

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Angefertigt unter der Leitung von: Prof. Dr. Johannes Handler

**Farbdopplersonographie der A. uterina und
des Corpus luteum während der
Frühgravidität und der mechanisch
verlängerten Lutealphase der Stute**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Sandy Hauer
aus Grevenmacher

München 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. Handler

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Poulsen Nautrup

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	2
1.	Physiologie des Zyklus und der Frühgravidität der Stute	2
1.1.	Allgemeines.....	2
1.2.	Östrus	2
1.3.	Diöstrus	3
1.4.	Endokrinologie.....	4
1.4.1.	Hormonelle Regulation des Sexualzyklus und Luteolyse.....	4
1.4.2.	Steroidhormone	6
1.5.	Gravidität.....	7
1.5.1.	Allgemeine Übersicht.....	7
1.5.2.	Frühgravidität bis Tag 18	7
1.5.3.	Mobilitätsphase, embryonales Signal und maternale Erkennung	8
2.	Arterielle Blutversorgung des Uterus und der Ovarien	9
2.1.	Anatomie	9
3.	Physikalisch-technische Grundlagen der Sonographie und Dopplersonographie.....	10
3.1.	Allgemeine Sonographie (B-mode)	10
3.2.	Dopplersonographie und Dopplereffekt.....	10
3.2.1.	Funktionsweise von Dopplergeräten – Gefäßdoppler.....	12
3.2.1.1.	Continous-wave-Dopplergeräte (CW-Dopplergeräte).....	12
3.2.1.2.	Pulsed-wave-Dopplergeräte (PW-Dopplergeräte)	12
3.2.1.3.	Duplexsysteme	12
3.2.1.4.	Power Doppler Ultraschall und seine Auswertung	13
3.2.2.	Auswertung dopplersonographischen Untersuchungen.....	13
3.2.2.1.	Qualitative Auswertung	14
3.2.2.2.	Quantitative Auswertung	14
3.2.2.3.	Semiquantitative Auswertung	16
4.	Untersuchungen des uterinen und ovariellen Blutflusses der Stute...17	
4.1.	Blutflussveränderungen in der A. uterina während des Zyklus der Stute.17	
4.2.	Blutflussveränderungen in der A. uterina und am Endometrium während	

	der Frühgravidität der Stute	18
4.3.	Blutflussveränderungen am Corpus luteum während des Zyklus der Stute	19
4.4.	Blutflussveränderungen am Corpus luteum während der Frühgravidität der Stute	20
4.5.	Einfluss verschiedener endogener und exogener Faktoren auf die uterine und ovarielle Durchblutung der Stute	20
5.	Unterdrückung der Rosse.....	21
5.1.	Hormonelle Unterdrückung der Rosse.....	21
5.2.	Mechanische Unterdrückung der Rosse.....	23
5.3.	Chirurgische Unterdrückung der Rosse – Ovariectomie	24
III.	MATERIAL UND METHODEN	26
1.	Tiere.....	26
2.	Geräte	26
3.	Methode.....	26
3.1.	Versuchsaufbau	26
3.2.	Untersuchungen an der Arteria uterina	28
3.2.1.	Farbdopplersonographische Darstellung der A. uterina.....	28
3.2.2.	Auswertung der Pulswellen.....	29
3.3.	Untersuchungen am Corpus luteum.....	31
3.3.1.	Darstellung des Corpus luteum im Power-Doppler-Mode	31
3.3.2.	Auswertung der Corpus luteum-Bilder	33
3.4.	Hormonanalysen	34
3.4.1.	Entnahme der Blutproben	34
3.4.2.	Auswertung der Blutproben	35
3.5.	Präparation und Einsetzen des Kunststoffballs in den Uterus	35
3.6.	Uterustupferproben	36
4.	Statistische Auswertung	36
IV.	ERGEBNISSE	37
1.	Allgemeine klinische Befunde	37
1.1.	Frühgravidität.....	37
1.2.	Intrauterine Applikation des Kunststoffballs	38

2.	Durchblutung und hormonelle Aktivität des Corpus luteum.....	39
2.1.	Das Corpus luteum in der Frühgravidität.....	39
2.1.1.	Änderungen in der Durchblutung und in der Fläche des Corpus luteum sowie im Plasmaprogesteronspiegel während der Frühgravidität.....	39
2.1.2.	Korrelationen zwischen durchbluteter Cl-Fläche, Cl-Gesamtfläche, Anteil durchbluteter Cl-Fläche an Cl-Gesamtfläche und Plasmaprogesteronkonzentration	42
2.2.	Einfluss eines intrauterin applizierten Kunststoffballs auf das Corpus luteum.....	42
2.2.1.	Änderungen in der Durchblutung und in der Fläche des Corpus luteum sowie im Plasmaprogesteronspiegel nach Applikation eines Kunststoffballs	43
2.2.1.1.	Übersicht der Versuchsstuten.....	43
2.2.1.2.	Plasmaprogesteronspiegel einzelner Versuchsstuten.....	44
2.2.1.3.	Plasmaprogesteronkonzentrationen an ausgewählten Untersuchungstagen	52
2.2.1.4.	Durchblutete Cl-Fläche einzelner Versuchsstuten.....	54
2.2.1.5.	Durchbluteten Cl-Fläche an ausgewählten Untersuchungstagen.....	56
2.2.1.6.	Anteil der durchbluteten Cl-Fläche an der Cl-Gesamtfläche einzelner Stuten	57
2.2.1.7.	Höhe des Anteils der durchbluteten Cl-Fläche an der Cl-Gesamtfläche an ausgewählten Untersuchungstagen	58
2.3.	Einfluss von Doppelovulationen auf die Plasmaprogesteronkonzentration und auf die Cl-Durchblutung	60
2.4.	Einfluss der Applikation des Kunststoffballs auf den Plasmaprogesteronspiegel, die durchblutete Cl-Fläche, sowie den Anteil durchbluteter Cl-Fläche an Cl-Gesamtfläche an Tag 3.....	61
2.4.1.	Einfluss der Balleinführung auf den Plasmaprogesteronspiegel an Tag 3	61
2.4.2.	Einfluss der Applikation des Kunststoffballs auf die durchblutete Cl- Fläche, sowie den Anteil der durchbluteten Cl-Fläche an der Cl- Gesamtfläche an Tag 3.....	62
3.	Blutfluss in der A. uterina	63
3.1.	Blutfluss in der A. uterina während der Frühgravidität	63
3.2.	Einfluss eines intrauterin applizierten Kunststoffballs auf den Blutfluss in	

	der A. uterina.....	64
3.2.1.	Resistance Index (RI) einzelner Versuchsstuten.....	64
3.2.2.	Der Resistance Index (RI) an ausgewählten Untersuchungstagen.....	66
3.2.3.	Pulsatility Index (PI) einzelner Versuchsstuten.....	67
3.2.4.	Der Pulsatility Index (PI) an auserwählten Untersuchungstagen.....	69
3.3.	Einfluss der Applikation eines Kunststoffballs auf die uterine Durchblutung an Tag 3.....	71
3.3.1.	Einfluss der Applikation eines Kunststoffballs auf den Resistance Index (RI) an Tag 3.....	71
3.3.2.	Einfluss der Applikation eines Kunststoffballs auf den Pulsatility Index (PI) an Tag 3.....	72
3.4.	Änderungen im uterinen Blutfluss durch die Lokalisation des equinen Konzeptus.....	73
3.5.	Änderungen im uterinen Blutfluss durch die Lokalisation des Kunststoffballs.....	75
V.	DISKUSSION.....	76
1.1.	Durchblutung und hormonelle Aktivität des Corpus luteum.....	77
1.2.	Blutfluss in der A. uterina.....	79
1.3.	Schlussfolgerung.....	81
VI.	ZUSAMMENFASSUNG.....	83
VII.	SUMMARY.....	86
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS.....	88
IX.	ANHANG.....	96
X.	DANKSAGUNG.....	97

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arteria
ACE	Angiotensin Converting Enzym
ASS	Acetylsalicylsäure
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Cl	Corpus luteum
CW-Doppler	Continous-wave-Doppler
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELFA	Enzyme-linked Fluorescent Assay
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
hCG	humanes Choriongonadotropin
LH	Luteinisierendes Hormon
Lig.	Ligamentum
PGE 2	Prostaglandin E 2
PGF 2 α	Prostaglandin F 2 α
PGI 2	Prostaglandin I 2
PI	Pulsatility Index
PRF	Pulse repetition frequency
PW-Doppler	Pulsed-wave Doppler
RI	Resistance Index
ROI	Region of Interest
sog.	sogenannt
V.	Vena
Vmean	Mittlere Blutflussgeschwindigkeit
z.T.	zum Teil

I. EINLEITUNG

In der Humanmedizin wird die Dopplersonographie heute routinemäßig in vielen Bereichen der Gynäkologie eingesetzt und ist aus der Risikoschwangerschaftsbetreuung, sowie aus in vitro Fertilisationsprogrammen nicht mehr wegzudenken.

Die Messung des arteriellen Blutflusses am Tier wurde lange Zeit mit invasiven Methoden, wie der Implantation von elektromagnetischen Sonden direkt um die A. uterina oder Injektion von radioaktiv markierten Mikrosphären, durchgeführt. Durch die Etablierung der Dopplersonographie in der Tiermedizin ist es seit einigen Jahren möglich, den Blutfluss am weiblichen Genitale von Tieren auf nicht invasive Weise zu untersuchen. BOLLWEIN und STOLLA beobachteten erstmals die Gelbkörperdurchblutung im Zusammenhang mit der Verabreichung von PGF₂ α bei der Stute mittels Power-Doppler Ultraschall (BOLLWEIN & STOLLA, 1996). Kurze Zeit später stellte BAUMGARTNER die Farbdopplersonographie beim Rind, sowie POULSEN NAUTRUP bei der Hündin vor (BAUMGARTNER, 1998; POULSEN NAUTRUP, 1998). Danach wurde mit Hilfe dieser Technik die Blutflussmessung in der A. uterina (BOLLWEIN et al., 1998) und ein Verfahren zur Darstellung und Quantifizierung der Corpus luteum-Durchblutung bei der Stute etabliert (BOLLWEIN et al., 2002a).

Mithilfe der Dopplersonographie sollen bei dieser Arbeit Erkenntnisse über die Auswirkungen eines intrauterin applizierten Kunststoffballs auf die Durchblutung des Uterus und des Corpus luteum gewonnen werden. Durch das Einsetzen eines wassergefüllten Polypropylenballs in die Gebärmutter der Stute kann die Lutealphase weit über die physiologische Dauer verlängert werden und eine Trächtigkeit simuliert werden. Diese relativ simple Methode stellt eine elegante Alternative zur Hormontherapie dar und ist somit sowohl für den Renn- und Turniersport als auch für den Freizeitpferdehalter, der sein Pferd artgerecht in einer gemischt-geschlechtlichen Herde im Laufstall unterbringen möchte, von großem Interesse.

II. LITERATUR

1. Physiologie des Zyklus und der Frühgravidität der Stute

1.1. Allgemeines

Wie zahlreiche Wild- und Haustiere in unseren Breitengraden, ist auch das Pferd saisonal polyöstrisch. In Äquatornähe wiederum laufen bei der Stute das ganze Jahr über Zyklen ab (RÜSSE & SINOWATZ, 1998). Die Klimaunterschiede in unterschiedlichen Breitengraden beeinflussen den Zyklus, in den Subtropen und Tropen beobachtete man eine Verlängerung der Hauptpaarungssaison bei Stuten (DOWSETT et al., 1993). Der Zyklus der Stute wird über das neurohormonale System durch die Tageslichtlänge gesteuert. In der sexuell aktiven Phase im Frühjahr und Sommer laufen regelmäßige Zyklen mit Ovulationen ab und die Zyklusdauer beträgt durchschnittlich 20 bis 22 Tage. Im zeitigen Frühjahr und Spätherbst dauert der Zyklus bei der Stute in der Regel etwas länger und ist oft mit anovulatorischen Zyklen oder mit Ovulationen ohne Rossessymptome verbunden. Im Winter geht die Stute dann in eine anovulatorische Phase, den Anöstrus, über. Insgesamt ist die zyklische Aktivität der Stute aber sehr variabel. Neben der Tageslichtlänge spielen auch andere Faktoren, wie Fütterung, Haltung und die Nähe eines Hengstes eine große Rolle (RÜSSE & SINOWATZ, 1998; AURICH, 2005).

1.2. Östrus

Die Rosse dauert bei der Stute in der Regel 5-7 Tage. Das typische Rosseverhalten der Stute ist durch Schweifanheben und Zurseitstellen, Dulden des Hengstes, sowie Absetzen von kleinen Mengen Harn gekennzeichnet. Weiterhin zeigt sie die als „Blitzen“ bezeichneten rhythmischen Kontraktionen der Klitoris (AURICH, 2005). Während dieser Zeit reifen im Ovar ein bis mehrere Follikel heran, von denen sich einer zum dominanten Follikel entwickelt, der dann zur Ovulation bestimmt ist (GINTHER, 1988). Der sog. Rossefollikel erreicht einen Durchmesser von ca. 30-50 mm und setzt während seines Wachstums verstärkt Östrogene frei. Die hormonellen Veränderungen bewirken sowohl das typische Rosseverhalten der Stute als auch die äußeren und inneren Rossessymptome. Die hohen Östrogenkonzentrationen während der Rosse führen

zu einer Ödematisierung des Uterus. Der Uterustonus ist in dieser Zyklusphase sehr niedrig, auch die Zervix erschlafft, öffnet sich und wird für ca. 2-3 Finger passierbar. Im Ultraschall erscheint der Uterus durch die östrogeninduzierte Ödematisierung und die dadurch entstandenen Endometriumfalten nicht homogen, sondern „radspeichenartig“ (HAYES et al., 1985). An Vagina und Vulva laufen ähnliche, aber weniger stark ausgeprägte Veränderungen ab. An den Schleimhäuten der äußeren und der inneren Geschlechtsorgane findet eine vermehrte wässrige Sekretion statt (AURICH, 2005).

Die Ovulation tritt am letzten oder vorletzten Tag der Rosse ein. Der dominante Follikel hat zu diesem Zeitpunkt in der Regel einen Durchmesser von 30-60 mm erreicht, hat an Wandstärke zugenommen und eine unregelmäßige bis ovale Form angenommen (GINTHER, 1988). Wegen der besonderen anatomischen Verhältnisse am Ovar der Stute, bei dem die innen liegende Zona parenchymatosa außen von der Zona vasculosa umgeben wird, öffnet sich der Rossefollikel in der Ovulationsgrube (NICKEL et al., 1999). Nach der Ovulation füllt sich die kollabierte Follikelhöhle mit Blut und stellt sich sonographisch als inhomogener, gefelderter und vom übrigen Ovargewebe klar abgegrenzter Bereich dar. Hieraus entwickelt sich das Corpus luteum und produziert Progesteron (RÜSSE & SINOWATZ, 1998).

1.3. Diöstrus

Der Diöstrus dauert bei der Stute 10-14 Tage. Am Tag der Ovulation weist das Corpus luteum einen Durchmesser von ca. 30 mm auf, legt durch den Progesteroneinfluss die nächsten Tage noch etwas an Größe zu und verliert dann im weiteren Verlauf des Diöstrus wieder an Größe (RÜSSE & SINOWATZ, 1998). In dieser Zeit beginnt das Wachstum einer oder zwei aufeinander folgenden Follikelwellen. Die Follikel, die in der frühen Lutealphase heranwachsen, kommen grundsätzlich nicht zur Ovulation, sie atresieren und gehen nach der Mitte des Sexualzyklus wieder zugrunde. Die zweite Follikelwelle beginnt ca. 10 Tage post ovulationem und bringt Follikel hervor, aus denen der bei der nächsten Rosse ovulierende Follikel selektiert wird (AURICH, 2005). Gelegentliche Ovulationen im Diöstrus sind nur bei der Stute physiologisch und erfolgen oft spontan. Anomalien oder Infektionen spielen in der Regel dabei keine Rolle. Ovulationen während der Lutealphase finden unter Progesteroneinfluss ohne äußere Rosseanzeichen statt und führen zur Bildung eines Gelbkörpers

(GINTHER & PIERSON, 1989; AURICH, 2005). Meist entwickelt sich dieser zu einem Corpus luteum persistens, da er in vielen Fällen zu jung ist, um auf die ca. am Tag 10 einsetzende endogene Prostaglandinfreisetzung zu reagieren. Das Corpus luteum persistens bleibt über einen durchschnittlichen Zeitraum von 63 Tagen funktionsfähig (GINTHER, 1990). Diese Gelbkörper blockieren durch ihre Progesteronproduktion den Zyklus und die Stute bleibt im Diöstrus. Sie bilden sich schließlich spontan zurück. Dieses Phänomen hängt wohl damit zusammen, dass bei der Stute in der Frühgravidität trotz Progesteronsekretion durch das Corpus luteum graviditatis Follikel zur Ovulation kommen und damit Hilfgelbkörper bilden um den Erhalt der Trächtigkeit zu gewährleisten (AURICH, 2005).

Der Uterus der Stute ist im Diöstrus im Ultraschallbild als solides, homogenes Organ darstellbar (HAYES et al., 1985). Die Ödematisierung des inneren und äußeren Genitale nimmt aufgrund des Progesteroneinflusses und der abfallenden Östrogenkonzentration ab und der Uterustonius steigt an. Das Endometrium befindet sich während des Diöstrus in der Proliferations- und Sekretionsphase und ist bereit den Konzeptus aufzunehmen. Die Vaginalschleimhaut ist relativ trocken und der Muttermund bleibt durch den hochviskösen Zervikalschleim fest verschlossen (AURICH, 2005). Am Ende des Diöstrus, zwischen dem 10. und 14. Zyklustag, wird die Luteolyse durch die endometriale Produktion von PGF₂ α ausgelöst, das Corpus luteum bildet sich zurück und ist innerhalb von 3-4 Tagen nicht mehr im Ultraschall darzustellen. Der Progesteronspiegel sinkt rasch ab, die neue Rosse beginnt und mit ihr steigen die Östrogenwerte im Blut wieder langsam an (RÜSSE & SINOWATZ, 1998).

1.4. Endokrinologie

1.4.1. Hormonelle Regulation des Sexualzyklus und Luteolyse

Die Regulation des Sexualzyklus ist bei der Stute ein Zusammenspiel zwischen dem Zentralnervensystem (Hypothalamus und Hypophyse) einerseits und den inneren Geschlechtsorganen (Uterus und Ovarien) andererseits. Das vom Hypothalamus produzierte Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) übernimmt dabei eine Schlüsselfunktion. Die hochfrequente pulsatile GnRH Freisetzung stimuliert den Hypophysenvorderlappen zur Produktion und Freisetzung des Luteinisierenden Hormons (LH), wohingegen die niederfrequente pulsatile GnRH

Freisetzung zur Produktion und Freisetzung des Follikelstimulierenden Hormons (FSH) führt. LH und FSH werden in den peripheren Blutkreislauf abgegeben und üben ihre Wirkung an den Ovarien aus. Das Zyklusstadium der Stute bestimmt somit über positive und negative Feedback-Mechanismen die Pulsfrequenz der GnRH Freisetzung (AURICH, 2005).

Im Zyklus erfolgt demnach eine biphasische FSH Ausschüttung mit einem Intervall von ungefähr 10 Tagen. Beide FSH Wellen erstrecken sich über 6 bis 7 Tage. Die erste FSH Periode hat ihr Sekretionsmaximum kurz nach der Ovulation und verursacht ein postovulatorisches Follikelwachstum. Diese Follikel kommen in der Regel nicht zur Ovulation und gehen meist nach der Mitte des Zyklus zugrunde. Der zweite FSH Peak hat sein Maximum etwa 10 Tage später in der Lutealphase. Eine neue Follikelwelle wächst heran, aus denen bei der nächsten Rosse der ovulierende Follikel selektiert wird (IRVINE, 1981). Die Hauptfunktion von FSH liegt somit in der Förderung von Follikelwachstum und Follikelvaskularisierung. Die Granulosazellen der Tertiärfollikel wiederum produzieren das Peptidhormon Inhibin, welches selektiv die FSH Sekretion beeinflusst und hemmt. Der dominante Follikel unterdrückt über seine Inhibinsekretion das gleichzeitige Wachstum weiterer Follikel. Die verringerte FSH Sekretion führt demnach zur Atresie der nichtdominanten Follikel. Der dominante Follikel selbst hingegen hat ein Stadium erreicht, in dem seine Entwicklung unabhängig von FSH und vor allem unter LH Einfluss abläuft (AURICH, 2005; GINTHER et al., 2005).

Im Diöstrus liegt LH in niedrigen Konzentrationen vor, wenige Tage vor Rossebeginn steigt die LH Konzentration langsam an und erreicht Maximalwerte kurz nach der Ovulation, am 3. Tag post ovulationem nimmt die LH Konzentration wieder kontinuierlich ab (RÜSSE & SINOWATZ, 1998). LH ist an der Follikelreifung beteiligt, induziert die Auslösung der Ovulation und bewirkt gleich nach der Ovulation die Umstellung der Syntheseaktivität der Granulosazellen von Östradiol zu Progesteron. Die Anbildung des Corpus luteum und die Progesteronproduktion erfolgen demnach unter LH Einfluss (AURICH, 2005).

Ist eine Konzeption ausgeblieben, bildet sich der Gelbkörper zurück, die Plasmalogesteronkonzentration sinkt ab, die Stute kommt wieder in Rosse und ein neuer Zyklus läuft ab. Das Endometrium der Stute produziert etwa ab dem 14.

Zyklustag Prostaglandin $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$), die Freisetzung erfolgt pulsatil in den Blutkreislauf (RÜSSE & SINOWATZ, 1998). Anders als bei Wiederkäuern, bei denen $PGF2\alpha$ unter Umgehung des Körperkreislaufs auf direktem Weg vom Uterus zum Ovar gelangt, spricht man bei der Stute von einem generalisierten vaskulären System. Das $PGF2\alpha$ gelangt bei der Stute vom Endometrium aus über den gesamten Körperkreislauf zum Ovar. Darüber hinaus reagiert die Stute etwa achtzehn mal sensibler auf die systemische Verabreichung von $PGF2\alpha$ als Wiederkäuer (GINTHER, 2009). Man vermutet als auslösenden Stimulus für die Luteolyse bei der Stute mit großer Wahrscheinlichkeit eine Oxytocinfreisetzung aus der Hypophyse (KRZYMOWSKI & STEFANCZYK-KRZYMOWSKA, 2004). Anders als beim Wiederkäuer, bei dem luteales Oxytocin die $PGF2\alpha$ Sekretion des Endometriums stimuliert, konnte im equinen Gelbkörper kein Oxytocin nachgewiesen werden. Bei der Stute konnte zusätzlich die Synthese von Oxytocin im Endometrium nachgewiesen werden, die ebenfalls an der Luteolyse beteiligt zu sein scheint. (AURICH, 2005).

1.4.2. Steroidhormone

Die Funktionsgebilde in den Ovarien der Stute bilden Östrogene und Gestagene. Das Lutealgewebe bildet als wichtigstes Gestagen Progesteron. Die Plasmaprogesteronkonzentration liegt während der Rosse deutlich unter 1 ng/ml und meist unter 0,5 ng/ml (AURICH, 2005). Um den Zeitpunkt der Ovulation beginnt die Plasmaprogesteronkonzentration anzusteigen und erreicht 5-7 Tage nach der Ovulation Maximalwerte zwischen 5 ng/ml und 20 ng/ml, oder höher, mit deutlichen individuellen Unterschieden (AURICH, 2005). Die Progesteronwerte bleiben konstant bis zum 14. Zyklustag und fallen nach der Luteolyse, etwa 6 Tage vor der nächsten Ovulation wieder auf Minimalwerte von unter 1 ng/ml (GINTHER et al., 2005). In der Frühgravidität steigt der Plasmaprogesteronspiegel wie im Zyklus kurz nach der Ovulation an und erreicht ungefähr an Tag 7 seine höchste Konzentration, die deutlich höher ist, als bei nicht trächtigen Stuten. Dieser Wert bleibt aufgrund der ausbleibenden Luteolyse in den ersten Tagen der Gravidität konstant hoch (STOLLA et al., 1980).

Die heranwachsenden Follikel bilden unter dem Einfluss von FSH Östrogene. In den Granulosazellen wird das wichtigste Östrogen der Stute, Östradiol- 17β , synthetisiert. Die Plasmaöstrogenkonzentration steigt zu Beginn der Rosse an und erreicht ihr Maximum von ca. 30 pg/ml etwa 2 Tage vor der Ovulation. Zum

Zeitpunkt der Ovulation sinkt der Östrogenspiegel wieder ab und bleibt während der gesamten Lutealphase auf niedrigem Niveau (IRVINE, 1981).

1.5. Gravidität

1.5.1. Allgemeine Übersicht

Die Gravidität der Stute beginnt mit der Konzeption und endet mit der Austreibung des Fohlens und der Nachgeburt. Die Trächtigkeitsdauer kann individuell stark variieren (329 bis 345 Tage), durchschnittlich geht man von 336 Tagen aus (AURICH, 2005). Der Begriff Embryo wird in der Regel nur bis Tag 39 benutzt (Tag 0 = Tag der Ovulation). Ab Tag 40 bis zur Geburt spricht man vom Fetus oder fetalem Stadium. Die Auswahl von Tag 40 als Übergangstag vom Embryo zum Fetus steht im direkten Zusammenhang mit der Entstehung der Nabelschnur und dem Anfang der fetalen Aktivität. Der Austausch der Dottersackplazenta durch die Allantochorionplazenta ist am 40. Tag nahezu abgeschlossen (GINTHER, 1998).

1.5.2. Frühgravidität bis Tag 18

Die Ovulation erfolgt gegen Rosseende, meist am vorletzten oder zu Beginn des letzten Rossetages. Die Oozyte, umgeben von der Zona pellucida, erreicht über den Fimbrientrichter den distalen Abschnitt der Eileiterampulle, verbleibt in dieser Position und ist ca. 12 Stunden befruchtungsfähig. Wenn ein kapazitiertes Spermium erfolgreich die Zona pellucida der Oozyte penetriert hat, verbleibt das befruchtete Ei 6 Tage in der Eileiterampulle, durchläuft hier alle Furchungsstadien und wird im frühen Blastozystenstadium in den Uterus transportiert (AURICH, 2005). Die Blastozyste ist am 6. Tag post ovulationem immer noch von der Zona pellucida umgeben, an ihrer Innenfläche entwickelt sich nun langsam eine Glykoproteinkapsel, die schützend den Embryo umgibt (GINTHER, 1998). Diese Kapsel nimmt in Verbindung mit dem einsetzenden Größenwachstums des Embryos an Dicke zu und bleibt bis zum ca. 20. Graviditätstag um den Embryo erhalten. Die Zona pellucida hingegen nimmt allmählich an Schichtdicke ab und wird ungefähr am 8. Tag abgeworfen (AURICH, 2005). Die Kapsel der equinen Blastozyste ist dünn, sehr widerstandsfähig und besteht aus einer anti-adhäsiven Schicht aus Glykoproteinen. Die Kapsel verfügt über enorme Elastizität und Prallkraft und umhüllt schützend den Embryo während der Mobilitätsphase, der Fixation und der räumlichen Orientierung (GINTHER, 1998).

1.5.3. Mobilitätsphase, embryonales Signal und maternale Erkennung

Der equine Konzeptus gelangt zunächst in das Uterushorn ipsilateral zur Ovulationsseite und bewegt sich dann bis zum 15-17. Graviditätstag frei im gesamten Uteruslumen, von den Spitzen der Uterushörner bis hin zur Zervix. Diese Mobilitätsphase ist essenziell für die Etablierung und für das weitere Bestehen der Gravidität (GINTHER, 1998). Der Embryo ist in der Regel frühestens an Tag 9 sonographisch darstellbar, somit konnte seine Beweglichkeit erst ab diesem Tag nachgewiesen werden. In Untersuchungen von LEITH und GINTHER (1984) wurden an den Tagen 11-14 die ausgeprägtesten Wanderbewegungen beobachtet (LEITH & GINTHER, 1984). Die antreibende Kraft für die Embryomobilität sind vom Myometrium ausgehende Kontraktionen, die vom Embryo selbst durch die Produktion entsprechender Stimuli hervorgerufen werden (GINTHER, 1998). Der equine Konzeptus produziert schon ab den ersten Tagen der Gravidität Proteine, Steroide und Prostaglandine, die in erster Linie dem Schutz des Corpus luteum vor der Luteolyse dienen und damit das Überleben des Konzeptus sicherstellen. Zusätzlich erhöhen diese Sekretionsprodukte den uterinen Blutfluss, stimulieren den aktiven Transport von Nährstoffen aus maternalem Gewebe in das Uteruslumen und regulieren die Embryomobilität (BAZER et al., 1986). Paradoxe Weise sezerniert der Embryo selbst $\text{PGF2}\alpha$ zusammen mit anderen Prostaglandinen, wie PGE2 und PGI2 , und ist in der Lage die endometriale $\text{PGF2}\alpha$ Produktion zu unterdrücken (STOUT & ALLEN, 2002). Das Phänomen der Embryomobilität erlaubt es dem vergleichsweise kleinen Embryo mit allen Partien des großen maternalen Uterus in Kontakt zu treten, die Luteolyse zu blockieren und den frühen Fruchttod zu verhindern (GINTHER, 1998). Die embryo-maternale Kommunikation ist beim Pferd ein besonders komplexer Vorgang und beinhaltet zahlreiche interessante, bis heute ungelöste Fragen. Im Gegensatz zum Wiederkäuer konnte beim equinen Konzeptus das antiluteolytisch wirksame Protein Interferon tau bislang nicht nachgewiesen werden. Interferon tau verhindert beim Rind und Schaf die Anbildung von Oxytocinrezeptoren im Endometrium und somit die pulsatile $\text{PGF2}\alpha$ -Freisetzung (AURICH, 2005).

2. Arterielle Blutversorgung des Uterus und der Ovarien

2.1. Anatomie

Die Ovarien der Stute werden von der A. ovarica versorgt. Die A. ovarica entspringt als paariges Viszeralgefäß seitlich aus der Aorta abdominalis auf Höhe des 4. Lendenwirbels. In seltenen Fällen kann die A. ovarica auch aus der A. renalis hervorgehen (NICKEL et al., 1996). Am Ovar im Mesovarium teilt sich die A. ovarica in einen cranialen und caudalen Ast, die beide über die Ovaroberfläche ziehen und in ihrem gesamten Verlauf Gefäße erster und zweiter Ordnung abgeben, die dann in der Tiefe die Funktionsgebilde versorgen (KÖNIG & RIES, 1987). Die starke Gefäßverästelung um die Funktionsgebilde, Follikel und Gelbkörper, unterliegt einem zyklusabhängigen Umbau (NICKEL et al., 1999). Am Ende der Rosse ist ein intensives Wachstum von kleinen Blutgefäßen im Corpus luteum beschrieben. Diese Angiogenese ist essentiell für die Progesteronproduktion und -sekretion des Gelbkörpers (BOLLWEIN et al., 2002a).

