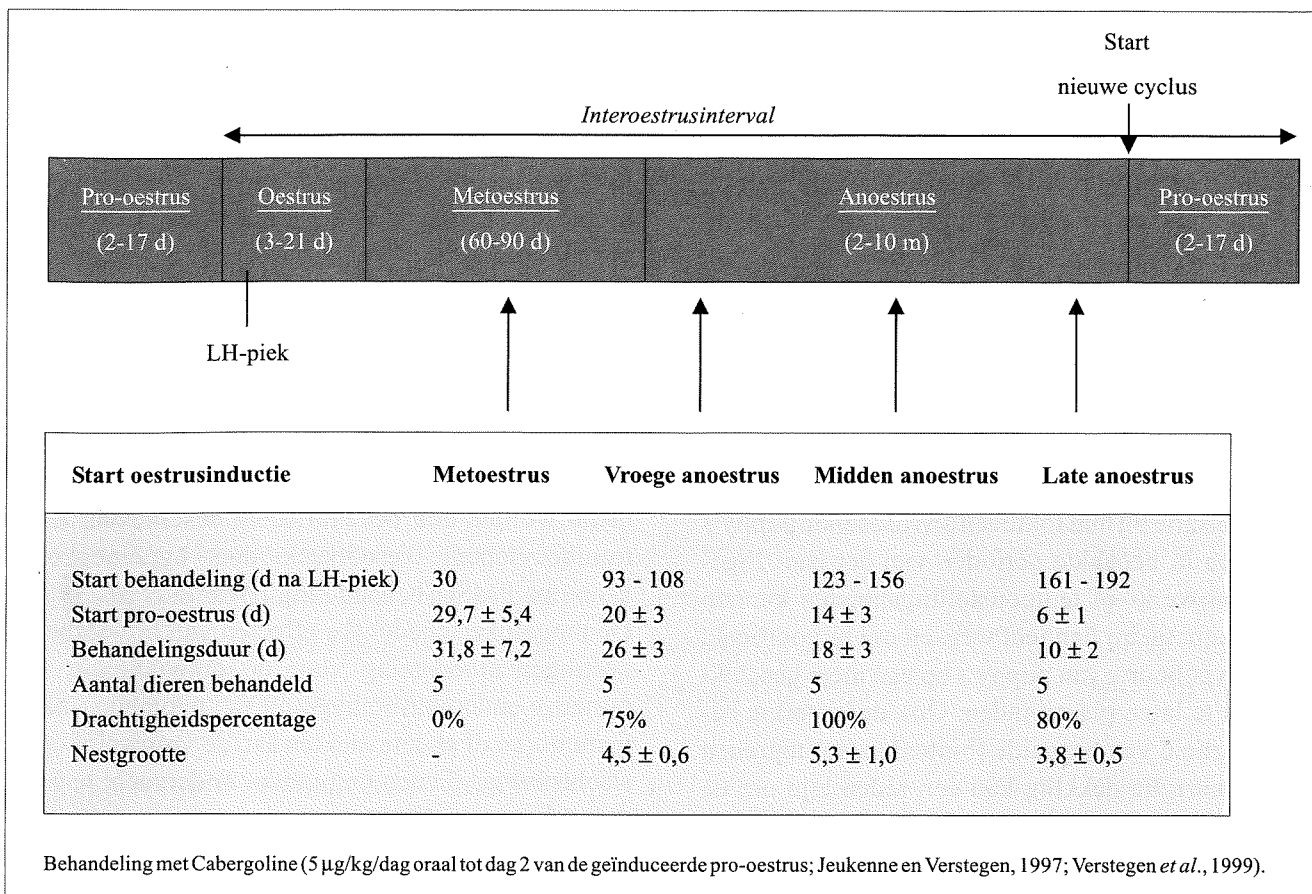
De ovariële cyclus van de hond verschilt aanzienlijk van die van de andere huisdieren door de lange anoestrusperiode na elke luteale fase (Figuur 1). De duur van deze luteale fase (= metoestrus) varieert van 60 tot 90 dagen bij de niet-drachtige teef (gemiddeld 75 dagen) en bedraagt gemiddeld 65 dagen bij de drachtige teef (Shille *et al.*, 1989; Concannon *et al.*, 1993; Jeukenne and Verstegen, 1997). Na de luteale fase volgt een anoestrusperiode van 2 tot 10 maanden (Kooistra *et al.*, 1999a; Verstegen *et al.*, 1999) die bij éénzelfde teef kan variëren in lengte tijdens opeenvolgende cycli. Derhalve variëren de intervallen tussen 2 loopsheden (= interoestrusinterval) van 5 tot 12 maanden (gemiddeld 7 maanden). Wanneer een teef, na dekking, niet drachtig is, dienen hondenfokkers en -eigenaars dus vaak maanden te wachten alvorens er een nieuwe loopsheden optreedt.

Een protocol voor oestrusinductie bij de teef moet zowel betrouwbaar zijn als onder praktijkomstandigheden gemakkelijk toe te passen zijn. Bijkomend moeten er niet enkel (pro-)oestrussymptomen opgewekt worden, maar dient er ook een ovulatie plaats te vinden en moeten de drachtigheidsresultaten na dekking aanvaardbaar zijn. De beschikbaarheid van gestandaardiseerde en praktische methoden om een fertiele oestrus te induceren zijn tot op heden echter eerder beperkt (Verstegen 2001; Zöldag *et al.*, 2001).

Hiervoor kunnen verschillende redenen aangehaald worden. De hormonale gebeurtenissen die verantwoordelijk zijn voor het beëindigen van de anoestrusfase en het starten van de pro-oestrus werden tot op heden slechts gedeeltelijk opgehelderd (Kooistra *et al.*, 1999b). Pogingen om een fertiele oestrus medicamenteus (door middel van gonadotropinen, oestrogenen) te induceren, gaven in het verleden vaak onvoldoende resultaten (Wanke *et al.*, 1997; Zöldag *et al.*, 2001). Sommige geneesmiddelen, zoals bijvoorbeeld diethylstilboestrol (DES), zijn zowel voor humaan als voor diergeneeskundig gebruik in België niet meer beschikbaar. Tenslotte is de cyclus bij de teef ook moeilijker te manipuleren dan bij continu cyclerende diersoorten (Verstegen, 2001).

