

Wczesny rozwój zarodkowy kota domowego

AGNIESZKA PRZETOCKA-WYDRO, GRZEGORZ DEJNEKA*, JAN KURYSZKO

Zakład Histologii i Embriologii Katedry Anatomii i Histologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP,
ul. Koźuchowska 5, 51-631 Wrocław

*Katedra i Klinika Rozrodu, Chorób Przeżuwaczy oraz Ochrony Zdrowia Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP,
pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Przetocka-Wydro A., Dejneka G., Kuryszko J.
Early embryonic development of domestic cat

Summary

Early stages of domestic cat embryonic development are shown. The aim of this was to describe the process of fertilization, blastocyst formation, implantation and the stages of embryogenesis, which determine the initiation of gastrulation. This study, which is a histological investigation of embryogenesis processes, can be crucial for a fuller comprehension of the development of the feline embryo.

Keywords: domestic cat, embryo, embryogenesis

Kot domowy to gatunek, którego biologia ciągle jeszcze jest poznawana. Najmniej opracowań dotyczy rozwoju zarodkowego kotowatych, zarówno dziko żyjących, jak i udomowionych. Spośród strunowców najlepiej zbadany i opisany jest rozwój embrionalny lancetnika. Wśród kręgowców uwaga embriologów skupia się na rybach, ptakach, płazach, a spośród ssaków – na zwierzętach laboratoryjnych (mysz, szczur, królik). Wynika to w głównej mierze z dostępności materiału i dogodnego dla badających przebiegu rozwoju (jaja ptaków i płazów). Stąd też znacznie trudniej analizować np. bruzdkowanie u ssaków. Dochodzi do tego jeszcze fakt, że komórki jajowe ssaków są gametami jednymi z najmniejszych w świecie zwierząt, co powoduje, że wszelkie eksperymenty i manipulacje są bardzo trudne. Nieporównywalna jest również liczba produkowanych zygot ssaków, dlatego uzyskanie wystarczającej ilości materiału do badań nie jest łatwe (5). Zwykle owulacji ulega mniej niż 10 komórek jajowych w jednym cyklu. Podczas wczesnego rozwoju zarodkowego następują zmiany i intensywny wzrost, czego później już się nie obserwuje. Niemniej jednak od tych wczesnych stadiów rozwojowych zależą późniejsze losy zarodka. I one decydują o tym, jak liczne będzie potomstwo.

Rozwój zarodków ssaków jest ukończony wewnątrz organizmu. Dopiero stosunkowo niedawno pojawiła się możliwość odtworzenia niektórych warunków wewnętrznych i obserwacja rozwoju ssaków w warunkach *in vitro* (2, 4, 6, 9, 11, 12, 14, 17). Oocyt ssaków jest uwalniany z jajnika i wychwytywany przez strzępki jajowodu. Zapłodnienie następuje w bańce jajowodu. Podział zygoty oraz bruzdkowanie i wytworzenie blastocysty ma miejsce w cieśni jajowodu. U ssaków