Die A. ovarica verläuft bei der Stute relativ gerade und liegt daher einige Zentimeter caudal des Ramus uterinus der V. ovarica. Bei der Kuh hingegen verläuft die A. ovarica sehr gewunden und liegt dabei z.T. an der Oberfläche der V. uteroovarica (GINTHER, 2007). Aufgrund dieser anatomischen Nähe kann die Auslösung der Luteolyse durch PGF₂α beim Wiederkäuer unter Umgehung des Körperkreislaufs stattfinden (AURICH, 2005).

Der Uterus der Stute wird von einer Hauptarterie, der A. uterina versorgt. Sie entspringt aus dem Anfangsabschnitt der A. iliaca externa (GINTHER et al., 1972; GINTHER, 2007). Im Lig. latum uteri teilt sie sich nacheinander in mehrere Äste, die divergierend den mesometrialen Rand des gleichseitigen Uterushorns erreichen. Hier anastomosieren diese Äste untereinander, die cranial gerichteten Äste mit dem Ramus uterinus der A. ovarica und die caudal gerichteten Äste mit dem Ramus uterinus der A. vaginalis (NICKEL et al., 1996). Die Uterusgefäße weisen eine starke Schlingelung auf, die bei älteren, multiparen Tieren ausgeprägter erscheint. Dies ist vermutlich die Folge mehrerer Uterusinvolutionen (GINTHER, 2007). Die Schlingelung nimmt mit fortschreitender Trächtigkeit und Ausdehnung des Uterus ab, gleichzeitig gewinnt die A. uterina beachtlich an Stärke. Sie wird weiträumiger und ihre Media dicker (NICKEL et al., 1996).

3. Physikalisch-technische Grundlagen der Sonographie und Dopplersonographie

3.1. Allgemeine Sonographie (B-mode)

Zur Sonographie werden Ultraschallwellen genutzt. Die Erzeugung von Ultraschallwellen in medizinisch eingesetzten Geräten erfolgt durch piezoelektrische Kristalle. Durch den piezoelektrischen Effekt können mit einem und demselben Kristall Schallwellen ausgesandt und ihre aus dem Körper rückkehrenden Echos empfangen werden. Einer oder mehrere Piezokristalle sind bei heutzutage genutzten Geräten in einem Schallkopf eingebaut (bis zu über 400 in einem Linear array- Schallkopf) (MERZ, 1997). Die Bildgebung erfolgt nach dem sog. Echo-Impuls-Verfahren. Die Sonde sendet kurze, gerichtete Schallwellenimpulse aus, die an den Grenzflächen der Gewebeschichten unterschiedlich stark gestreut und reflektiert werden, was als Echogenität bezeichnet wird. Die Schallechos treffen mit derselben Frequenz wieder am Ausgangsort ein, wo sie vom Ultraschallgerät entsprechend ihrer Intensität als Grauwert kodiert in einem zweidimensionalen Bild auf einem Monitor dargestellt werden. So stellen sich Strukturen geringer Echogenität als schwarze und Strukturen hoher Echogenität als weiße Bildpunkte dar (MERRITT, 1991).

3.2. Dopplersonographie und Dopplereffekt

Die Dopplersonographie nutzt den sog. Dopplereffekt, den Christian Doppler 1842 für elektromagnetische Wellen entdeckte. Er stellte fest, dass sich bewegende Sterne je nach ihrer Bewegungsrichtung unterschiedlich farbiges Licht ausstrahlen (DOPPLER, 1842). Da die Farbe des Lichtes von der Wellenfrequenz abhängt, konnte er beweisen, dass die Wellenfrequenz sich ändert, wenn Sender und Empfänger sich relativ zueinander bewegen. Entfernen sich Sender und Empfänger voneinander, so wird die Frequenz niedriger, kommen sie sich näher, wird die Frequenz höher. Ein allgemein bekanntes Beispiel aus der Akustik soll das Phänomen des Dopplereffekts verdeutlichen: Bei einem Motorradrennen nähert sich das Motorrad mit hohem Ton dem Beobachter, in der Vorbeifahrt nimmt die Tonhöhe ab und das Motorrad entfernt sich mit tiefem Ton (MERZ, 1997). Dieses Prinzip gilt also für alle Formen von Wellen, auch für Schallwellen.

Den oben beschriebenen Effekt macht man sich in der Dopplersonographie bei der Messung von Blutflussgeschwindigkeiten zunutze. Der hochfrequente vom

Schallkopf ausgesandte Schall wird von den korpuskulären Blutbestandteilen reflektiert. Aufgrund der Bewegung dieser Teilchen unterscheidet sich die reflektierte Schallfrequenz von der ausgesandten Frequenz. Diesen Frequenzunterschied nennt man Doppler Shift. Er ist abhängig von der Blutflussgeschwindigkeit (Blut zirkuliert mit einer Geschwindigkeit von 10-100 cm/s), dem Winkel zwischen Schallkopf und Blutflussrichtung und der genutzten Frequenz des Dopplers. Dabei gilt, je höher die Blutflussgeschwindigkeit, desto höher ist die Frequenzverschiebung (DICKY, 1997).

$$f_d = f_o - f_e = \frac{2 * v * f_o * \cos\alpha}{c}$$

f_d = Frequenzverschiebung = Doppler Shift (Hz)

f_o = Sendefrequenz des Ultraschallkopfes (Hz)

f_e = Empfangsfrequenz (Hz)

v = Blutflussgeschwindigkeit (m/s)

c = Schallgeschwindigkeit im Weichteilgewebe (ca. 1540 m/s)

α = Winkel zwischen der Blutflussrichtung und Ultraschallkopf

Die Frequenzverschiebung wird in Abhängigkeit von der Zeit in einem Koordinatensystem aufgetragen, wobei der Blutfluss zur Sonde hin als positive Frequenzverschiebung üblicherweise in rot und oberhalb der Nulllinie dargestellt wird, und der Blutfluss von der Sonde weg als negative Frequenzverschiebung in blau und unterhalb der Nulllinie angezeigt wird. Da die Blutflussgeschwindigkeit während eines Herzzyklus in arteriellen Gefäßen nicht gleichmäßig ist, hat die Dopplerkurve aufgrund der unterschiedlichen Frequenzverschiebungen ein charakteristisch wellenförmiges Profil (KURJAK & FLEISCHER, 1998).

3.2.1. Funktionsweise von Dopplergeräten – Gefäßdoppler

3.2.1.1. Continuous-wave-Dopplergeräte (CW-Dopplergeräte)

Diese Geräte können kontinuierlich Schallwellen abstrahlen, da ihre Sonden zwei piezoelektrische Kristalle besitzen. Ein Kristall wird zum kontinuierlichen Senden, der andere Kristall für den dauernden Empfang genutzt (MERZ, 1997). Ein großer Vorteil dieser Technik liegt in der kostengünstigen Bauweise und einfachen Bedienung. Außerdem können mit diesem Gerät sehr hohe Blutflussgeschwindigkeiten gemessen werden. Ein Nachteil ist die fehlende Tiefenselektion, die Signale jedes Blutgefäßes aus dem Erfassungsbereich des Schallstrahls werden erfasst, so dass sich mehrere Frequenzveränderungen überlagern können (NELSON & PRETORIUS, 1988). Diese Technik eignet sich eigentlich nur für oberflächliche Gefäße, die ausreichend von tieferen Gefäßen entfernt liegen (DICKY, 1997).

3.2.1.2. Pulsed-wave-Dopplergeräte (PW-Dopplergeräte)

Geräte dieser Bauart arbeiten mit einer Sonde, die nur einen einzigen piezoelektrischen Kristall besitzt, der alternierend Schallwellen sendet und empfängt (NELSON & PRETORIUS, 1988). Sie registrieren nur Signale, die nach einem bestimmten Zeitintervall zurückkehren. Dadurch wird es ermöglicht den Blutfluss selektiv in Gefäßen bestimmter Tiefen zu messen (DICKY, 1997). Die Pulswiederholungsfrequenz (PRF = pulse repetition frequency) gibt an, mit welcher Häufigkeit die Impulse gesendet werden. Es wird die Zeit berechnet, die die Schallwellen benötigen um eine bestimmte Tiefe zu erreichen und um nach der Reflexion zum Sender zurückzukehren. Echos, die vor oder nach diesem errechneten Zeitintervall eintreffen, werden nicht berücksichtigt. Dadurch, dass die Pulswiederholungsfrequenz umso niedriger gewählt werden muss, je tiefer das zu untersuchende Gefäß liegt, ist die maximal detektierbare Geschwindigkeit begrenzt. Ein weiterer Nachteil liegt in den hohen Anschaffungskosten (NELSON & PRETORIUS, 1988).

3.2.1.3. Duplexsysteme

Duplex Systeme kombinieren einerseits die Funktionen eines PW-Dopplergeräts mit einem herkömmlichen zweidimensionalen B-Bildgerät. Da bei diesem System sowohl Dopplerbetrieb, als auch Schnittbildbetrieb gleichzeitig zur Verfügung stehen, können durch die genaue Lokalisation eines Gefäßes im B-Bild die

dazugehörigen Dopplerwellen erfasst werden. Farbkodierte Duplexsysteme können zusätzlich die Dopplersignale in die B-Bilddarstellung hineinprojizieren. Dieses System bietet viele Vorteile gegenüber den CW-Dopplergeräten oder den PW-Dopplergeräten und ist mit dafür verantwortlich, dass die Dopplersonographie eine derart klinische Bedeutung in der Gefäßbeurteilung erlangt hat (NELSON & PRETORIUS, 1988).

3.2.1.4. Power Doppler Ultraschall und seine Auswertung

Power Doppler ist eine neue Form der Dopplersonographie und zeigt eine höhere Sensitivität als die konventionelle Dopplersonographie bei der Erfassung des Blutflusses im Zielgewebe. Dieses System ist in der Lage, geringe Blutflussmengen in kleineren gewundenen oder geschlängelten Gefäßen, die dopplersonographisch nicht mehr exakt zu erfassen sind, hinreichend genau zu messen und farblich zu kodieren. Hierbei wird nicht der Blutfluss eines einzelnen Gefäßes registriert, sondern die Blutflussintensität einer bestimmten Körperregion (MURPHY & RUBIN, 1997). Die Signale aller sich in Bewegung befindlichen zellulären Blutbestandteilen werden registriert und als farbige Punkte über das B-Bild projiziert dargestellt. Das Farbbild sollte nach Möglichkeit einen kompletten Querschnitt durch das zu untersuchende Organ enthalten, anhand der Farbabstufungen kann man auf die Dichte der Erythrozyten rückschließen (MARTINOLI et al., 1998). Die auszuwertende Region (ROI = region of interest) muss vom Untersucher markiert werden, um Gefäße aus der Nachbarschaft des zu untersuchenden Organs auszugrenzen. Die Auswertung erfolgt dann anhand von Softwareprogrammen, welche die farbigen Pixel am digitalisierten Bild exakt auszählen.

3.2.2. Auswertung dopplersonographischen Untersuchungen

Die Auswertung der gewonnenen Dopplerkurven kann auf drei verschiedene Arten erfolgen: qualitativ anhand der Dopplerkurvenform, quantitativ anhand des Blutflussvolumens und semiquantitativ anhand von Dopplerindices. Es gibt bei jeder Untersuchung unterschiedliche Faktoren, wie anatomische Verhältnisse, Dicke des zu untersuchenden Gefäßes, Strömungsgeschwindigkeit im zu untersuchenden Blutgefäß, usw., die bei der Auswahl der Auswertungsmethode berücksichtigt werden müssen (DICKY, 1997).

3.2.2.1. Qualitative Auswertung

Bei der qualitativen Auswertung von Dopplerkurven werden die Pulswellen in deskriptiver Art beurteilt und nach einem Schema in verschiedene Typen eingeteilt. Verschiedene Eigenschaften, wie systolischer und diastolischer Blutfluss, Blutflussrichtung oder die Konstanz des Blutflusses werden zur Beurteilung herangezogen. GOSWAMY und STEPTOE entwickelten ein höchst nützlich Beurteilungsschema und klassifizierten die Pulswellen in 4 verschiedene Typen (GOSWAMY & STEPTOE, 1988):

Typ 0: Völliges Fehlen des diastolischen Blutflusses. Dieser Befund bedeutet einen sehr hohen Widerstand im Gefäß.

Typ A: systolischer Blutfluss mit diskontinuierlichem diastolischem Blutfluss (früher diastolischer Blutfluss fehlt). Dieser Befund deutet auf eine schwache Durchblutung hin.

Typ B: systolischer Blutfluss mit kontinuierlichem diastolischem Blutfluss, früher diastolischer Einschnitt mit enddiastolischem Nullfluss. Dieser Befund zeigt eine gute Durchblutung.

Typ C: systolischer Blutfluss mit kontinuierlichem diastolischem Blutfluss über den gesamten Herzzyklus. Dieser Befund zeigt auch eine gute Durchblutung.

Der Nachteil dieser Auswertungsmethode liegt definitiv darin, dass sie sehr schwer standardisierbar ist. Sie bietet aber wohl die beste Einschätzung des Blutflusses in Fällen, in denen der diastolische Blutfluss nicht kontinuierlich über den gesamten Herzzyklus verläuft (DICKY, 1997).

3.2.2.2. Quantitative Auswertung

Bei der quantitativen Auswertung wird das Blutflussvolumen bestimmt. Diese Methode liefert nach DICKY die genauesten Werte, ist aber am schwierigsten auszuführen. Bei dieser Auswertungsmethode muss sowohl der Winkel zwischen Gefäßverlauf und Ultraschallkopf, als auch der Durchmesser des untersuchten Gefäßes bekannt sein (DICKY, 1997). Die Strömungsgeschwindigkeit kann dann nach Umstellen der Dopplergleichung folgendermaßen berechnet werden:

$$v = \frac{f_d * c}{2 * f_0 * \cos \alpha}$$

f_d = Frequenzverschiebung = Doppler Shift (Hz)

f_0 = Sendefrequenz des Ultraschallkopfes (Hz)

f_e = Empfangsfrequenz (Hz)

v = Blutflussgeschwindigkeit (m/s)

c = Schallgeschwindigkeit im Weichteilgewebe (ca. 1540 m/s)

α = Winkel zwischen der Blutflussrichtung und Ultraschallkopf

Nach Errechnung der Fläche des Gefäßquerschnittes, kann nach folgender Formel das Blutflussvolumen Q bestimmt werden:

$$Q = v * A = v * r^2 * \pi$$

Q = Blutflussvolumen

v = Blutflussgeschwindigkeit

A = Fläche des Gefäßquerschnittes (Annahme Gefäßquerschnitt = kreisrund)

r = Radius des Gefäßes

Die meisten Fehlerquellen bei dieser Auswertungsmethode liegen in der Bestimmung des Winkels zwischen Blutflussrichtung und Ultraschallkopf und in der Berechnung des Gefäßdurchmessers, da dieser während des Herzzyklus variiert. Die Anwendung dieser Methode beschränkt sich also demnach nur auf Gefäße mit sehr großem Durchmesser und auf bestimmte Körperregionen, die eine perfekte Positionierung des Ultraschallkopfes zum Blutgefäß ermöglichen (DICKEY, 1997).

3.2.2.3. Semiquantitative Auswertung

Aufgrund der Schwierigkeiten in der Beurteilung der vorangehenden Methoden, wurden für die semiquantitative Auswertung die sog. Dopplerindices eingeführt (KURJAK & FLEISCHER, 1998). Die Dopplerindices, auch Widerstandsindices genannt, werden bevorzugt für die Auswertung kleiner, gewundener Gefäße genutzt, da diese mathematisch gesehen winkelunabhängig sind und der Gefäßquerschnitt zu deren Berechnung nicht benötigt wird (DICKEY, 1997).

Die am häufigsten verwendeten Dopplerindices sind die S/D-Ratio (STUART et al., 1980), der Resistance Index (RI) (POURCELOT, 1974) und der Pulsatility Index (PI) (GOSLING et al., 1971). Für ihre Berechnung ist die Dopplerkurve über den gesamten Herzzyklus Voraussetzung. Die Indices werden aus der maximalen systolischen, der maximalen enddiastolischen und der mittleren Frequenzverschiebung errechnet:

$$S/D \text{ Ratio} = \frac{S}{D}$$

$$Resistance \text{ Index} = \frac{S - D}{S}$$

$$Pulsatility \text{ Index} = \frac{S}{M}$$

S = maximale systolische Frequenzverschiebung

D = maximale enddiastolische Frequenzverschiebung

M = mittlere Frequenzverschiebung über einen Herzzyklus

Die S/D-Ratio ist der am einfachsten zu berechnenden Index, jedoch wird ihre Bedeutung irrelevant, wenn kein diastolischer Blutfluss vorhanden ist. Sie kann Werte von 1 bis ∞ annehmen (KURJAK & FLEISCHER, 1998).

Der Resistance Index ist für die Berechnung von Gefäßen mit niedrigem Widerstand und kontinuierlichem diastolischem Blutfluss geeignet. Er kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei Werte gegen 0 eine höhere Durchblutung und

Werte gegen 1 eine geringe Durchblutung bedeuten (DICKY, 1997).

Die Berechnung des Pulsatility Index ist vorteilhaft, wenn in der Dopplerkurve der frühe diastolische oder der enddiastolische Blutfluss gegen 0 geht, da bei seiner Berechnung die mittlere Frequenzverschiebung berücksichtigt wird. Er kann Werte zwischen 0 und ∞ annehmen, höhere Werte bedeuten eine geringe Durchblutung (DICKY, 1997). Ein Nachteil dieses Index liegt darin, dass Ultraschallgeräte, je nach Hersteller anhand ihrer Software, die mittlere Frequenzverschiebung unterschiedlich berechnen und dadurch die von verschiedenen Geräten erzielten Ergebnisse nicht miteinander vergleichbar sind (KURJAK & FLEISCHER, 1998).

4. Untersuchungen des uterinen und ovariellen Blutflusses der Stute

4.1. Blutflussveränderungen in der A. uterina während des Zyklus der Stute

Zyklusbedingte Änderungen des uterinen Blutflusses wurden in mehreren Studien bei der Stute (BOLLWEIN et al., 1998), bei der Kuh (BOLLWEIN et al., 2000), bei der Hündin (POULSEN NAUTRUP, 1998) und bei der Frau (SLADKEVICIUS et al., 1993) nachgewiesen.

Bei der Stute sind keine Unterschiede in der Durchblutung zwischen rechter und linker A. uterina zu verzeichnen. Außerdem wird die uterine Durchblutung vom Vorhandensein eines Gelbkörpers oder dominanten Follikels auf dem jeweiligen Ovar nicht beeinflusst (BOLLWEIN et al., 1998). Die uterine Blutversorgung, gemessen am Blutflusswiderstand (RI) und der mittleren Blutflussgeschwindigkeit (V_{mean}) zeigt bei der Stute im Zyklus ein biphasisches Muster: kurz nach der Ovulation (Tag 0 -1) ist der Blutfluss am geringsten, nimmt in der Lutealphase konsekutiv bis Tag 3 an Intensität zu und bleibt bis Tag 7 auf hohem Niveau. Anschließend sinkt der Blutfluss bis zum 11. Zyklustag erneut ab, um danach zum Östrus hin wieder kontinuierlich anzusteigen (BOLLWEIN et al., 2002b). Mit Ausnahme des Blutflussabfalls am Tag 11 stimmen diese Ergebnisse bei der Stute mit denen bei anderen Tierarten überein. Eine weitaus größere Übereinstimmung findet sich aber mit dem Menstruationszyklus der Frau, wo zu

Beginn der Menstruation – etwa Tag 11 nach der Ovulation – der geringste Blutfluss gemessen wurde (SLADKEVICIUS et al., 1993).

Da Östrogene vasodilatatorisch auf Blutgefäße wirken, wird ein Zusammenhang zwischen dem uterinen Blutfluss und den zyklusbedingten Veränderungen der Östrogenkonzentrationen im peripheren Blut vermutet. Darüber hinaus geht man aber noch von anderen vasoaktiven Komponenten aus, die in der Regulation des Blutflusses mitwirken (BOLLWEIN et al., 2002b).

4.2. Blutflussveränderungen in der A. uterina und am Endometrium während der Frühgravidität der Stute

Wie aus den Untersuchungen von BOLLWEIN, MAYER et al. (2003) bekannt ist, verläuft die Blutflusskurve der A. uterina während der Frühgravidität zunächst ähnlich derjenigen des Zyklus. Der Blutfluss ist an den Tagen um die Ovulation relativ gering, nimmt dann bis Tag 7 deutlich zu und fällt bis Tag 11 wieder etwas ab. Erst mit fortschreitender Gravidität beginnt der Blutfluss in der A. uterina weiter anzusteigen (BOLLWEIN et al., 2003b).

Am 1. und 5. Tag post ovulationem zeigt die gravide Stute eine etwas höhere uterine Durchblutung als die nichtgravide Stute. Dies ist vermutlich an Tag 1 auf Faktoren aus der Insemination zurückzuführen, während an Tag 5 ursächlich der physiologische Eintritt der Zygote in den Uterus angenommen wird (MAYER, 1999).

Die unterschiedliche Blutversorgung des graviden und des nicht graviden Uterus wird erst ab Tag 15 signifikant und zeigt eine deutliche Erhöhung des Blutflusses in der A. uterina ipsilateral zum Konzeptus (BOLLWEIN et al., 2003b). Die progressive Zunahme des Blutflusses lässt sich durch die vom Pferdeembryo produzierten Stimulantien erklären (STOUT & ALLEN, 2002).

Die Durchblutung, gemessen im Endometrium, zeigt in der Frühgravidität ein ähnliches Muster. SILVA und GINTHER untersuchten die Perfusion des Endometriums in Zusammenhang mit der Lokalisation des equinen Konzeptus. Der mobile Embryo induzierte nach einer durchschnittlichen Verweildauer von 7 Minuten an seinem jeweiligen Aufenthaltsort eine Erhöhung der Durchblutung. Nach Fixation des Konzeptus ist die endometriale Durchblutung an dieser Stelle noch ausgeprägter. Die lokale Östrogenwirkung und andere vom Konzeptus produzierte Stoffe sind höchstwahrscheinlich für die deutliche Zunahme des

Blutflusses verantwortlich (SILVA et al., 2005).

4.3. Blutflussveränderungen am Corpus luteum während des Zyklus der Stute

Die Durchblutung des Corpus luteum, gemessen an der Farbpixelzahl, steigt in den ersten Tagen nach der Ovulation zunächst nur geringfügig an und erreicht dann zwischen Tag 8 und 10 des Zyklus Maximalwerte. In den darauf folgenden präluteolytischen Tagen ist ein starker Rückgang der Corpus luteum-Perfusion zu verzeichnen (GINTHER et al., 2007). In den letzten 3 Tagen vor der folgenden Ovulation ist keine Durchblutung mehr am Corpus luteum mittels Power-Doppler-Mode darstellbar (MAYER, 1999).

Zwischen der Durchblutung des Corpus luteum und der Plasmaprogesteronkonzentration besteht ein starker Zusammenhang. Die Progesteronwerte im peripheren Blut erreichen an Tag 8 Maximalwerte und fallen in den Untersuchungen von GINTHER, GASTAL et al. (2007) bereits vor dem Rückgang des lutealen Blutflusses ab. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse einer Studie von BOLLWEIN et al. (2002), die eine Abnahme der CI-Durchblutung bereits ab Tag 5-7, zwei bis vier Tage vor dem Abfall der Progesteronkonzentration ab Tag 9 beobachten (BOLLWEIN et al., 2002a; GINTHER et al., 2007).

BOLLWEIN und STOLLA stellten auch fest, dass bei der Stute die Vaskularisation des Corpus luteum 48 Stunden nach Applikation von PGF₂ α zurückging, während der Blutprogesteronspiegel bereits 12-24 Stunden nach Auslösung der Luteolyse abgefallen war (BOLLWEIN & STOLLA, 1996).

Auch die zyklusbedingte Verringerung der Gelbkörperfläche und das Absinken des Plasmaprogesteronspiegels erfolgen asynchron, die Progesteronkonzentration erreicht deutlich früher Minimalwerte (GINTHER et al., 2007).

Der Durchmesser des Corpus luteum ist am Tag der Ovulation relativ groß, verliert aber schon ab dem 2. Zyklustag bis hin zur Luteolyse konstant an Größe (BOLLWEIN et al., 2002a).

4.4. Blutflussveränderungen am Corpus luteum während der Frühgravidität der Stute

Die Durchblutung des Corpus luteum verhält sich in der Frühgravidität ähnlich wie im Zyklus und erreicht bis zum 7-10. Tag Maximalwerte, vermindert sich geringfügig, verbleibt dann aber über den weiteren Verlauf der Gravidität auf nahezu konstantem Niveau und korreliert mit der Plasmaprogesteronkonzentration und dem Gelbkörperdurchmesser. Die Vaskularisation des Gelbkörpers ist bei graviden Stuten ausgeprägter als bei nicht graviden Stuten (MAYER, 1999).

4.5. Einfluss verschiedener endogener und exogener Faktoren auf die uterine und ovarielle Durchblutung der Stute

Wie sich in mehreren Studien bestätigt hat, zeigen Stuten im Zyklus ein ähnliches, biphasisches Blutflussmuster, jedoch mit deutlichen individuellen Unterschieden in der Intensität des uterinen und ovariellen Blutflusses (BOLLWEIN et al., 1998; BOLLWEIN et al., 2003b; BOLLWEIN et al., 2008).

Bei multiparen Stuten ist in der Regel das Gefäßlumen der A. uterina größer und somit die uterine Perfusion höher als bei nulliparen Stuten, da es während der Trächtigkeit zu einer starken Erweiterung des uterinen Gefäßlumens kommt. Die individuellen Unterschiede in der uterinen Durchblutung sind aber vermutlich durch das gemeinsame Auftreten von mehreren Faktoren, wie Alter, Parität und endometrialer Fibrosierung bedingt (BOLLWEIN et al., 2008). Die uterine Perfusion wird auch durch die Anwesenheit uteriner Zysten beeinflusst. Der Blutfluss ist im Bereich der Zysten niedriger als in zystenfreien Bereichen, außerdem ist die Größe der Zysten entscheidend für die Behinderung der Durchblutung. Stuten ohne Endometriumzysten und Stuten mit kleinen Endometriumzysten zeigten eine relativ ähnliche Perfusion, während Stuten mit großen Endometriumzysten eine geringere Durchblutung am Uterus aufwiesen (FERREIRA et al., 2008).

Bei der künstlichen Besamung von Stuten mit Frischsamen ist ein Anstieg des uterinen Blutflusses zu verzeichnen. Auch die intrauterine Infusion von Seminalplasma hat den gleichen Effekt zur Folge. Dies ist auf die entzündlichen Reaktionen des Endometriums und auf die im Frischsamen und Seminalplasma enthaltenen vasoaktiven Komponenten zurückzuführen. Die Interaktion von Spermium und Eizelle im Eileiter während der Befruchtung bewirkt zusätzlich

eine Erhöhung des ovariellen Blutflusses (BOLLWEIN et al., 2003a).

Der Einfluss von Steroidhormonen auf die Uterusdurchblutung ist nach wie vor nicht eindeutig geklärt und scheint sich von anderen Tierarten zu unterscheiden. Exogen zugeführtes Östradiolbenzoat und Altrenogest bewirken eine Abnahme der uterinen Perfusion (BOLLWEIN et al., 2004a), während endogenes Östrogen, produziert vom Pferdeembryo, den Blutfluss verbessert (SILVA et al., 2005).

Die Uterusdurchblutung ist ähnlich wie bei der Frau, auch bei der Stute durch Medikamente zu beeinflussen. Sowohl Acetylsalicylsäure (ASS), ein schmerzstillendes, entzündungshemmendes, fiebersenkendes und thrombozytenaggregationshemmendes Mittel, als auch Captopril, ein ACE-Hemmer, der insbesondere zur Behandlung der arteriellen Hypertonie und Herzinsuffizienz eingesetzt wird, können die uterine Perfusion steigern. Mit der uterinen und ovariellen Durchblutung steigt auch die Plasmaprogesteronkonzentration. Man vermutet anhand der Durchblutungsverbesserung durch Applikation dieser Medikamente eine erhöhte Fertilität (BOLLWEIN et al., 2004b).

5. Unterdrückung der Rosse

Da starke Östrussymptome immer wieder mit Schwierigkeiten im Handling und Training von Stuten in Zusammenhang gebracht werden, wurden neben der Langzeitverabreichung von Altrenogest, der chirurgischen oder chemischen Kastration auch die Verwendung intrauteriner Implantate zur Rosseunterdrückung angewandt.

5.1. Hormonelle Unterdrückung der Rosse

Der Zyklus der Stute ist am besten hormonell zu manipulieren. Die Indikation für eine Gestagenbehandlung kann beim Pferd verschieden sein. Einerseits ist ihr Einsatz bei einer besseren Steuerbarkeit der Rosse, bei der Verschiebung der Fohlenrosse und bei der Zyklussynchronisation von Bedeutung. Andererseits wird die orale Applikation von Altrenogest (Allyltrenbolon, Regumate®, Intervet, Deutschland) auch zur Langzeitbehandlung mit dem Ziel der Unterdrückung von Rossesymptomen und Ovulationen eingesetzt. Eine hormonelle Verlängerung der Lutealphase kann bei der Stute auch durch tägliche Progesteroninjektionen

erreicht werden. Die Langzeitapplikation von Altrenogest ist effektiv und führt zu keinerlei bekannten Nebenwirkungen, ist aber leider aufwendig in der Verabreichung und relativ kostenintensiv. Außerdem kann eine Leistungssteigerung durch seine Applikation nicht eindeutig ausgeschlossen werden und ist deshalb als Doping zu werten (AURICH, 2005). Der Einsatz von Altrenogest, beginnend im späten Diöstrus, zeigt eine hohe Häufigkeit an Ovulationen während der Lutealphase. Dies hat zum Vorteil, dass auch nach Ende der Verabreichung sich die Gelbkörper nicht zurückbilden und zu einer anschließend verlängerten Lutealphase von durchschnittlich 22 Tagen führen (DAELS et al., 1996).

Mit der Verabreichung von humanem Choriongonadotropin (hCG) während des Diöstrus kann bei Stuten in der Regel eine verlängerte Lutealphase von durchschnittlich 70 Tagen induziert werden, vorausgesetzt ein sprungreifer Follikel größer als 30 mm ist auf dem Ovar vorhanden und ovuliert noch im späten Diöstrus (HEDBERG et al., 2006).

Eine effektivere Methode um bei der Stute unerwünschte Rossesyndrome und aggressives, hengstartiges Verhalten zu unterdrücken und Leistungsschwäche während der Rosse zu mindern, ist die immunocontraceptive Impfung gegen Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH). Die GnRH Impfung (EquityTM, Pfizer Animal Health P/L, West Ryde, NSW, Australia) wird intramuskulär verabreicht, ist sehr gut verträglich, hundertprozentig effektiv und hat eine Wirkungsdauer von mindestens drei Monaten. Zwei Wochen nach der 2. Grundimmunisierung ist der Antikörpertiter gegen GnRH am höchsten und reduziert die FSH und LH Konzentrationen dramatisch. Eine Zurückentwicklung der Funktionsgebilde auf beiden Ovarien ist die Folge und die sonographischen Befunde ähneln denen während des saisonalen Anöstrus (ELHAY et al., 2007).