### ENDOCRINOLOGISCHE VERANDERINGEN TIJDENS DE LATE ANOESTRUSFASE

De anoestrusperiode bij de teef wordt gekenmerkt door een schijnbare ovariële inactiviteit met lage oestrogenconcentraties en verhoogde FSH-gehalten (follikel stimulerend hormoon; Concannon, 1993; Jeffcoate, 1993). De factoren verantwoordelijk voor de beëindiging van de anoestrusperiode en de start van een nieuwe cyclus werden, ondanks aanzienlijk onderzoek, nog maar ten dele opgehelderd (Kooistra *et al.*, 1999b). Tijdens de overgang van de vroege naar



**Figuur 1.** De ovariële cyclus bij de teef en de mogelijke tijdstippen waarop oestrusinductie kan gestart worden.

de late anoestrus wordt een stijging in de basale plasma FSH-concentraties waargenomen, wat erop wijst dat FSH mogelijk een belangrijk hormoon is bij het opstarten van de folliculogenese (Kooistra *et al.*, 1999a). Ook treedt er in de hypothalamus een verhoogde GnRH-afgifte (gonadotrope releasing hormoon) op, gecombineerd met een verhoogde gevoeligheid van de hypofyse voor GnRH (van Haaften, 1994). Andere mogelijk belangrijke endocriene gebeurtenissen zijn de verhoogde respons van de ovaria op gonadotropinen (FSH; LH = luteïniserend hormoon; Jeffcoate, 1993; Kooistra *et al.*, 1999b), de gestegen basale LH-concentraties en de verhoogde LH-pulsatiliteit tijdens het laatste derde van de anoestrusperiode (Concannon *et al.*, 1986). Volgens sommige auteurs zouden veranderingen in de LH-secretiepatronen zelfs belangrijker zijn dan de verhoogde FSH-secretie met betrekking tot het op gang brengen van een nieuwe folliculaire fase (Concannon, 1993b). Prolactine- en progesteronconcentraties zijn basaal bij de aanvang van een nieuwe cyclus, aangezien deze hormonen, direct of indirect, een inhiberende rol spelen bij het op gang brengen van een nieuwe cyclus (Johnston *et al.*, 2001).

Eenvoudig gesteld treedt de overgang van late anoestrus naar pro-oestrus op na een gestegen pulsatile secretie van GnRH en LH die resulteert in een stijging van plasma LH-concentraties (Johnston *et al.*, 2001). Zowel LH als FSH blijken dus essentiële hormonen te zijn bij het op gang brengen van de folliculogenese bij de hond. Uit het voorgaande blijkt dus dat de hypofyse en de ovaria niet inactief zijn tijdens de anoestrusperiode (Verstegen, 2001).

**INDICATIES VOOR OESTRUSINDUCTIE**

Er zijn talrijke redenen waarom het induceren van een fertiele oestrus bij de teef gewenst is of overwogen kan worden (Johnston *et al.*, 2001; Verstegen, 2001; Gobello, 2002). Oestrusinductie kan bij teven aangewezen zijn als behandeling van primaire anoestrus (geen oestrussymptomen op een leeftijd van 24 maanden), van secundaire anoestrus (geen oestruscyclus 12 maanden na de vorige cyclus) en van verlengde anoestrus, waarvoor nog geen onderliggende oorzaak gevonden werd. Alvorens tot oestrusinductie over te gaan, is het belangrijk de eventuele oorzaak van infertiliteit te diagnosticeren, aangezien de meeste geneesmiddelen voor oestrusinductie getest zijn bij normaal

fertiele teven. Aangezien een teef gemiddeld slechts 1 tot 2 maal per jaar loops wordt (Hoffman *et al.*, 1996; Van Soom *et al.*, 2001), betekent een mislukte dekking of vroeg embryonale resorptie zowel een economisch verlies als tijdverlies voor de fokker. In plaats van de volgende natuurlijke loopsheid af te wachten, zou het vervroegd induceren van de oestrus niet alleen een belangrijke tijdwinst betekenen maar op termijn ook kunnen leiden tot meer nesten per jaar. Hierbij kan men zich echter de vraag stellen of het ethisch wel verantwoord is om met dezelfde teef meer dan één nest per jaar te fokken. Oestrusinductie kan ook nuttig zijn voor hondenfokkers die door de natuurlijke oestrus-synchronisatie bij hun fokteven onvoldoende puppy's verkrijgen in bepaalde perioden van het jaar. Eigenaars van werk- of tentoonstellingshonden kunnen oestrusinductie bij hun teef wensen om bijvoorbeeld dracht en geboorte van puppy's op een meer geschikt ogenblik te laten plaatsvinden. Ook de beperkte beschikbaarheid van bepaalde (buitenlandse) topreuen voor natuurlijke dekking kan een reden zijn om de loopsheid bij de te dekken teef vervroegd te induceren (Verstegen, 2001).

#### MEDICAMENTEUZE OESTRUSINDUCTIE MET FOLLIKELSTIMULERENDE PREPARATEN

De eerste pogingen om oestrus te induceren gebeurden door een niet-loopse teef in de nabijheid van loopse teven of een reu te brengen. Sociale stimuli en lichtstimuli (bij katten) zijn immers de meest eenvoudige en natuurlijke methoden om oestrussymptomen op te wekken.

Naast deze natuurlijke manier van oestrusinductie zijn er de afgelopen jaren talloze medicamenteuze methoden beschreven, waarvan het werkingsmechanisme gebaseerd is op: (1) rechtstreekse stimulatie van de ovariële follikels (gonadotropinen en oestrogenen), (2) stimulatie van afgifte van gonadotropinehormonen door de hypofyse (GnRH en GnRH-analogen), of (3) inhibitie van de synthese of vrijstelling van prolactine (ergolinederivaten). Aangezien in dit artikel de nadruk ligt op het derde mechanisme, worden de twee andere methoden hieronder slechts kort aangehaald.

