

Untersuchung der Anti-Müller-Hormon Konzentration bei präpubertären und pubertären Hunden und Katzen

von Tanja Alexander

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

Untersuchung der Anti-Müller-Hormon Konzentration bei
präpubertären und pubertären Hunden und Katzen

von Tanja Alexander
aus Duisburg

München 2025

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

Lehrstuhl für Chirurgie der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Mitbetreuung durch:
Priv. Doz. Dr. Beate Walter

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatteerin: Univ.-Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Wolfram Petzl

Tag der Promotion: 26. Juli 2025

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG.....	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Geschlechtliche Entwicklung	3
1.1. Pubertät beim Menschen	4
1.1.1. Pubertät Jungen	7
1.1.2. Pubertät Mädchen.....	9
1.2. Pubertät männliche Tiere	11
1.2.1. Pubertät Rüden	13
1.2.2. Pubertät Kater.....	14
1.3. Pubertät weibliche Tiere.....	15
1.3.1. Einfluss der Saisonalität auf die Pubertät.....	19
1.3.2. Einfluss von Kisspeptin beim Eintritt in die Pubertät und Saisonalität	21
1.3.3. Weitere Einflüsse auf die Pubertät	23
1.3.3.1. Ernährung	23
1.3.3.2. Einfluss des männlichen Tieres.....	24
1.3.3.3. Klima	24
1.3.3.4. Krankheit	25
1.3.4. Pubertät Hündin.....	25
1.3.4.2. Reproduktionszyklus der Hündin.....	27
1.3.5. Pubertät Katze	28
1.3.5.2. Reproduktionszyklus der Katze	29
2. Das Anti-Müller Hormon (AMH).....	29
2.1. AMH in der Embryonalentwicklung.....	30
2.2. Bestimmung von AMH bei Hunden und Katzen	31
2.3. AMH-Konzentration im Serum bei männlichen Säugetieren	32
2.4. AMH-Konzentration im Serum bei weiblichen Säugetieren	33
2.5. AMH in der Diagnostik.....	35
2.5.1. AMH in der Diagnostik in der Humanmedizin	35
2.5.2. AMH in der Diagnostik in der Veterinärmedizin.....	37
2.5.3. Fertilitätsmarker	37
2.5.4. Kastrationsstatus.....	39
2.5.5. Ovarrest-Syndrom	40

2.5.6.	Granulosazelltumor	41
2.5.7.	Sertollizelltumor.....	42
2.5.8.	Kryptorchismus	42
2.5.9.	Kongentitale sexuelle Fehlbildungen.....	43
III.	PUBLIKATION	45
IV.	DISKUSSION	56
V.	ZUSAMMENFASSUNG.....	63
VI.	SUMMARY	65
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	67
VIII.	ANHANG	105
IX.	DANKSAGUNG	106

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Komplex
AMH	Anti-Müller-Hormon
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
CLIA	Chemilumineszenz-Immunoassay
DHEAS	Dehydroepiandrosteronsulfat
DHEA	Dehydroepiandrosteron
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GCT	Granulosazelltumor
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
HPG-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse
INSL3	Insulin-like-Peptide 3
LH	Luteinisierendes Hormon
ml	Milliliter
mm	Millimeter
ORS	Ovarrest-Syndrom, Ovarian Remnant Syndrome
PCOS	Polyzystisches Ovarialsyndrom
SCN	Nucleus Suprachiasmaticus
Tab.	Tabelle
z. Bsp.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Das Anti-Müller-Hormon (AMH) wird als ein Glykoprotein der TGF- β -Familie klassifiziert, das beim Menschen und Säugetier ausschließlich in den Granulosazellen der Ovarien und den Sertolizellen der Hoden gebildet wird (Durlinger et al., 2002). Seine Wirkung in der embryonalen Entwicklung des Menschen und Haustieres wurde eingehend erforscht. In der embryonalen Entwicklung bei männlichen Föten führt es zusammen mit Testosteron zu der Rückbildung der Müller'schen Gänge und der Ausbildung der männlichen Geschlechtsorgane (Senger 2012 a). Bei Frauen und adulten weiblichen Säugetieren verhindert AMH die gleichzeitige Entwicklung zu vieler Follikel aus dem Primordialfollikelpool (Durlinger et al., 1999, Durlinger et al., 2002). Durch Bestimmung der AMH-Konzentration können in der Humanmedizin unter anderem Rückschlüsse bei präpubertären Mädchen zur Diagnose einer vorzeitigen Ovarialinsuffizienz gestellt werden (Wang et al., 2021). Bei Jungen mit verzögerter Pubertät kann AMH für die Diagnostik eines angeborenen hypogonadotropen Hypogonadismus dienen (Hero et al., 2012). Diese Erkrankung zeichnet sich durch einen schweren Mangel an Gonadotropinen und der damit verbundenen verringerten Anzahl von Sertolizellen aus, was zu einem erniedrigten AMH-Wert führt.