Zur Rosseunterdrückung bei Sportpferden und zur Empfängnisverhütung bei Wildpferden in den USA wurde eine Reihe an Hormonimplantaten getestet. Das Implantat (Synovex-S ®, Fort Dodge Laboratories, Fort Dodge, USA) enthält Östradiolbenzoat und Progesteron, fördert den Muskelaufbau und steigert die Futterverwertung bei Mastbullen. Es wird subkutan injiziert. Sein Einsatz bei Stuten zeigt nahezu keine Wirkung. Die erwünschte Verlängerung der Lutealphase blieb aus (MCCUE et al., 1997). Mehr Erfolg zeigen die subkutan oder intramuskulär eingesetzten Silikonkautschukstäbchen, die hohe

Konzentrationen an Ethinylöstradiol und Östradiol-17 β mit oder ohne Progesteron enthalten. Die Implantation dieser Hormonstäbchen verhindert die Trächtigkeit bei allen behandelten Stuten in freier Wildbahn während drei aufeinander folgenden Jahren (PLOTKA et al., 1992).

Basierend auf der Tatsache, dass diätische Fettsäuren die Prostaglandinsynthese hemmen und in Fortpflanzungsgewebe die Synthese von PGF 2α drosseln, wird Pflanzenöl im Diöstrus intrauterin bei Stuten verabreicht um die Lutealphase zu verlängern, indem die Luteolyse verhindert wird. Die intrauterine Applikation von Kokosnuss- und Erdnussöl ist bei 92% der behandelten Stuten erfolgreich, wobei die Applikation von Mineralöl keine Verlängerung der Lutealphase hervorruft (WILSHER & ALLEN, 2007). Eine indische Studie bei Ratten zeigt für die intrauterine Applikation von Niembaumöl, was oft in der ayurvedischen Medizin angewendet wird, eine ähnliche Wirkung. Es reagiert ausschließlich lokal, verhindert bei den behandelten Tieren eine Trächtigkeit in einem Zeitraum von durchschnittlich 180 Tagen und induziert eine Infiltration von Leukozyten im Endometrium, die vermutlich die Einnistung verhindern (UPADHYAY et al., 1990).

5.2. Mechanische Unterdrückung der Rosse

Seit vielen Jahren werden bei der Frau erfolgreich intrauterine Objekte auf Kupferbasis zur Empfängnisverhütung eingesetzt. Zahlreiche Studien zeigen, dass die Langzeitnutzung von intrauterinen Objekten eine sichere und effektive Methode mit einer sehr niedrigen Komplikationsrate darstellt. Leichte Unterleibschmerzen, Infektionen, Uterusperforationen und Subfertilität werden äußerst selten beobachtet (FORTNEY et al., 1999).

Diese Methode der Empfängnisverhütung funktioniert auch bei der Stute. Ein flexibler O-förmiger Plastikring dient als intrauterin appliziertes Objekt bei Stuten einer Wildherdepopulation. Keine der behandelten Stuten wurde trächtig, sie zeigten aber alle weiterhin Rosseverhalten, das im Gegensatz zu unbehandelten Stuten von sehr unterschiedlicher Dauer war. Der Wirkungsmechanismus des intrauterin applizierten Objektes bei der Stute beruht vermutlich auf einem ähnlichen Prinzip wie bei der Frau. Durch den ständigen Reiz wird an der Uterusschleimhaut eine milde chronische Infektion ausgelöst, die zytologisch und histopathologisch bestätigt werden konnte. Diese leichte Endometritis verhindert

bei den Stuten eine Gravidität und hat nach Entfernen des Fremdkörpers keinen negativen Einfluss auf die Fertilität (DAELS & HUGHES, 1995).

Zur Unterdrückung von unerwünschtem Rosseverhalten kommen in der Praxis intrauterin applizierte Glaskugeln zum Einsatz, die eine mechanisch induzierte Verlängerung der Lutealphase zum Ziel haben, vermutlich durch die Simulation einer Gravidität. Endogen produziertes Progesteron soll die unerwünschten Rosseanzeichen abschwächen oder ganz unterdrücken. In der Studie von NIE et al. zeigten nur 40% der Versuchsstuten eine Verlängerung des Diöstrus im Ausmaß von durchschnittlich 88 Tagen durch eine intrauterin applizierte Glaskugel. Bei den Stuten mit verlängerter Lutealphase konnte zusätzlich eine erhöhte Plasmaprogesteronkonzentration (>1 ng/ml) nachgewiesen werden (NIE et al., 2001). Im gleichen Zusammenhang werden auch wassergefüllte Kunststoffbälle verwendet, die in ihrer Wirkungsweise relativ ähnliche Ergebnisse bei den Versuchstieren erzielen. Allerdings ist die Erfolgsrate des Kunststoffballs deutlich besser als die der Glaskugel. RIVERA DEL ALAMO et al. zeigten, dass 75% der Stuten mit einem intrauterinen Kunststoffball mit einer verlängerten Lutealphase und einem erhöhten Plasmaprogesteronspiegel reagieren. Der bessere Erfolg dieser Studie wird im niedrigeren Gewicht der Plastikbälle vermutet. Der leichte und kleinere Ball ähnelt dem equinen Konzeptus mehr als eine schwere größere Glaskugel und kann ihn somit besser imitieren (RIVERA DEL ALAMO et al., 2008).

Bei allen Studien wiesen die nach der Entfernung der Fremdkörper entnommenen Biopate keine signifikanten Veränderungen zu den Vergleichsproben auf. Entgegen allen Befürchtungen wurden die Versuchsstuten in ihrer Fertilität nicht negativ beeinträchtigt (DAELS & HUGHES, 1995; NIE et al., 2001; RIVERA DEL ALAMO et al., 2008).

5.3. Chirurgische Unterdrückung der Rosse – Ovariectomie

Die bilaterale Kastration oder Ovariectomie stellt eine endgültige Methode der Rosseunterdrückung bei der Stute dar. Sie ist dann angezeigt, wenn ein Ovar tumorös entartet ist oder wenn unwiderrufliche Veränderungen im Sexualverhalten bei der Stute gewünscht sind. Die Ovariectomie erfolgt grundsätzlich in Allgemeinnarkose entweder von der Flanke oder der Linea alba aus. Allerdings kommt es häufig zu Wundkomplikationen und postoperativen

Wundschmerzen, wie schwere Blutungen, Peritonitis und Metastasenbildung (SANTSCHI & TROEDSSON, 2001).

ASA et al. hingegen beobachteten in einer Studie ausgeprägtes Sexualverhalten bei ovariectomierten Stuten und bei Stuten im saisonalen Winteranöstrus (ASA et al., 1980). Die Progesteronsekretion des Corpus luteum im Ovar scheint demnach unabdingbar für die Unterdrückung der Rosse bei der Stute zu sein. Folglich gilt die Ovariectomie in den meisten Fällen nicht als Methode der Wahl um Veränderungen im Sexualverhalten bei der Stute hervorzurufen.

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Tiere

Die Untersuchungen erfolgten an 8 klinisch gesunden, klinikeigenen Traberstuten im Alter von 6 bis 14 Jahren (Durchschnittsalter: 10,7 Jahre). 3 von 8 Stuten waren multipar, die übrigen nullipar. Die Tiere wurden in Einzelboxen auf Stroheinstreu mit gegenseitigem Blickkontakt gehalten, mit Heu und Kraftfutter gefüttert und erhielten täglichen Auslauf in der Gruppe. Alle Stuten wurden täglich an einem klinikeigenen Hengst probiert.

Frischsamen zur künstlichen Besamung der Stuten wurde von einem klinikeigenen fertilen Hengst gewonnen.

2. Geräte

Für die Blutflussmessungen an der A. uterina und am Corpus luteum wurde das Dopplerultraschallgerät MyLab Vet30 (Firma ESAOTE BIOMEDICA Deutschland, Köln, Deutschland) verwendet. Das Gerät war mit der LV513-Rektalsonde (5-10 MHz, 50mm Linearsonde, Firma ESAOTE BIOMEDICA Deutschland, Köln, Deutschland) ausgestattet.

3. Methode

Die Untersuchungen fanden im Zeitraum von April 2008 bis Januar 2009 stets zwischen 10.00 und 18.00 Uhr in der EU-Besamungsstation der Klinik für Pferde der LMU München, Reproduktionsabteilung statt. Die Tiere wurden zu zweit in einen ruhigen Behandlungsraum gebracht, ihnen einige Minuten Beruhigungszeit eingeräumt und nacheinander in einem Zwangsstand untersucht.

3.1. Versuchsaufbau

Jede der 8 Stuten hat während der Studie zwei Versuchsanordnungen durchlaufen: 1) Trächtigkeitsgruppe (Kontrollgruppe) und 2) Uterusballgruppe (Einsetzen eines Kunststoffballs in den Uterus).

Die Stuten wurden täglich sonographisch untersucht um den Zyklusstand zu bestimmen. In der Rosse wurden Endometriumstüpfproben entnommen (zytologische und bakteriologische Untersuchung) und für die 1.

Versuchsordnung wurden die Stuten mit Frischsamen eines fertilen klinikeigenen Hengstes besamt. Der Tag der Ovulationsfeststellung wurde als Tag 0 definiert. In der 2. Versuchsordnung wurde an Tag 3 ein Kunststoffball in den Uterus eingesetzt.

In den beiden Gruppen wurden an den Tagen 2, 3, 5, 7 und 9 sowie anschließend täglich zwischen Tag 11-18 transrektale Blutflussmessungen an der linken und rechten A. uterina sowie am Corpus luteum durchgeführt und Blut (EDTA) zur Plasmaprogesteronbestimmung entnommen.

An Tag 3 erfolgte in der Uterusballgruppe, sowie in den entsprechenden zeitlichen Abständen auch in der Trächtigkeits-Kontrollgruppe, eine Blutflussmessung vor und nach dem Einsetzen des Kunststoffballs. Blut zur Progesteronmessung wurde vor und nach dem Einsetzen des Kunststoffballs sowie dann stündlich bis 3 Stunden nach dem Einsetzen entnommen.

Zusätzlich zu den dopplersonographischen Messungen wurden weitere Befunde, wie Zeitpunkt und Dauer der Untersuchung, Rosseverhalten, Grad der Radspeichenstruktur, Flüssigkeitsansammlung im Uterus, Größe und Lokalisation des Embryos bzw. des Kunststoffballs sowie die Durchmesser der 2 oder 3 größten Follikel und des Corpus luteum an den Ovarien dokumentiert.

An Tag 18 wurde die Trächtigkeit durch eine PGF₂ α Injektion beendet bzw. der Kunststoffball nach der Rosseinduktion aus dem Uterus durch Ausmassieren entfernt.

Nach der Versuchsreihe wurden die Stuten erneut in der Rosse untersucht (zytologische und bakteriologische Untersuchung des Endometriums).

3.2. Untersuchungen an der Arteria uterina

3.2.1. Farbdopplersonographische Darstellung der A. uterina

Die Blutflussmessungen wurden transrektal durchgeführt. Zum Auffinden der A. uterina erfolgte die Orientierung stets an der A. circumflexa ileum profunda, die von einer oder zwei Venen begleitet wird.

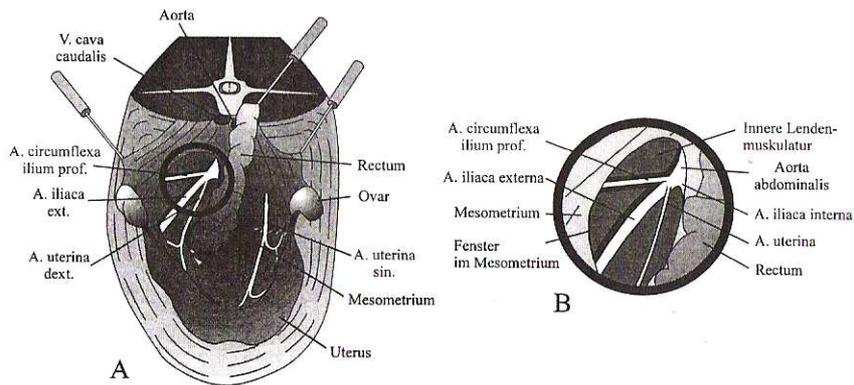


Abb. 3.1: Schematische Darstellung der anatomischen Verhältnisse der Beckenorgane der Stute einschließlich der arteriellen Blutversorgung (A: Übersichtsskizze, B: Ausschnitt aus A).

(mit freundlicher Erlaubnis von PD Dr. J. Maierl, Institut für Tieranatomie der Ludwig-Maximilians-Universität München)

Als erster Schritt wurde die Aorta abdominalis aufgesucht und der Ursprung der A. iliaca externa bestimmt. Die A. circumflexa ileum profunda findet ihren Ursprung individuell unterschiedlich entweder direkt aus der Aorta im Ursprungsbereich der A. iliaca externa oder aber etwas distal aus der A. iliaca externa heraus. Die eindeutige Identifikation der A. circumflexa ileum profunda ermöglichen ihre Begleitvenen (eine oder zwei), welche in unmittelbarer Nähe zur Arterie verlaufen. Anschließend wurde die A. circumflexa ileum profunda bis zur Kreuzungsstelle mit der A. uterina weiter verfolgt und in unmittelbarer Nähe der Kreuzungsstelle der beiden Arterien wurden die eigentlichen Messungen durchgeführt, indem das Dopplerfenster auf die A. uterina gelegt wurde und die Dopplerwellen abgeleitet wurden.

Es wurden drei Messungen im Abstand von mindestens einer Minute zur Gewährleistung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse vorgenommen.

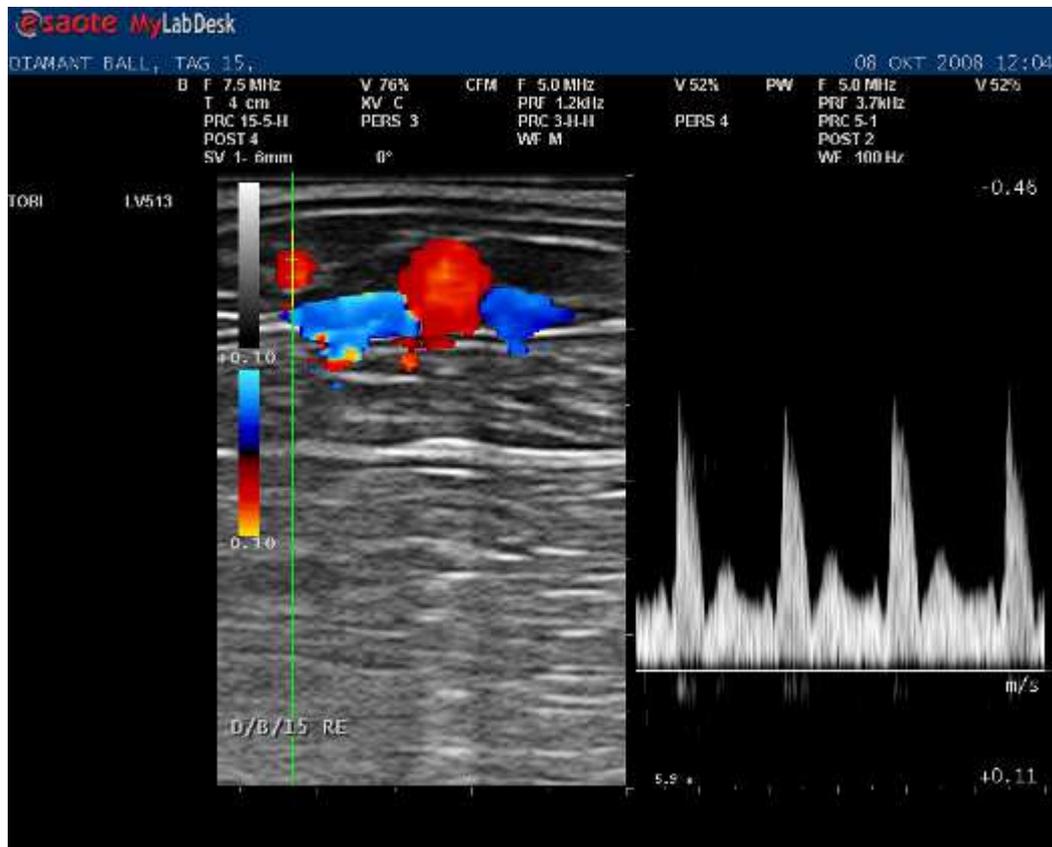


Abb. 3.2: Farbdopplersonographische Darstellung der A. uterina

3.2.2. Auswertung der Pulswellen

Zur Auswertung wurden pro Messung drei Bilder mit zwei konsekutiven, möglichst ähnlichen Wellen ausgewählt und zunächst auf der Festplatte des Ultraschallgerätes digitalisiert, abgespeichert und archiviert. Die Auswertung erfolgte nach Abschluss aller Untersuchungen mit Hilfe der dem Ultraschallgerät beiliegenden Software MYLABTM DESK (Esaote Biomedica Deutschland). Bei allen durchgeführten Untersuchungen wurde auf konstante Einstellungen der Geräteparameter (Tab.3.1.) geachtet.

Tabelle 3.1: Geräteeinstellungen zur Messung des Blutflusses in der A. uterina.

Bezeichnung	Parameter	Wert
F	Frequency	5 MHz
V	Velocity	52%
PRF	Pulse Repetition Frequency	3.7 KHz
PRC	Pre Processing Curves	5-1
POST	Post Processing Curve	2
WF	Wall Filter	100 Hz
SV	Sample Volume	1-9

Als Auswertungsparameter wurden die Widerstandsindices, RI (Resistance Index) und PI (Pulsatility Index) bestimmt:

- der RI wurde durch das Setzen der Messpunkte an der maximalen systolischen Frequenzverschiebung und an der enddiastolischen Frequenzverschiebung durch die MyLab Desk Software berechnet.

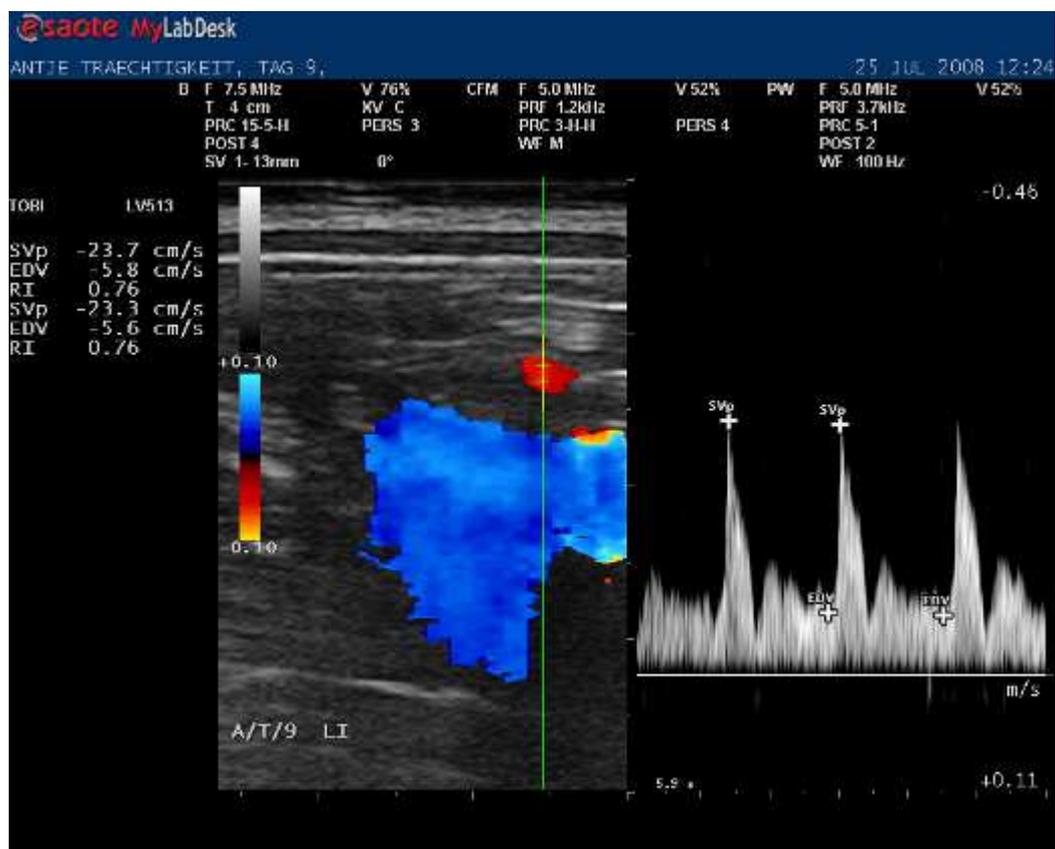


Abb. 3.3: Einzeichnen der systolischen und der enddiastolischen Frequenzverschiebung mit MyLabDesk®.

- der PI wurde durch das Einzeichnen der Hüllkurve von der MyLab Desk Software bestimmt.

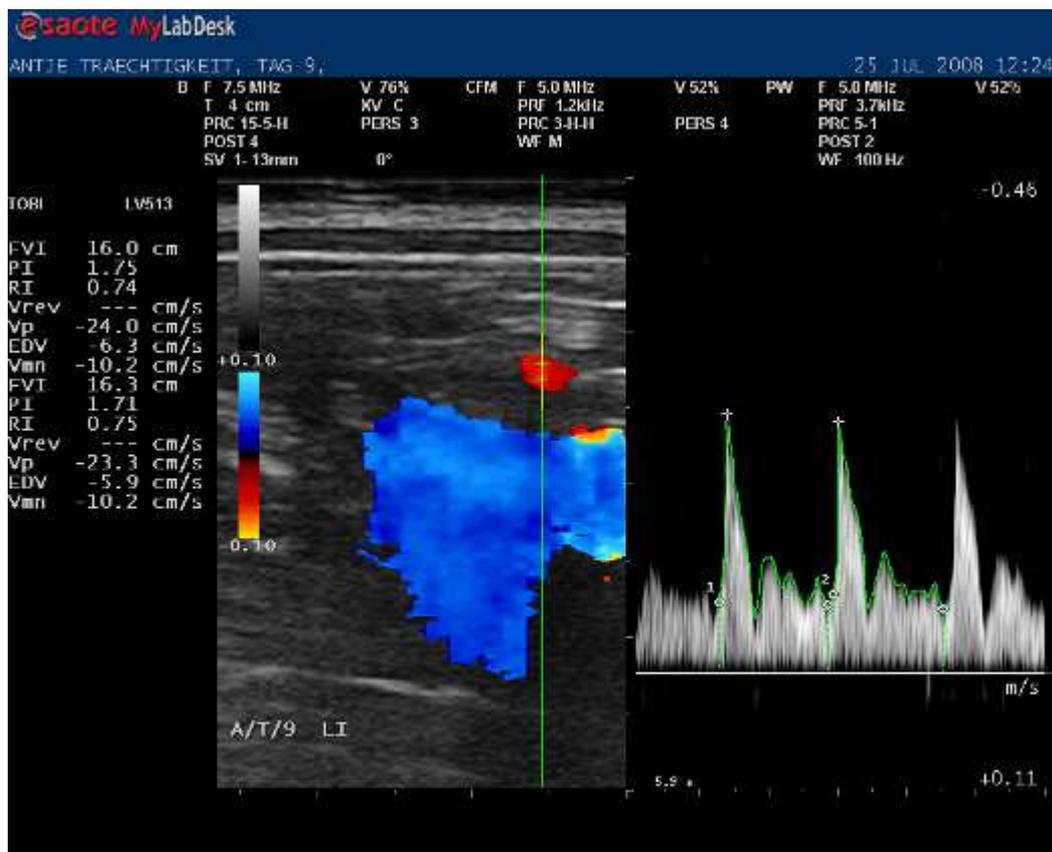


Abb. 3.4: Einzeichnen der Hüllkurve mit MyLabDesk®.

3.3. Untersuchungen am Corpus luteum

3.3.1. Darstellung des Corpus luteum im Power-Doppler-Mode

Die Durchblutungsmessungen am Corpus luteum erfolgten im Power-Doppler-Mode. Hierbei wurde nicht die Blutflussgeschwindigkeit gemessen, sondern die Blutflussintensität farblich kodiert. Dieses Verfahren eignet sich sehr gut zur Darstellung geringer Blutflüsse in den Randgefäßen des Corpus luteum und wird deshalb bevorzugt zur Messung der Gewebedurchblutung angewandt. Bei allen durchgeführten Untersuchungen wurde auf konstante Einstellungen der Geräteparameter geachtet.

Tab. 3.2: Geräteeinstellungen zur Darstellung der Durchblutung des Corpus luteum im Power-Doppler-Mode.

Bezeichnung	Parameter	Wert
F	Frequency	5 MHz
V	Velocity	70%
PRF	Pulse Repetition Frequency	4.8 KHz
PRC	Pre Processing Curve	3-H-H
POST	Post Processing Curve	2
WF	Wall Filter	M

Für die Perfusionsmessung wurde zunächst das Ovar transrektal aufgesucht und das Corpus luteum nach Möglichkeit im kompletten Querschnitt im B-Bild dargestellt. Anschließend wurde der Power-Doppler-Mode zugeschaltet. Sobald ein Corpus luteum-Bild mit maximalem Farbausschlag und ohne Bewegungsartefakte darzustellen war, wurde dieses auf der Festplatte des Ultraschallgerätes abgespeichert und archiviert. Pro Untersuchung wurden von jedem Corpus luteum drei Bilder angefertigt.

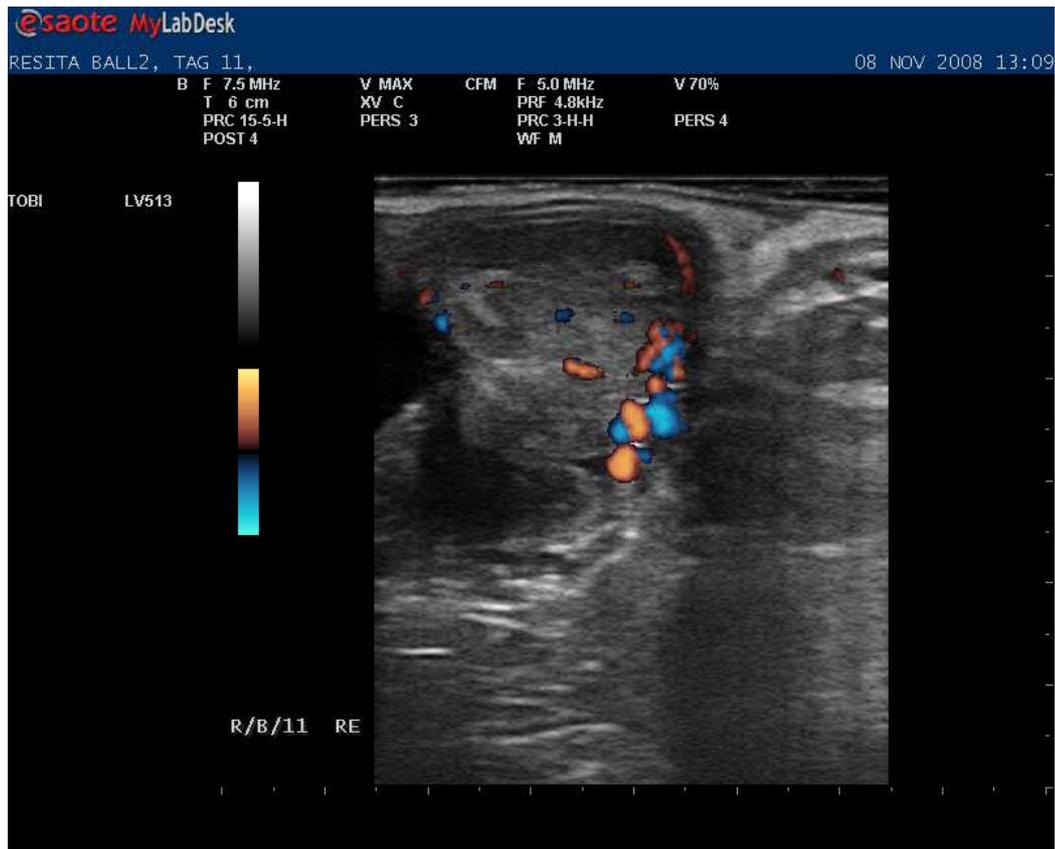


Abb. 3.5: Darstellung des Corpus luteum mit Blutgefäßen im Power-Doppler-Mode.

3.3.2. Auswertung der Corpus luteum-Bilder

Die Auswertung der im Power-Doppler-Mode erstellten Bilder erfolgte mit Hilfe der Software PixelFlux® (Chameleon-Software, Freiburg, Deutschland).

Im digitalisierten abgespeicherten Bild wurde eine Region of Interest (ROI) eingezeichnet, die das Corpus luteum mit seinen Randgefäßen umfasste. Die Software Pixelflux errechnete aus der ROI mehrere Auswertungsparameter:

- die Anzahl der farbigen Pixel und die daraus errechnete Gesamtfläche der Durchblutung
- die Fläche der ROI.

Anhand dieser Parameter wurde zusätzlich das Verhältnis der farbigen Pixel (= Blutgefäße) zu grauen Pixel (= restliche Corpus luteum-Fläche) berechnet.



Abb. 3.6: Auswertung der Vaskularisation des Corpus luteum mit PixelFlux®.

3.4. Hormonanalysen

3.4.1. Entnahme der Blutproben

Zur Bestimmung des Plasmaprogesteronspiegels wurde am Anschluss an die jeweilige dopplersonographische Untersuchung ca. 10 ml Blut (EDTA) aus der V. jugularis entnommen.

An Tag 3 wurde den Stuten für mehrere Blutentnahmen einen Venenverweilkatheter (Vygonüle S®, Vygon GmbH, Aachen, Deutschland) in die V. jugularis gelegt und aus diesem EDTA-Blut entnommen.

Die Blutproben wurden sofort nach Entnahme in Eiswasser gelagert und anschließend in der Kühlzentrifuge Rotina 420R (Hettich AG, Bäch, Schweiz) 10 Minuten bei 4° C und 2000g zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma abpipettiert, in drei Aliquots aufgeteilt und bis zur Auswertung bei -20° Celsius gelagert.

3.4.2. Auswertung der Blutproben

Die Bestimmung der Plasmaprogesteronkonzentration erfolgte mit dem Mini-VIDAS-System® (Firma BioMérieux, Nürtingen, Deutschland).

Das Testprinzip basiert auf einem Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA), eine 2-stufige enzymatische Methode mit einer abschließenden Fluoreszenzmessung. Alle Reaktionsschritte werden automatisch vom Gerät durchgeführt. Die Testreagenzien befinden sich gebrauchsfertig im Reagenzriegel. Das Reaktionsmedium und der Probeninhalt werden vom Gerät mehrfach aspiriert und wieder abgegeben. Hierbei wird das in der Probe vorhandene Progesteron durch monoklonale Antikörper gebunden und anschließend werden freie Bindungsstellen durch ein mit alkalischer Phosphatase markiertes Progesteron-Derivat besetzt. Diese hydrolysieren das Substrat zu einem fluoreszierenden Produkt. Im letzten Schritt wird die Fluoreszenz des Produkts photometrisch erfasst, sie ist der Progesteron-Konzentration der Probe umgekehrt proportional.