De resultaten van diverse protocols gebaseerd op de eerste 2 werkingsmechanismen, worden weergegeven in Tabel 1. Een vergelijking tussen de vele protocols is moeilijk wegens de vaak onbekende voorgeschiedenis van de gebruikte teefjes en de verschillende criteria voor het beoordelen van de resultaten (pro-oestrus-

symptomen, ovulatie en/of dracht). Sommige protocols veroorzaken enkel pro-oestrussymptomen, leiden niet tot ovulatie of resulteren in lage drachtigheidspercentages (bijvoorbeeld de gonadotropinen). Redenen hiervoor zijn onder andere de inductie van premature, niet-ovulatoire follikels en de vorming van abnormale corpora lutea die vaak een kortere levensduur hebben en voortijdig in regressie gaan (Schaefer-Okkens, 1996). Andere mogelijke oorzaken zijn de variabele beschikbaarheid, werking en kwaliteit van sommige van deze hormoonpreparaten (Verstegen, 2001). Sommige geneesmiddelen (bijvoorbeeld DES) zijn zelfs verboden in Europa. Bijkomend worden ook neveneffecten beschreven, zoals trombocytopenie veroorzaakt door hyperoestrogenisme na PMSG-behandeling (Arnold *et al.*, 1989). De mogelijke schadelijke effecten van bijvoorbeeld oestrogenoediening voor de ontwikkeling van cysteuze endometriumhyperplasie, pyometra, mammatumoren of andere ziekten aan de vrouwelijke geslachtstractus dienen nog verder onderzocht te worden (Verstegen, 2001).

De laatste jaren zijn er verschillende studies verschenen waarbij door langdurige toediening van ergolinederivaten (cabergoline, bromocriptine en metergoline) het interoestrusinterval bij de teef aanzienlijk kon verkort worden. Aangezien het gebruik van deze groep van geneesmiddelen momenteel beschouwd wordt als een betrouwbare en praktisch makkelijk toepasbare methode om een fertiele oestrus bij de teef te induceren, zal hierop uitgebreid worden ingegaan.

#### MEDICAMENTEUZE OESTRUSINDUCTIE MET ERGOLINEDERIVATEN

##### Werkingsmechanisme

Ergolinederivaten zijn producten die de vrijstelling van prolactine door de hypofysevoorkwab inhiberen en bijgevolg de plasmaprolactineconcentraties verlagen (Jeukenne en Verstegen, 1997). Prolactine speelt een belangrijke rol tijdens de cyclus van de teef: hoge plasmaconcentraties inhiberen de GnRH-pulsatiliteit, terwijl een daling in de prolactineconcentratie geassocieerd wordt met een terugkeer van de gonadotropiepulsatiliteit (Bever *et al.*, 1983). Hoge prolactinegehalten worden bij sommige species geassocieerd met een seizoengebonden anoestrus en met een verminderde gonadotropinesecretie. Bij de vrouw is hyperprolactinemie een oorzaak van amenorroe (= het uitblijven van de menstruatie).

**Tabel 1. Resultaten van oestrusinductie bij de teef gebruikmakend van verschillende protocols (naar Johnston *et al.*, 2001).**

Protocol	Pro-oestrus	Ovulatie	Drachtig	Referentie
<b>Gonadotropinen</b>				
PMSG, 150-300 IU, 3x, op alternerende dagen	0% (n=8)	0% (n=8)	n.v.t	Van Haafden <i>et al.</i> , 1989
PMSG, 20 IU/kg/d gedurende 5 dagen + hCG, 500 IU IM	100% (n=6)	100% (n=6)	50% (n=6)	Arnold <i>et al.</i> , 1989
PMSG, 20 IU/kg/d gedurende 10 dagen + hCG, 500 IU IM	100% (n=17)	100% (n=17)	35% (n=17)	Arnold <i>et al.</i> , 1989
PMSG, 20 IU/kg/d gedurende 5 dagen + hCG, 500 IU IM	100% (n=9)	-	56% (n=9)	Levy-Ocariz, 1993
PMSG, 20-500 IU/kg/d SC gedurende 10 dagen + hCG, 500IU SC	56% (n=25)	56% (n=25)	0% (n=25)	Thun <i>et al.</i> , 1977
PMSG, 44 IU/kg/d IM gedurende 9 dagen + hCG, 500IU IM	64% (n=11)	-	18% (n=11)	Nakao <i>et al.</i> , 1985
PMSG, 44 IU/kg/d IM gedurende 9 dagen + hCG, 500IU IM	100% (n=5)	80% (n=5)	-	Archbald <i>et al.</i> , 1980
PMSG, 44 IU/kg/d SC gedurende 9 dagen + hCG, 500IU IM	60% (n=5)	80% (n=5)	-	Archbald <i>et al.</i> , 1980
PMSG, 250 IU/kg/d SC gedurende 20 dagen of tot pro-oestrus + hCG, 500IU SC	62,5% (n=8)	40% (n=5)	-	Wright, 1982
PMSG, 500 IU/kg/d IM gedurende 10 dagen + hCG, 500IU IM	100% (n=15)	-	20% (n=15)	Chauffaux <i>et al.</i> , 1984
PMSG, 500 IU/kg/d gedurende 10 dagen + GnRH 50 µg	100% (n=5)	-	0% (n=5)	Chauffaux <i>et al.</i> , 1984
hMG, 75 IU/d IM gedurende 9 dagen	90% (n=10)	67% (n=9)	44% (n=9)	Wanke <i>et al.</i> , 1997
LH, 0,1 IU kg 3x/dag gedurende 7 dagen	100% (n=16)	44% (n=16)	31% (n=16)	Verstegen <i>et al.</i> , 1997
FSH, 25-50 IU SC of IM + oestrogenen, 0,1-0,5 mg SC of IM	94% (n=67)	-	-	Artbeiter en Dreier, 1972
FSH, 10 mg 1 injectie	80% (n=5)	40% (n=5)	-	Shille <i>et al.</i> , 1984
FSH, 1, 2, 4, 8 en 16 mg elk gedurende 2 dagen	75% (n=4)	50% (n=4)	-	Shille <i>et al.</i> , 1984
FSH + LH, 1:1, 1:1, 2:1, 4:1, 8:2,5, 16:5 op dag 1, 3, 5, 7, 9 en 11	0% (n=5)	0% (n=5)	0% (n=5)	Shille <i>et al.</i> , 1984
<b>Oestrogenen</b>				
DES, 5 mg/d PO gedurende 6-9 dagen tot pro-oestrus geïnduceerd	100% (n=5)	100% (n=5)	100% (n=5)	Bouchard <i>et al.</i> , 1993
DES, 5-10 mg/d PO gedurende 7 dagen of tot pro-oestrus + LH, 5 mg IM op dag 5 van geïnduceerde pro-oestrus en FSH, 5mg, IM op dag 9 en 11 van pro-oestrus	100% (n=7)	100% (n=7)	100% (n=7)	Moses en Shille, 1988
DES, 5 mg/d PO gedurende 5-14 dagen of tot pro-oestrus + hCG, 1000 IU IM op dag 9 van geïnduceerde pro-oestrus en FSH, 16mg, IM op dag 9 en 11 van pro-oestrus	100% (n=5)	20% (n=5)	n.v.t.	Shille <i>et al.</i> , 1989
<b>GnRH en GnRH-analogen</b>				
GnRH, 0,04-0,43 µg/kg SC elke 90 minuten gedurende 6-12 dagen	83% (n=6)	80% (n=5)	60% (n=6)	Vanderlip <i>et al.</i> , 1987
GnRH, 1,25 µg/kg SC elke 90 minuten gedurende 11-13 dagen	100% (n=8)	100% (n=8)	86% (n=8)	Cain <i>et al.</i> , 1988
GnRH, 280-500 ng/kg SC elke 90 minuten gedurende 7-9 dagen	100% (n=12)	80% (n=12)	33% (n=12)	Concannon <i>et al.</i> , 1997
GnRH, 85-270 ng/kg SC elke 90 minuten gedurende 7-9 dagen	84% (n=12)	42% (n=12)	8% (n=12)	Concannon <i>et al.</i> , 1997
GnRH, 15-85 ng/kg SC elke 90 minuten gedurende 7-9 dagen	58% (n=12)	33% (n=12)	8% (n=12)	Concannon <i>et al.</i> , 1997