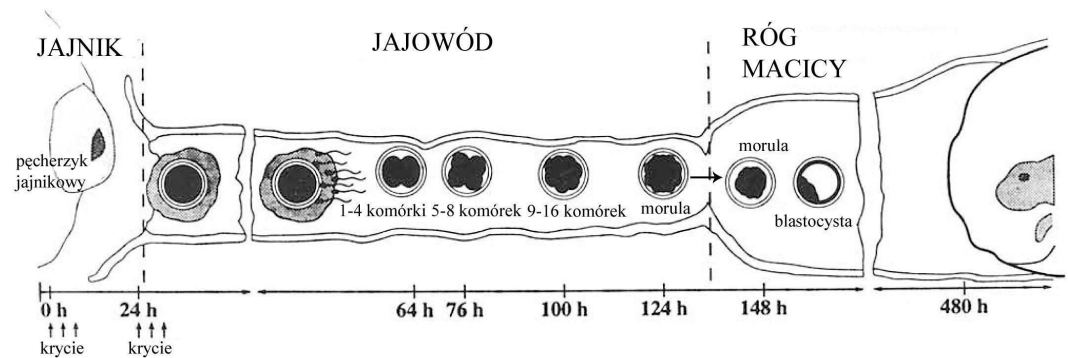
bruzdkowanie przebiega stosunkowo wolno (5). Podczas tego procesu następuje podział jądra, a następnie cytoplazmy, w wyniku czego pojawiają się na powierzchni bruzdy. Pierwsza z nich, występująca w płaszczyźnie południkowej, daje 2 blastomery (komórki), druga – południkowa, prostopadła do pierwszej, daje 4 blastomery. Trzecia bruzda jest równoleżnikowa i w następstwie jej powstania pojawia się 8 blastomerów. Następne 2 bruzdy są południkowe, kolejne 2 – równoleżnikowe. Efektem bruzdkowania jest morula jako skupienie blastomerów. Pod koniec dochodzi do upakowania powierzchniowych blastomerów, czego efektem jest zbita morula. Następnie powstaje pęcherzyk – blastocysta. Blastomery ssaków powstają asynchronicznie. Tak więc zarodki ssaków nie rosną wykładnikowo od 2- do 4- do 8-komórkowego stadium, ale często zawierają nieparzystą liczbę komórek. Od lat większość badań rozwoju ssaków prowadzono na myszach, wobec tego, że są one stosunkowo łatwe w hodowli i dają liczne potomstwo.

Rozwój biologii komórki, embriologii molekularnej oraz biochemii spowodował otwarcie możliwości dokonywania eksperymentów w szeroko rozumianej histo- i organogenezie. Możliwe do przeprowadzenia stały się badania embriologiczne i histologiczne z zakresu rozwoju embrionalnego psów (10, 18) i kotów, również dzikich (21-23, 26). Badania takie trwają już od wielu lat (3, 10, 28) i często dotyczą okresu ciąży wykrywanego przy pomocy usg (28, 31, 32), ale dopiero od niedawna możliwa jest analiza wczesnego rozwoju embrionalnego, czyli okresu od zapłodnienia do powstania blastocysty. Doświadczenia przeprowadzane są zarówno w środowisku *in vivo*, jak i *in vitro* (15, 17, 27, 29).

Należy podkreślić, że w tego rodzaju badaniach ogromną rolę odgrywa precyzja i doświadczenie. Muszą być one wykonywane według ściśle określonych procedur i postępowania wobec materiału embriologicznego. Chcąc prześledzić wczesny rozwój embrionalny kotów konieczne jest pokrycie samic, a następnie uzyskanie od nich w odpowiednim czasie zarodków i ich ocena. Istotne jest również dokonanie badań histologicznych błony śluzowej macicy i kory jajników podczas poszczególnych etapów rozwoju zarodkowego (1, 20, 22). Nie bez znaczenia jest także jakość badanych zwierząt, które muszą spełniać określone kryteria (1, 2, 16, 27). Dotyczą one wieku samic, pomieszczeń, w których przebywają, pożywienia i rodzaju oświetlenia. Wspomniane warunki muszą być jednakowe dla wszystkich zwierząt poddanych obserwacjom (1, 16, 17, 22, 25, 27).

Powodzenie badań zależy m.in. od zaobserwowania rui u samic, które muszą być monitorowane i obserwowane w kierunku zachowań charakterystycznych dla tej fazy cyklu płciowego (1, 22, 27). Niekiedy konieczna jest stymulacja gonadotropinami (8, 22). W odpowiednim czasie powinno też nastąpić krycie, które odbywa się w sposób naturalny lub na drodze *in vitro*. W przypadku naturalnego zapłodnienia kotki są dzielone na grupy zgodnie z czasem, który upłynął od pierwszego krycia, tzn. 64, 76, 100, 124, 148, 480 godzin (23, 25). W przypadku zapłodnienia *in vitro* z pęcherzyków jajnikowych pozyskiwane są oocyty i utrzymywane w odpowiednich warunkach, a następnie zapładniane w warunkach laboratoryjnych (17, 24, 29). Oocyty kotek wykazują wyjątkową zdolność do dojrzewania *in vitro* po długotrwałym przechowywaniu w niskich temperaturach (6, 17, 29). U innych gatunków takie postępowanie uniemożliwia rozwój po inseminacji, co ma raczej związek z uszkodzeniem cytoplazmy w wyniku zamrażania (17, 18). Na przykład komórki jajowe suk łatwo pękają podczas stosowania takich technik (18).