3.5. Präparation und Einsetzen des Kunststoffballs in den Uterus

Der verwendete Kunststoffball besteht aus Polypropylen und hat ein Durchmesser von 20 mm. Zehn Bälle wurden mit Wasser für Injektionszwecke auf ein Gewicht von jeweils 3,6 g mit einer 21G Kanüle befüllt. Das durch die Injektion entstandene Loch wurde anschließend mit einem heißen Metallstäbchen abgedichtet. Die Abdichtung wurde unter dem Mikroskop kontrolliert und mögliche Unregelmäßigkeiten wurden mit einer Skalpellklinge geglättet. Schlussendlich wurden die Kunststoffbälle vor dem Einsetzen in den Uterus zum Sterilisieren in Braun Hexaquart S® Lösung (B. Braun Melsungen AG, Deutschland), ein Flächendesinfektionsmittel, welches als Arzneimittel zur Anwendung auf der Haut zugelassen ist, eingelegt und danach steril verpackt.

Um eine Kontamination des Uterus minimal zu halten, wurde zum Einsetzen des Kunststoffballs die modifizierte Doppel-Handschuh-Methode angewandt (PORTUS et al., 2005). Zuerst wurde der Kunststoffball aus seiner sterilen Verpackung herausgenommen und steril in den Mittelfinger eines Rektalhandschuhs eingeführt, der Mittelfinger des Handschuhs wurde hinter dem Ball solange zusammengedreht bis sich der Ball in der Fingerkuppe des Handschuhs befand. Mit einer sterilen Skalpellklinge wurde eine Öffnung in die Handschuhfingerkuppe geschnitten. Aus einem anderen Rektalhandschuh wurde

eine Kunststoffhülle erzeugt, indem der distale Teil vom Handschuh am Handgelenk abgetrennt wurde. Die Untersucherhand, in einem sterilen Rektalhandschuh verpackt, hielt den Handschuh mit dem Kunststoffball und zusätzlich wurde die hergestellte Kunststoffhülle übergestülpt. Die Plastikhülle wurde um die Hand verschlossen, indem ihr Ende von den Fingern des Untersuchers zusammengerafft wurde. Erst vor der Zervix wurde die Kunststoffhülle zurückgezogen und der Polypropylenball unter höchstmöglicher Kontaminationsvermeidung in den Uterus eingeführt.

3.6. Uterustupferproben

Von allen untersuchten Stuten wurde eine Uterustupferprobe im Östrus jeweils vor und nach jedem Untersuchungszyklus (Trächtigkeitsgruppe und Uterusballgruppe) entnommen (Minitüb Uteruskulturtupfer und CytologyBrush, MINITÜB Abfüll- und Labortechnik GmbH, Tiefenbach, Deutschland) und bakteriologisch sowie zytologisch untersucht. Die bakteriologische Untersuchung erfolgte durch das Institut für medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der LMU München. Der zytologische Tupferausstrich wurde erst luftgetrocknet, dann mit dem Schnellfärbeset Diff-Quik (Medical Solution GmbH, Deutschland) gefärbt, wieder luftgetrocknet und anschließend zytologisch beurteilt.

4. Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit Hilfe der Statistikprogramme GraphPad Prism® (GraphPad Software, California, USA) und SPSS Statistics® (SPSS Software, IBM Deutschland GmbH, Deutschland) ausgewertet und graphisch dargestellt. Neben der deskriptiven Statistik wurden nicht gepaarte und gepaarte t-tests, Varianzanalysen (One-way ANOVA) und als Post Test Bonferroni's Multiple Comparison Test durchgeführt. Es wurden Standardabweichungen, Korrelationen, Korrelationskoeffizienten und Variationskoeffizienten errechnet. Die Daten wurden auf Normalverteilung geprüft und als Signifikanzniveau wurde $p \leq 0,05$ gewählt.

IV. ERGEBNISSE

1. Allgemeine klinische Befunde

Vor Beginn der Versuchsreihe wurden alle 8 Stuten einer Allgemein- und einer gynäkologischen Untersuchung unterzogen. Alle Stuten waren klinisch gesund und wiesen keine pathologischen Veränderungen am äußeren und inneren Genitale auf. Die Zyklen wurden alle mit PGF2 α eingeleitet und die Ovulationen wurden mit hCG induziert. Der Tag der Ovulation wurde als Tag 0 bestimmt. Jede Stute pausierte einen Zyklus zwischen der ersten und der zweiten Versuchsreihe.

1.1. Frühgravidität

In der Rosse wurden vor der künstlichen Besamung bei allen Stuten Endometriumstupferproben entnommen. Die bakteriologischen Auswertungen der Endometriumstupferproben waren in allen 8 Fällen ohne Befund. Bei einer Stute konnten in der zytologischen Auswertung Hinweise auf geringgradig entzündliche Vorgänge im Endometrium gefunden werden, bei den anderen 7 Stuten war die Zytologie ohne Befund. Diese eine Stute entwickelte eine geringgradige intrauterine Flüssigkeitsansammlung um den Embryo, dieser war aber bis Tag 18 deutlich darstellbar und es gab keinen Hinweis auf eine Resorption des Konzeptus. Insgesamt wurden 12 Ovulationen beobachtet, davon waren 5 Einzelovulationen, 2 waren Doppelovulationen (auf jeweils einem Ovar) und eine Dreifachovulation (auf beiden Ovarien). Die Ovulationen erfolgten zu 58,4% am rechten Ovar und zu 41,6% am linken Ovar. Bei allen Stuten war der Konzeptus ab dem 11. Trächtigkeitstag sonographisch darstellbar. Der Durchmesser des Konzeptus nahm in dem Untersuchungszeitraum von 0,50 mm durchschnittlich auf 226 mm zu. An Tag 11 und Tag 18 befand sich der Konzeptus in allen Untersuchungen zu 40% im Corpus, zu 42,5% im rechten Horn und zu 17,5% im linken Horn. Bei 2 Stuten erfolgte eine Zwillingsgravidität, die 2 Embryos hielten sich in 7 Fällen nebeneinander und in 9 Fällen getrennt voneinander auf. Die Corpora lutea waren alle bis Tag 18 sonographisch darstellbar.

1.2. Intrauterine Applikation des Kunststoffballs

In der Rosse vor der intrauterinen Applikation des Balls wurden bei allen Stuten Endometriumstupferproben entnommen. Die Bakteriologie der entnommenen Tupferproben war bei allen 8 Stuten ohne Befund, die Zytologie hingegen ergab bei 3 Stuten den Befund einer geringgradig entzündlichen Reaktion des Endometriums. 4 von 8 Stuten zeigten eine verlängerte Lutealphase im Zusammenhang mit dem intrauterin applizierten Kunststoffball, wobei eine dieser 4 Stuten ohne äußerliche Rosse Symptome zu zeigen im Diöstrus nochmals ovulierte. Die anderen 4 Stuten kamen trotz des intrauterinen Kunststoffballs wieder in Rosse. Eine von diesen 4 Stuten zeigte zweimal einen verkürzten Zyklus von durchschnittlich 14,5 Tagen und verlor den Ball im ersten Versuch an Tag 15 während der Rosse. Der Versuch wurde für diese Stute wiederholt. Zwei der 4 Stuten, die mit Kunststoffball Rosse Symptome zeigten, verloren den Ball zwischen Tag 7 und 9. Auch hier wurden die Versuche wiederholt. Die Einführung des Kunststoffballs in den Uterus gestaltete sich aufgrund der individuellen Zervixform und dem Öffnungsgrad der Zervix an Tag 3 sehr unterschiedlich. Bei insgesamt 11 Balleinführungen gelang dies 7x komplikationslos, 2x dauerte das Einbringen des Kunststoffballs in den Uterus aufgrund der Zervixform etwas länger und in zwei Fällen gelang dies erst nach längerer Manipulation. In der gesamten Ballgruppe wurden 21 Ovulationen gezählt, 7 Einfachovulationen und 7 Doppelovulationen (davon jeweils 3 auf einem Ovar und 4 auf 2 Ovarien). Die Ovulationen ereigneten sich zu 66,7% auf dem linken und zu 33,3% auf dem rechten Ovar. In allen Untersuchungen zwischen Tag 3 und Tag 18 befand sich der Kunststoffball zu 75,2% im Corpus, zu 12,4% im linken und zu 12,4% im rechten Horn. Bei den Stuten, die eine verlängerte Lutealphase zeigten, war der Kunststoffball während den Messungen doppelt so oft in den Hörnern anzutreffen, als bei den Stuten die wieder in Rosse kamen. 3 von 4 Stuten, bei denen keine verlängerte Lutealphase induziert werden konnte, entwickelten geringgradig intrauterine Flüssigkeitsansammlungen um den Ball (Durchmesser < 2 cm).

2. Durchblutung und hormonelle Aktivität des Corpus luteum

2.1. Das Corpus luteum in der Frühgravidität

Die Durchblutung des Corpus luteum konnte ab der ersten Messung an Tag 2 post ovulationem sichtbar gemacht werden. Sie war bei allen 8 Stuten bis Tag 18 der Trächtigkeit darstellbar.

2.1.1. Änderungen in der Durchblutung und in der Fläche des Corpus luteum sowie im Plasmaprogesteronspiegel während der Frühgravidität

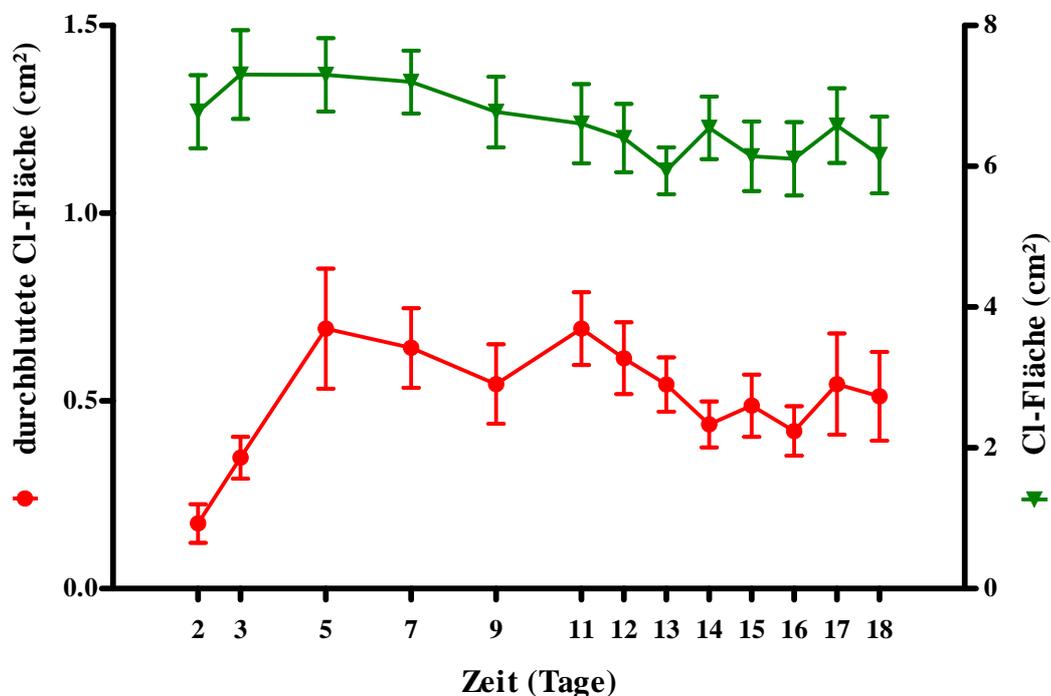


Abb. 4.1: CI-Durchblutung, gemessen an der durchbluteten Fläche in cm² (M+-SEM), und CI-Fläche in cm² (M+-SEM) während der Frühgravidität der Stute (n=8). Keine signifikanten Unterschiede zur vorhergehenden CI-Fläche ($p \geq 0,05$), keine signifikanten Unterschiede zur vorhergehenden durchbluteten CI-Fläche ($p \geq 0,05$).

Die Durchblutung des Corpus luteum, gemessen an der durchbluteten CI-Fläche in cm², war an Tag 2 post ovulationem noch relativ gering, stieg dann bis Tag 5 rasch auf den Maximalwert an. Ab diesem Zeitpunkt verringerte sich die CI-Perfusion bis Tag 9 nur geringfügig und stieg erneut bis zum 11.Tag post

ovulationem an. Danach war wieder ein deutlicher Rückgang der lutealen Durchblutung zu verzeichnen, sie stieg kurze Zeit später wieder unwesentlich an und blieb dann auf nahezu konstantem Niveau.

Die CI-Fläche war bereits an Tag 2 post ovulationem relativ groß und nahm bis zum 3. Zyklustag nur noch unerheblich an Größe zu. Die CI-Fläche blieb bis Tag 7 relativ konstant, sie verminderte sich in den folgenden Trächtigkeitstagen nur noch geringfügig.

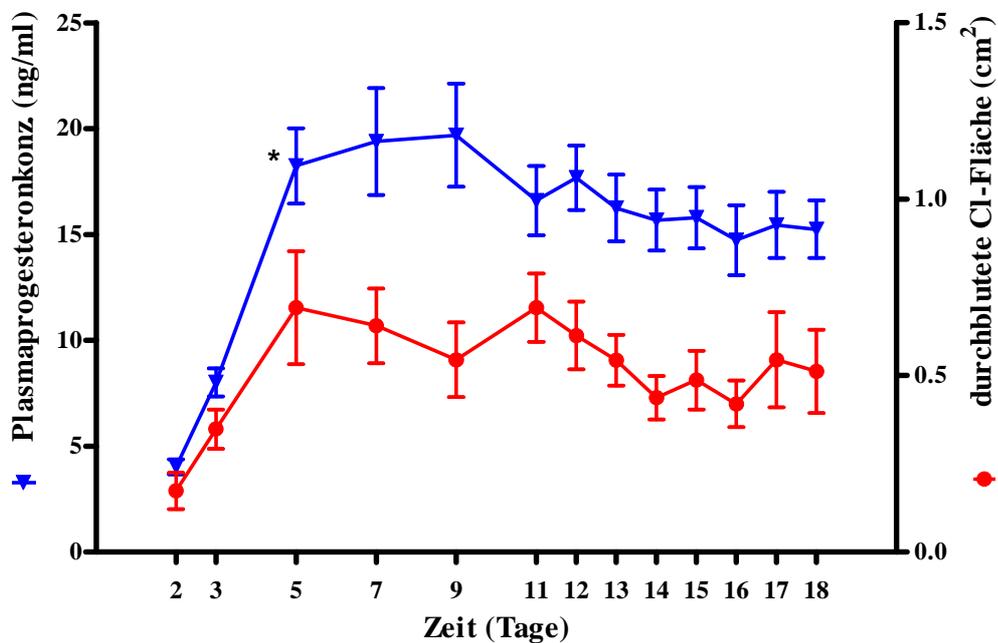


Abb. 4.2: CI-Durchblutung, gemessen an der durchbluteten Fläche in cm² (M±SEM), und Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml (M±SEM) während der Frühgravidität der Stute (n=8). * Signifikanter Unterschied zum vorhergehenden Progesteronwert ($p \leq 0,05$), kein signifikanter Unterschied zur vorhergehenden durchbluteter CI-Fläche ($p \geq 0,05$).

Der rasche Anstieg der Plasmaprogesteronkonzentration verlief in den ersten Tagen nach der Ovulation bis Tag 5 nahezu parallel zu der Zunahme der CI-Durchblutung und erreichte an Tag 9 Maximalwerte. Ab diesem Zeitpunkt fiel der Plasmaprogesteronspiegel geringfügig und blieb dann an den folgenden Graviditätstagen auf nahezu konstantem Niveau. Die maximalen Progesteronkonzentrationen wurden im Durchschnitt später erreicht (Tage 5-9) als das Maximum der CI-Perfusion an Tag 5. Die CI-Durchblutung sank bis Tag 9 deutlich ab, stieg zwischen Tag 9-11 wieder an und sank bis Tag 14 erneut ab und blieb dann bis Tag 18 konstant.

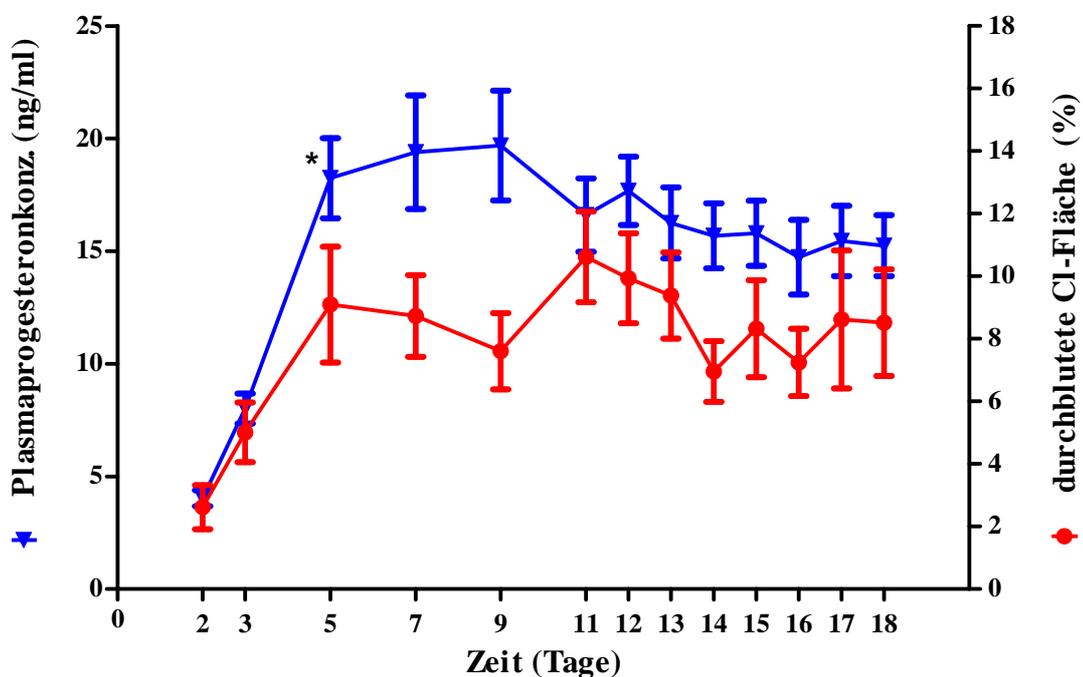


Abb. 4.3: Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche in % (M \pm SEM) und Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml (M \pm SEM) während der Frühgravidität der Stute (n=8). * Signifikanter Unterschied zum vorhergehenden Progesteronwert ($p \leq 0,05$), kein signifikanter Unterschied zum vorhergehenden CI-Perfusionswert ($p \geq 0,05$).

Der Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche verlief nahezu parallel der CI-Durchblutung, gemessen an der durchbluteten CI-Fläche.

2.1.2. Korrelationen zwischen durchbluteter CI-Fläche, CI-Gesamtfläche, Anteil durchbluteter CI-Fläche an CI-Gesamtfläche und Plasmaprogesteronkonzentration

Es bestand eine hohe positive signifikante Korrelation zwischen Plasmaprogesteronkonzentration und durchbluteter CI-Fläche ($r = 0,88$, $p < 0,0001$), sowie zwischen Plasmaprogesteronkonzentration und dem Anteil durchbluteter CI-Fläche an CI-Gesamtfläche ($r = 0,85$, $p < 0,0001$).

Zwischen der durchbluteten CI-Fläche und der CI-Gesamtfläche bestand keine signifikante Korrelation ($r = 0,08$, $p = 0,41$).

2.2. Einfluss eines intrauterin applizierten Kunststoffballs auf das Corpus luteum

In der zweiten Versuchsreihe konnte die Durchblutung des Corpus luteum ab der ersten Messung an Tag 2 post ovulationem sichtbar gemacht werden. Der Gelbkörper war bei den meisten Stuten bis Tag 18 darstellbar. Die CI-Durchblutung konnte bei den 4 Stuten mit mechanisch verlängerter Lutealphase bis Tag 18 gemessen werden, bei den Stuten, die wieder in Rosse kamen, war sie in einem Fall bis Tag 12, einmal bis Tag 15, in 2 Fällen bis Tag 16 und bei einer Stute trotz äußerlichen Rosseanzeichen bis Tag 18 darstellbar.

Um die erfassten Daten möglichst übersichtlich auszuwerten, wurde das Verfahren der deskriptiven Statistik verwendet. Aufgrund der wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Stuten in der Ballgruppe war es nicht möglich die Stuten ($n=8$) als Gruppe zusammenzufassen und aus den einzelnen Messwerten Durchschnittswerte zu errechnen.

2.2.1. Änderungen in der Durchblutung und in der Fläche des Corpus luteum sowie im Plasmaprogesteronspiegel nach Applikation eines Kunststoffballs

2.2.1.1. Übersicht der Versuchsstuten

Tab. 4.1: Lebensalter und Reproduktionsstatus der 8 Versuchsstuten.

Stute	Lebensalter	Reproduktionsstatus
A	11	nullipar
B	19	multipar
C	11	multipar
D	10	nullipar
E	6	nullipar
F	11	nullipar
G	10	nullipar
H	18	multipar

Die Stuten A, B, C und D zeigten eine mechanisch induzierte verlängerte Lutealphase, wobei die Stute D an Tag 11 im Diöstrus ohne jegliche äußere Rossesymptomatik nochmal ovulierte. Die Stuten E, F, G und H kamen trotz mechanischem Reiz wieder in Rosse, sowohl die Stute G als auch die Stute H verloren den Kunststoffball zwischen Tag 7 und Tag 9. Die Stute H verlor den Ball im Wiederholungsversuch an Tag 15 noch einmal und zeigte im Erst- und Zweitversuch einen deutlich verkürzten Zyklus mit darauffolgenden Ovulationen innerhalb der 18 Untersuchungstage.

2.2.1.2. Plasmaprogesteronspiegel einzelner Versuchsstuten

Anhand dieses Parameters können die unterschiedlichen Reaktionen der 8 Stuten auf den Kunststoffball am besten veranschaulicht werden. Aus diesem Grund wird auf den folgenden Seiten die Plasmaprogesteronkonzentration über die 18 Versuchstage für jede Stute einzeln beschrieben.

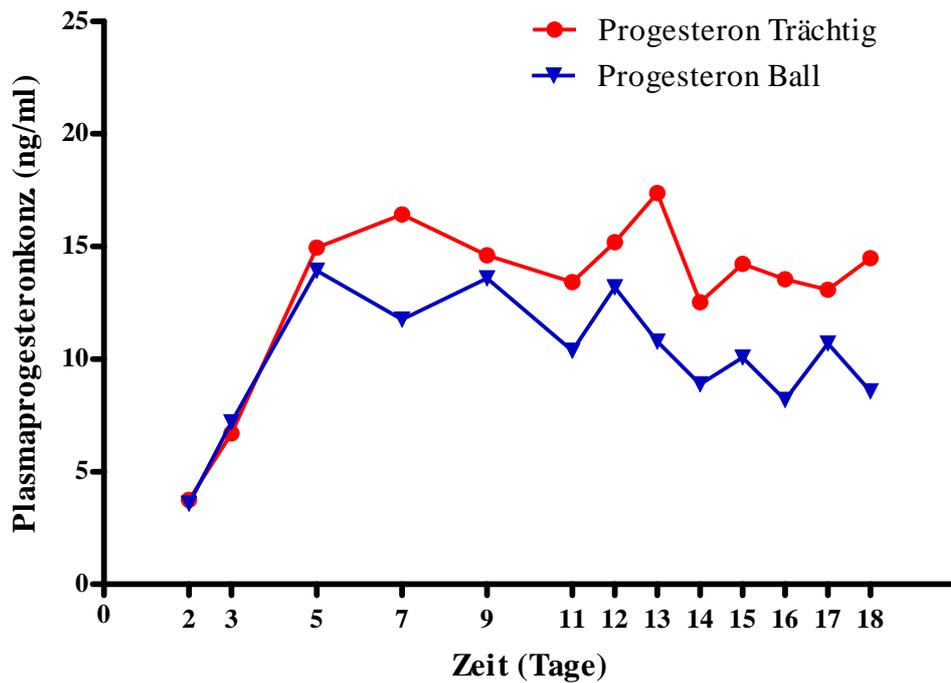


Abb. 4.4: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute A.

Der rasche Anstieg der Plasmaprogesteronkonzentrationen im zeitlichen Verlauf während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase verhielt sich bis Tag 5 nahezu parallel. Danach zeigten beide Parameter geringe Schwankungen, trotzdem wurde hier deutlich, dass der Plasmaprogesteronspiegel während der mechanisch induzierten Lutealphase unter dem der Trächtigkeit lag. Bei der Stute A war sowohl während der Gravidität, als auch während des verlängerten Diöstrus nur ein Gelbkörper vorhanden. Sie zeigte bis Tag 18 weder sonographische noch klinische Rosseanzeichen.

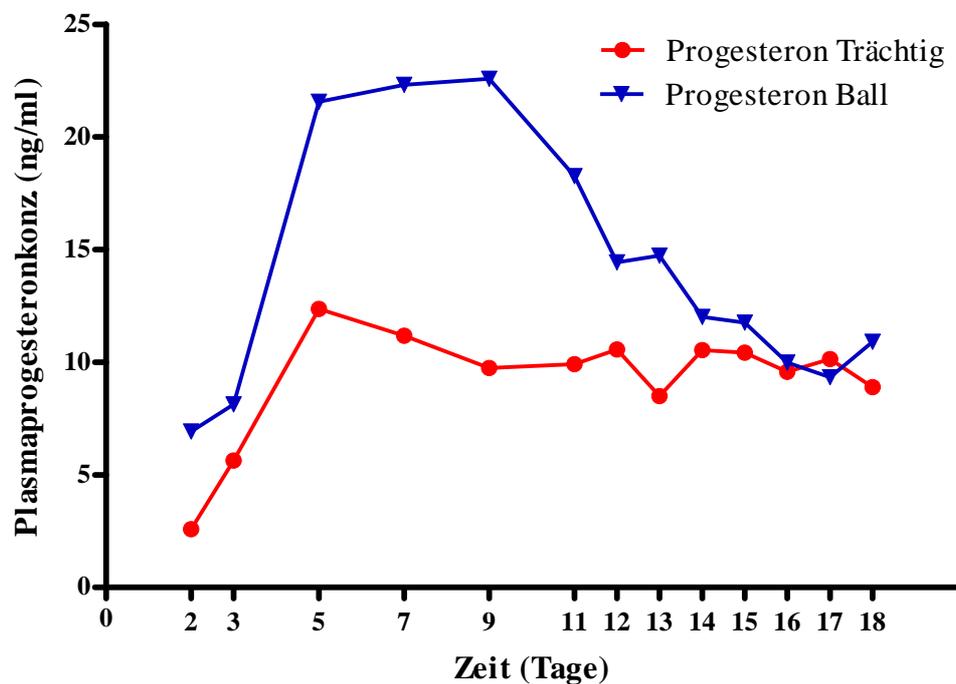


Abb. 4.5: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute B.

Bei dieser Stute war der Plasmaprogesteronspiegel in der Kunststoffballgruppe am ersten Untersuchungstag etwas mehr als doppelt so hoch wie am entsprechenden Tag der Trächtigkeit. Er stieg weiter rapide an, erreichte seinen Maximalwert von 22,58 ng/ml an Tag 9 und sank dann kontinuierlich bis Tag 14 wieder ab. Ab diesem Zeitpunkt blieb er auf relativ gleichem Niveau und verlief nahezu parallel zur gemessenen Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit. Die Stute B zeigte im ersten Durchgang eine Einzelovulation und in der Kunststoffballgruppe im zweiten Durchgang eine Doppelovulation, wobei

zwischen Tag 5 und Tag 12 bei diesen Messungen doppelt so hohe Plasmaprogesteronkonzentrationen wie in der Frühgravidität bestimmt wurden. Sie zeigte während der mechanisch induzierten verlängerten Lutealphase weder eine sonographische, noch eine klinische Rosseesymptomatik.

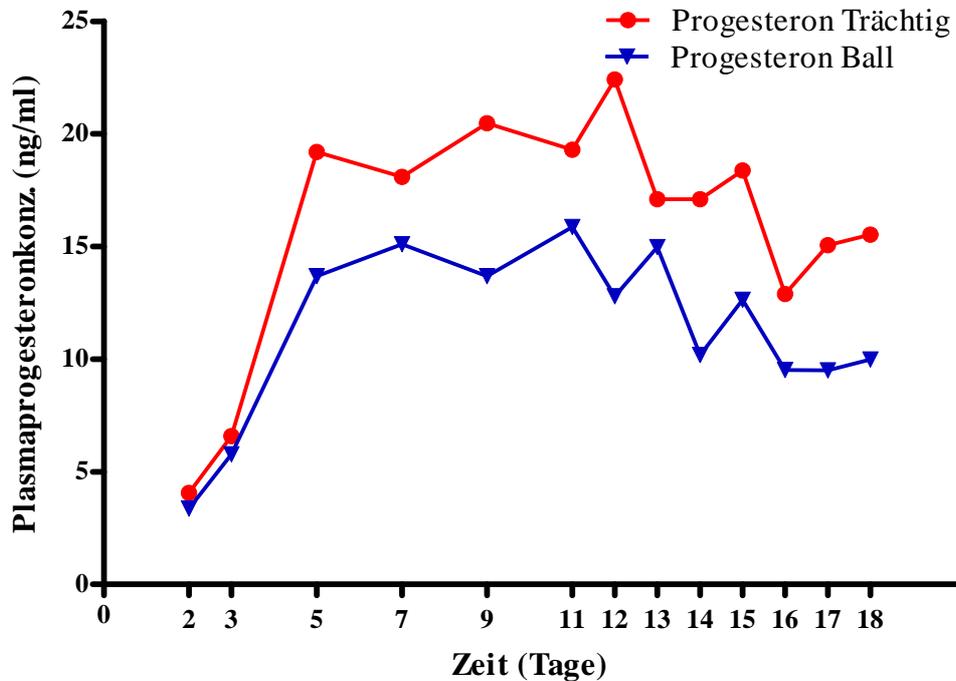


Abb. 4.6: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute C.

Bei dieser Stute verlief der Anstieg der Plasmaprogesteronkonzentrationen in beiden Versuchsreihen bis Tag 3 nahezu parallel. Während der Trächtigkeit erreichte der Progesteronspiegel im Blutplasma durch die an Tag 0 stattgefundenen Doppelovulation zwischen Tag 5 und Tag 12 Maximalwerte um 20 ng/ml mit geringen Schwankungen. In der verlängerten Lutealphase war der Plasmaprogesteronspiegel im zeitlichen Verlauf annähernd gleich, seine Maximalwerte lagen aber etwa ein Drittel unter denen in der Frühgravidität, da diese Stute im zweiten Durchgang nur einen Gelbkörper produzierte. Sie zeigte von Tag 0 bis Tag 18 keine Östrussymptome.