De belangrijkste controle op de afgifte van prolactine door de hypofyse wordt uitgeoefend door de prolactine inhibiting factor (= PIF of dopamine) die de afgifte remt en de neurotransmitter serotonine (= prolactine releasing factor of PRF) die de afgifte van prolactine stimuleert. De prolactine-inhibitoren beïnvloeden, hetzij de dopaminerge receptoren, zoals bromocryptine en cabergoline, hetzij de serotonerge receptoren, zoals metergoline. Bromocryptine is een dopamine D<sub>2</sub>-receptor-agonist maar beïnvloedt ook de serotonerge en adrenerge receptoren (Muller en Nistico, 1989), dit in tegenstelling tot cabergoline dat een grotere D<sub>2</sub>-receptoraffiniteit (= specifieke dopamineagonist) heeft, maar een lagere affiniteit met de serotonerge receptoren. Bijkomend heeft cabergoline een langere werkingsduur en minder effecten op het centraal zenuwstelsel (minder braken en nausea; Jeukenne en Verstegen, 1997). Metergoline is een serotonine-antagonist en remt door de verlaging van de PRF de secretie van prolactine. Bij hogere doseringen heeft metergoline echter ook een dopamineagonistische werking (Hamon *et al.*, 1981).

Het exacte werkingsmechanisme van deze producten werd nog niet volledig opgehelderd. Het feit dat de prolactineconcentraties bij teven in late anoestrus reeds laag zijn en er geen grote veranderingen in prolactineconcentratie optreden in de late anoestrusfase (Concannon, 1993b), maakt de hypothese dat alleen het verlagen van de prolactineconcentraties betrokken zou zijn bij het induceren van oestrus minder waarschijnlijk. Bijkomend bleken, na toediening van de serotonineantagonist, metergoline, de prolactineconcentraties te dalen naar waarden zoals deze bekomen na bromocryptinebehandeling, maar in tegenstelling tot bromocryptine, kon metergoline het interoestrusinterval in sommige studies niet verkorten (Okkens *et al.*, 1997a). Mogelijkerwijs is het werkingsmechanisme van deze producten dus niet alleen gebaseerd op een prolactineverlagende werking maar ook op bijkomende directe of indirecte dopaminerge effecten (Kooistra *et al.*, 1999a; Verstegen *et al.*, 1999). Een direct dopaminerge-effect op de gonadotrope as of op de ovariële gonadotropereceptoren is mogelijk. Zo zou bijvoorbeeld bromocryptine niet alleen de prolactineconcentratie verlagen maar ook de plasma FSH-concentratie verhogen tot een concentratie die resulteert in follikelontwikkeling (Kooistra *et al.*, 1999a). Daar waar bij sommige diersoorten prolactine een antigonadotrope werking blijkt te hebben en/of de ovariële respons op gonadotrope factoren blijkt te verminderen, is de exacte interactie tussen prolactine en gonadotropinen bij de hond nog niet ge-

kend. Bij de rat hebben dopamineagonisten een stimulerend effect op de synthese van gonadotropinen door hypothalamo-hypofysaire neuronen. Ook een direct effect van de dopamineagonisten op de ovaria of wijzigingen in de prolactinereceptor concentraties (Concannon, 1993) werden reeds gepostuleerd.

## Resultaten

De behandeling met prolactine-inhibitoren tijdens de met- en de anoestrus bleek het interoestrusinterval van normaal cyclerende teven te verkorten en oestrus te induceren bij teven met een verlengde anoestrusperiode (Tabel 2). Deze verkorting van het interoestrusinterval is voornamelijk het gevolg van de verkorting van de anoestrusfase (tot 35% van de normale anoestrusduur) en is gedeeltelijk te wijten aan een verkorting van de luteale fase (tot 80% van de normale duur; Okkens *et al.*, 1985 en 1997a; van Haaften *et al.*, 1989).