Als diagnostischer Indikator deckt das AMH ein breites Spektrum auch tiermedizinischer Fragestellungen ab. Die Bildung von AMH erfolgt ebenfalls in den Gonaden, so dass ein Nachweis von AMH im Blut bei fraglich kastrierten Tieren Aufschluss über die Existenz der Keimdrüsen im Körper gibt (Place et al., 2011, Axnér und Ström Holst 2015, Turna Yilmaz et al., 2015, Themmen et al., 2016). Zudem kann bei Hengsten und Rüden mit einer AMH-Bestimmung ein kryptorchider Hoden diagnostiziert werden (Gharagozlou et al., 2014, Hornáková et al., 2017, Leykam et al., 2018). Stark erhöhte AMH-Serumwerte können Hinweise auf neoplastische Entartungen der AMH produzierenden Zellen geben. Hierbei handelt es sich um Granulosazelltumore bei Katzen (Heaps et al., 2017), Hündinnen (Walter et al., 2018), Stuten (Ball et al., 2008 b) und Kühen (El-Sheikh Ali et al., 2013) und Sertolizelltumore bei Hengsten (Ball et al., 2008 a) und Rüden (Holst und Dreimanis 2015). Für präpubertäre Hunde und Katzen gibt es in der zugänglichen Literatur bislang keine Referenzwerte, sondern nur einzelne AMH-

Bestimmungen zu anderen Fragestellungen in wenigen Studien, wobei in diesen das Alter nicht genau definiert wurde (Axnér und Ström Holst 2015, Themmen et al., 2016, Snoeck et al., 2017). Daher war es Ziel der vorliegenden Studie Grundlagenforschung zur Bestimmung physiologischer AMH-Konzentrationsverläufen und -bereichen bei gesunden präpubertären und pubertären Hunden und Katzen zu betreiben, sowie die Korrelation von AMH und Testosteron bei pubertären Rüden und Katern zu untersuchen.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Geschlechtliche Entwicklung

Die Fortpflanzung ist für das Überleben aller Arten unerlässlich. Pubertas, aus dem lateinischen, bedeutet Geschlechtsreife und dient dem Erwerb der Fortpflanzungsfähigkeit. Somit ist die Pubertät die Phase zwischen dem juvenilen und adulten Stadium, in der die sexuelle Reifung als Prozess erfolgt. In dieser Lebensphase ändern sich sowohl der Körper als auch die Psyche und das Verhalten. Der Beginn der Pubertät hängt von der Fähigkeit spezifischer hypothalamischer Neuronen ab, Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) in ausreichender Menge zu produzieren, um die Gametogenese zu fördern und zu unterstützen. Die Entwicklung der hypothalamischen GnRH-Neuronen wird durch genetische und umweltbedingte Faktoren und deren Wechselwirkungen beeinflusst (Senger 2012 b). In dieser Phase wird im Hypothalamus GnRH synthetisiert und stoßweise freigesetzt (Padmanabhan und McNeilly 2001). Über ein hypophysäres Pfortadersystem gelangt es in den Hypophysenvorderlappen, die Adenohypophyse. Daraufhin wird dort Luteinisierendes Hormon (LH), angepasst an den Rhythmus des GnRH, ausgeschüttet. Zudem erfolgt die basale Ausschüttung von Follikelstimulierendem Hormon (FSH), zum Teil synchron aber auch GnRH unabhängig (Padmanabhan und McNeilly 2001). Durch die steigende Konzentration der Gonadotropine wird die Pubertätsentwicklung angestoßen. Beginn, Dauer und Ende der Pubertät sind sehr variabel und bei jeder Tierart und auch beim Menschen individuell reguliert. Die Pubertät ist mit dem Ende des Wachstums, der vollständigen Geschlechtsreife und der Fähigkeit zur erfolgreichen Reproduktion abgeschlossen (Senger 2012 b, Noakes et al., 2019).