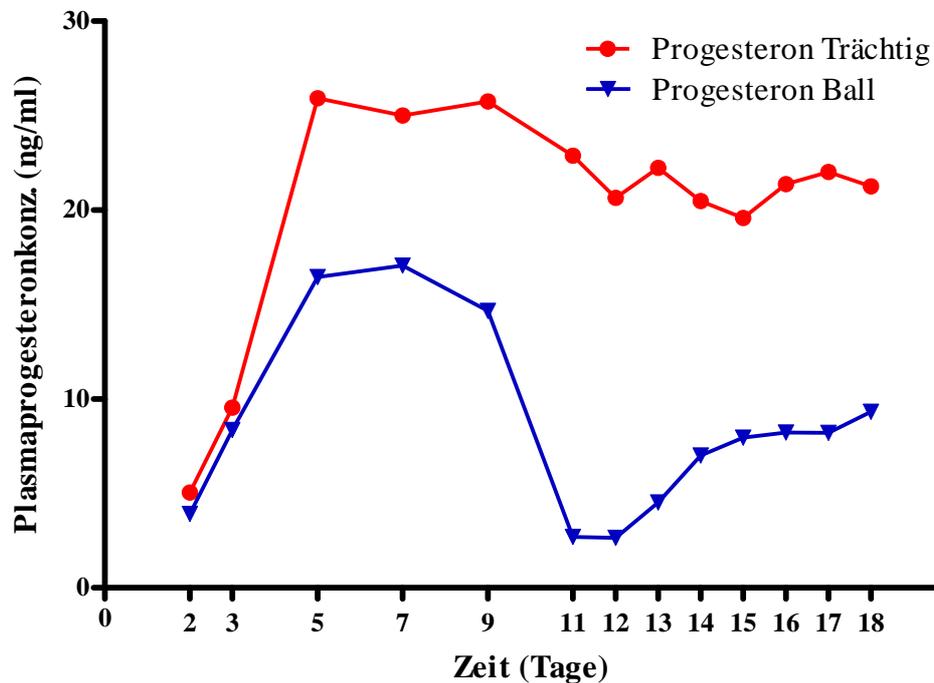


Abb. 4.7: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute D.

Auch bei dieser Stute verliefen die Plasmaprogesteronkonzentrationen in den beiden Versuchsreihen bis Tag 3 nahezu parallel. Aufgrund einer Dreifachovulation, die eine Zwillingsgravidität zur Folge hatte, erreichte der Progesteronspiegel im Blutplasma während der Frühgravidität Maximalwerte von über 25 ng/ml, blieb bis Tag 9 in etwa konstant und verringerte sich nur geringfügig bis Tag 18. Nach einer vorangegangenen Doppelovulation erreichte die Plasmaprogesteronkonzentration in der Ballgruppe ihre Maximalwerte von etwa 17 ng/ml während dem 5. und 9. Zyklustag. Ab diesem Zeitpunkt sank der Plasmaprogesteronspiegel stark auf Minimalwerte von 2,65 ng/ml an den Tagen 11 und 12 ab. Die Stute zeigte zu dieser Zeit weder sonographische Veränderungen am Endometrium, noch zeigte sie klinische Rosseanzeichen. Sie reagierte mit einer Diöstrusovulation an Tag 12 und der Progesteronspiegel im Blutplasma stieg konsekutiv wieder an und blieb bis Tag 18 auf konstantem Niveau von ca. 10 ng/ml.

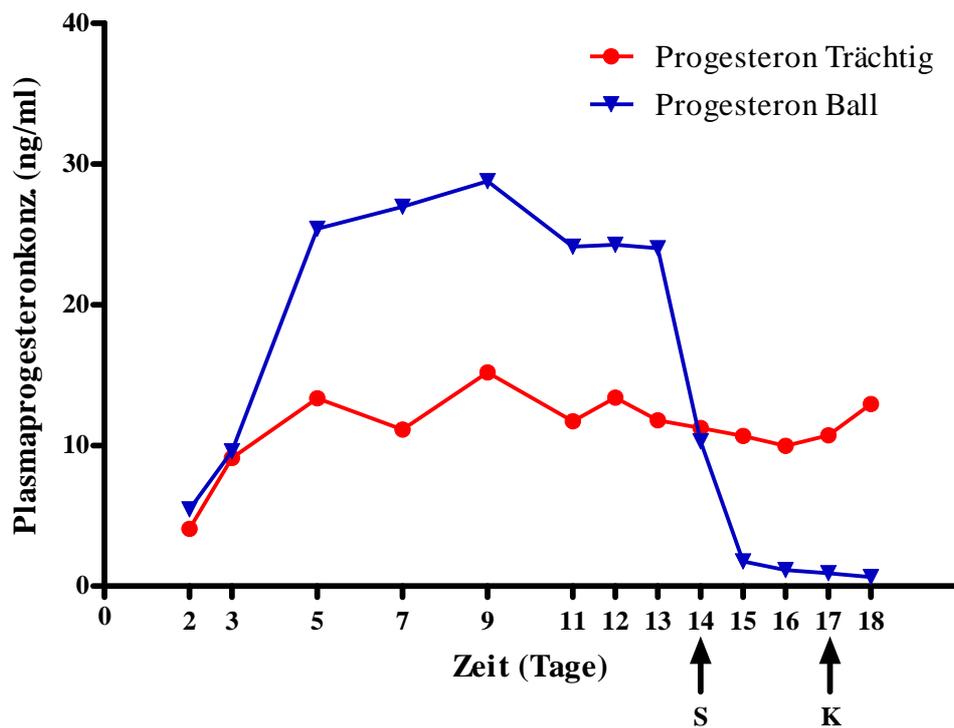


Abb. 4.8: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute E. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Die Plasmaprogesteronkonzentrationen verhielten sich in beiden Versuchsreihen bis Tag 3 nahezu gleich. In der Frühgravidität stieg der Progesteronwert bis Tag 9 an und erreichte Maximalwerte. Ab diesem Zeitpunkt sank er erneut ab um an Tag 11 wieder anzusteigen und verblieb dann bis Tag 18 auf nahezu konstantem Niveau. Aufgrund einer Doppelovulation in der Ballgruppe erreichte die Plasmaprogesteronkonzentration von Tag 5 bis Tag 9 doppelt so hohe Werte wie in der Frühgravidität. Ab diesem Zeitpunkt verringerte sie sich in den nächsten Tagen nur unwesentlich und sank zwischen Tag 13 und Tag 14 rapide ab. An Tag 14 bei einem Plasmaprogesteronspiegel von 8,8 ng/ml konnte sonographisch eine beginnende Uterusödematierung in Form von „Radspeichen“ dargestellt werden. Die Progesteronkonzentration im Blutplasma sank weiter ab und befand sich an Tag 17 unter 1 ng/ml. Die Stute E zeigte an Tag 17 erste äußerliche Rosseanzeichen, sie stellte den Schweif zur Seite, setzte kleine Harnmengen ab und blitzte. Erst an Tag 18 duldete sie den Probierhengst.

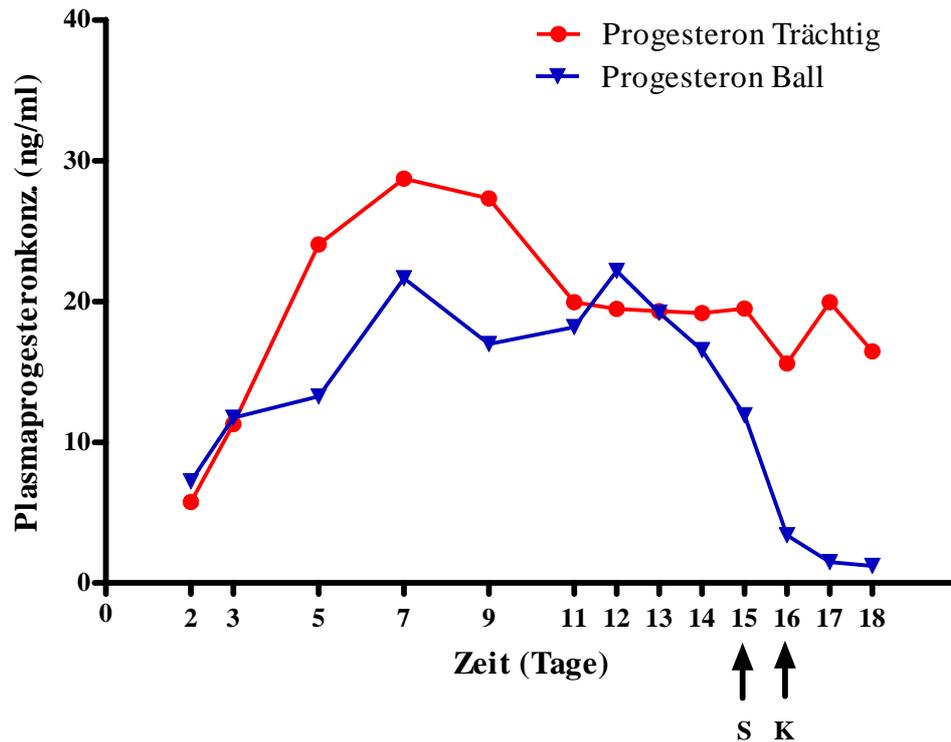


Abb. 4.9: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute F. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Von Tag 2 bis Tag 3 verhielten sich die Progesteronwerte in beiden Durchgängen nahezu parallel. Während der Trächtigkeit erreichte die Plasmaprogesteronkonzentration an Tag 7 ihren Maximalwert, sank bis Tag 11 langsam ab und verblieb dann auf relativ konstantem Niveau. Die Stute erreichte auch in der Kunststoffballgruppe ihren Maximalplasmaprogesteronwert an Tag 7, blieb aber trotz jeweils einer Einfachovulation in beiden Versuchsreihen deutlich unter dem Wert, den sie während der Frühgravidität erreichte. Die Plasmaprogesteronkonzentration verringerte sich dann unwesentlich und stieg bis Tag 12 wieder deutlich an. Ab diesem Zeitpunkt sank sie dann aber rapide ab. Die ersten Rosseanzeichen konnten an Tag 15 am Endometrium bei einer Progesteronkonzentration von 11,91 ng/ml sonographisch erfasst werden. Einen Tag später zeigte die Stute auch rossetypisches Verhalten, wie Schweif zur Seite heben, blitzen, Harn absetzen. Sie duldet an Tag 18 den Probierhengst noch nicht. Parallel dazu war die Progesteronkonzentration im Blutplasma an Tag 18 noch mit einem Wert über 1 ng/ml messbar.

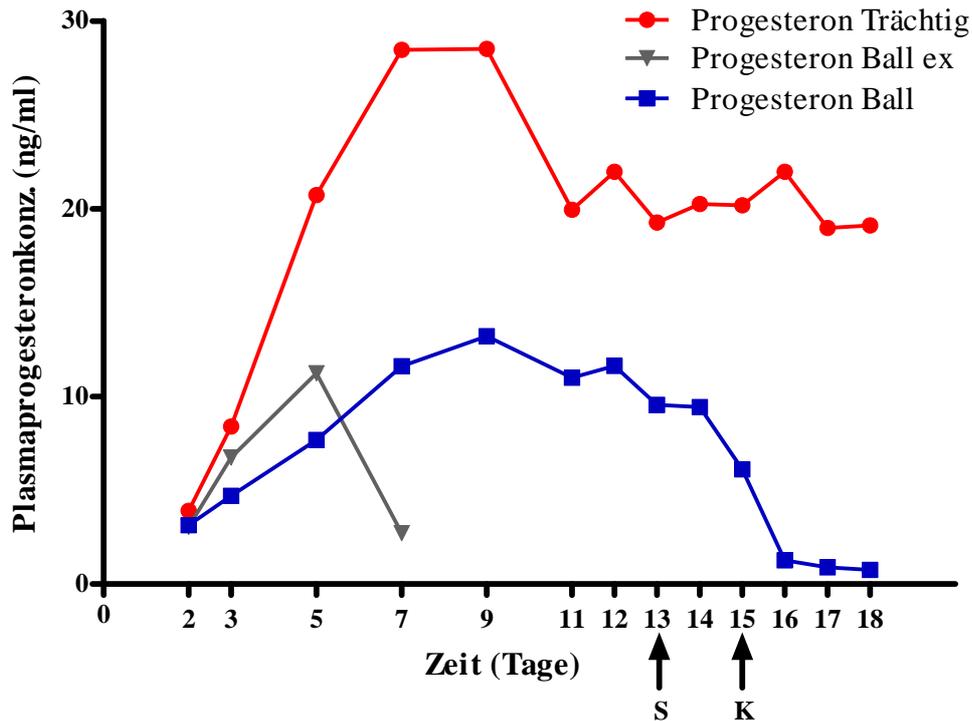


Abb. 4.10: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute G. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Die Progesteronwerte verhielten sich bis Tag 3 in den drei Versuchsreihen nahezu parallel. In der Trächtigungsgruppe erfolgte eine Doppelovulation, aus der eine Zwillingsgravidität hervorging. Die Plasmaprogesteronkonzentration stieg demnach rapide an, erreichte Maximalwerte von fast 30 ng/ml zwischen Tag 7 und Tag 9, sank dann bis Tag 11 deutlich ab und verblieb bis zum Versuchsende auf relativ konstantem Niveau. Der erste Durchgang in der Ballgruppe wurde wegen Verlust des Kunststoffballs zwischen Tag 7 und Tag 9 abgebrochen. Hier verhielt sich die Plasmaprogesteronkonzentration anfangs bis Tag 3 noch nahezu parallel zu der in der Trächtigkeit, stieg bis Tag 5 weiter an und sank dann plötzlich deutlich ab. Eine Endometritis, vermutlich durch die schwierige Einführung des Kunststoffballs in die Zervix verursacht, konnte an Tag 9 sonographisch bestätigt werden. Im Wiederholungsversuch stieg der Plasmaprogesteronspiegel kontinuierlich an und erreichte an Tag 9 seinen Maximalwert, sank im weiteren Verlauf langsam ab und blieb bis Tag 14 auf konstantem Niveau. Währenddessen konnten im Ultraschallbild an Tag 13

beginnende Radspeichen dargestellt werden. An Tag 15 sank die Progesteronkonzentration im Blutplasma deutlich ab und mit ihrem Absinken zeigte die Stute erstmals äußerliche Rosseanzeichen. Dulden des Hengstes erfolgte erst an Tag 18 bei einem Plasmaprogesteronspiegel unter 1 ng/ml.

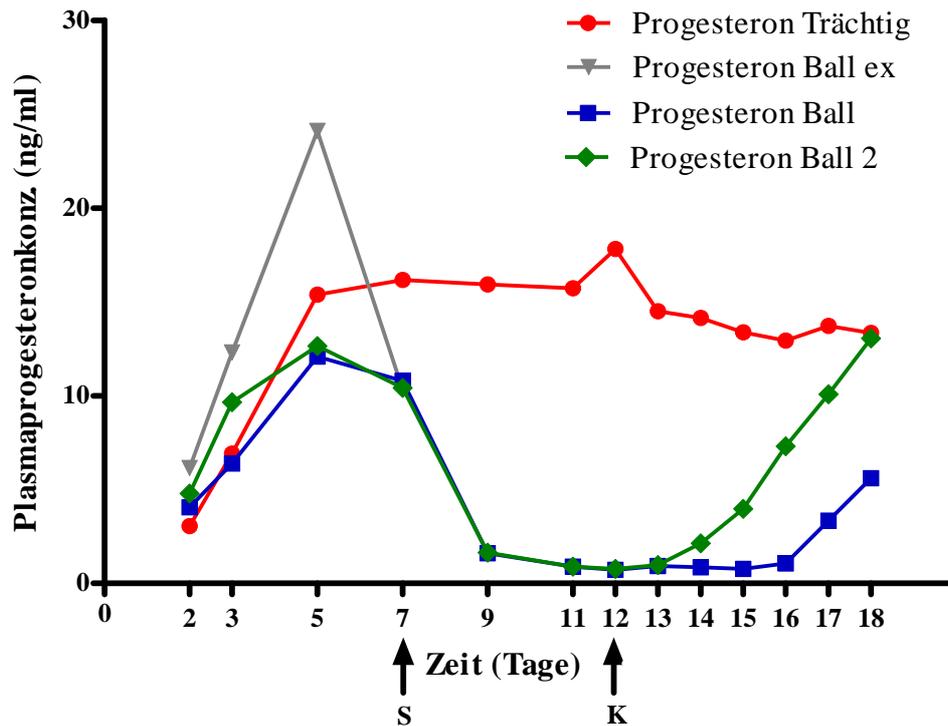


Abb. 4.11: Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute H. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Ähnlich wie bei den anderen Stuten verhielten sich die Progesteronwerte bis Tag 3 in allen vier Durchgängen nahezu parallel im Anstieg. In der Trächtigkeit stieg die Plasmaprogesteronkonzentration kontinuierlich an, erreichte Maximalwerte zwischen Tag 5 und Tag 9 und hielt sich ab dann mit leichten Schwankungen an Tag 11 auf nahezu konstantem Niveau. In der Ballgruppe durchlief diese Stute drei Durchgänge. Wie bei Stute G stieg der Progesteronwert im ersten Versuch bis Tag 5 kontinuierlich an und sank dann plötzlich ab. Sonographisch konnten an Tag 7 deutliche Radspeichen und intrauterine Flüssigkeitsansammlungen dargestellt werden. Die Stute verlor den Ball zwischen Tag 7 und 9. Im zweiten

und dritten Ballversuch stieg die Plasmaprogesteronkonzentration deutlich an, erreichte Maximalwerte an Tag 5 und sank dann stark ab. Ähnlich wie im ersten Durchlauf in der Kunststoffballgruppe konnten an Tag 7 in beiden Versuchsreihen Radspeichen sonographisch erfasst werden. In beiden Wiederholungsversuchen zeigte die Stute erst an Tag 12 äußere Rossesymptome und ovulierte im zweiten Ballversuch an Tag 16 und im dritten Ballversuch an Tag 13. Diese Stute zeigte zweimal hintereinander einen verkürzten Zyklus von einmal 16 und einmal 13 Tagen.

2.2.1.3. Plasmaprogesteronkonzentrationen an ausgewählten Untersuchungstagen

Anhand der sonographischen und klinischen Befunden wurden die Änderungen der übrigen Parameter entsprechend den Befunden gruppiert und ausgewertet.

In der Abb. 4.12 wurden die Mittelwerte der Plasmaprogesteronkonzentrationen mit ihren Standardabweichungen dargestellt. Zusammengefasst wurden die Messwerte aller 8 trächtigen Stuten von Tag 5-18, die Messwerte von 4 Stuten aus der Ballgruppe von Tag 5-18, die eine verlängerte Lutealphase zeigten, sowie die Messwerte der umrossenden 4 Stuten aus der Ballgruppe an Tag S (S: sonographische Veränderungen am Endometrium) und die Messwerte der gleichen Stuten an Tag K (K: klinische Veränderungen im Verhalten). Zwischen der Trächtigsgruppe und der Kunststoffballgruppe mit verlängerter Lutealphase waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Plasmaprogesteronwerten festzustellen ($p > 0,05$), ebenso waren zwischen der Kunststoffballgruppe mit verlängerter Lutealphase und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag S ($p > 0,05$), sowie zwischen der Trächtigsgruppe und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag S keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messwerten zu verzeichnen ($p > 0,05$). Signifikante Unterschiede im Plasmaprogesteronspiegel wurden zwischen der Trächtigsgruppe und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K ($p < 0,05$), sowie zwischen der Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K ($p < 0,05$) und zwischen den Stuten aus der Ballgruppe an Tag S und den gleichen Stuten an Tag K erfasst ($p < 0,05$).

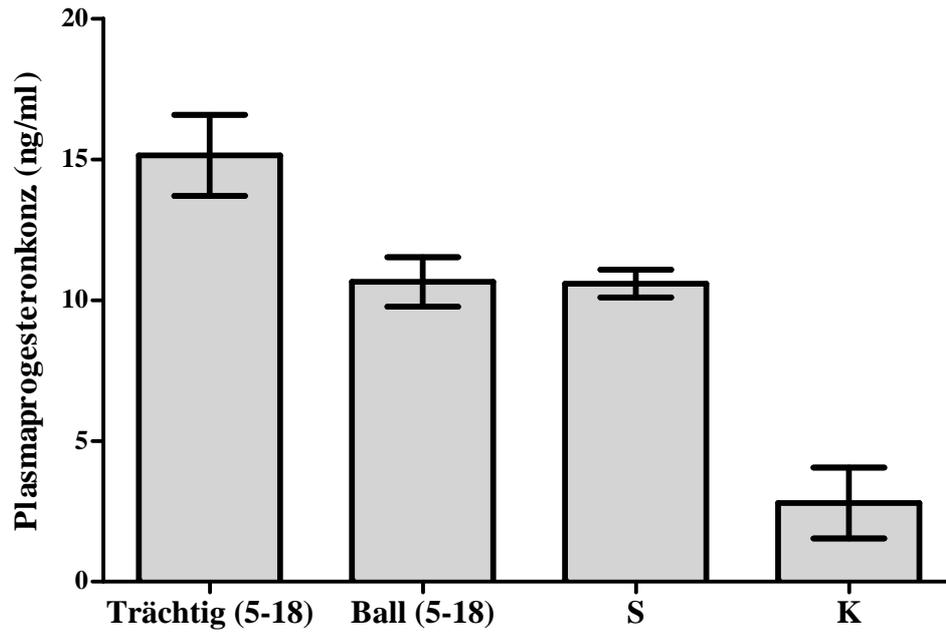


Abb. 4.12: Gegenüberstellung der Plasmaprogesteronkonzentrationen in ng/ml (M \pm -SEM) während der Trächtigkeit von Tag 5-18 (n=8), während der verlängerten Lutealphase von Tag 5-18 (n=4), an dem Tag x, an dem Veränderungen am Endometrium sonographisch darstellbar waren (n=4) und an dem Tag y, an dem klinische Veränderungen im Verhalten beobachtet wurden (n=4).

2.2.1.4. Durchblutete CI-Fläche einzelner Versuchsstuten

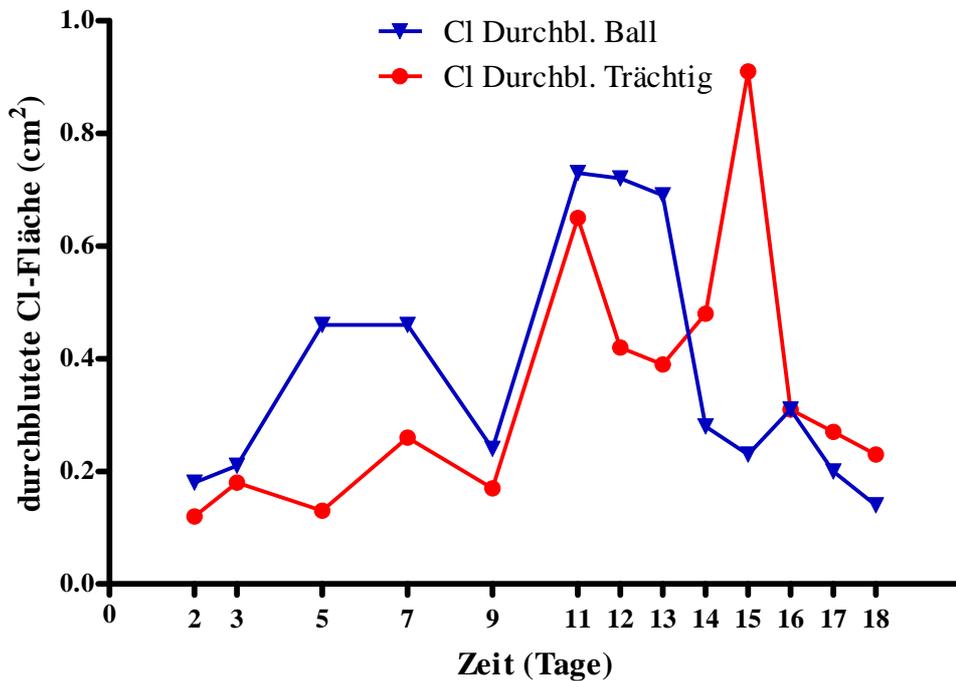


Abb. 4.13: Durchblutete CI-Fläche in cm² während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute C.

Ähnlich wie die Plasmaprogesteronkonzentration verhielt sich auch die durchblutete CI-Fläche anfangs in der Trächtigungsgruppe und der Ballgruppe bis Tag 3 nahezu parallel. Während die CI-Perfusion bei der Stute in der Trächtigkeit mit zwei Gelbkörpern ihr erstes Maximum an Tag 7 erreichte, stieg sie bei der Stute in der Ballgruppe mit nur einem Gelbkörper schon an Tag 5 auf deutlich höhere Werte an. Die durchblutete CI-Fläche verringerte sich bis Tag 9 bei der trächtigen Stute wieder geringfügig und erreichte erneut Maximalwerte zwischen Tag 11 und Tag 15. Danach verkleinerte sie sich wieder deutlich und blieb ab Tag 16 nahezu konstant. In der Ballgruppe stieg die CI-Durchblutung etwa wie in der Trächtigungsgruppe an Tag 9 auch wieder deutlich an, erreichte wiederholt Maximalwerte zwischen Tag 11 und 13 und sank dann deutlich ab. Ab Tag 14 verkleinerte sich die durchblutete CI-Fläche nur unwesentlich und die Werte aus der Trächtigungsgruppe und der Ballgruppe verliefen wieder relativ parallel.

Da bei den anderen Stuten A, B und D mit verlängerter Lutealphase eine ähnliche Verhaltensweise der durchbluteten CI-Fläche beobachtet wurde, erfolgte an dieser

Stelle lediglich die Darstellung der CI-Perfusion für die Stute C stellvertretend für die anderen Stuten.

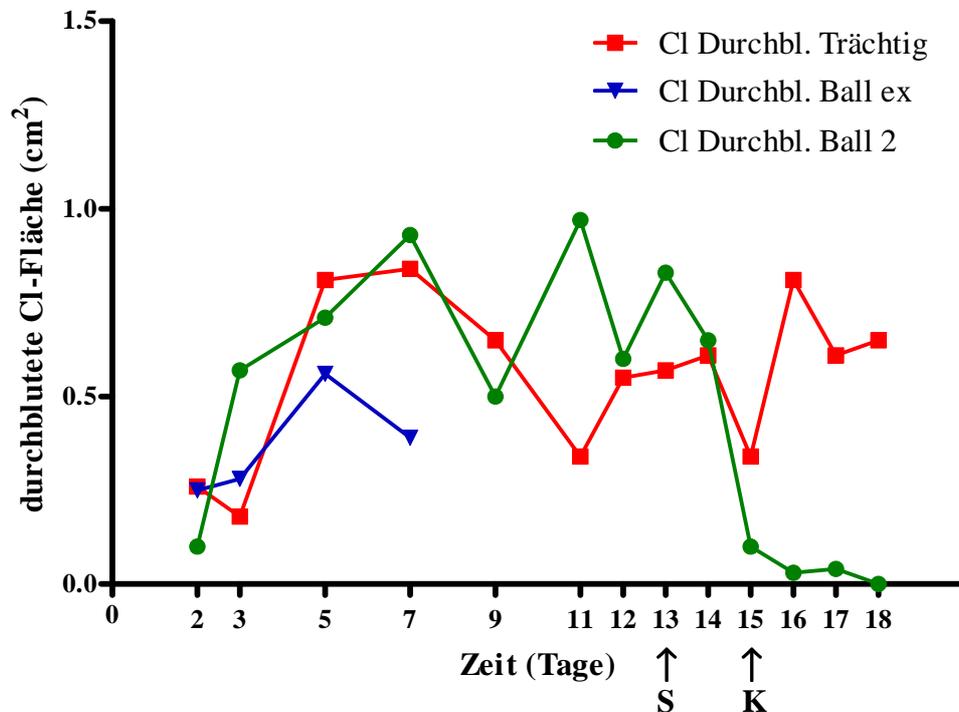


Abb. 4.14: Durchblutete CI-Fläche in cm² während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute G. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Bei der Stute G verliefen die Werte der durchbluteten CI-Fläche in der Trächtigungsgruppe mit zwei Gelbkörpern und in der Ballgruppe beim Zweitversuch mit einem Gelbkörper im zeitlichen Verlauf bis Tag 9 fast annäherungsweise gleich. In der Ballgruppe sank die CI-Durchblutung beim Erstversuch an Tag 5 plötzlich ab, die Stute verlor den Ball zwischen Tag 7 und 9. Während bei der trächtigen Stute sich die durchblutete CI-Fläche ab Tag 9 bis Tag 11 weiter verkleinerte und sich dann wieder geringfügig vergrößerte, nahm sie bei der Stute mit Ball bis Tag 11 noch an Größe zu. Beide Werte der beiden Gruppen blieben zwischen Tag 12 und 14 auf relativ konstantem Niveau. In der Ballgruppe verringerte sich die durchblutete CI-Fläche ab Tag 14 im Gegensatz zur Trächtigungsgruppe drastisch und war an Tag 18 fast nicht mehr darstellbar. Die

Stute kam in Rosse und die Luteolyse setzte ein, nachgewiesen durch sonographische Untersuchungen und das Absinken des Plasmaprogesteronspiegel.

Die Beschreibung der durchbluteten CI-Fläche der Stute G kann stellvertretend für die anderen umrossenden Stuten E, F und H angesehen werden.

2.2.1.5. Durchbluteten CI-Fläche an ausgewählten Untersuchungstagen

Wie bei dem Parameter Plasmaprogesteronkonzentration wurden auch für die durchblutete CI-Fläche die Messwerte aller 8 trächtigen Stuten von Tag 5-18, die Messwerte von 4 Stuten aus der Ballgruppe von Tag 5-18, die eine verlängerte Lutealphase zeigten, sowie die Messwerte der umrossenden 4 Stuten aus der Ballgruppe an Tag S (S: sonographische Veränderungen am Endometrium) und die Messwerte der gleichen Stuten an Tag K (K: klinische Veränderungen im Verhalten) zusammengefasst (Abb. 4.15).

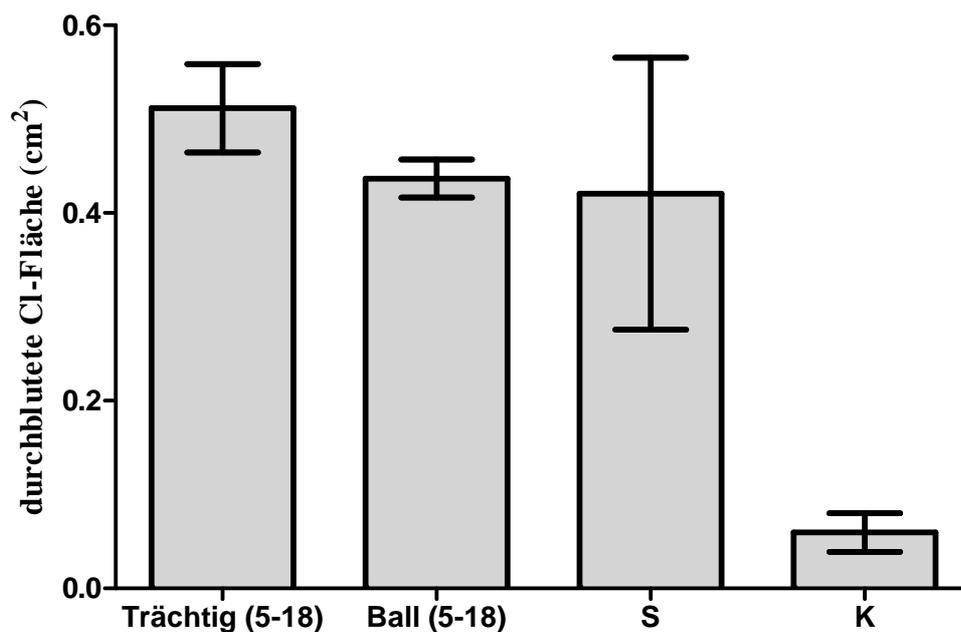


Abb. 4.15: Gegenüberstellung der durchbluteten CI-Fläche in cm² (M±SEM) während der Trächtigkeit von Tag 5-18 (n=8), während der verlängerten Lutealphase von Tag 5-18 (n=4), an dem Tag x, an dem Veränderungen am Endometrium sonographisch darstellbar waren (n=4) und an dem Tag y, an dem klinische Veränderungen im Verhalten beobachtet wurden (n=4).