### Bromocryptine

In één van de eerste studies bij vier teven verkortte het interoestrusinterval significant door orale toediening van 250 µg/teef (2x/dag) bromocryptine (Lactafal; Parlodel), gestart 1-5 dagen na het begin van de metoestrus, in vergelijking met een controlegroep (interoestrusinterval: 123,3 ± 23,1 tegenover 245,9 ± 8,8 dagen; Okkens *et al.*, 1985). Wanneer de behandeling gestart werd tijdens de anoestrus (ongeveer 110 dagen na het begin van de vorige pro-oestrus), trad de volgende pro-oestrus op na 47 ± 2 dagen, waardoor het interoestrusinterval met 87 dagen verkortte (in vergelijking met een controlegroep) en werden vijf van de zes teefjes drachtig (van Haaften *et al.*, 1989). Eén teef accepteerde de reu niet, maar vertoonde een normaal progesteronverloop. In een vergelijkbare studie werden de oestrussymptomen bij vier van de vijf teven opgewekt na 18-28 dagen behandeling (Concannon, 1993), waaruit blijkt dat het effect van bromocryptine mogelijkerwijs ook afhankelijk is van de gebruikte dosering. In de eerste studie werd namelijk 20 µg/kg (2x/dag) gebruikt, terwijl in een tweede studie 50 µg/kg (2x/dag) werd toegediend. Dosissen van 20-250 µg/kg bromocryptine konden klinische symptomen van pro-oestrus opwekken bij 71 tot 100% van de behandelde teven. Drachtigheidspercentages van 83 tot 100% werden beschreven (Verstegen, 2001). Combinatietherapie van bromocryptine met PMSG (3 x 300 IU IM) gaf geen betere resultaten (van Haaften *et al.*, 1989).

**Tabel 2. Resultaten van oestrusinductie bij de teef gebruikmakend van prolactine-inhibitoren (naar Johnston *et al.*, 2001).**

Protocol	Pro-oestrus	Ovulatie	Drachtig	Referentie
<b>Bromocryptine</b>				
20 µg/kg 2x/dag PO gedurende 21 dagen	100% (n=6)	100% (n=6)	83% (n=6)	van Haaften <i>et al.</i> , 1989
20 µg/kg 2x/dag PO gedurende 21 dagen + PMSG, 300 IU 3x op alternerende dagen	71% (n=7)	57% (n=7)	n.v.t.	van Haaften <i>et al.</i> , 1989
50 µg/kg 2x/dag PO tot pro-oestrus inductie	80% (n=5)	n.v.t.	n.v.t.	Concannon, 1993
250 µg/teef (circa 20 µg/kg) 2x/dag PO tot pro-oestrus inductie	100% (n=4)	n.v.t.	n.v.t.	Okkens <i>et al.</i> , 1985
0,3-0,6 mg/teef/dag gedurende eerste 3 dagen en vervolgens 2x/dag tot pro-oestrus	100% (n=48)	83% (n=48)	83% (n=48)	Zöldag <i>et al.</i> , 2001
<b>Cabergoline</b>				
5 µg/kg 1x/dag PO gedurende 7-10 dagen	100% (n=28)	100% (n=28)	93% (n=28)	Jöchle <i>et al.</i> , 1989
5 µg/kg 1x/dag PO tot dag 2 van pro-oestrus	93% (n=15)	93% (n=15)	86% (n=15)	Verstegen <i>et al.</i> , 1999
<b>Metergoline</b>				
12,5 mg IM/per teef om de 3 dagen	83% (n=12)	83% (n=12)	75% (n=12)	Handaja Kusuma en Tainturier, 1993
12,5 mg IM/per teef om de 3 dagen + 500 IU hCG tijdens de late pro-oestrus	100% (n=8)	75% (n=8)	50% (n=8)	Handaja Kusuma en Tainturier, 1993
0,1 mg/kg 2x/dag PO tot pro-oestrus inductie	0% (n=7)	0% (n=7)	0% (n=7)	Okkens <i>et al.</i> , 1997

Uit het voorgaande blijkt dat een dagelijkse toediening van bromocryptine gedurende 1 à 3 maanden nodig kan zijn alvorens pro-oestrus optreedt. Nausea en braken zijn de meest frequent vermelde bijwerkingen en treden voornamelijk op in de beginfase van de behandeling. De eerste dagen van de behandeling wordt het best slechts de halve dosis toegediend (na de maaltijd). De behandeling met een anti-emeticum is meestal niet nodig, aangezien er na korte tijd gewenning van de maag-darmtractus optreedt. Bovendien zijn anti-emetica, zoals metoclopramide, niet aan te bevelen, aangezien ze de dopamineagonistische werking antagoneeren.

### Cabergoline

Door dagelijkse, orale toediening (5 µg/kg/dag) van cabergoline (Galastop) kon oestrus geïnduceerd worden bij teven in anoestrus. Bij 93 tot 100% van de teven traden pro-oestrussymptomen op; de drachtigheidsresultaten varieerden van 75 tot 100%.

Dagelijkse behandeling met 5 µg/kg cabergoline bij 15 teven in vroege, midden en late anoestrus resulteerde na 4 tot 30 dagen in een normale (pro)-oestrus en in kortere, meer gesynchroniseerde interoestrusintervallen (Figuur 1). Ovulatie trad op bij 14/15 teven

en 12/15 teven werden drachtig (Verstegen *et al.*, 1999). Ook het stadium van de anoestrus beïnvloedt de effectiviteit. Zo bleek uit deze studie dat de behandeling met cabergoline sneller resulteerde in oestrus wanneer gestart werd tijdens de late anoestrus dan wanneer begonnen werd in de vroege anoestrus. De behandelduur bij teven in vroege, midden en late anoestrus was respectievelijk  $26 \pm 3$ ,  $18 \pm 3$  en  $10 \pm 2$  dagen. Een behandeling gestart tijdens de late anoestrus resulteerde weliswaar in minder variabele, maar niet in kortere interoestrusintervallen. Immers, hoe later er in de anoestrus begonnen wordt met oestrusinductie, hoe dichter de fysiologische oestrus benaderd wordt en hoe kleiner de eventuele verkorting van het interoestrusinterval.