Najczęściej kotki-dawczynie trafiają do klinik przypadkowo, gdy są tam poddawane różnym zabiegom weterynaryjnym (4, 24, 29, 30). Oocyty uzyskiwane w ten sposób są oceniane zgodnie z wyglądem przekładającym się na ich jakość. Najczęściej dokonuje się oceny na 3 klasy (A, B, C). O przynależności do poszczególnych klas decyduje wygląd ooplazmy, wzgórka jajonośnego oraz osłonka przejrzysta (7). Spindler (23) stwierdziła zależność pomiędzy porami roku a jakością oocytów tego gatunku. U kotek krytych naturalnie wykonywana jest owariohisterektomia po upływie czasu zgodnego z podziałem na grupy (we-



Ryc. 1. Schemat wczesnego rozwoju zarodkowego kota domowego. Według W. F. Swanson (27) – modyfikacja

dług czasu po pierwszym kryciu). Oceniana jest w ten sposób liczba zarodków i miejsc implantacyjnych. Najwcześniejsze etapy przedimplantacyjne dotyczą zarodków 1-2-komórkowych, natomiast stadia po implantacji ukazują liczbę miejsc implantacyjnych i płodów (25, 30). Zarodki kocie są klasyfikowane według określonych cech na 3 stopnie jakości. Pierwszy dotyczy zarodków o ciemnej i jednolitej barwie oraz jednokształtnych blastomerach. Drugi stopień to zarodki o jaśniejszym zabarwieniu i nieco asymetrycznych blastomerach, wykazujących obecność nieznacznej wakuolizacji lub fragmentacji. Trzeci stopień to zwyrodniałe embriony z pofragmentowanymi blastomerami o różnych wymiarach (7, 23-25, 27, 31).

Noden (15) okres rozwoju zarodkowego podzielił na 3 etapy: 1 – trwający do 12. dnia okres przed implantacją, 2 – od 12. do 24. dnia, czyli embriogeneza oraz 3 – od 24. dnia do porodu, czyli rozwój płodowy. Na przebieg rozwoju ma wpływ jakość zarodków. Embriony 1. i 2. stopnia przechodzą wszystkie etapy.

Rozwój zarodkowy kota jest specyficzny z uwagi na wyjątkowość cyklu płciowego (5, 32). Owulacja u kotek wywołwana jest kryciem, najskuteczniejszym w 2. i 3. dniu rui (nawet do 100%, gdy do krycia dochodzi bez ograniczeń). Na schemacie (ryc. 1) zaznaczona jest kolejność etapów rozwoju po takim kryciu. Z uwagi na to, że kotka może akceptować więcej niż jednego samca, jej miot nie musi mieć wspólnego pochodzenia. Podczas zapłodnienia komórka jajowa jest otoczona osłonką przejrzystą, którą z kolei okrywa warstwa tworząca wieniec promienisty. Nasienie penetruje obie te warstwy przy użyciu enzymów litycznych, wydzielanych przez plemnik, wskutek pęknięcia akrosomu. Po kontakcie i zlaniu z gametą żeńską, osłonka przejrzysta i powierzchnia komórkowa jaja są biochemicznie zmienione, co zapobiega penetracji przez kolejne plemniki. U kotów zapłodnienie i pierwszy podział bruzdkowania następuje do 64 godzin po pierwszym kryciu (23). W zygocie wypłukanej z jajowodu pomiędzy 20. a 28. godziną po kryciu obecna jest zapłodniona komórka jajowa, a średnia jej wielkość wynosi 0,13 mm (13). W doświadczeniach u 65% zarodków stwierdzano przynajmniej pierwszy zakończony podział bruzdkowania, pozostałe znajdowały się na-