Die Trächtigkeitsgruppe und die Kunststoffballgruppe mit verlängerter Lutealphase, die Trächtigkeitsgruppe und die Stuten aus der Kunststoffballgruppe an Tag S, sowie die Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und die Stuten aus der Ballgruppe an Tag S unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$). Signifikante Unterschiede gab es zwischen der Trächtigkeitsgruppe und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K, sowie zwischen der Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K ($p < 0,05$). Ebenso verhielten sich die gleichen Stuten aus der Ballgruppe an Tag S zu Tag K ($p < 0,05$).

2.2.1.6. Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche einzelner Stuten

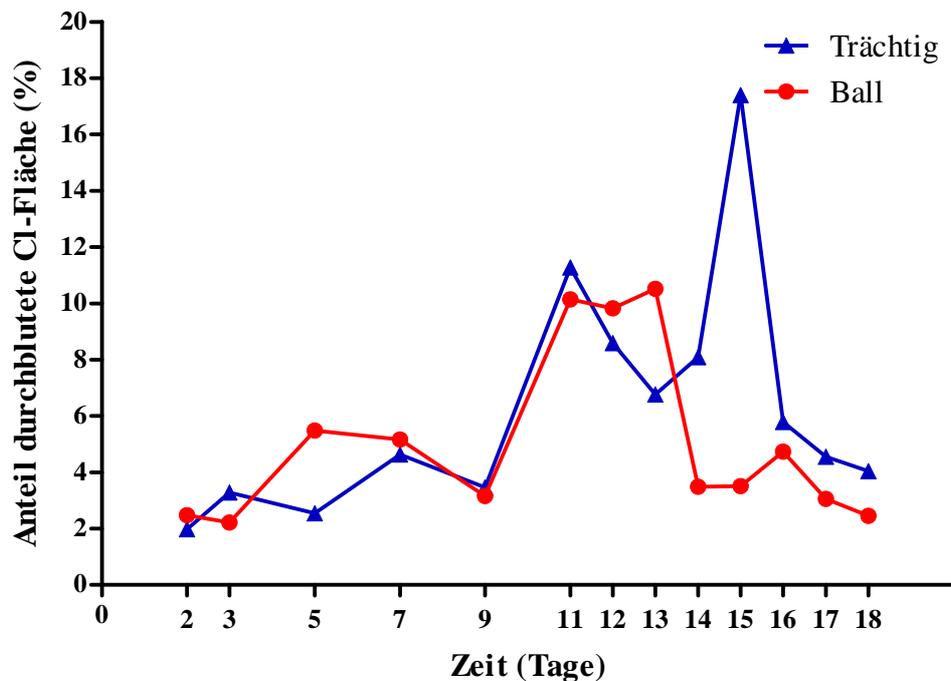


Abb. 4.16: Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche in % während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute C.

Der Kurvenverlauf der durchbluteten CI-Fläche und der des Anteils der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche verhielten sich bei der Stute C nahezu identisch.

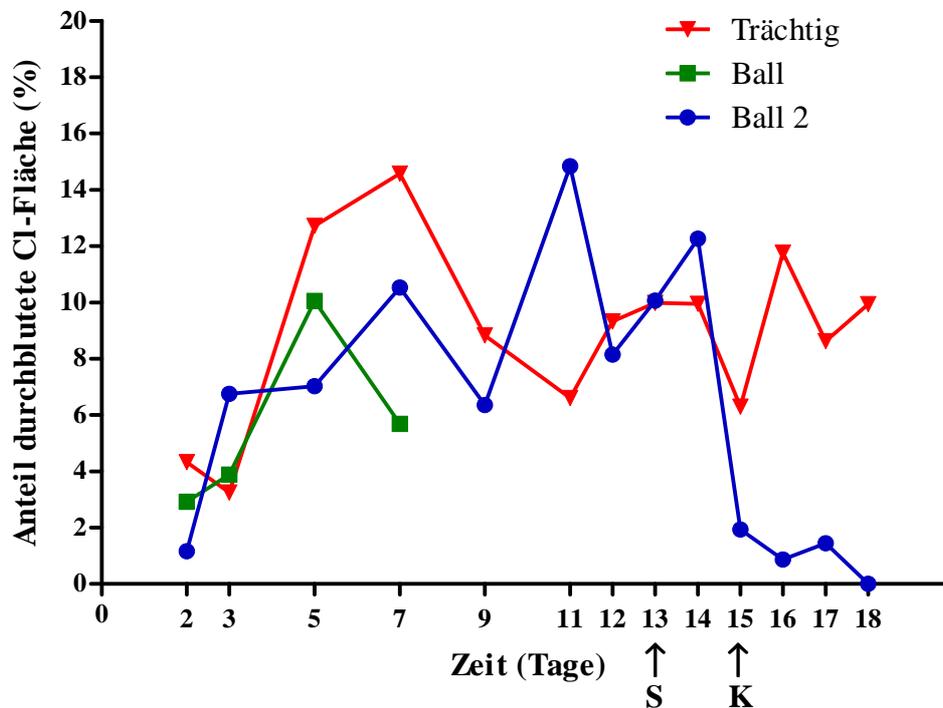


Abb. 4.17: Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche in cm^2 während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute G. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Auch der Kurvenverlauf der durchbluteten CI-Fläche und der des Anteils der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche verhielt sich sowohl bei der in der Grafik dargestellten Stute G als auch bei allen anderen Versuchsstuten annähernd gleich.

2.2.1.7. Höhe des Anteils der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche an ausgewählten Untersuchungstagen

Gleichermaßen wie die Messwerte der durchbluteten CI-Fläche, wurden auch die Messwerte des Anteils der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche in verschiedenen Gruppen und unterschiedlichen Untersuchungstagen zusammengefasst (Abb. 4.18).

Wie für den Parameter durchblutete CI-Fläche, unterscheidet sich die Trächtigsgruppe und die Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase, die Trächtigsgruppe und die Stuten aus der Ballgruppe an Tag S, sowie die Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und die Stuten aus der Ballgruppe an Tag S nicht signifikant voneinander ($p>0,05$). Signifikante Unterschiede gab es zwischen der Trächtigsgruppe und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K, sowie zwischen der Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K ($p<0,05$). Ebenso verhielten sich die gleichen Stuten aus der Ballgruppe an Tag S zu Tag K ($p<0,05$).

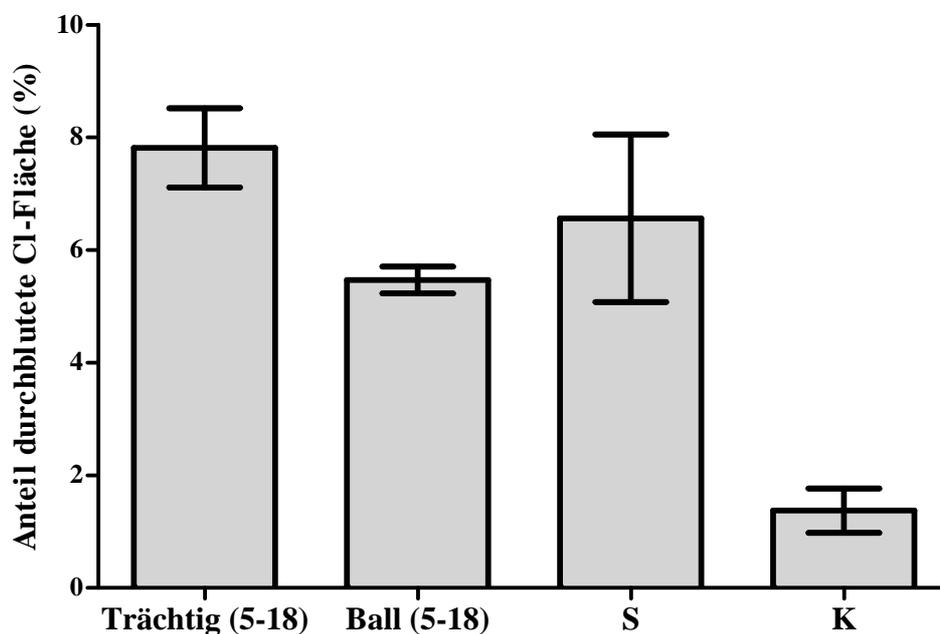


Abb. 4.18: Gegenüberstellung des Anteils der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche in cm^2 (M+-SEM) während der Trächtigkeit von Tag 5-18 ($n=8$), während der verlängerten Lutealphase von Tag 5-18 ($n=4$), an dem Tag x, an dem Veränderungen am Endometrium sonographisch darstellbar waren ($n=4$) und an dem Tag y, an dem klinische Veränderungen im Verhalten beobachtet wurden ($n=4$).

2.3. Einfluss von Doppelovulationen auf die Plasmaprogesteronkonzentration und auf die CI-Durchblutung

Bei drei beobachteten Doppelovulationen befanden sich die Gelbkörper zweimal auf dem gleichen Ovar und einmal auf getrennten Ovarien. Die Plasmaprogesteronwerte waren in der Frühgravidität bei drei Stuten mit Doppelovulationen signifikant höher als bei drei Stuten mit Einzelovulationen ($p < 0,05$; Tab. 4.2). An den Tagen 5-9 konnten bei Stuten mit Doppelovulationen Progesteronkonzentrationen im Blutplasma beobachtet werden, die mehr als doppelt so hoch waren wie bei Stuten mit Einzelovulationen.

Keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$) gab es beim Vergleich der durchbluteten CI-Fläche zwischen Zyklen mit einer Einzelovulation und mit einer Doppelovulation (Tab. 4.2). Die Werte der durchbluteten CI-Fläche in cm^2 befanden sich nahezu im gleichen Bereich, in einigen Fällen waren die Werte bei Einzelovulationen sogar etwas höher als bei Doppelovulationen.

Tab.4.2: Durchblutete CI-Fläche in cm^2 und Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml (M+-SEM) bei Einzel- und Doppelovulationen in der Frühgravidität (n=3). * signifikanter Unterschied zu Einzelovulationen ($p < 0,05$).

	Einzelovulation	Doppelovulation
Durchblutete CI-Fläche	0,63+-0,04	0,54+-0,06
Plasmaprogesteronkonz.	11,16+-1,11	18,45+-1,31*

2.4. Einfluss der Applikation des Kunststoffballs auf den Plasmaprogesteronspiegel, die durchblutete CI-Fläche, sowie den Anteil durchbluteter CI-Fläche an CI-Gesamtfläche an Tag 3

2.4.1. Einfluss der Balleinführung auf den Plasmaprogesteronspiegel an Tag 3

Der Plasmaprogesteronspiegel stieg in der Frühgravidität an Tag 3 von Messung zu Messung nur geringfügig an. In der Ballgruppe konnte ein etwas stärkerer Anstieg der Plasmaprogesteronkonzentration innerhalb der ersten Stunde nach der Balleinführung beobachtet werden, in der zweiten Stunde sank sie wieder etwas ab und blieb auf gleichem Niveau mit der Plasmaprogesteronkonzentration während der Trächtigkeit. Alle Werte der Ballgruppe unterschieden sich nicht signifikant von den Werten aus der Kontrollgruppe ($p > 0,05$).

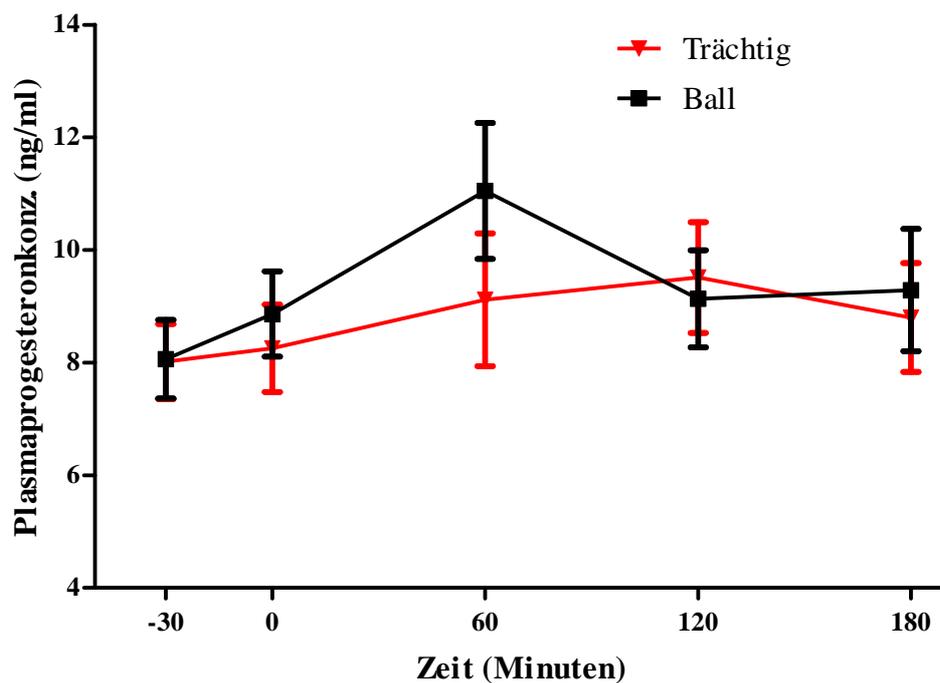


Abb. 4.19: Plasmaprogesteronkonzentration in ng/ml (M±SEM) an Tag 3 während der Frühgravidität (n=8) und während der Balleinführung (n=8), *0=Zeitpunkt der Balleinführung. Kein signifikanter Unterschied zwischen den Progesteronwerten ($p \geq 0,05$).

In der Ballgruppe erfolgten insgesamt 11 Balleinführungen jeweils an Tag 3. Diese konnten je nach Schwierigkeitsgrad und Manipulation an der Zervix in 3

Gruppen, keine, wenig und deutliche Manipulation erforderlich, eingeteilt werden. Auch die Plasmaprogesteronwerte zwischen diesen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander ($p>0,05$).

2.4.2. Einfluss der Applikation des Kunststoffballs auf die durchblutete CI-Fläche, sowie den Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche an Tag 3

Im Gegensatz zum Plasmaprogesteronspiegel stieg die CI-Durchblutung zwischen der ersten und zweiten Messung in der Trächtigsgruppe stärker an als die CI-Durchblutung in der Ballgruppe. Unmittelbar nach der Balleinführung und auch 2 Stunden später vergrößerte sich die durchblutete CI-Fläche in der Ballgruppe kaum. Der Kurvenverlauf des Anteils der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche beider Gruppen verhielt sich fast identisch. Wie beim Plasmaprogesteronwert unterschieden sich alle CI-Perfusionswerte der Kontrollgruppe nicht signifikant von den Werten aus der Ballgruppe ($p>0,05$). Auch innerhalb der Ballgruppe konnten anhand des Schwierigkeitsgrades der Balleinführung keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden ($p>0,05$).

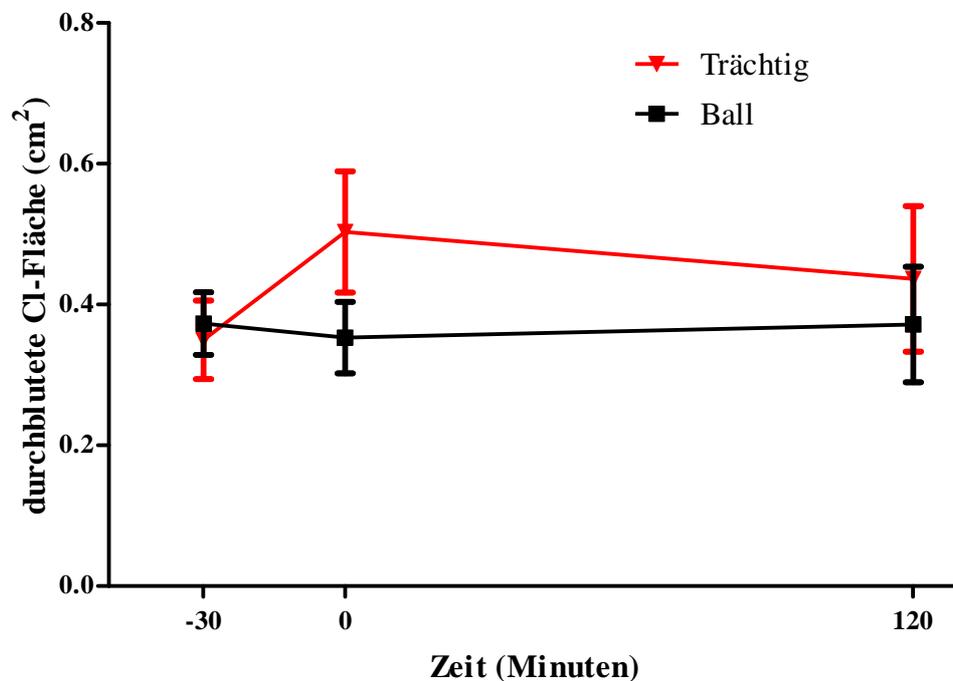


Abb. 4.20: Durchblutete CI-Fläche in cm² (M±SEM) an Tag 3 während der Frühgravidität (n=8) und während der Balleinführung (n=8), *0=Zeitpunkt der Balleinführung, kein signifikanter Unterschied zwischen den Werten ($p\geq 0,05$).

3. Blutfluss in der A. uterina

In der Trächtigsgruppe und in der Ballgruppe war in allen Messungen fast immer ein kontinuierlicher diastolischer Vorwärtsfluss (Typ C) in der A. uterina messbar, so dass die Dopplerwellen sich insgesamt im Blutflussprofil nicht unterschieden. Nur vereinzelt wurden Dopplerwellen vom Typ A beobachtet, die sich aufgrund eines diastolischen Nullflusses vom Typ C unterschieden (GOSWAMY & STEPTOE, 1988).

In der Blutversorgung, gemessen am RI und PI, bestanden in beiden Gruppen über alle Versuchstage z.T. statistisch signifikante, absolut betrachtet jedoch nur geringe Unterschiede zwischen der linken und der rechten A. uterina. Die Differenzen zwischen beiden Seiten waren unabhängig vom Vorhandensein eines Funktionsgebildes auf dem Ovar ($p > 0,05$). Da sich sowohl für RI als auch für PI hohe signifikante Korrelationen zwischen der linken und rechten A. uterina ergaben (RI: $r = 0,72$; PI: $r = 0,67$; $p < 0,0001$), wurde für die nachfolgenden Auswertungen der Mittelwert aus beiden Seiten herangezogen.

3.1. Blutfluss in der A. uterina während der Frühgravidität

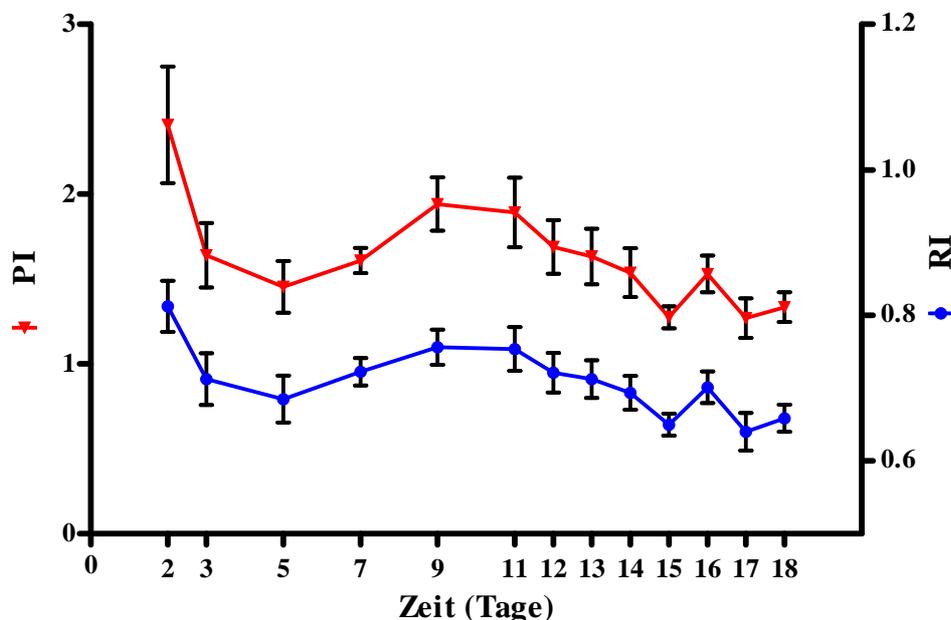


Abb. 4.21: Resistance Index (RI; M \pm -SEM) und Pulsatility Index (PI; M \pm -SEM) während der Frühgravidität (n=8). Kein signifikanter Unterschied zum vorhergehenden RI Wert, kein signifikanter Unterschied zum vorhergehenden PI Wert ($p \geq 0,05$).

Der RI- und der PI-Wert waren an Tag 2 am höchsten. Von diesem Zeitpunkt fiel der Blutflusswiderstand bis Tag 5 relativ steil ab, stieg bis Tag 11 wieder langsam, aber konsekutiv an, um danach wieder kontinuierlich abzunehmen. Ab Tag 14 bis Tag 18 blieb die uterine Durchblutung nahezu konstant.

Der Kurvenverlauf der beiden Dopplerindices RI und PI zeigte sich nahezu identisch, es bestand eine hohe signifikante Korrelation zwischen den beiden Blutflussparametern RI und PI ($r = 0,98$, $p < 0,0001$).

3.2. Einfluss eines intrauterin applizierten Kunststoffballs auf den Blutfluss in der A. uterina

Um die erfassten Daten in der Ballgruppe aussagekräftig aufzubereiten, wurde für die beiden Widerstandsindices RI und PI das Verfahren der deskriptiven Statistik angewendet.

3.2.1. Resistance Index (RI) einzelner Versuchsstuten

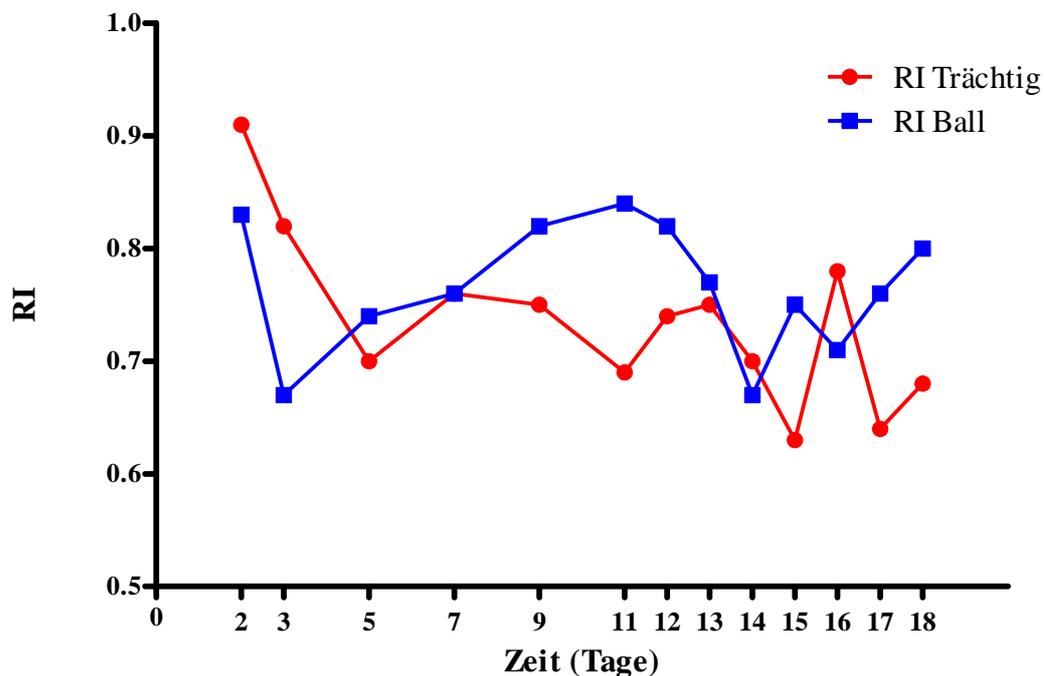


Abb. 4.22: Resistance Index (RI) während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute B.

Der RI war bei dieser Stute in der Trächtigsgruppe und auch in der Ballgruppe an Tag 2 post ovulationem am höchsten. Von diesem Zeitpunkt fiel der Blutflusswiderstand in beiden Versuchsgruppen relativ steil ab und war in der Ballgruppe minimal an Tag 3, in der Trächtigsgruppe minimal erst an Tag 5. Er stieg in beiden Gruppen wieder langsam an, um nach Tag 11 wieder kontinuierlich abzunehmen. Ab Tag 14 blieb die uterine Durchblutung in beiden Gruppen über den weiteren Verlauf bis Tag 18 mit geringen Schwankungen auf nahezu konstantem Niveau. Bei den Stuten A, C und D mit verlängerter Lutealphase konnten ähnliche Beobachtungen wie bei Stute B über den Verlauf des RI gemacht werden.

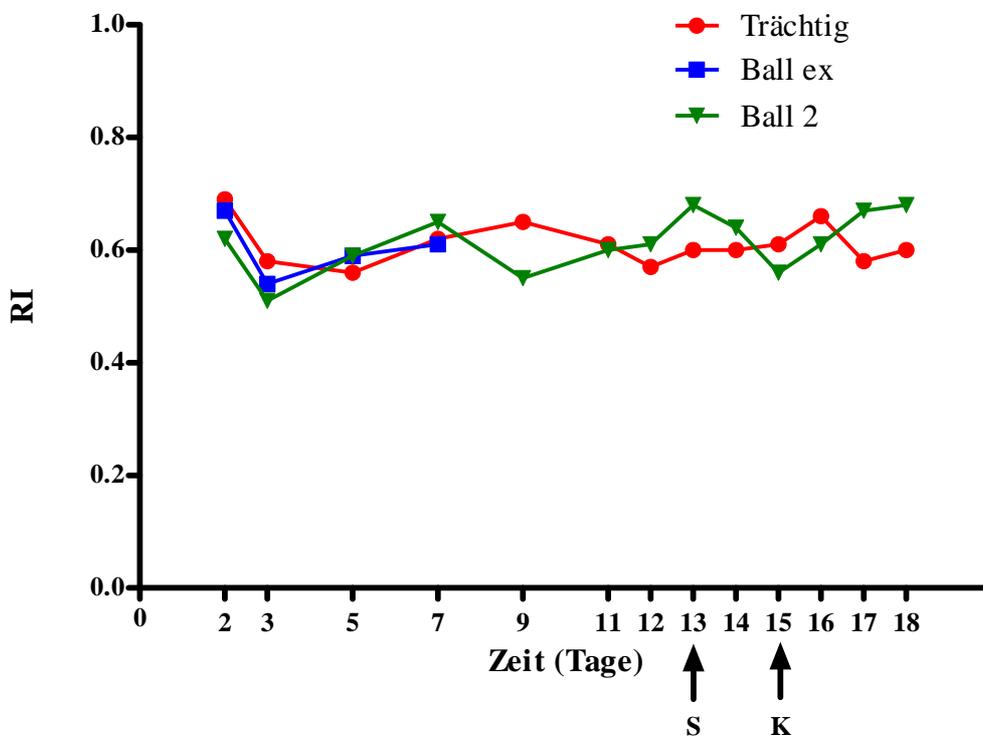


Abb. 4.23: Resistance Index (RI) während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute G. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

Bei der Stute G, stellvertretend dargestellt für die übrigen Stuten der Ballgruppe E, F und H, die klinische und sonographische Rosse-symptome zeigten, verhielt sich der Blutfluss, gemessen am RI, bei allen Versuchsstuten sehr ähnlich. Alle Stuten der Ballgruppe zeigten ohne Ausnahme Minimalwerte an Tag 3, an diesem

Tag war bei allen Stuten der uterine Blutfluss am höchsten. An den Tagen 11-14 blieb er, abgesehen von einigen individuellen Schwankungen, bis zum Versuchsende relativ konstant. Bei der Stute G konnten an Tag 13 erste Rosseanzeichen am Endometrium sonographisch dargestellt und an Tag 15 auch klinische Veränderungen im Verhalten beobachtet werden. Entsprechende Veränderungen konnten an dem Parameter RI nicht beobachtet werden. Es bestanden keine sichtbaren Unterschiede zwischen der Trächtigkeitsgruppe, der Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und der Gruppe der umrossenden Stuten.

3.2.2. Der Resistance Index (RI) an ausgewählten Untersuchungstagen

In der Abb. 4.24 wurden die Mittelwerte des Blutflussparameters RI mit ihren Standardabweichungen dargestellt. Zusammengefasst wurden die Messwerte aller 8 trächtigen Stuten von Tag 12-18, die Messwerte von 4 Stuten aus der Ballgruppe von Tag 12-18, die eine verlängerte Lutealphase zeigten, sowie die Messwerte der 3 umrossenden Stuten aus der Ballgruppe an Tag S (S: sonographische Veränderungen am Endometrium) und die Messwerte der gleichen Stuten an Tag K (K: klinische Veränderungen im Verhalten). Die Stute H wurde in der letzten Gruppe nicht mit berücksichtigt, da sie einen verkürzten Zyklus zeigte und an den Tagen 12-18 Follikelanbildung mit erneuter Ovulation zeigte.

Signifikante Unterschiede zwischen den 4 Gruppen untereinander konnten nicht nachgewiesen werden. Für jede einzelne Gruppe im Vergleich mit den 3 anderen Gruppen gilt $p > 0,05$.

Es konnten keine Unterschiede im uterinen Blutfluss zwischen trächtigen Stuten, Stuten in verlängerter Lutealphase und rossenden Stuten anhand des Blutflussparameters RI deutlich gemacht werden.

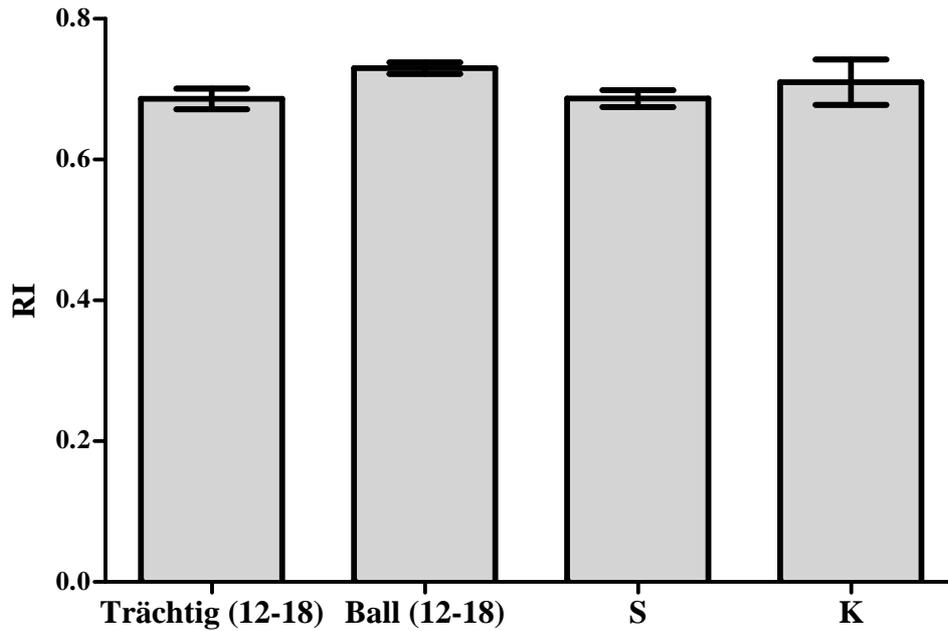


Abb. 4.24: Gegenüberstellung des Resistance Index (RI) (M+-SEM) während der Trächtigkeit von Tag 12-18 (n=8), während der verlängerten Lutealphase von Tag 12-18 (n=4), an dem Tag x, an dem Veränderungen am Endometrium sonographisch darstellbar waren (n=3) und an dem Tag y, an dem klinische Veränderungen im Verhalten beobachtet wurden (n=3).