Jöchle *et al.* (1989) konden echter geen verkorting van het interoestrusinterval aantonen bij teven (n=80) die 4, 5 of 6 maanden na hun laatste loopsheid gedurende 14 dagen 5 µg/kg/dag cabergoline toegediend kregen. Waarschijnlijk was dit te wijten aan de te korte behandelduur. Zoals hierboven reeds beschreven, dienen teven in vroege en midden anoestrus meestal langer dan 14 dagen behandeld te worden alvorens oestrus geïnduceerd wordt (Verstegen *et al.*, 1999).

Dezelfde dosis cabergoline toegediend gedurende 7 tot 10 dagen, resulteerde 5-10 dagen later wel in een fertiele oestrus bij teven met een verlengde anoestrusperiode, wat erop wijst dat teven in late anoestrus sneller reageren op de behandeling. De pro-oestrus en oestrus bleken normaal en 93% van de gedekte dieren werd drachtig (Jöchle *et al.*, 1989).

In een studie waarbij de cabergolinebehandeling reeds werd gestart 30 dagen na de LH-piek (dus tijdens de metoestrus), verkortte het interoestrusinterval van 216 tot 66,5 dagen en kwamen 4/5 teven in pro-oestrus na  $31,8 \pm 7,2$  dagen behandeling. Hoewel de duur en het verloop van de geïnduceerde pro-oestrus en oestrus normaal waren, werd geen enkele teef drachtig na dekking. Dit was mogelijk te wijten aan ovariële problemen of aan een onvoldoende involutie en regeneratie van de uterus na de vorige cyclus, waardoor de embryo's in een ongunstig milieu terecht kwamen en de implantatie verstoord werd (Jeukenne en Verstegen, 1997). Het is belangrijk zich te realiseren dat de uterus bij de teef ongeveer 4 tot 5 maanden nodig heeft om te herstellen van de vorige cyclus (Freshman, 1991; Perkins en Thomas, 1993; Johnston *et al.*, 2001; Verstegen, 2001). Deze studie bewijst nochtans dat het mogelijk is om zelfs tijdens de metoestrus een pro-oestrus te induceren en niet enkel tijdens de anoestrusperiode (Jeukenne en Verstegen, 1997). De geïnduceerde cycli blijken echter niet fertiel te zijn en de behandeling dient langer voortgezet te worden (Jeukenne en Verstegen, 1997).

Uit het voorgaande blijkt dat een dagelijkse toediening van cabergoline gedurende langere perioden soms nodig kan zijn om een fertiele oestrus bij de teef te induceren. De cabergolinebehandeling blijkt het best te worden voortgezet tot dag 1-2 van de geïnduceerde pro-oestrus. Bijwerkingen na cabergolinebehandeling, zoals braken, kunnen voorkomen alhoewel minder frequent en milder dan na bromocryptinebehandeling (Jöchle *et al.*, 1989; Verstegen *et al.*, 1993). Braken trad bij 3% van de honden op na orale behandeling (Jöchle *et al.*, 1989; Handaja Kusuma en Tainturier, 1993). Zelden worden apathie en een verminderde voedselinname vastgesteld (Verstegen *et al.*, 1999).

### Metergoline

Metergoline, een ander ergotalkaloïde, dat momenteel ook onder de vorm van een orale suspensie verkrijgbaar is (Contralac), kon het interoestrusinterval verkorten in sommige studies (Handaja Kusuma en Tainturier, 1993), maar in andere dan weer niet (Okkens *et al.*, 1997a).

Metergolinebehandeling (12,5 mg/teef IM om de 3 dagen) bij twintig teven, gestart tussen dag 78 en 161 na het begin van de vorige pro-oestrus, resulteerde in een significant korter interoestrusinterval bij 18/20 teven ( $144 \pm 29$  tegenover  $207 \pm 30$  dagen). De behandelingsduur varieerde van 3 tot 38 dagen. Van deze 18 teven hadden er 8 bijkomend 500 IU hCG IM toegediend gekregen tijdens de late pro-oestrus. De geïnduceerde pro-oestrus en oestrus bij de teven die enkel metergoline hadden gekregen ( $n=10$ ), was normaal, en 9/10 teven werden drachtig na dekking (Handaja Kusuma en Tainturier, 1993). Van de acht teven die bijkomend met hCG werden behandeld, vertoonden er twee een verlengde pro-oestrus, ovuleerden er zes en werden er 4/8 (50%) teven drachtig. Bij een gelijkaardig protocol toegepast op teven in midden, late en verlengde anoestrus, reageerden acht van de elf teven na gemiddeld 9 dagen (Verstegen, 2001). In een andere studie vertoonden twaalf Beagle teven loopsheidsymptomen na gemiddeld 17 dagen behandeling, werden er negen drachtig en was het interoestrusinterval gemiddeld meer dan 2 maanden korter (Verstegen, 2001).

Nochtans slaagden Okkens *et al.* (1997a) er niet in oestrus te induceren met metergoline. Een dosering van 0,1 mg/kg metergoline (2x/dag; oraal), gestart 100 dagen na ovulatie, resulteerde weliswaar in een significante verlaging van het prolactinegehalte maar het interoestrusinterval bleef ongewijzigd. Mogelijkerwijs kunnen deze tegenstrijdige resultaten verklaard worden door de verschillende toedieningswijzen (IM of oraal) en voornamelijk door de hoge dossissen metergoline die gebruikt werden door Handaja Kusuma en Tainturier (1993). Bij hoge doseringen heeft metergoline immers niet alleen een serotonineantagonistische maar ook een dopamineagonistische werking.

De meest frequent vermelde bijwerkingen van metergolinebehandeling zijn gedragsveranderingen, zoals een toegenomen nervositeit en agressiviteit, veroorzaakt door de rechtstreekse werking op de serotonerge receptoren in de hersenen. Derhalve wordt dit product beter niet toegediend aan hyperactieve en nerveuze teven. Deze bijwerkingen verdwijnen zodra de behandeling wordt gestopt. Ook polyfagie werd beschreven. Braken treedt uiterst zelden op (Okkens *et al.*, 1997b).