dal w fazie 1 komórki (27). Bruzdkowanie zachodzi jeszcze, kiedy komórki są otoczone przez osłonkę przejrzystą. Pierwsze dwa blastomery powstają 60-68 godzin po kryciu (13). Przed implantacją dochodzi do podziału komórek w trakcie wędrówki przez jajowód. W jajach izolecytałnych podziały przebiegają asynchronicznie, dlatego można zaobserwować zarodki o 5, 6, 7 komórkach (blastomerach). Podziały następują średnio co 10-14 godzin (13). Stadium 5-8 blastomerów zarodki osiągają po ok. 76 godz., 9-16 komórek po ok. 100 godz. (27). Trzon macicy zarodek osiąga około 6.-7. dnia rozwoju, jako morula lub wczesna blastocysta (1). W tym czasie możliwy do zaobserwowania jest blok, który występuje w przypadku zapłodnienia *in vitro* (26) i dotyczy przejścia moruli w blastocystę. Dochodzi do formowania się blastocysty (wkłęśła kula) (16). Większość komórek tworzy powierzchniową warstwę nabłonkową, stanowiąc komórki trofoblastu, budujące kosmówkę jako składową łożyska. Na jednym biegunie grupują się komórki przeznaczone do wytworzenia wszystkich tkanek zarodka, podobnie jak części łożyska (jest to tarczka zarodkowa).

W 124. godz. po pierwszym kryciu 71,4% zarodków było w fazie moruli. Zarodki pomiędzy 64. a 124. godziną zostały pozyskane z jajowodów. W 148. godz. po 1 kopulacji 61,1% zarodków przedstawiało się jako „zbita” morula, a 22,2% było blastocystami. Obserwowane były pojedyncze przypadki, w których z jajowodu był wypłukany embriion 1. stopnia z liczbą 9-16 komórek, ale kotki takie nie dawały więcej zarodków. Zagnieżdżenie następuje po 12-13 dniach. Łożysko kota jest typu śródbłonkowo-kosmówkowego, stąd też w miejscach implantacji dochodzi do erozji błony śluzowej macicy (1). W przypadku kotek po implantacji istniała różnica 31,1% pomiędzy liczbą miejsc implantacyjnych a liczbą ciałek żółtych (CL), na korzyść tych ostatnich. W pojedynczych przypadkach różnica ta może wynosić 5,5%, jak również 48,1%.

Zagnieżdżająca się blastocysta ma swoje odbicie w morfologii błony śluzowej macicy, a także kory jajnika. U kotów implantacja określana jest jako śródmiąższowa. W jej miejscu zniszczeniu ulega nabłonek błony śluzowej macicy, na który działają enzymy proteolityczne trofoblastu. Dzięki temu zarodek może wnikać do głębszej warstwy błony śluzowej macicy i ulec implantacji. Nieliczni autorzy (1) podejmują ten temat w swoich pracach. W preparatach z błony śluzowej macicy określali: wysokość nabłonka pokrywającego błony śluzowej oraz nabłonka gruczołowego macicy, stopień wakuolizacji w komórkach *endometrium*, proporcje komórek gruczołowych z wakuolami pod jądrem. W macicy charakterystycznym zjawiskiem jest wtedy hyperplazja *endometrium* (20, 22). Analiza jajników przeprowadzona była w kierunku obecności pęcherzyków jajnikowych dojrzałych i rozwijającego się ciała żółtego. Komórki lutealne podlegały ocenie w zakresie kształtu i obecności wodniczek w cytoplaz-