In der Natur ist es die allgemeine Regel, dass sich Tiere einmal im Jahr fortpflanzen und die Geburt im Frühjahr stattfindet, was für die Nachkommen am günstigsten ist. Durch das zunehmende Licht und die Wärme können die Muttertiere zu dieser Zeit am meisten Nahrung finden, um eine ausreichende Laktation für die Nachkommen zu gewährleisten (Noakes et al., 2019). Unter den durch die Domestizierung gegebenen Fütterungs- und Haltungsbedingungen verlängert sich die Fortpflanzungszeit tendenziell und einige Tierarten, insbesondere Rinder, können sich zu jeder Jahreszeit fortpflanzen (Noakes et al., 2019). Alle

domestizierten Tiere zeigen jedoch eine konstante Tendenz zur natürlichen Paarungszeit zurückzukehren, was sich z. Bsp. in der verminderten Fruchtbarkeit der Sauen im Sommer und Frühherbst zeigt (Claus und Weiler 1985).

1.1. Pubertät beim Menschen

Bei der Pubertätsentwicklung beim Menschen sind ca. 50 bis 80 % genetisch determiniert (Gajdos et al., 2010). Die Gene *KiSS1* und *KiSS1-Rezeptor* (*KiSS1R*) sind in diesem Zusammenhang maßgebend für den Pubertätseintritt (Silveira et al., 2010). Die GnRH- Erhöhung im Hypothalamus wird durch die Expression von Kisspeptin bewirkt und führt in der Folge zur Sekretion von LH und FSH (Clarkson et al., 2008, Oakley et al., 2009). Eine weitere entscheidende Rolle in der Steuerung zur Aktivierung der Pubertätsentwicklung erfüllt das Hormon Leptin. Der Energiehaushalt und somit die Fortpflanzungsfähigkeit werden durch dieses Hormon gesteuert. Der Signalweg zwischen Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden wird durch das Leptin initiiert. Die Leptinkonzentration im Blut steht im direkten Zusammenhang mit der Körperfettmasse, daher vermutet man dieses als einen entscheidenden Mechanismus zum Pubertätsstart. Der Entwicklungsschritt in die Pubertät wird also erst vollzogen, wenn der kindliche Körper eine bestimmte Körperfettmasse erreicht hat (Apter et al., 1993, Wauters et al., 2000).

Zu den physischen Merkmalen, die mit diesem Prozess der Pubertät verbunden sind, gehören die Entwicklung sekundärer Geschlechtsmerkmale, die Beschleunigung der linearen Wachstumsgeschwindigkeit und das Auftreten der Menarche (der ersten Regelblutung) bei Frauen und der Spermatogenese bei Männern. Der Karyotyp der Geschlechtschromosomen des Embryos, XX oder XY, bestimmt den Verlauf der Differenzierung der Keimdrüsen und der Entwicklung der inneren und äußeren Genitalstrukturen. Dieser komplexe Prozess, der bereits in der Gebärmutter beginnt, hängt von neuroendokrinen Signalen und gonadalen Komponenten ab. Letztendlich ist eine integrierte Kommunikation zwischen dem Fortpflanzungs- und dem Stoffwechselsystem entscheidend für eine rechtzeitige pubertäre Entwicklung (Parent et al., 2003, Argente et al., 2023). Die pubertäre Entwicklung und die Reifung des neuroendokrinen Systems hängen mit der Ontogenese, der Aktivität und den Interaktionen der GnRH-Neuronen zusammen. Der Beginn der Pubertät geht mit einer erhöhten Sekretion von Kisspeptin und Neurokinin B einher, was die GnRH-Neuronen zur pulsierenden Sekretion von GnRH veranlasst. Die vermehrte GnRH-Sekretion stimuliert die pulsatile Sekretion

des LH und des FSH in der Hypophyse (Abreu 2023). LH und FSH stimulieren die gonadale Sexualsteroidsekretion, die die Entwicklung sekundärer Geschlechtsmerkmale fördert und die hypothalamisch-hypophysäre Funktion über eine negative Rückkopplung beeinflusst.