### BESLUIT

Oestrusinductie bij de teef is een uitdaging, zowel voor de kleine huisdierenpracticus als voor de onderzoeker. In het verleden werd oestrusinductie bij de

teef niet frequent toegepast, voornamelijk wegens de eerder tegenvallende resultaten van de meeste protocols. Recent werd het gebruik van ergolinederivaten geïntroduceerd en, hoewel het juiste werkingsmechanisme ervan nog niet volledig opgehelderd werd, induceren deze producten op een betrouwbare manier een fertiele oestrus. De voorkeur gaat uit naar cabergoline of bromocryptine, aangezien het toedienen van metergoline tegenstrijdige resultaten oplevert. De behandeling wordt het best gestart tijdens de anoestrus. De progesteronconcentraties zijn op dat moment lager dan 1-1,5 ng/mL. Hoe later gestart wordt in de anoestrus, hoe sneller en efficiënter de respons maar hoe kleiner de verkorting van het interoestrusinterval. Deze producten veroorzaken slechts zelden ernstige of langdurige neveneffecten en aangezien al deze geneesmiddelen in orale vorm verkrijgbaar zijn, kunnen ze door de eigenaars gemakkelijk dagelijks worden toegediend.

## LITERATUUR

- Arbeiter K., Dreier H.K. (1972). Pathognomonic symptoms and possible methods of treating suboestrus, anoestrus and anaphrodisia in breeding bitches. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 85, 341-344.
- Archbald L.F., Baker B.A., Clooney L.C., Godke R.A. (1980). A surgical method for collecting canine embryos after induction of estrus and ovulation with exogenous gonadotropins. *Veterinary medicine: Small Animal Clinician* 75, 228-238.
- Arnold S., Arnold P., Concannon P.W., Weilenmann R., Hubler M., Casal M., Dobeli M., Fairburn A., Eggenburger E., Rusch P. (1989). Effect of duration of PMSG treatment on induction of oestrus, pregnancy rates and the complication of hyper-oestrogenism in dogs. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 39, 115-122.
- Bevers M.M., Willemsse A.H., Kruip ThA.M. (1983). The effect of bromocryptine in luteinizing hormone levels in the lactating sow: evidence for a suppressive action by prolactin and the suckling stimulus. *Acta Endocrinologica* 104, 261-265.
- Bouchard G.F., Gross S., Ganjam V.K., Youngsquist R.S., Concannon P.W., Krause G.F., Reddy C.S. (1993). Oestrus induction in the bitch with the synthetic oestrogen diethylstilboestrol. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 515-516.
- Cain J.L., Cain G.R., Feldman E.C., Lasley B.L., Stabenfeldt G.H. (1988). Use of pulsatile intravenous administration of gonadotropin-releasing hormone to induce fertile estrus in bitches. *American Journal of Veterinary Research* 49, 1993-1996.
- Chauffaux S., Locci D., Pontois M., Deletang F., Thibier M. (1984). Induction of ovarian activity in anoestrus beagle bitches. *The British Veterinary Journal* 140, 191-195.
- Concannon P.W., Whaley S., Andersen S.P. (1986). Increased LH pulse frequency associated with termination of anestrus during the ovarian cycle of the dog. *Biology of Reproduction* 34 (Supplement 1), 119 (Abstract).
- Concannon P.W. (1993). Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 3-27.
- Concannon P.W., Temple Montanez A.M., Frank D. (1993). Synchronous delayed oestrus in dogs administered GnRH agonist following withdrawal of progesterone implants. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 522-523.
- Concannon P., Lasley B., Vanderlip S. (1997). LH release, induction of oestrus and fertile ovulations in response to pulsatile administration of GnRH to anoestrus dogs. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 51, 1-54.
- England G.C.W. (1998a). Chapter 16: Pharmacological control of reproduction in the dog and the bitch. In: Sutton J.B. en Swift S.T. (editors). *Allen's Fertility and Obstetrics in the Dog* (2<sup>nd</sup> edition). Blackwell Science Ltd. Editorial Offices, Londen, p. 198.
- Freshman J.L. (1991). Clinical approach to infertility in the cycling bitch. *Veterinary Clinics of North America* 21, 427-435.
- Gobello G. (2002). Questions concerning estrus induction in the bitch and the queen. In: Verstegen J., Onclin K., Linde-Forsberg C. (editors). *Third EVSSAR European Congress on Reproduction in companion, exotic and laboratory animals*. Presses de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'université de Liège, p. 43-45.
- Hamon M., Mallat M., Herbet A., Nelson D.L., Audinet M., Pichat L., Glowinski J. (1981). Metergoline: a new ligand of serotonin receptors in the brain. *Journal of Neurochemistry* 36, 613-626.
- Handaja Kusuma P.S.H., Tainturier D. (1993). Comparison of induction of oestrus in dogs using metergoline, metergoline plus human chorionic gonadotrophin, or pregnant mares'serum gonadotrophin. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 363-370.
- Hoffman B., Reisenbeck A., Klein R. (1996). Reproductive endocrinology of bitches. *Animal Reproduction Science* 42, 275-288.
- Jeffcoate I.A. (1993). Endocrinology of anoestrus bitches. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 69-76.
- Jeukenne P., Verstegen J. (1997). Termination of dioestrus and induction of oestrus in dioestrus nonpregnant bitches by the prolactin antagonist cabergoline. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 51, 59-66.
- Jöchle W., Arbeiter K., Post K., Ballabio R., D'Veer A.S. (1989). Effects on pseudopregnancy, pregnancy and interoestrus intervals of pharmacological suppression of prolactin secretion in female dogs and cats. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 39, 199-207.
- Johnston S.D., Root Kustritz M.V., Olsen P.N.S. (2001). Clinical approach to infertility in the bitch. In: Kersey R., LeMelledo D. (editors). *Canine and Feline Theriogenology*. W.B. Saunders Company, Londen, p 257-274.