mie. Obraz macicy jest ściśle związany z obecnością ciała żółtego, które w zależności od fazy cyklu, przybiera różne postacie. Dlatego też można obserwować wszystkie jego etapy. Początkowo ciało żółte budową przypomina pęcherzyk dojrzały do pęknięcia. Po jego pęknięciu jego elementy ulegają obkurczeniu, a ściana pofałdowaniu. W osłonce pęcherzyka jedynie warstwa wewnętrzna nie zmienia położenia. Kolejno następuje wnikanie naczyń włosowatych z osłonki wewnętrznej i znajdują się one pomiędzy komórkami, w centrum pęcherzyka. Ściany niektórych naczyń ulegają uszkodzeniu i wydostaje się z nich krew, tworząca z płynem pęcherzykowym skrzep. Powstaje wówczas ciało krwotoczne (CH). U kotów opisywane jest to w pracach doświadczalnych w 64. godz., kiedy prawie we wszystkich jajnikach można obserwować CH z różną ilością krwi w centrum (20). Brzegi stanowiły fałdy zapadniętego pękniętego pęcherzyka. Widoczna była wczesna wakuolizacja (luteinizacja) cytoplazmy komórek warstwy ziarnistej oraz osłonki wewnętrznej. Kolejny etap stanowią przekształcenia, w wyniku których ulegają zmianie komórki pęcherzykowe i warstwy wewnętrznej. Następuje ich luteinizacja. Naczynia krwionośne są wyraźnie rozszerzone. Naczynia włosowate biegną pionowo i rozciągają się od osłonki wewnętrznej do światła CH (1). Kolejne etapy przemian ciała żółtego następują w 76. godz. po pierwszym kryciu, kiedy w większości jajników obecne są jeszcze CH i/lub CL z widoczną jamą w środku, jakkolwiek w wielu CL w centrum wyraźna była niedojrzała tkanka włóknista. Kształt komórek lutealnych jest określany jako wrzecionowaty i są one zorientowane pionowo względem brzegów ciała. W komórkach na obwodzie występuje nieco więcej cytoplazmatycznych wakuoli. W 100. godz. tylko w nielicznych jajnikach widoczne były CH, w większości obserwowano co najmniej jedno CL z nieregularnym obrysem i przetrwałą jamą, jakkolwiek te CL posiadały zwłóknienia w tej jamie (20). Obraz ten sugeruje, że rozpoczął się już etap uwsteczniania ciała żółtego, podczas którego wzrasta liczba włókien. Komórki lutealne kształtu wrzecionowatego w 148. godz. Duże i o wyraźnym okrągłym kształcie (20), ale więcej wielobocznych komórek lutealnych z wakuolami cytoplazmatycznymi obserwowano obwodowo. Naczynia mniej wyraźne niż w 76. godz. Dodatkowo w pojedynczych przypadkach dało się obserwować uwstecznione ciało żółte (małych rozmiarów, o nieregularnych brzegach) oraz atrezję pęcherzyków jajnikowych (z hipertrofią komórek warstwy wewnętrznej, zapadniętą ścianką i bez oocyty).

W macicy następują zmiany mające umożliwić implantację, co określane jest jako reakcja doczesnowa. Zmiany te widoczne są ok. 64. godziny po pierwszym kryciu. Dochodzi do wyraźnego pogrubienia błony śluzowej macicy. Zmiany dotyczą głównie tkanki łącznej zrębu. Komórki powiększają swoje rozmiary, posiadając większą ilość lipidów oraz glikogenu. Roth i wsp.

(20) opisali nabłonek powierzchniowy w niewielkim stopniu pofałdowany, z komórkami niskimi, sześciennymi, z mikrokosmkami. Zmiany w macicy przygotowującej się do implantacji dotyczą również gruczołów. Dochodzi do ich poszerzania, wydłużania i skręcania. Niektóre obserwowane gruczoły warstwy głębokiej w 64. godzinie (20) miały wyraźnie rozszerzone światło z obecną wydzieliną o charakterze białkowym. W komórkach nabłonka gruczołowego rzadko obserwowane były wakuole lub ich brak. W 76. godz. gruczoły błony śluzowej ulegają dalszemu wydłużaniu, poszerzaniu i skręcaniu oraz są wyraźnie rozgałęzione (20). Nabłonek gruczołowy warstwy głębokiej jest bardziej regularny. W 100. godz. powierzchnia nabłonka powierzchniowego nie jest już tak pofałdowana. Wysokość nabłonka jest większa w gruczołach głębokich, a cytoplazmatyczna wakuolizacja w nabłonku jest większa; przypuszczalnie ma to związek ze zwiększoną aktywnością wydzielniczą. W tym czasie gruczoły produkują i wydzielają intensywnie wydzielinę śluzową, która ma za zadanie odżywanie komórek płciowych lub zarodka. W 124. godz. opisywany jest (20) równomierny rozrost nabłonka gruczołowego i ogólne pogrubienie *endometrium*, porównywalne z obserwowanym w 100. godz. Gruczoły są bardziej proste i wyścielone przez wysokie komórki nabłonka walcowatego ze zwiększoną wakuolizacją cytoplazmy. Wysokość nabłonka i stopień wakuolizacji są większe w gruczołach głębokich niż powierzchniowych. Po 148 godz. gruczoły znacznie wydłużone (1, 20), z gładkim nabłonkiem, który budują wysokie komórki walcowate, z obfitą, zwakuolizowaną cytoplazmą, prawie wszystkie z zawartością wodniczek podjądrowych (glikogen). Nabłonek powierzchniowy z obfitymi fałdami o gładkiej powierzchni. Są one głębsze niż w 124. godz., a wysokie komórki nabłonka mają kształt cylindryczny, z delikatnymi mikrokosmkami. Ich jądra komórkowe są rozmieszczone nad licznymi wakuolami.