3.2.3. Pulsatility Index (PI) einzelner Versuchsstuten

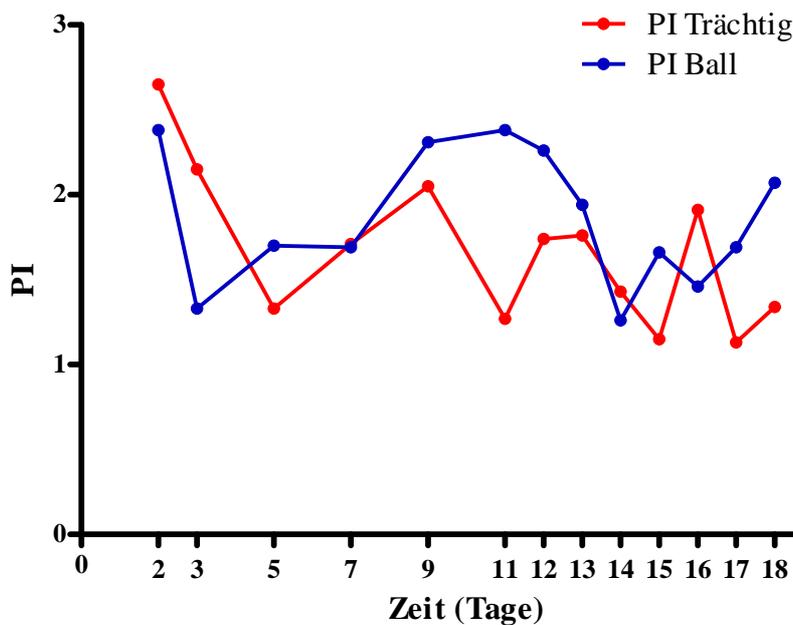


Abb. 4.25: Pulsatility Index (PI) während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute B.

Der Kurvenverlauf des Blutflussparameters PI der Stute B war mit dem Verlauf des Parameters RI über den gesamten Untersuchungszeitraum fast deckungsgleich. An Tag 2 wurden sowohl für die Trächtigsgruppe als auch für die Ballgruppe die höchsten PI-Werte beobachtet. In der Ballgruppe an Tag 3 und in der Trächtigsgruppe an Tag 5 sank PI auf Minimalwerte ab, um im weiteren Verlauf in beiden Gruppen bis Tag 9 und 11 wieder konsekutiv anzusteigen und an Tag 14 auf nahezu konstantem Niveau zu verbleiben. Der PI-Wert der Stute A, C und D verhielt sich gleichermaßen.

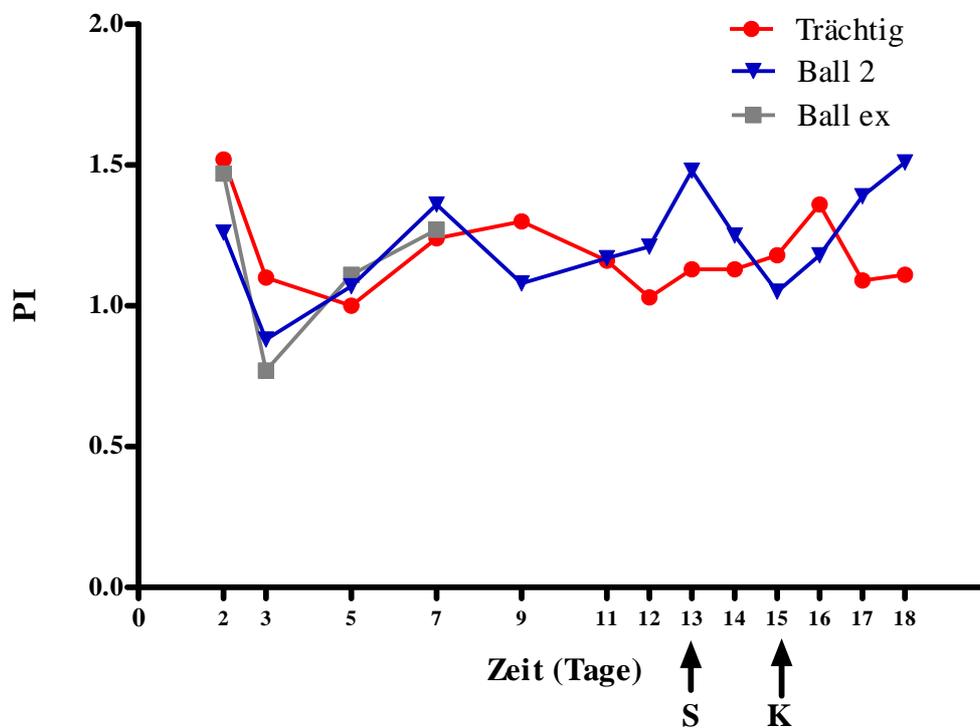


Abb. 4.26: Pulsatility Index (PI) während der Trächtigkeit und der verlängerten Lutealphase der Stute G. S: sonographische Veränderungen am Endometrium der Stute, K: klinische Veränderungen im Verhalten der Stute.

In Abb. 4.26 wurde der PI-Wert der Stute G im zeitlichen Verlauf dargestellt. Er verhielt sich annähernd parallel zum RI-Wert dieser Stute. Auch anhand des Blutflussparameters PI wurden in den Verlaufskurven bei der Stute G und den anderen Stuten mit Rosseanzeichen keine deutlich sichtbaren Unterschiede an den Tagen S und K beobachtet.

3.2.4. Der Pulsatility Index (PI) an auserwählten Untersuchungstagen

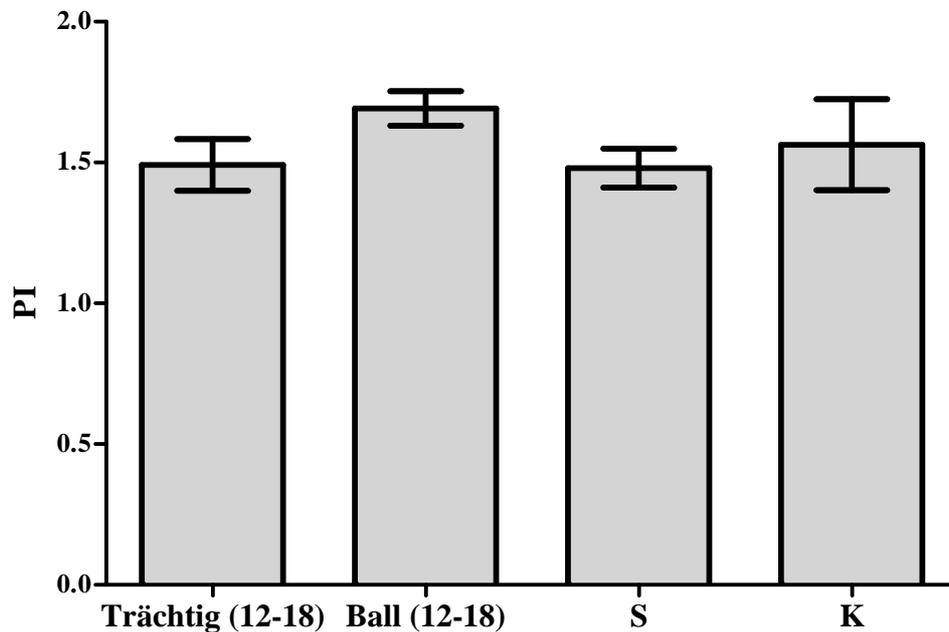


Abb. 4.27: Gegenüberstellung des Pulsatility Index (PI) (M \pm -SEM) während der Trächtigkeit von Tag 12-18 (n=8), während der verlängerten Lutealphase von Tag 12-18 (n=4), an dem Tag x, an dem Veränderungen am Endometrium sonographisch darstellbar waren (n=3) und an dem Tag y, an dem klinische Veränderungen im Verhalten beobachtet wurden (n=3).

Die Gegenüberstellung der verschiedenen Stutengruppen erfolgte anhand der Mittelwerte des Blutflussparameters PI mit ihren Standardabweichungen. Zusammengefasst wurden die Messwerte aller 8 trächtigen Stuten von Tag 12-18, die Messwerte von 4 Stuten aus der Ballgruppe von Tag 12-18, die eine verlängerte Lutealphase zeigten, sowie die Messwerte der 3 in Rosse gekommenen Stuten aus der Ballgruppe an Tag S (S: sonographische Veränderungen am Endometrium) und die Messwerte der gleichen Stuten an Tag K (K: klinische Veränderungen im Verhalten). Die Stute H wurde, genauso wie beim Blutflussparameter RI, in der letzten Gruppe nicht mit berücksichtigt, da sie einen verkürzten Zyklus zeigte und an den Tagen 12-18 Follikelanbildung mit erneuter Ovulation zeigte.

Entsprechend den Beobachtungen an dem Parameter RI, unterscheiden sich die Trächtigkeitsgruppe und die Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase, die

Trächtigkeitsgruppe und die Stuten aus der Ballgruppe an Tag S, sowie die Trächtigkeitsgruppe und die Stuten aus der Ballgruppe an Tag K nicht signifikant voneinander ($p > 0,05$). Ebenfalls bestanden zwischen der Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag S einerseits, sowie zwischen der Ballgruppe mit verlängerter Lutealphase und den Stuten aus der Ballgruppe an Tag K andererseits keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$). Dies galt auch für die Stuten aus der Ballgruppe an Tag S zu Tag K ($p > 0,05$).

Auch anhand des Parameters PI war es nicht möglich trächtige Stuten, Stuten in verlängerter Lutealphase und rossende Stuten anhand des uterinen Blutflusses zu unterscheiden.

3.3. Einfluss der Applikation eines Kunststoffballs auf die uterine Durchblutung an Tag 3

3.3.1. Einfluss der Applikation eines Kunststoffballs auf den Resistance Index (RI) an Tag 3

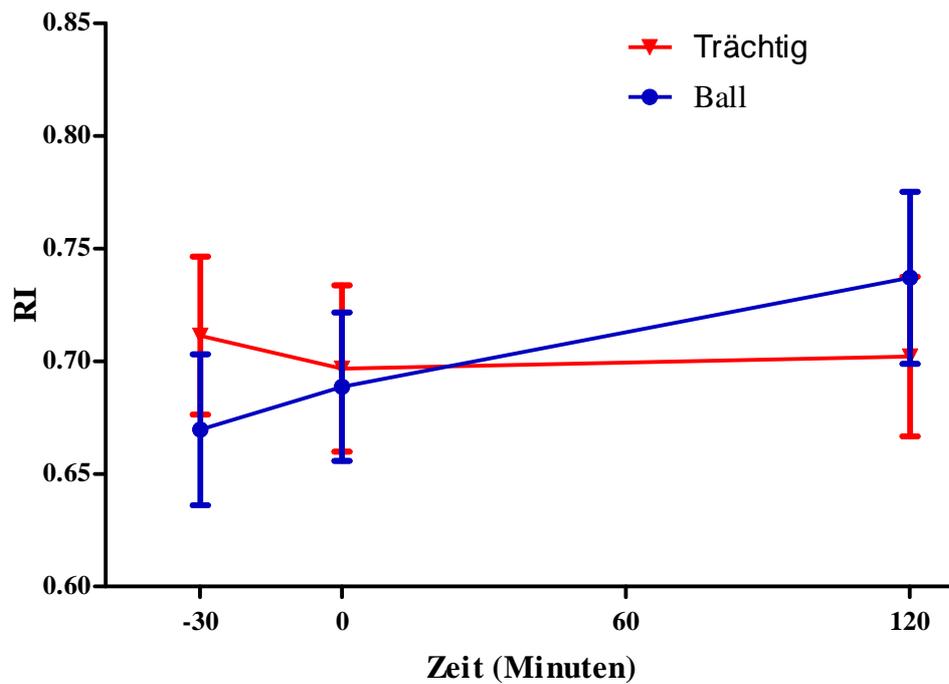


Abb. 4.28: Resistance Index (RI) (M \pm -SEM) an Tag 3 während der Frühgravidität (n=8) und während der Balleinführung (n=8), *0=Zeitpunkt der Balleinführung, kein signifikanter Unterschied zwischen den Werten ($p \geq 0,05$).

Der RI- Wert war in der Trächtigkeitsgruppe in der ersten Messung an Tag 3 noch am höchsten, sank dann geringfügig ab und blieb in der letzten Messung auf konstant gleichem Niveau. Über mehrere Tage betrachtet, war der RI in der Trächtigkeitsgruppe an Tag 2 am höchsten, sank dann konsekutiv ab und erreichte erst an Tag 5 seine Minimalwerte.

Auf ähnliche Art und Weise verhielt sich der RI- Wert in der Ballgruppe. Er war in der ersten Messung an Tag 3 am niedrigsten, stieg schon vor der Balleinführung an, stieg danach noch weiter an und erreichte seinen Maximalwert in der letzten Messung an Tag 3. Über einen größeren Zeitraum betrachtet, war der RI in der Ballgruppe auch an Tag 2 am höchsten. Im Gegensatz zur

Trächtigsgruppe sank er in der Ballgruppe steiler ab und erreichte sein Minimalwert schon an Tag 3. Ab diesem Tag stieg er im weiteren Verlauf wieder konsekutiv an.

Die RI-Mittelwerte der Kontrollgruppe (Trächtigsgruppe) unterschieden sich nicht signifikant von den RI-Mittelwerten aus der Ballgruppe ($p > 0,05$). Außerdem bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppierungen anhand des Schwierigkeitsgrades der Balleinführung in der Ballgruppe ($p > 0,05$).

3.3.2. Einfluss der Applikation eines Kunststoffballs auf den Pulsatility Index (PI) an Tag 3

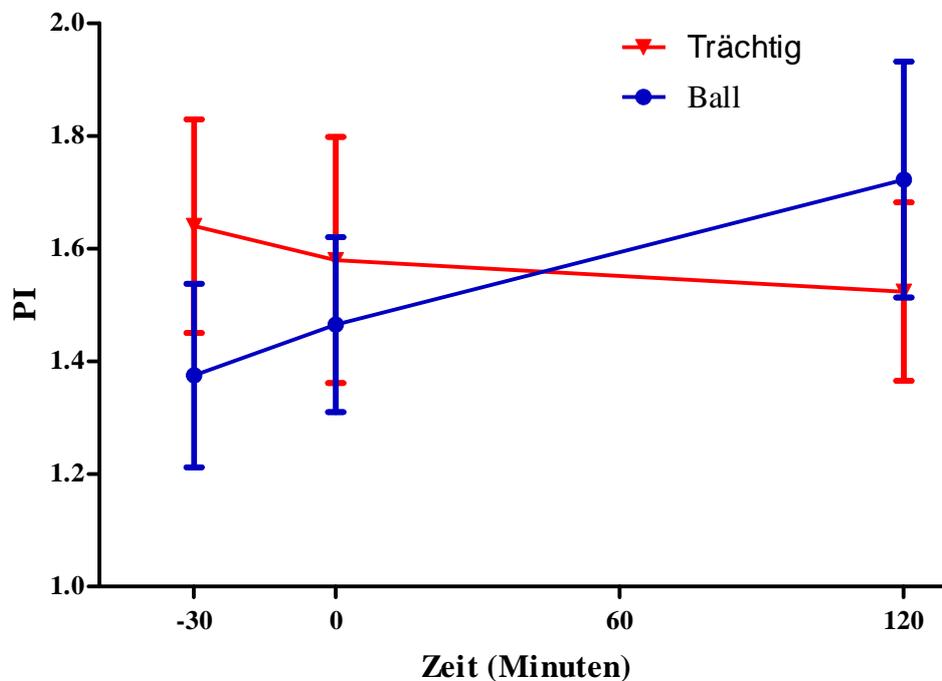


Abb. 4.29: Pulsatility Index (PI) (M \pm SEM) an Tag 3 während der Frühgravidität (n=8) und während der Balleinführung (n=8), *0=Zeitpunkt der Balleinführung, kein signifikanter Unterschied zwischen den Werten ($p \geq 0,05$).

Die PI-Werte der Trächtigsgruppe und der Ballgruppe verhielten sich an Tag 3 fast vollkommen gleich zu den RI- Werten. Über einen größeren Zeitraum gesehen wurde auch bei den Blutflussparameter PI deutlich, dass sich in der Trächtigsgruppe seine Werte an Tag 5 am Minimum befanden. Der gleiche Verlauf bestand auch in der Ballgruppe, hier hatten die PI- Werte an Tag 3 ihr

Minimum erreicht und stiegen ab diesem Tag wieder konsekutiv über die folgenden Tage an.

Kein signifikanten Unterschied bestand zwischen den PI-Mittelwerten der Trächtigkeitsgruppe und den PI-Mittelwerten der Ballgruppe ($p>0,05$). Auch wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppierungen anhand des Schwierigkeitsgrades der Balleinführung in der Ballgruppe gefunden ($p>0,05$).

3.4. Änderungen im uterinen Blutfluss durch die Lokalisation des equinen Konzeptus

Der equine Konzeptus konnte bei allen teilnehmenden Versuchsstuten erstmals am 11. Graviditätstag sonographisch dargestellt werden. Daher konnte erst ab diesem Zeitpunkt der Blutfluss zwischen gravidem und nicht gravidem Uterushorn verglichen werden. Das Uterushorn, in dem sich zum Zeitpunkt der Untersuchung der Embryo befand, wurde als gravid definiert und das kontralateral gelegene Horn als nicht gravid.

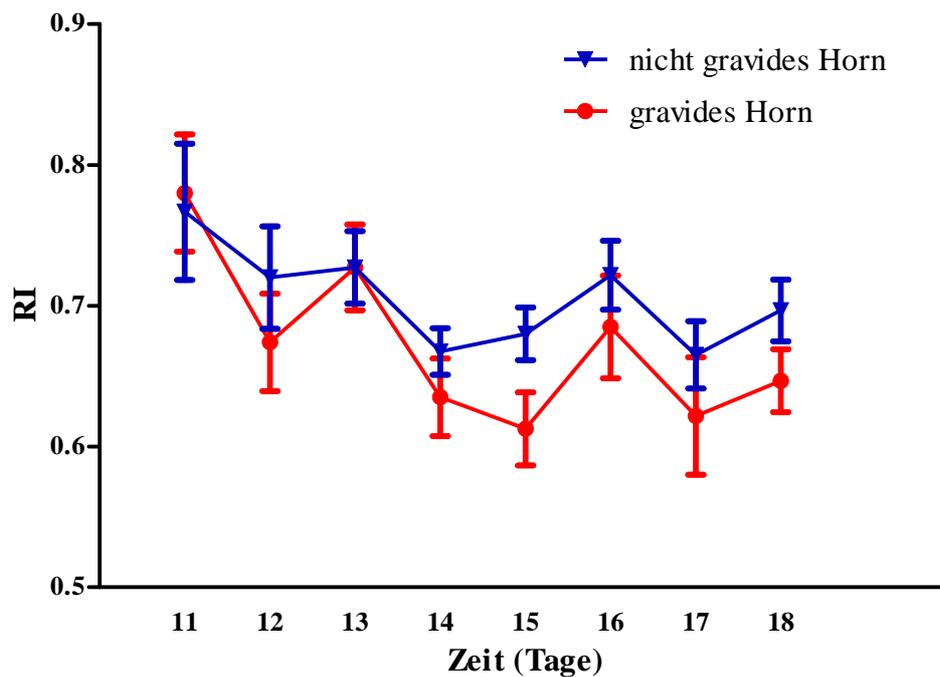


Abb. 4.30: Resistance Index (RI) (M \pm -SEM) zwischen dem 11. und 18. Trächtigkeitstag getrennt nach gravidem und nicht gravidem Uterushorn, kein signifikanter Unterschied zwischen gravidem und nicht gravidem Uterushorn ($p>0,05$).

Beim Vergleich des Blutflusses beider Seiten war bereits am 12. Tag post conceptionem in der A. uterina des graviden Horns zu erkennen, dass der Blutfluss hier geringfügig höher war. Im weiteren Verlauf der Trächtigkeit ab Tag 14 nahm die Differenz in der Blutversorgung zwischen gravidem und nicht gravidem Uterushorn weiter zu. Die Unterschiede im Blutfluss zwischen den beiden Uterushörnern waren bis Tag 18 nicht signifikant ($p>0,05$).

3.5. Änderungen im uterinen Blutfluss durch die Lokalisation des Kunststoffballs

Der kleine wassergefüllte Polypropylenball wurde bei allen teilnehmenden Versuchsstuten an Tag 3 post ovulationem durch die Zervix in den Uteruskörper eingeführt und konnte erstmals ab diesem Zeitpunkt sonographisch dargestellt werden. Der Vergleich des Blutflusses zwischen dem Horn mit Ball und dem Uterushorn ohne Ball war daher ab Tag 3 möglich. Das Uterushorn, in dem sich zum Zeitpunkt der Untersuchung der Kunststoffball befand, wurde als „Ball im Horn“ definiert und das kontralateral gelegene Horn als „Ball nicht im Horn“.

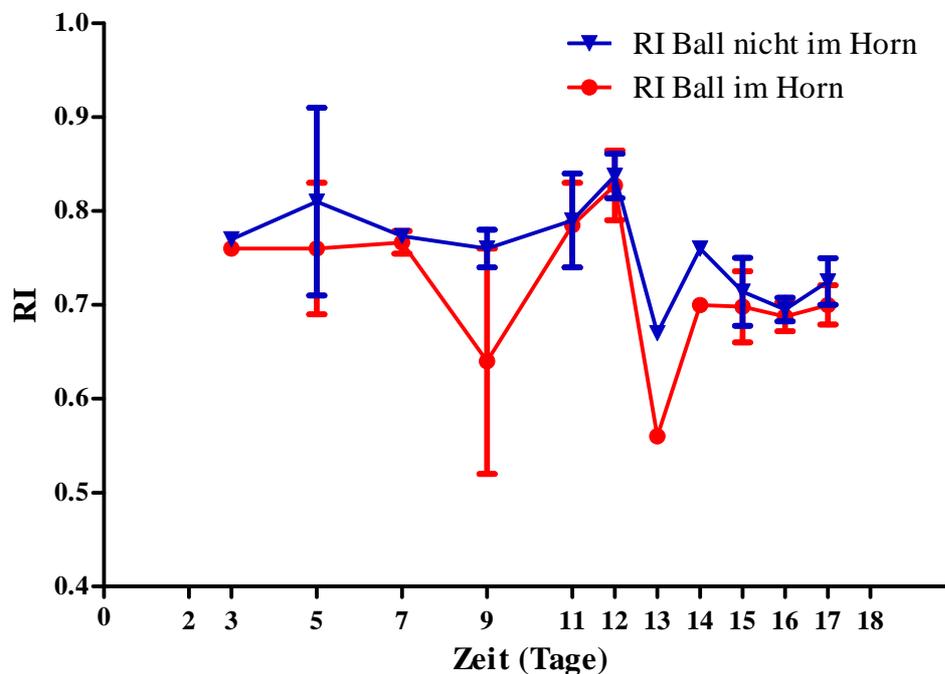


Abb. 4.31: Resistance Index (RI) (M±SEM) zwischen dem 3. und 18. Tag post ovulationem getrennt nach Ball im Horn und Ball nicht im Uterushorn, kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Uterushörnern ($p>0,05$).

Die uterine Durchblutung zwischen dem Horn mit Ball und dem Horn ohne Ball unterschied sich bereits geringfügig an Tag 3, der Blutfluss war im Horn mit Ball etwas höher. Im weiteren Verlauf erschien die Differenz in der Blutversorgung zwischen Horn mit Ball und Uterushorn ohne Ball nur an Tag 9 und 13 größer. Ähnlich wie während der Trächtigkeit, waren die Unterschiede im Blutfluss zwischen den beiden Uterushörnern bis Tag 18 nicht signifikant ($p>0,05$).

V. DISKUSSION

Blutflussmessungen am Reproduktionstrakt der Stute wurden in den letzten Jahren mehrfach mittels transrektaler Dopplersonographie durchgeführt. In diesen Studien konnten wichtige Erkenntnisse über physiologische Schwankungen des uterinen und ovariellen Blutflusses während des Zyklus und der Frühgravidität (BOLLWEIN et al., 1998; BOLLWEIN et al., 2002a; BOLLWEIN et al., 2002b; BOLLWEIN et al., 2003b), sowie den Einfluss unterschiedlicher exogener und endogener Faktoren auf die uterine und ovarielle Durchblutung der Stute gewonnen werden, wie beispielsweise die systemische Verabreichung von Sexualsteroiden, durchblutungsfördernden Mitteln und die intrauterine Applikation von Seminalplasma, welche teilweise positive Auswirkungen auf den uterinen Blutfluss hatten (BOLLWEIN et al., 2003a; BOLLWEIN et al., 2004a; BOLLWEIN et al., 2004b). Ein Einfluss auf die endometriale Durchblutung konnte auch für den Pferdeembryo nachgewiesen werden. Eine erhöhte endometriale Durchblutung trat an der Lokalisation des mobilen Embryos auf (SILVA et al., 2005). Als verantwortlich dafür werden vom Embryo produzierte Stimuli, wie Proteine, Steroide und Prostaglandine (STOUT & ALLEN, 2002; SILVA et al., 2005) angesehen. Ebenso konnte eine unterschiedliche Blutversorgung zwischen gravidem und nicht gravidem Uterushorn gezeigt werden. Der Blutfluss war in der A. uterina ipsilateral zum Konzeptus höher (BOLLWEIN et al., 2003b).

Die Embryomobilität und die Produktion zahlreicher Stimuli von Seiten des Embryos sind Mechanismen der embryo-maternalen Kommunikation, ein sehr komplexer Vorgang, der bis heute beim Pferd noch viele ungelöste Fragen aufwirft. Durch das Einsetzen eines Kunststoffballs oder einer Glaskugel in die Gebärmutter konnte bei einigen Stuten die Lutealphase vermutlich durch den mechanischen Reiz über die physiologische Dauer hinaus verlängert werden. Zusätzlich konnte bei diesen Stuten eine erhöhte Progesteronkonzentration im Blutplasma nachgewiesen werden (NIE et al., 2001; RIVERA DEL ALAMO et al., 2008).

In der vorliegenden Arbeit wurde mithilfe der Dopplersonographie überprüft, wie sich ein intrauterin applizierter Kunststoffball auf die Durchblutung des Uterus

und des Corpus luteum der Stute auswirkte.

1.1. Durchblutung und hormonelle Aktivität des Corpus luteum

Untersuchungen des lutealen Blutflusses mittels Power-Dopplersonographie wurden bislang bei der Stute während des Zyklus und der Frühgravidität durchgeführt (BOLLWEIN et al., 2002a; GINTHER et al., 2007). In diesen Studien konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Plasmaprogesteronkonzentration und der CI-Perfusion dargestellt werden (GINTHER et al., 2007).

In der vorliegenden Arbeit war die CI-Durchblutung während der Frühgravidität, gemessen an der durchbluteten CI-Fläche, an den ersten Tagen nach der Ovulation noch relativ gering, stieg rasch bis Tag 5 und erreichte Maximalwerte an Tag 11. Ab diesem Zeitpunkt verminderte sie sich geringfügig und blieb bis zum Ende des Versuchs auf konstantem Niveau. Diese Beobachtungen stimmten mit denen vorangehender Untersuchungen überein (MAYER, 1999; BOLLWEIN et al., 2002a).

Die CI-Durchblutung verhielt sich bei den Stuten, die in diesen Untersuchungen durch den intrauterinen Kunststoffball eine verlängerte Lutealphase zeigten, ähnlich der Perfusion in der Frühgravidität. Bei den Stuten, die trotz Kunststoffball wieder in Rosse kamen, war jedoch an Tag 14 ein starker Rückgang der CI-Perfusion zu verzeichnen. Diese Ergebnisse konnten auch in anderen Studien bei zyklischen Stuten beobachtet werden. Die starke Verminderung der Durchblutung zu diesem Zeitpunkt ist durch das Einsetzen der Luteolyse zu erklären (BOLLWEIN et al., 2002a).

Alle Stuten, sowohl diejenigen aus der Kunststoffballgruppe, als auch diejenigen aus der Trächtigsgruppe, zeigten eine geringfügige Verminderung der Durchblutung an Tag 7 und wieder einen Anstieg der Durchblutung an Tag 9. In der Literatur gab es zu diesen Verläufen unterschiedliche Angaben. Während die Ergebnisse mit den Beobachtungen anderer Untersuchungen übereinstimmten (HOFFMANN, 2010), konnten diese Unterschiede in einer anderen Studie nicht beobachtet werden (MAYER, 1999; BOLLWEIN et al., 2002a).

Der Anteil durchbluteter CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche in Prozent verlief in dieser Studie bei allen Stuten der beiden Versuchsreihen nahezu parallel zur durchbluteten CI-Fläche. Der beobachtete Anstieg des prozentualen Anteils in

dieser vorliegenden Arbeit konnte in einer anderen Studie nur erahnt werden (GINTHER et al., 2007).

Zwischen dem Plasmaprogesteronspiegel und der durchbluteten CI-Fläche, sowie dem Plasmaprogesteronspiegel und dem Anteil durchbluteter CI-Fläche an CI-Gesamtfläche bestanden positive Korrelationen (Abb. 4.2 und Abb. 4.3). Die Progesteronkonzentration im Blutplasma erreichte während der Frühgravidität zwischen Tag 7 und Tag 9 Maximalwerte und blieb ab Tag 11 aufgrund der ausbleibenden Luteolyse konstant hoch. Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Studien überein (STOLLA et al., 1980; BOLLWEIN et al., 2003b). Gleichermaßen verhielten sich die Plasmaprogesteronwerte der Stuten mit induzierter Verlängerung der Lutealphase.