- Kooistra H.S., Okkens A.C., Bevers M.M., Popp-Snijders C., van Haaften B., Dieleman S.J., Schoemaker J. (1999a). Bromocryptine-induced premature oestrus is associated with changes in the pulsatile secretion pattern of follicle-stimulating hormone in beagle bitches. *Journal of Reproduction and Fertility* 117, 387-393.
- Kooistra H.S., Okkens A.C., Bevers M.M., Popp-Snijders C., van Haaften B., Dieleman S.J., Schoemaker J. (1999b). Concurrent pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during different phases of the estrus cycle and anestrus in beagle bitches. *Biology of Reproduction* 60, 65-71.
- Levy-Ocariz H. (1993). Effect of hyperadrenocorticism and diabetes mellitus on serum progesterone concentrations during early metoestrus of pregnant and non-pregnant cycles induced by pregnant mares' serum gonadotrophin in domestic dogs. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 371-377.
- Moses D.L., Shille V.M. (1988). Induction of estrus in greyhound bitches with prolonged idiopathic anestrus or with suppression of estrus after testosterone administration. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 192, 1541-1545.
- Muller E.E., Nistico G. (1989). Neurotransmitter regulation of the anterior pituitary. In: Muller E., Nistico G. (editors). *Brain Messengers and the Pituitary*, Academic Press, San Diego, p. 488-513.
- Nakao T., Aoto Y., Fukushima S., Moriyoshi M., Kawata K. (1985). Induction of estrus in bitches with exogenous gonadotrophins, and pregnancy rate and blood progesterone profiles. *Japanese Journal of Veterinary Science* 47, 17-24.
- Okkens A.C., Bevers M.M., Dieleman S.J., Willemse A.H. (1985). Shortening of the interoestrus interval and the lifespan of the corpus luteum of the cyclic dog by bromocryptine treatment. *Veterinary Quarterly* 7, 173-176.
- Okkens A.C., Kooistra H.S., Dieleman S.J., Bevers M.M. (1997a). Dopamine agonistic effects as opposed to prolactin concentrations in plasma as the influencing factor on the duration of anoestrus in bitches. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 51, 55-58.
- Okkens A.C., Dieleman S.J., Kooistra H.S., Bevers M.M. (1997b). Plasma concentrations of prolactin in overtly pseudopregnant Afghan hounds and the effect of metergoline. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 51, 295-301.
- Perkins N.R., Thomas P.G.A. (1993). Infertility in the bitch with abnormal oestrus cyclicity. *Australian Veterinary Practice* 23, 122-126.
- Schaefer-Okkens A.C. (1996). Chapter 6: Ovaries. In: Rijnberg A. (editors). *Clinical endocrinology of dogs and cats*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p 131-157.
- Shille V.M., Thatcher M.J., Simmons K.J. (1984). Efforts to induce estrus in the bitch, using pituitary gonadotrophins. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 184, 1469-1473.
- Shille V.M., Thatcher M.J., Lloyd M.L., Miller D.D., Seyfert D.F., Sherrod J.D. (1989). Gonadotrophic control of follicular development and the use of exogenous gonadotrophins for induction of oestrus and ovulation in the bitch. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 39, 103-113.
- Thun R., Watson P., Jackson G.L. (1977). Induction of estrus and ovulation in the bitch, using exogenous gonadotrophins. *American Journal of Veterinary Research* 38, 483-486.
- Vanderlip S.L., Wing A.E., Felt P., Linkie D., Rivier J., Concannon P.J., Lasley B.L. (1987). Ovulation induction in anoestrus bitches by pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone. *Laboratory Animal Science* 37, 459-464.
- van Haaften B., Dieleman S.J., Okkens A.C., Bevers M.M., Willemse A.H. (1989). Induction of oestrus and ovulation in dogs by treatment with PMSG and/or bromocryptine. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 39, 330-331.
- van Haaften B., Bevers M.M., Van Den Brom W.E., Okkens A.C., Van Sluijs F.J., Willemse A.H., Dieleman S.J. (1994). Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle bitch. *Journal of Reproduction and Fertility* 101, 221-225.
- Van Soom A., Rijsselaere T., Van Den Broeck W., de Kruif A. (2001). Invriezen van hondensperma. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 70, 253-261.
- Verstegen J.P., Onclin K., Donnay I., Silva L.D.M. (1993). Luteotropic action of prolactin in dogs and effects of a dopamine agonist, cabergoline. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement* 47, 403-409.
- Verstegen J.P., Onclin K., Silva L.D.M. (1994). Early termination of anestrus and induction of fertile estrus in dogs by the dopamine super-agonist cabergoline. *Biology of Reproduction* 50, 157.
- Verstegen J.P., Onclin K., Silva L.D.M., Concannon P. (1997). Termination of obligate anoestrus and induction of fertile ovarian cycles in dogs by administration of purified pig LH. *Journal of Reproduction and Fertility* 111, 35-40.
- Verstegen J.P., Onclin K., Silva L.D.M., Concannon P.W. (1999). Effect of stage of anestrus on the induction of estrus by the dopamine agonist cabergoline in dogs. *Theriogenology* 51, 597-611.
- Verstegen J. (2001). Chapter 20: Estrus induction in the bitch: a review. In: *Endocrine and reproductive disorders in companion animals. 5<sup>th</sup> Budapest Workshop on Clinical Endocrinology*, Faculty of Veterinary Science, Budapest, Hungary, p 130-138.
- Wanke M.M., Farina J., Loza M.H., Rebuelto M., Concannon P.W. (1997). Induction of estrus in bitches with normal and persistent anestrus using human menopausal gonadotropin (hMG). *Theriogenology* 47, 935-942.
- Wright P.J. (1982). The induction of oestrus in the bitch using daily injections of pregnant mare serum gonadotrophins. *Australian Veterinary Journal* 59, 123-124.
- Zöldag L., Fekete S., Csaky I., Bersényi A. (2001). Fertile estrus induction in bitches by bromocryptine, a dopamine agonist: a clinical trial. *Theriogenology* 55, 1657-1666.