Współczesne metody badań dają wielkie możliwości poznania w pełni wczesnego, jak i późnego rozwoju zarodkowego kota domowego. Coraz więcej doświadczeń opiera się na metodach *in vitro* podczas zapłodnienia komórek jajowych i ich dojrzewania. Badania te dotyczą nie tylko kota domowego, ale także innych gatunków należących do rodziny kotowatych. Ma to niebagatelne znaczenie, gdyż wiedza ta może być wykorzystana w zabiegach związanych z reprodukcją, szczególnie gatunków zagrożonych wyginięciem.

Piśmiennictwo

- Boomsma R. A., Mavrogianis P. A., Verhage H. G.: Changes in endometrial and placental protein synthesis and morphology during pregnancy and pseudo-pregnancy in the cat. *Biol. Reprod.* 1991, 44, 345-356.
- Donoghue A. M., Johnston L. A., Goodrowe K. L., O'Brien S. J., Wildt D. E.: Influence of day of oestrus on egg viability and comparative efficiency of *in vitro* fertilization in domestic cats in natural or gonadotrophin-induced oestrus. *J. Reprod. Fert.* 1993, 98, 85-90.
- Evans H. E., Sack W. O.: Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Anat. Histol. Embryol.* 1973, 2, 11-45.
- Freistedt P., Stojkovic M., Wolf E.: Efficient *in vitro* production of cat embryos in modified synthetic oviduct fluid medium: effects of season and ovarian status. *Biol. Reprod.* 2001, 65, 9-13.
- Gilbert S. F.: *Developmental Biology*. Sinauer Associates, INC., Publ. Sunderland, Massachusetts 2003.
- Gomez M. C., Pope E., Harris R., Mikota S., Dresser B. L.: Development of *in vitro* matured, *in vitro* fertilized domestic cat embryos following cryopreservation, culture and transfer. *Theriogenology* 2003, 60, 239-251.
- Grabiec A., Modliński J. A.: Pozyskiwanie i klasyfikacja oocytów kocich. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 146-149.
- Graham L. H., Swanson W. F., Brown J. L.: Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. *Theriogenology* 2000, 54, 1117-1131.
- Hoffert K. A., Anderson G. B., Wildt D. E., Roth T. L.: Transition from maternal to embryonic control of development in IVM/IVF domestic cat embryos. *Mol. Reprod. Dev.* 1997, 48, 208-215.
- Holst P. A., Phemister R. D.: The prenatal development of the dog: preimplantation events. *Biol. Reprod.* 1971, 5, 194-206.
- Kanda M., Miyazaki T., Kanda M., Nakao H., Tsutsui T.: Development of *in vitro* fertilized feline embryos in a modified Earle's balanced salt solutions: influence of protein supplements and culture dishes on fertilization success and blastocyst formation. *J. Vet. Med. Sci.* 1998, 60, 423-431.
- Kanda M., Oikawa H., Nakao H., Tsutsui T.: Early embryonic development *in vitro* and embryo transfer in the cat. *J. Vet. Med. Sci.* 1995, 57, 641-646.
- Knospe C.: Periods and stages of the prenatal development of the domestic cat. *Anat. Histol. Embryol.* 2002, 31, 37-51.
- Lavoni G. C., Pellizzari P.: Embryo development *in vitro* of cat oocytes cryopreserved at different maturation stages. *Theriogenology* 2000, 23, 1529-1540.
- Noden D. M.: Normal development and congenital birth defects in the cat, [w:] *Current Veterinary Therapy IX. Small Animal Practice*. Wyd. R. W. Kirk, Philadelphia, Pa. 1986.
- Pope C. E., Johnson C. A., McRae M. A., Keller G. L., Dresser B. L.: Development of embryos produce by intracytoplasmic sperm injection of cat oocytes. *Anim. Reprod. Sci.* 1998, 53, 221-236.