Beim Menschen bestimmen zwei physiologische Prozesse, die Gonadarche und die Adrenarche, den pubertären Übergang. Die Gonadarche spiegelt die Reaktivierung des hypothalamischen GnRH-Impulsgebers wider, der seit dem späten Säuglingsalter inaktiv war. Die zunehmende pulsatile GnRH-Sekretion stimuliert die pulsatile Gonadotropinsekretion, die wiederum das Wachstum und die Reifung der Keimdrüsen sowie die gonadale Sexualsteroidsekretion anregt. Eine vermehrte Östrogensekretion fördert die Brustentwicklung, die Verhornung der Vaginalschleimhaut und das Wachstum der Gebärmutter bei Mädchen. Eine erhöhte Testosteronausschüttung fördert die Vergrößerung des Penis. Die erhöhte Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse (HPG-Achse) gipfelt in der Follikulogenese, dem Eisprung und der Menstruation bei der Frau und der Spermatogenese beim Mann (Krishna und Witchel 2000).

Zusätzlich zur gonadalen Sexualsteroidsekretion kommt es beim Menschen zur Adrenarche, die die pubertäre Reifung der Nebennieren anzeigt. Die Adrenarche beginnt in der Regel vor der ersten sichtbaren körperlichen Manifestation der Gonadarche, der Brustentwicklung oder der Hodenvergrößerung. Die Pubarche, die körperliche Manifestation der Adrenarche, ist durch die Entwicklung von Schamhaaren, Achselhaaren, apokrinem Geruch und Akne gekennzeichnet. Die Adrenarche weist auf eine erhöhte Aktivität der Zona reticularis der Nebennierenrinde hin und geht mit einer erhöhten Sekretion von Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS), Dehydroepiandrosteron (DHEA), Androstendion und 11-Hydroxyandrostendion einher (Reiter et al., 1977, Miller 2009).

Gonadarche und Adrenarche sind voneinander getrennt, so dass das Fehlen der Adrenarche die Gonadarche, oder das Erreichen der Fruchtbarkeit nicht verhindert (Counts et al., 1987).

Das Eintrittsalter der Pubertät spiegelt das Zusammenspiel genetischer, pränataler, ernährungsbedingter und umweltbedingter Faktoren wider. Das Alter bei der Menarche wird laut Zwillingsstudien zu etwa 50 % durch die Vererbung bestimmt

(Ersoy et al., 2005, Morris et al., 2011). Es konnte gezeigt werden, dass der Zeitpunkt des Pubertätsbeginns bei beiden Elternteilen den Zeitpunkt des Pubertätsbeginns bei Jungen und Mädchen unabhängig vom Geschlecht beeinflusst (Mustanski et al., 2004, Wohlfahrt-Veje et al., 2016). In einer großen Serie von selbstberichteten Pubertätsdaten der Eltern korrelierte der Zeitpunkt der elterlichen Pubertätsmeilensteine mit den Meilensteinen der Nachkommen des entsprechenden Geschlechts (Busch et al., 2020).

Die HPG-Achse, insbesondere ihre Wirkung auf die Gametogenese und die Sekretion von Sexualsteroiden, verkörpert das zentrale Ergebnis des pubertären Prozesses (Plant 2015, Witchel und Topaloglu 2019).

Tanner und Kollegen untersuchten die pubertäre Entwicklung von Kindern, die in einem Waisenhaus im Vereinigten Königreich lebten. Ihre Klassifikation, die auf einem fünfstufigen Modell basiert, wird nach wie vor häufig in klinischen Kontexten eingesetzt, um den Entwicklungsstand von Kindern und Jugendlichen zu beschreiben (Marshall und Tanner 1969, Marshall und Tanner 1970, Fuqua und Eugster 2022). Die Einteilung in die Tanner-Stadien der Pubertät erfolgt bei Mädchen anhand der Brust- und Schamhaarentwicklung. Bei Jungen wird das Hodenvolumen, die Penisentwicklung sowie die Schambehaarung zur Einteilung in die Tanner-Stadien der Pubertät genutzt (Abb. 1). Das Tempo der Pubertät variiert interindividuell (Marshall und Tanner 1969, Marshall und Tanner 1970).

Ein früher Beginn der Pubertät ist mit einem höherem Risiko für Fettleibigkeit, Diabetes, Brustkrebs und der Gesamtmortalität beschrieben (Golub et al., 2008, Prentice und Viner 2013). Der Zeitpunkt des Beginns der Pubertät ist multifaktoriell bedingt. Intrauterines Wachstum im Säuglingsalter (Dunger et al., 2006, Ong et al., 2009, Wang et al., 2012) sowie Umweltfaktoren (Sørensen et al., 2012, Wohlfahrt-Veje et al., 2012, Parent et al., 2016) können, zusätzlich zur Genetik, wichtige Faktoren sein.