Bei den umrossenden Stuten hingegen konnte ein nahezu gleichzeitiges Absinken der Plasmaprogesteronkonzentration und der CI-Durchblutung an Tag 14 beobachtet werden. Dies entspricht nicht vorangehenden Untersuchungen. In einer Studie wurde das Absinken der Progesteronwerte vor dem Rückgang des lutealen Blutflusses beobachtet (GINTHER et al., 2007), in einer anderen Studie zuerst die Abnahme der CI-Durchblutung gefolgt von einem Abfall der Plasmaprogesteronkonzentration (BOLLWEIN et al., 2002a). Das in dieser Arbeit beobachtete gleichzeitige Absinken der CI-Durchblutung und der Plasmaprogesteronkonzentration bei den umrossenden Stuten könnte auf die Anwesenheit des Kunststoffballs im Uterus zurückzuführen sein, der möglicherweise den Ablauf der Luteolyse verlangsamen könnte. Durch die erlangten Ergebnisse dieser vorliegenden Arbeit, ist anzunehmen, dass der intrauterin applizierte Kunststoffball bei einigen Stuten großen Einfluss auf die CI-Durchblutung und die Progesteronproduktion im Corpus luteum hat. Der sich im Uterus der Stute befindende Kunststoffball besitzt vermutlich die Fähigkeit durch seine Bewegungen im Uteruslumen und seine ständig ausübenden mechanischen Reize am Endometrium einige Mechanismen der embryo-maternalen Erkennung zu aktivieren und somit die Luteolyse zu unterdrücken. Die Anwesenheit des Polypropylenballs wäre eventuell auch eine mögliche Erklärung für überdurchschnittlich hohe Progesteronwerte während der äußerlichen und innerlichen Rosse bei diesen Stuten. Laut Literatur liegen die Plasmaprogesteronkonzentrationen bei zyklischen Stuten während der Rosse deutlich unter 1ng/ml (AURICH, 2005). In der vorliegenden Studie aber traten bei

den umrossenden Stuten schon sonographische Veränderungen am Endometrium und klinische Rosseanzeichen mit Änderungen im Verhalten bei Plasmaprogesteronwerten von noch deutlich über 1ng/ml auf.

1.2. Blutfluss in der A. uterina

Während der Frühgravidität zeigte sich bei allen Stuten eine vergleichbare wellenartige Veränderung der uterinen Blutversorgung. Der uterine Blutfluss, gemessen an den Widerstandsindices RI und PI, war an Tag 2 nach der Ovulation am geringsten, steigerte sich deutlich bis Tag 5 und verringerte sich dann bis Tag 11 wieder etwas. Ab diesem Zeitpunkt stieg der Blutfluss wieder langsam an und blieb bis zum Ende des Versuchs an Tag 18 nahezu konstant. Zwischen den Widerstandsindices RI und PI konnte eine hohe signifikante Korrelation beobachtet werden (Abb. 4.21). Diese Messergebnisse entsprechen denen vorangegangener Studien (BOLLWEIN et al., 2003b; BOLLWEIN et al., 2004a).

In dieser vorliegenden Arbeit unterschied sich der uterine Blutfluss der trächtigen Stuten während des gesamten Versuchs bis Tag 18 post ovulationem nur unwesentlich von dem der Stuten aus der Kunststoffballgruppe mit verlängerter Lutealphase und dem der rossenden Stuten aus dieser Gruppe. Diese Beobachtungen stimmen weitgehend mit denen anderer Studien überein. Der uterine Blutfluss verhielt sich während der Frühgravidität etwa wie im Zyklus (MAYER, 1999; BOLLWEIN et al., 2003b).

Darüber hinaus konnte in dieser Arbeit ein, wenn auch nicht signifikanter, Unterschied in der Durchblutung zwischen gravidem und nicht gravidem Uterushorn festgestellt werden. Diese Beobachtung machten auch andere Autoren in vorhergehenden Studien (MAYER, 1999; SILVA et al., 2005). Ursächlich für die kontinuierliche Zunahme des uterinen Blutflusses im trächtigen Horn wurden die vom Pferdeembryo synthetisierten Östrogene und andere Sekretionsprodukte im Zusammenhang mit seiner Lokalisation vermutet (BAZER et al., 1986; WATSON & SERTICH, 1989; STOUT & ALLEN, 2002; SILVA et al., 2005). Ähnliche Durchblutungsveränderungen waren in der vorliegenden Studie aber auch bei den Stuten mit intrauterin applizierten Kunststoffbällen, die eine verlängerte Lutealphase zeigten, nachzuweisen. Der uterine Blutfluss war in dem Uterushorn, in welchem sich der Kunststoffball befand, höher als im gegenüberliegenden Horn. Diese Messungen zeigen, dass der erhöhte Blutfluss

hauptsächlich durch die mechanische Kontaktaufnahme des Konzeptus bzw. des Kunststoffballs mit dem Endometrium auslösbar ist. Durch diesen mechanischen Reiz werden vermutlich noch andere Faktoren im Endometrium aktiviert, die neben der Östrogenproduktion des Embryos die Durchblutung im Uterushorn steigern.

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen vermuten, dass der intrauterine Kunststoffball nicht nur aufgrund seines mechanischen Reizes am Endometrium die Prostaglandinsynthese hemmt und somit die Luteolyse unterdrückt, sondern dass durch seine Mobilität und Kontaktaufnahme mit dem maternalem Gewebe eine Kaskade von Faktoren ausgelöst wird und dass diese Imitation der Frühgravidität für die Verlängerung der Lutealphase verantwortlich ist. Da viele Fragen zu der embryo-maternalen Erkennung noch nicht geklärt sind, werden weiterführende Untersuchungen benötigt, um diese Vermutungen zu beweisen.

Die in dieser Studie verwendeten Polypropylenbälle entsprachen physikalisch denen, die in der Arbeit von RIVERA DEL ALAMO et al. benutzt wurden. Dort wählte man die im Vergleich zu den häufiger verwendeten Glasmurmeln, leichtere und kleinere Plastikbälle, um eine bessere Vorwärtsbewegung durch die Gebärmuttermuskulatur zu erzielen. Es stellte sich jedoch heraus, dass die Bälle ebenso wie die Glasmurmeln zumeist im Corpus uteri und in der Gegend um die Bifurkation auffindbar waren. Trotz dieser relativen Unbeweglichkeit konnten die Untersucher eine Lutealpersistenz von 75% erzielen. Außerdem konnten die Autoren bei denjenigen Stuten, bei denen die Verlängerung der Lutealphase misslang, zwischen Tag 11 und 16 frequentere Uteruskontraktionen, ähnlich dem Kontraktionsmuster der Kontrollgruppe, nachweisen. Die Stuten mit Lutealpersistenz hingegen wiesen zu dieser Periode signifikant geringere Uteruskontraktionen und niedrigere Prostaglandinspiegel auf (RIVERA DEL ALAMO et al., 2008). Dies steht im Gegensatz zu den eigenen Beobachtungen in der vorliegenden Untersuchung: Bei den rossenden Stuten aus der Kunststoffballgruppe wurden weniger stark ausgeprägte Wanderungen des Kunststoffballs im Uteruslumen und in den Uterushörnern beobachtet. Bei den Stuten mit erfolgreich verlängerter Lutealphase war der Ball während den täglichen Messungen doppelt so oft in einem Uterushorn anzutreffen wie bei den rossenden Stuten. Die mobile Phase ist für die Etablierung der Trächtigkeit essentiell, der Embryo wechselt im Durchschnitt halbstündlich von einem Horn

ins andere (GINTHER, 1983, 1984; ALLEN, 2001; SILVA et al., 2005). Dass die unmittelbare, möglichst großflächige Kontaktaufnahme des Pferdeembryos mit dem mütterlichen Endometrium ein wichtiger Teil des antiluteolytischen Signals ist, wurde auch eindrucksvoll durch die Studie von McDOWELL et al. belegt, die die Wanderung an verschiedenen Stellen des Uterus durch Ligaturen chirurgisch unterbanden. Diejenigen Embryonen, die nur in einem Gebärmutterhorn umher transportiert werden konnten, starben zu 100 bzw. 80% an den Tagen 14-16 ab. Die Verlustrate verringerte sich mit der Zunahme der zur Wanderung verfügbaren Fläche (MCDOWELL et al., 1988).

Als mögliche Ursache für die einsetzende Luteolyse ist somit auch die geringe Bewegung des Kunststoffballs im Uterus denkbar. Über die auslösende Kraft, die für die Mobilität verantwortlich ist, kann nur gemutmaßt werden. Die Tatsache, dass in dieser Studie bei 50% der Stuten der verwendete Kunststoffball nicht in der Lage war, die Luteolyse mechanisch erfolgreich zu unterdrücken, spricht möglicherweise auch für eine nicht optimale physikalische Eigenschaft (Größe, Gewicht, Oberflächenbeschaffenheit) des Balls oder eine individuell unterschiedliche Anforderung der Stutenuteri. Eine multipare Stute zeigte im Erst- und Wiederholungsversuch keine verlängerte Lutealphase und verlor, vermutlich aufgrund einer ungenügend geschlossenen Portio nach mehreren Geburten, den Kunststoffball in der Rosse.

Eine andere Ursache für die einsetzende Rosse bei den Stuten mit intrauterin appliziertem Kunststoffball wäre eine Endometritis (AURICH, 2005), hervorgerufen durch eine Kontamination bei der Balleinführung. Geringgradige intrauterine Flüssigkeitsansammlungen um den Kunststoffball konnten in dieser Arbeit bei drei von vier rossenden Stuten beobachtet werden. Klinische Symptome einer Endometritis in Form von vaginalem Ausfluss zeigten sie nicht.

1.3. Schlussfolgerung

Zusammenfassend ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen, dass die Applikation eines Kunststoffballs in den Uterus der Stute bei 4 von 8 Stuten eine Verlängerung der Lutealphase hervorgerufen hat. In der Studie von NIE et al. (2001) zeigten 40 Prozent eine verlängerte Lutealphase, in einer anderen Studie hingegen zeigten 75 Prozent der Versuchsstuten eine mechanisch verlängerte Lutealphase über die physiologische Dauer hinaus (NIE et al., 2001;

RIVERA DEL ALAMO et al., 2008).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass der intrauterine Kunststoffball Einfluss auf die uterine und ovarielle Durchblutung hat. Die CI-Durchblutung, die Plasmaprogesteronkonzentrationen und der Unterschied im uterinen Blutfluss zwischen dem Horn mit Ball und dem Horn ohne Ball, ähnlich wie in der Trächtigkeit, lassen eine Imitation der Frühgravidität durch den intrauterin applizierten Polypropylenball vermuten. Um einen sichtbaren Unterschied im uterinen Blutfluss anhand der Parameter RI und PI darzustellen, werden weitere Studien über einen längeren Untersuchungszeitraum benötigt.

Über mögliche Ursachen für die einsetzende Rosse bei manchen Stuten kann nur spekuliert werden. Weitere Studien zu den hier wirksamen Mechanismen sind notwendig.

Da unerwünschtes Rosseverhalten bei einigen Stuten zu Handlings- und Rittigkeitsproblemen führen kann, stellt diese mechanische Methode der Rosseunterdrückung nach wie vor trotz ihrer mäßigen Erfolgsrate eine Alternative zur Hormontherapie dar. Stuten, die während des Östrus an Rennen oder Turnieren teilnehmen, sind durch männliche Mitbewerber leichter zu beeinflussen und zeigen häufig nicht ihr hundertprozentiges Leistungsvermögen. Eine Hormonbehandlung würde gegen existierende Dopingregeln verstoßen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mithilfe der transrektalen Dopplersonographie Erkenntnisse über die Auswirkungen eines intrauterin applizierten Kunststoffballs auf die uterine und ovarielle Durchblutung zu erlangen. Durch das Einsetzen eines wassergefüllten Polypropylenballs in den Uterus der Stute sollte die Lutealphase über ihre physiologische Dauer hinaus verlängert werden.

Die Untersuchungen erfolgten an 8 klinisch gesunden Traberstuten. Jede der 8 Stuten durchlief zwei Versuchsanordnungen: 1) Trächtigkeitsgruppe (Kontrollgruppe) und 2) Uterusballgruppe (Einsetzen eines Kunststoffballs in den Uterus). In beiden Gruppen wurden an den Tagen 2, 3, 5, 7 und 9 sowie anschließend täglich an den Tagen 11 bis 18 transrektale Blutflussmessungen durchgeführt. In der Trächtigkeitsgruppe wurden die Stuten mit Frischsamen von einem fertilen Hengst besamt und in der Ballgruppe wurde der Kunststoffball an Tag 3 in den Uterus der Stuten eingesetzt. Der Tag der Ovulationsfeststellung wurde als Tag 0 definiert.

Der Blutfluss der A. uterina wurde farbdopplersonographisch erfasst und mit Hilfe der Widerstandsindices Resistance Index (RI) und Pulsatility Index (PI) semiquantitativ ausgewertet. Die Perfusion des Corpus luteum wurde im Power-Doppler-Mode dargestellt und mit Hilfe der Software Pixelflux® ausgewertet. Als Auswertungsparameter wurden die CI-Gesamtfläche, die durchblutete CI-Fläche und der Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche errechnet. Zusätzlich zu den Blutflussmessungen wurden EDTA-Blutproben zur Plasmaprogesteronbestimmung aus der V. jugularis entnommen und mittels Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) der Plasmaprogesteron Gehalt bestimmt.

4 von 8 Versuchsstuten zeigten eine mechanisch verlängerte Lutealphase in Zusammenhang mit dem intrauterin applizierten Kunststoffball. Bei den anderen 4 Stuten konnten Rossesymptome und Anzeichen einer Luteolyse diagnostiziert werden.

Bei den Stuten in der Frühgravidität und bei den Stuten, die eine verlängerte Lutealphase durch den intrauterinen Kunststoffball zeigten, waren alle

Auswertungsparameter, durchblutete CI-Fläche, Anteil der durchbluteten CI-Fläche an der CI-Gesamtfläche, Plasmaprogesteronkonzentration, RI und PI, denen der Frühgravidität in vorangehenden Studien sehr ähnlich. Bei den Stuten mit verlängerter Lutealphase konnte eine erhöhte Beweglichkeit des Kunststoffballs beobachtet werden, er wurde bei diesen Stuten doppelt so oft in den Hörnern angetroffen wie bei den rossig gewordenen Stuten.

Die Blutflussparameter der Stuten, die trotz intrauterinem Kunststoffball wieder in Rosse kamen, waren nahezu identisch mit denen zyklischer Stuten in vorangehenden Studien. Der Kunststoffball bewegte sich bei diesen Stuten nur sehr wenig und befand sich die meiste Zeit im Corpus uteri. Einige dieser Stuten entwickelten geringgradige intrauterine Flüssigkeitsansammlungen um den Kunststoffball (Durchmesser <2cm).

Der uterine Blutfluss, gemessen an RI und PI, der trächtigen Stuten unterschied sich während des gesamten Versuchs bis einschließlich Tag 18 nur unwesentlich von dem der Stuten aus der Kunststoffballgruppe mit verlängerter Lutealphase und dem der rossenden Stuten aus dieser Gruppe. RI und PI wiesen hohe signifikante Korrelationen auf ($r=0,98$, $p<0,0001$).

Zwischen dem graviden und nicht graviden Horn, sowie zwischen dem Horn mit Kunststoffball und dem Horn ohne Kunststoffball konnten Unterschiede in der Durchblutung festgestellt werden. Die Unterschiede im Blutfluss zwischen den beiden Uterushörnern waren, sowohl in der Trächtigsgruppe, als auch in der Uterusballgruppe, nicht signifikant.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass für die kontinuierliche Zunahme des uterinen Blutflusses im graviden Uterushorn bzw. im Horn mit Kunststoffball nicht nur die vom Pferdeembryo produzierten Stimuli verantwortlich sind, sondern dass durch die mobile Phase und den mechanischen Reiz am Endometrium eine Aktivierung anderer Mechanismen erfolgt, die an der embryo-maternalen Erkennung beteiligt sind. Es ist davon auszugehen, dass durch den Kunststoffball im Uterus bei einigen Stuten eine Frühgravidität imitiert werden kann.

Diese mechanische Methode der Rosseunterdrückung stellt hinsichtlich existierender Dopingregeln eine Alternative dar um unerwünschtes Rosseverhalten bei Handlings- und Rittigkeitsproblemen von Stuten zu unterdrücken.

VII. SUMMARY

The aim of this study was to estimate the effect of an intrauterine device (IUD) on uterine and luteal blood flow using transrectal color Doppler sonography. IUDs were inserted in the uterus of mares to prolong luteal function and to suppress undesirable strong oestrus signs in mares.

Eight trotter mares were examined on days 2, 3, 5, 7, 9 and daily on days 11 to 18 in two cycles. During the first cycle mares were inseminated with cooled semen from a fertile stallion and examined during early pregnancy. In the second cycle mares received an intrauterine device on day 3. The intrauterine device used was a water-filled polypropylene ball of 20mm diameter. The day ovulation was detected was defined as day 0.

Blood flow of the uterine artery was measured using color Doppler sonography and evaluated semiquantitatively by the resistance index (RI) and the pulsatility index (PI). Perfusion of the corpus luteum was visualized using Power Doppler sonography and was analyzed by the software Pixelflux®. Luteal blood flow was estimated using the total area of the corpus luteum, blood flow area of the corpus luteum and percentage of blood flow area to the total area of the corpus luteum. Blood samples for progesterone analysis were collected after every blood flow measurement and plasma progesterone levels were determined using an Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA).

Four of eight mares showed a mechanical prolonged luteal phase after receiving an intrauterine polypropylene ball. Four mares did not exhibit prolonged luteal persistence and returned to regular estrous cycle.

In early pregnant mares and in mares with prolonged luteal phase due to the influence of the IUD blood flow area, percentage of blood flow to the total area of the corpus luteum, plasma progesterone levels, RI and PI were similar to previous studies. In mares showing luteal persistence a higher mobility of the polypropylene ball could be observed. It was detected in a uterine horn twice as much as in mares returning to estrous.

Luteal blood flow parameters of mares that returned to estrous despite receiving an intrauterine device were almost identical to those of cycle mares in previous

studies. The IUD moved less in these mares and spent his time mostly in the Corpus uteri. Some of those mares developed small accumulations of intrauterine fluid around the polypropylene ball (diameter <2 cm).

Uterine blood flow measured by RI and PI did not show significant differences between pregnant mares, mares with prolonged luteal phase and mares returning to estrous. High significant positive correlation between RI and PI were observed ($r= 0,98$, $p <0,0001$).

Differences in blood flow between the uterine horn containing the conceptus and the contralateral horn as well as between the horn containing the polypropylene ball and the contralateral horn were recorded. The differences in blood flow between both uterine horns in both groups were not significant.

The findings of this study indicate that the rise in uterine blood flow in the horn containing the conceptus and the horn containing the intrauterine device was not only triggered by the hormonal stimuli produced by the equine conceptus but that mechanical stimuli alone are able to activate other mechanisms that are involved in embryo-maternal interaction. Results indicate that an intrauterine device is able to mimic early pregnancy in some mares.

A mechanical method to suppress undesirable strong estrous signs in performance mares is a viable alternative to hormonal estrous suppression especially under current doping regulations.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Allen W. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction* 2001; 121: 513-27.

Asa CS, Goldfoot DA, Garcia MC, Ginther OJ. Sexual behavior in ovariectomized and seasonally anovulatory pony mares (*Equus caballus*). *Hormones and Behavior* 1980; 14: 46-54.

Aurich C (2005) Reproduktionsmedizin beim Pferd - Gynäkologie - Andrologie - Geburtshilfe. Parey

Baumgartner UM (1998) Farbdopplersonographische Untersuchung der A. uterina und des Corpus luteum beim Rind. In: Gynäkologische und Ambulatorische Tierklinik. Ludwig-Maximilians-Universität München, München. 109

Bazer FW, Vallet JL, Roberts RM, Sharp DC, Thatcher WW. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. *J Reprod Fertil* 1986; 76: 841-50.

Bollwein H, Stolla R (1996) The effect of PGF_{2a} on luteal Vascularisation in mares studied by color doppler sonography. In: The 13th International Congress on Animal Reproduction Sydney, Australia

Bollwein H, Maierl J, Mayer R, Stolla R. Transrectal color doppler sonography of the A. uterina in cyclic mares. *Theriogenology* 1998; 49: 1483-8.

Bollwein H, Meyer HHD, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R. Transrectal doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. *Theriogenology* 2000; 53: 1541-52.

Bollwein H, Mayer R, Weber F, Stolla R. Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology* 2002a; 57: 2043-51.

Bollwein H, Weber F, Kolberg B, Stolla R. Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology* 2002b; 57: 2129-38.

Bollwein H, Sowade C, Stolla R. The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow in mares. *Theriogenology* 2003a; 60: 607-16.

Bollwein H, Mayer R, Stolla R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. *Theriogenology* 2003b; 60: 597-605.

Bollwein H, Kolberg B, Stolla R. The effect of exogenous estradiol benzoate and altrenogest on uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology* 2004a; 61: 1137-46.

Bollwein H, Weber F, Steffen S, Stolla R. The effect of acetylsalicylic acid and captopril on uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology* 2004b; 61: 301-9.

Bollwein H, Diaz L, Sieme H. Zusammenhänge zwischen Alter, Parität, endometrialer Fibrosierung, Frühgraviditätsrate und uteriner Durchblutung bei der Stute. *Tierärztl Prax* 2008; 36: 204-8.

Daels P, McCue P, DeMoraes M, Hughes J. Persistence of the luteal phase following ovulation during altrenogest treatment in mares. *Theriogenology* 1996; 46: 799 - 811.

Daels PF, Hughes JP. Fertility control using intrauterine devices: An alternative for population control in wild horses. *Theriogenology* 1995; 44: 629-39.

Dickey R. Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. *Human Reproduction Update* 1997; 3: 467-503.

Doppler C (1842) Über das farbige Licht der Doppelsterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. Abhandlung der Böhmisches Gesellschaft der Wissenschaften 467

Dowsett KF, Knott LM, Woodward RA, Boder DAV. Seasonal variation in the estrous cycle of mares in the subtropics. *Theriogenology* 1993; 39: 631-53.

Elhay M, Newbold A, Britton A, Turley P, Dowsett K, Walker J. Suppression of behavioural and physiological oestrus in the mare by vaccination against GnRH. *Australian Veterinary Journal* 2007; 85: 39-45.

Ferreira JC, Gastal EL, Ginther OJ. Uterine blood flow and perfusion in mares with uterine cysts: effect of the size of the cystic area and age. *Reproduction* 2008; 135: 541-50.

Fortney JA, Feldblum PJ, Raymond EG. Intrauterine devices: The optimal long-term contraceptive method? *J Reprod Med* 1999; Mar 44: 269-74.

Ginther O. Prolonged luteal activity in mares- a semantic quagmire. *Equine Vet J* 1990; 22: 152 - 6.

Ginther OJ, Garcia MC, Squires EL, Steffenhagen BS. Anatomy of Vasculature of Uterus and Ovaries in the Mare. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33: 1561-68.

Ginther OJ. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology* 1983; 19: 603-11.

Ginther OJ. Intrauterine movement of the early conceptus in barren and postpartum mares. *Theriogenology* 1984; 21: 633-44.

Ginther OJ. Ultrasonic imaging of equine ovarian follicles and corpora lutea. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1988; 4: 192-213.

Ginther OJ, Pierson RA. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. *Journal of Equine Veterinary Science* 1989; 9: 4-12.

Ginther OJ. *Equine Pregnancy: Physical Interactions Between the Uterus and Conceptus*. AAEP Proceedings 1998; 44: 73-104.

Ginther OJ, Beg MA, Gastal EL, Gastal MO, Baerwald AR, Pierson RA. Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: a comparative study. *Reproduction* 2005; 130: 379-88.

Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Utt MD, Beg MA. Luteal blood flow and progesterone production in mares. *Animal Reproduction Science* 2007; 99: 213-20.

Ginther OJ (2007) *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color Doppler Ultrasonography*. Equiservices Publishing. 258 pages

Ginther OJ. A 40-year odyssey into the mysteries of equine luteolysis. *Theriogenology* 2009; 72: 591-8.

Gosling RG, Dunbar G, King DH, Newman DL, Side CD, Woodcock JP, Fitzgerald DE, Keates JS, Macmillan D. The Quantitative Analysis of Occlusive Peripheral Arterial Disease By a Non-Intrusive Ultrasonic Technique. *Angiology* 1971; 22: 52-5.

Goswamy RK, Steptoe PC. Doppler ultrasound studies of the uterine artery in spontaneous ovarian cycles. *Human Reproduction* 1988; 3: 721-6.

Hayes KEN, Pierson RA, Scraba ST, Ginther OJ. Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. *Theriogenology* 1985; 24: 465-77.

Hedberg Y, Dalin A-M, Santesson M, Kindahl H. A preliminary study on the induction of dioestrous ovulation in the mare - a possible method for inducing prolonged luteal phase. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2006; 48: 12.

Hoffmann T (2010) Einfluss der standardisierten Zervixdilatation auf die uterine und luteale Durchblutung der Stute. In: *Klinik für Pferde*. Ludwig-Maximilians-Universität München, München

Irvine CHG. Endocrinology of the estrous cycle of the mare: Applications to embryo transfer. *Theriogenology* 1981; 15: 85-104.

König HE, Ries R. Korrosionsanatomische Untersuchungen am Blutgefäßsystem des Eierstockes der Stute. *Tierärztl Prax* 1987; 15: 181-4.

Krzymowski T, Stefanczyk-Krzymowska S. The oestrous cycle and early pregnancy - a new concept of local endocrine regulation. *The Veterinary Journal* 2004; 168: 285-96.

Kurjak A, Fleischer AC (1998) *Doppler Ultrasound in Gynecology*. The Parthenon Publishing Group. 166

Leith GS, Ginther OJ. Characterization of intrauterine mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology* 1984; 22: 401-8.

Martinoli C, Derchi LE, Rizzatto G, Solbiati L. Power Doppler sonography: general principles, clinical applications, and future prospects. *European Radiology* 1998; 8: 1224-35.

Mayer RC (1999) Farbdopplersonographische Untersuchung der A. uterina und des Corpus luteum während des Zyklus und der Frühgravidität der Stute. In: *Gynäkologische und Ambulatorische Tierklinik*. Ludwig-Maximilians-Universität München, München

McCue PM, Lemons SS, Squires EL, Vanderwall DK. Efficacy of Synovex-S Implants in suppression of estrus in the mare. *Journal of Equine Veterinary Science* 1997; 17: 327-9.

McDowell KJ, Sharp DC, Grubaugh W, Thatcher WW, Wilcox CJ. Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance in mares. *Biology of Reproduction* 1988; 39: 340-8.

Merritt CR. Doppler US: the basics. *Radiographics* 1991; 11: 109-19.

Merz E (1997) *Sonographische Diagnostik in Gynäkologie und Geburtshilfe*. Georg Thieme Verlag

Murphy KJ, Rubin JM. Power Doppler: It's a good thing. *Seminars in Ultrasound, CT, and MRI* 1997; 18: 13-21.

Nelson T, Pretorius D. The Doppler signal: where does it come from and what does it mean? *Am. J. Roentgenol.* 1988; 151: 439-47.

Nickel R, Schummer S, Seiferle E. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. 1996; Band III, Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane, 3., überarbeitete Auflage

Nickel R, Schummer S, Seiferle E. *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere*. 1999; Band II, Eingeweide, 8., vollst. neubearbeitete Auflage

Nie G, Johnson K, Wenzel J. Use of a Glass Ball to suppress behavioral estrus in mares. *AAEP Proceedings* 2001; 47: 246-8.

Plotka ED, Vevea DN, Eagle TC, Tester JR, Siniff DB. Hormonal contraception of feral mares with silastic rods. *Journal of Wildlife Diseases* 1992; 28: 255-62.

Portus BJ, Reilas T, Katila T. Effect of seminal plasma on uterine inflammation, contractility and pregnancy rates in mares. *Equine Vet. J.* 2005; 37: 515-9.

Poulsen Nautrup C. Doppler ultrasonography of canine maternal and fetal arteries during normal gestation. *J Reprod Fertil* 1998; 112: 301-14.

Pourcelot L. Applications cliniques de l'examen Doppler. *Ultrasonor. Doppler* 1974; 34: 625-7.

Rivera del Alamo MM, Reilas T, Kindahl H, Katila T. Mechanisms behind intrauterine device-induced luteal persistence in mares. *Animal Reproduction Science* 2008; 107: 94-106.

Rüsse I, Sinowatz F. *Lehrbuch der Embryologie der Haustiere*. 1998; 2. unveränderte Auflage

Santschi EM, Troedsson MH. How to perform bilateral Ovariectomy in the Mare through two paramedian Incisions. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* 2001 2001; 47: 420-2.

Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ. Changes in Vascular Perfusion of the Endometrium in Association with Changes in Location of the Embryonic Vesicle in Mares. *Biology of Reproduction* 2005; 72: 755-61.

Sladkevicius P, Valentin L, Maršál K. Blood flow velocity in the uterine and ovarian arteries during the normal menstrual cycle. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1993; 3: 199-208.

Stolla R, Günzel A-R, Bader H (1980) Control of ovarian activity by milk progesterone determination in mares. In: 9th International Congress on Animal Reproduction & A.I., Madrid/Spain. 206-9

Stout T, Allen W. Prostaglandin E(2) and F(2 alpha) production by equine conceptuses and concentrations in conceptus fluids and uterine flushings recovered from early pregnant and dioestrous mares. *Reproduction* 2002; 123: 261-8.

Stuart B, Drumm J, FitzGerald DE, Duignan NM. FETAL BLOOD VELOCITY WAVEFORMS IN NORMAL PREGNANCY. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 1980; 87: 780-5.

Upadhyay SN, Kaushic C, Talwar GP. Antifertility Effects of Neem (*Azadirachta indica*) Oil by Single Intrauterine Administration: A Novel Method for Contraception. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 1990; 242: 175-9.

Watson ED, Sertich PL. Prostaglandin production by horse embryos and the effect of co-culture of embryos with endometrium from pregnant mares. *J Reprod Fertil* 1989; 87: 331-6.

Wilsher S, Allen WR (2007) Maternal recognition of pregnancy in the mare: Inhibition of luteolysis by intrauterine administration of plant oils. In: 5th International Conference on Equine Reproductive Medicine - The Barren Mare -. *Pferdeheilkunde, Leipzig, Germany*. 118

IX. ANHANG

X. DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Handler möchte ich an erster Stelle recht herzlich für die Überlassung des interessanten Themas, die Betreuung und Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn PD Dr. Reese für sein großes Engagement und Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Desweiteren möchte ich mich beim Fonds National de la Recherche in Luxemburg für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit bedanken.

Ein ganz besonderer Dank geht auch an Dr. Birgit Kolberg für die ständige intensive Betreuung, die jederzeit gewährte Hilfe bei der praktischen Durchführung, das Erlernen der dopplersonographischen Untersuchungstechniken und die geduldigen Korrekturen, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Dr. Tobias Hoffmann für die bedingungslose Hilfe und Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit bedanken, ohne ihn wäre die Umsetzung und Fertigstellung dieses Projekts nicht möglich gewesen. Vielen lieben Dank!

Den Tierpflegern, den Laborangestellten am Oberwiesenfeld und den Mitarbeitern der Reproduktionsabteilung danke ich für ihre Hilfsbereitschaft, die freundliche Arbeitsatmosphäre und für ihre Rücksichtnahme auf die Untersuchungen.

Herrn Dr. Claudius Krieg danke ich für seine fachliche Unterstützung, sein Verständnis und den genehmigten Urlaub, ohne das alles wäre diese Arbeit nie fertig geworden.

Bei meinen Eltern und Großeltern möchte ich mich für ihre ständige liebevolle Unterstützung, Motivation und bedingungslosen Rückhalt bedanken. Ich danke ihnen von ganzem Herzen, dass sie mir das Studium und die Anfertigung dieser Arbeit in jeglicher Hinsicht ermöglicht haben.

Zuletzt danke ich meinem Lebensgefährten Björn Hoffmann herzlichst für die tatkräftige Unterstützung an diesem Projekt, das Korrekturlesen, das Formatieren und die unendliche Geduld und Verständnis beim Ertragen meiner Launen.