- Pope C. E., McRae M. A., Plair B. L., Keller G. L., Dresser B. L.: Successful *in vitro* and *in vivo* development of *in vitro* fertilized two- to four-cell cat embryos following cryopreservation, culture and transfer. *Theriogenology* 1994, 42, 513-525.
- Renton J. P., Boyd J. S., Eckersall P. D., Ferguson J. M., Harvey M. J. A., Mullaney J., Perry B.: Ovulation, fertilization and early embryonic development in the bitch (*Canis familiaris*). *J. Reprod. Fert.* 1991, 93, 221-231.
- Rooth Kustritz M. V.: Clinical management of pregnancy in cats. *Theriogenology* 2006, 66, 145-150.
- Roth T. L., Munson L., Swanson W. F., Wildt D. E.: Histological characteristics of the uterine endometrium and corpus luteum during early embryogenesis and the relationship to embryonic mortality in the domestic cat. *Biol. Reprod.* 1995, 53, 1012-1021.
- Roth T. L., Swanson W. F., Wildt D. E.: Developmental competence of domestic cat embryos fertilized *in vivo* versus *in vitro*. *Biol. Reprod.* 1994, 51, 441-451.
- Roth T. L., Wolfe B. A., Long J. A., Howard J., Wildt D. E.: Effects of equine chorionic gonadotropin, human chorionic gonadotropin, and laparoscopic artificial insemination on embryo, endocrine, and luteal characteristics in the domestic cat. *Biol. Reprod.* 1997, 57, 163-171.
- Spindler R. E., Wildt D. E.: Circannual variations in intraovarian oocyte but not epididymal sperm quality in the domestic cat. *Biol. Reprod.* 1999, 61, 188-194.
- Spindler R. E., Wildt D. E.: Quality and age of companion felid embryos modulate enhanced development by group culture. *Biol. Reprod.* 2002, 66, 167-173.
- Swanson W. F., Roth T. L., Brown J. L., Wildt D. E.: Relationship of circulating steroid hormones, luteal luteinizing hormone receptor and progesterone concentration, an embryonic mortality during early embryogenesis in the domestic cat. *Biol. Reprod.* 1995, 53, 1022-1029.
- Swanson W. F., Roth T. L., Godke R. A.: Persistence of the developmental block of *in vitro* fertilized domestic cat embryos to temporal variations in culture conditions. *Molec. Reprod. Dev.* 1996, 43, 298-305.
- Swanson W. F., Roth T. L., Wildt D. E.: *In vivo* embryogenesis, embryo migration, and embryonic mortality in the domestic cat. *Biol. Reprod.* 1994, 51, 452-464.
- Tiedemann K., Henschel E.: Early radiographic diagnosis of pregnancy in the cat. *J. Small Anim. Pract.* 1973, 14, 567-572.
- Wolfe B. A., Wildt D. E.: Development to blastocysts of domestic cat oocytes matured and fertilized *in vitro* after prolonged cold storage. *J. Reprod. Fert.* 1996, 106, 135-141.
- Wood T. C., Wildt D. E.: Effect of the quality of the cumulus-oocyte complex in the domestic cat on the ability of oocytes to mature, fertilize and develop into blastocysts *in vitro*. *J. Reprod. Fert.* 1997, 110, 355-360.
- Zambelli D., Castagnetti C., Belluzzi S., Bassi S.: Correlation between the age of the conceptus and various ultrasonographic measurements during the first 30 days of pregnancy in domestic cats (*Felis catus*). *Theriogenology* 2002, 57, 1981-1987.
- Zambelli D., Prati F.: Ultrasonography for pregnancy diagnosis and evaluation in queens. *Theriogenology* 2006, 66, 135-144.

Adres autora: dr Agnieszka Przetocka-Wydro, ul. Kożuchowska 5, 51-631 Wrocław; e-mail: przetocka@yahoo.com