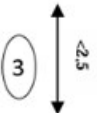
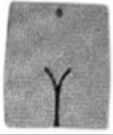
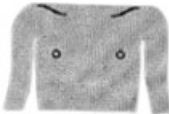
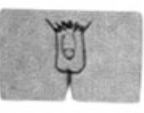
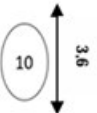
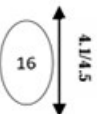
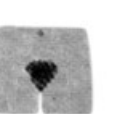
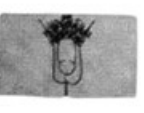
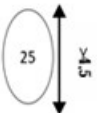
I			I			
II			II			
III			III			
IV			IV			
V			V			

Abbildung 1: Tanner Stadien (aus Binder und Wölfle 2020)

1.1.1. Pubertät Jungen

Die ersten Anzeichen der Pubertät beim Jungen sind die Behaarung der Scham, die Penis- und Skrotumentwicklung. Zudem sind für beide Geschlechter Axillarbehhaarung, Akne, Wachstumsschub, Ausbildung der geschlechtsspezifischen Körperform und Stimmungsschwankungen deutliche Anzeichen für den Beginn der Pubertät (Marshall und Tanner 1970, Biro et al., 1995, Euling et al., 2008, Binder und Wölfle 2020). Die Pubertät beginnt durch verschiedene bisher noch nicht vollständig erforschte Mechanismen. Es wird vermutet, dass das genetische Potential, die Hormone, metabolische Zustände und weitere unbekannte Umweltfaktoren eine Rolle spielen. Der Hypothalamus beginnt pulsatil GnRH zu sezernieren, wodurch die Hypophyse stimuliert wird und pulsatil LH und FSH ausschüttet. Beim Jungen wird die Bildung von Testosteron durch das LH stimuliert. Die anabole Wirkung von Testosteron führt zur Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale und zur Entwicklung eines männlichen Habitus. Die Spermatogenese in den Hoden wird durch FSH gefördert, wodurch die Fortpflanzungsfähigkeit als Abschluss der Geschlechtsreife erreicht ist (Krishna und Witchel 2000).

Bei Jungen ist das vergrößerte Hodenvolumen der erste körperliche Befund, der auf den Beginn der Gonadarche hinweist. Die Palpation der Hoden und die Verwendung eines Prader-Orchidometers sind für eine genaue Beurteilung unerlässlich (Prader 1966). Ein Prader-Orchidometer ist eine Sammlung von 3-D-Ellipsoiden mit einem Volumen von 1 bis 25 ml (Abb. 2). Während der Gonadarche vergrößert sich das Hodenvolumen und der Penis nimmt an Länge und Durchmesser zu. Die Länge des schlaffen Penis kann mit einem Lineal auf der dorsalen Oberfläche vom Ramus pubicus bis zur Eichelspitze gemessen werden, wobei das suprapubische Fettpolster zusammengedrückt und der Penis durch leichten Zug gedehnt wird.



Abbildung 2: Prader Orchidometer nach Andreas Prader (aus Krishna und Witchel 2000)

Die Zunahme des Hodenvolumens steht für die Proliferation und Differenzierung der Sertoli-Zellen und schließlich für den Beginn der Spermatogenese. Der Beginn der Pubertät ist definiert als ein Hodenvolumen ≥ 4 ml und eine Hodenlänge $\geq 2,5$ cm. Das Volumen des reifen menschlichen Hodens beträgt etwa 20-25 ml. Spermatozoen können in Urinproben am frühen Morgen gefunden werden (Spermaturie), deren Entwicklung während des Tanner-Stadium 3 beginnt

(Pedersen et al., 1993). Auch nächtliche Spermienemissionen können um diese Zeit beginnen.

Bei Jungen besteht die Schambehaarung im Tanner-Stadium 2 aus Flaumhaaren an der Peniswurzel. Im Tanner-Stadium 3 wird das Haar länger und dunkler und erstreckt sich über den Übergang zwischen den Schambeinknochen. Im Tanner-Stadium 4 hat die Behaarung zugenommen, erreicht aber noch nicht die Ausbreitung auf die Innenseiten der Oberschenkel, was als Tanner-Stadium 5 gilt. Weitere Merkmale sind Achselhaare, eine Vergrößerung des Kehlkopfs, Stimmbruch mit Vertiefung der Stimme, erhöhte Knochenmasse und erhöhte Muskelkraft. Die Terminalbehaarung entwickelt sich in androgenabhängigen Regionen im Gesicht und am Rumpf etwa drei Jahre nach dem Auftreten der Schambehaarung. Die Verteilung und Dichte von Bart-, Brust-, Bauch- und Rückenhaaren variiert von Person zu Person (Marshall und Tanner 1970).

Das Erreichen der maximalen Körpergröße ist sowohl alters- als auch geschlechtsabhängig. Sie tritt bei Mädchen früher auf, zwischen den Tanner-Bruststadien 2 und 3, und bei Jungen später, zwischen den Tanner-Hodenstadien 3 und 4 (Krishna und Witchel 2000).

Etwa 50 % der Jungen haben eine pubertäre Gynäkomastie (Mieritz et al., 2015). Typischerweise ist die pubertäre Gynäkomastie vorübergehend und in der Mitte der Pubertät am ausgeprägtesten, wenn das Verhältnis der zirkulierenden Östradiol- zur Testosteronkonzentration relativ hoch ist.

1.1.2. Pubertät Mädchen

Die ersten Anzeichen der Pubertät sind bei Mädchen die Brustentwicklung und auch die Schambehaarung, Axillarbehaarung, Akne, Wachstumsschub, Ausbildung der geschlechtsspezifischen Körperform und Stimmungsschwankungen (Marshall und Tanner 1969, Binder und Wölflé 2020). Die Follikelgenese ist ein Prozess, der zur Reifung der Eizellen und zur Vorbereitung auf den Menstruationszyklus führt. Bei der Geburt sind die Ovarien mit Primärdiolfollikeln gefüllt (Baker 1963).

Der Hypothalamus beginnt pulsatile GnRH zu sezernieren, die Hypophyse wird dadurch stimuliert und schüttet pulsatile LH und FSH aus. Dieses führt dazu, dass sich die Primordialfollikel mit dem Einsetzen der Pubertät zu primären und sekundären Follikeln entwickeln. Die sekundären Follikel entwickeln sich in der Reifungsphase zu Antralfollikeln und sind in der Lage Östrogen zu produzieren.

Die vermehrte Östrogenproduktion ist zusätzlich für die weibliche Körperentwicklung zur Frau verantwortlich. In jedem Zyklus kommt es in der Regel zur Selektion eines dominanten Follikels, der zur Ovulation reift und die Eizelle freisetzt. Der restliche Follikel wandelt sich in den Gelbkörper um. Nach der Menarche entwickelt sich im Laufe der Zeit, unter dem Hormoneinfluss, ein regelmäßiger Menstruationszyklus und die Geschlechtsreife ist erreicht (McCann et al., 1998, McGee und Hsueh 2000, Schmidt et al., 2000).

Das typische erste klinische Zeichen der Pubertät bei Mädchen ist das Auftreten von Brustgewebe mit Anhebung der Brust und der Papille; dies wird als Tanner-Stadium 2 angesehen. Zu Beginn kann die Brustentwicklung (Thelarche) einseitig sein. Viele Mädchen klagen in dieser Phase über ein leichtes Spannungsgefühl in der Brust, welches später wieder verschwindet. Bei der Brustentwicklung im Tanner-Stadium 3 handelt es sich um eine zusätzliche Vergrößerung der Brust und des Warzenhofs. Im Tanner-Stadium 4 bildet die Papille einen sekundären Hügel oberhalb der Brust; dieses Stadium verläuft oft sehr schnell. Das Tanner-Stadium 5 stellt eine reife Brustentwicklung dar, bei der sich der Warzenhof an die Brustkontur anpasst (Marshall und Tanner 1969). Das Abtasten der Brust ist obligatorisch, um Brustgewebe von Lipomastie zu unterscheiden. Bei Kindern mit Adipositas ohne Brustentwicklung vermittelt eine tastbare Vertiefung unterhalb der Brustwarze in der Mitte des Warzenhofs bei der Untersuchung in Rückenlage den Eindruck eines Donuts und wird als Donut-Zeichen bezeichnet. Die Ultraschalluntersuchung der Brust korreliert mit der Tanner-Einteilung durch Abtasten und kann die Brustentwicklung etwas früher erkennen als die körperliche Untersuchung (Bruserud et al., 2020). In den meisten Fällen ist die Brustentwicklung vor der Entwicklung der Schambehaarung erkennbar. Typischerweise findet der pubertäre Wachstumsschub bei Mädchen gleichzeitig mit dem Beginn der Brustentwicklung statt, wobei nach der Menarche nur 4-6 cm lineares Wachstum zu verzeichnen sind, was jedoch variieren kann (Krishna und Witchel 2000).

Das Auftreten von Geschlechtshaaren, einschließlich der Schambehaarung (Pubarche), bedeutet den Beginn der Adrenarche. Bei Mädchen ist die Schambehaarung im Tanner-Stadium 2 durch spärliche, grobe, leicht pigmentierte Haare entlang der großen Schamlippen gekennzeichnet. Im Tanner-Stadium 3 wird die Schambehaarung zunehmend dunkler und gröber und breitet sich über den

Schamhügel aus. Im Tanner-Stadium 4 dehnt sich die Schambehaarung weiter aus und bildet ein umgekehrtes Dreieck, wobei die Ausbreitung auf die medialen Seiten der Oberschenkel als Tanner-Stadium 5 gilt (Marshall und Tanner 1969).

Mit Beginn der ovariellen Östrogensekretion verändert sich die Vaginalschleimhaut von glänzend hellrot zu blassrosa, was auf eine Verhornung der Vaginalschleimhaut zurückzuführen ist. Die vermehrte Östrogensekretion fördert das Wachstum der Gebärmutter und verursacht eine physiologische Leukorrhoe, einen dünnen, weißen, nicht übelriechenden Scheidenausfluss, der typischerweise 6 bis 12 Monate vor der Menarche beginnt. Die Menarche tritt im Durchschnitt 2 bis 2,5 Jahre nach Beginn der Brustentwicklung ein. Während des ersten Jahres nach der Menarche ist die Menstruation in der Regel unregelmäßig und anovulatorisch. Diese frühen Jahre sind durch einen unregelmäßigen Eisprung und unterschiedlich lange Follikel- und Lutealphasen gekennzeichnet. Schließlich kommt es zu einer koordinierten Reifung der hypothalamischen, hypophysären und ovariellen Komponenten, die in einer zyklischen monatlichen Ovulation gipfelt (Pedersen et al., 1993). Obwohl die vollständige Reifung der HPG-Achse im Allgemeinen über mehrere Jahre erfolgt, liegen die meisten Zyklen drei Jahre nach der Menarche zwischen 21 und 35 Tagen (Krishna und Witchel 2000).

1.2. Pubertät männliche Tiere

Es können verschiedene Parameter herangezogen werden, um den Eintritt in die Pubertät bei männlichen Tieren zu definieren. Wie z. Bsp. die Ausprägung von bestimmten sexuellen Verhaltensmerkmalen, die erste Ejakulation, das erste Auftreten von Spermien im Ejakulat, das erste Auftreten von Spermien im Urin oder aber auch die Zunahme des Hodenumfangs. Geschlechtsreif ist ein männliches Tier erst, wenn die Spermienzahl des Ejakulats hoch genug ist, um eine Befruchtung zu erreichen (Noakes et al., 2019). Jüngere männliche Tiere haben einen kleineren Hodenumfang und einen verhältnismäßig kleineren Nebenhoden. Bei ihnen ist die tägliche Spermienproduktion geringer als bei bereits erwachsenen Tieren. Folgerichtig haben männliche Tiere geringere Kapazitäten am Anfang der Pubertät hohe Trächtigkeitsraten zu erzielen. Die Qualität des Ejakulates kann auch als Index für die Pubertät genutzt werden. Die Spermienproduktion bzw. die Erzeugung einer ausreichenden Anzahl von Spermien, um zuverlässig eine Trächtigkeit herbeizuführen, ist ein Kriterium. Wie bei den weiblichen Tieren, ist die Pubertät das Ergebnis einer Abnahme der

hypothalamischen Empfindlichkeit gegenüber Östradiol und Testosteron. Weil das Testosteron die Blut-Hirn-Schranke überwindet und durch das Enzym Aromatase in Östradiol umgewandelt wird, wird die hemmende Wirkung in erster Linie durch Östradiol verursacht. Mit dem Einsetzen der Pubertät beim männlichen Tier wird die hemmende Wirkung von Östradiol und Testosteron auf die GnRH sezernierenden hypothalamischen Neuronen reduziert. Die erhöhte pulsatile Freisetzung von GnRH stimuliert mehr LH und FSH, was den Hoden zur Spermatogenese anregt und so den Beginn der Pubertät einleitet. Beim männlichen Tier beginnt der Anstieg von LH früher als beim weiblichen Tier (Senger 2012 b, Günzel-Apel und Bostedt 2016 c, Günzel-Apel und Bostedt 2016 d, Noakes et al., 2019). Der Anstieg des Testosterons erfolgt stetig und bei Schafen wird für die Spermatogenese eine Zeit von zwei Monaten beschrieben. Es wird angenommen, dass der frühere Beginn der Pubertät bei den männlichen Tieren die Entwicklung der Spermien ermöglicht, bevor die weiblichen Tiere die Fähigkeit zum Eisprung entwickeln (Foster et al., 2006).

Eine weithin akzeptierte Definition der Pubertät bei männlichen Tieren (z. Bsp. bei Bullen) ist die Fähigkeit, ein Ejakulat mit > 50 Millionen Spermien mit > 10 % vorwärts beweglichen, motilen Spermien zu produzieren (Kenny et al., 2018).

Im Durchschnitt werden männliche Hunde mit 8 Monaten (zwischen 6 bis 12 Monaten) und männliche Katzen mit 6 Monaten (4 bis 12 Monaten) geschlechtsreif. Dies ist abhängig von der Rasse, der neuroendokrinen Entwicklung, dem Ernährungszustand (Pool et al., 2020, Duittoz und Kenny 2023) und sozialen Faktoren (Günzel-Apel und Bostedt 2016 c, Günzel-Apel und Bostedt 2016 d). Im Vergleich dazu werden Bullen im Durchschnitt erst mit 11 Monaten (7 bis 18 Monate) und Hengste erst mit 14 Monaten (10 bis 24 Monate) geschlechtsreif (Kenny et al., 2018) (Tab. 1).

Tabelle 1: Männliche Tierart und Alter zum Pubertätseintritt (aus Kenny et al., 2018, Günzel-Apel und Bostedt 2016 c, Günzel-Apel und Bostedt d)

Tierart	Alter zum Zeitpunkt der Pubertät (Zeitspanne)
Hengst	14 Monate (10 – 24)
Bulle	11 Monate (7 – 8)
Schafbock	7 Monate (6 – 9)
Schwein	7 Monate (5- 8)
Rüde	8 Monate (6 – 14)
Kater	6 Monate (4 -18)

1.2.1. Pubertät Rüden

Dauer und Eintritt in die Pubertät sind beim Rüden rassespezifisch und von individuellen Eigenschaften abhängig. So werden Rüden kleinerer Rassen, unter 30 kg Körpergewicht, prinzipiell eher geschlechtsreif als Rüden größerer Rassen. Das Durchschnittsalter beträgt zwischen 6 und 14 Monaten. Die Pubertät ist charakterisiert durch die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale und die morphologische sowie funktionelle Reifungsprozesse der Gonaden. Auch eine Verhaltensänderung gegenüber anderen Hunden und Menschen kann häufig beobachtet werden (Günzel-Apel und Bostedt 2016 c).

Endokrinologische Untersuchungen haben ergeben, dass die LH- und Testosteronkonzentration bei Beaglen im Blutplasma in den ersten drei bis vier Lebensmonaten niedrig ist (Abb. 3). Danach synthetisiert die Nebenniere schwache Androgene, wodurch LH deutlich ansteigt. In dieser Phase herrscht ein signifikant höheres mittleres LH-Niveau mit ausgeprägter LH-Pulsfrequenz und -amplitude, als bei adulten Tieren über zwei Jahren. Daraufhin erfolgt eine Ausreifung der Leydig-Zellen, die zunehmend Testosteron produzieren. Beim Beagle geschieht dies um die 26. Lebenswoche (ca. sechs Monate) und die gesteigerte Testosteronproduktion wird als Beginn der Pubertät angesehen. Die Abnahme der peripheren LH-Konzentration sowie der LH-Pulsfrequenz und -amplitude mit 32

bis 45 Lebenswochen (ca. sieben bis zehn Monate) wird als postpubertäre Phase beschrieben. Die peripheren Testosteronkonzentrationen steigen zeitgleich weiter auf das Niveau adulter Tiere an und das Ende dieser Phase wird als Abschluss der Pubertät bezeichnet. Bei Beaglen ist dies ungefähr im Alter von zwölf Monaten (Günzel-Apel et al., 1990).

Zu einem deutlichen Hodenwachstum kommt es durch den pubertären Testosteronanstieg. Die Spermatogenese setzt bereits mit vier Monaten ein und ist primär für das Wachstum verantwortlich. Die morphologischen Veränderungen von Hoden, Nebenhoden und Prostata finden zwischen der 20. und 32. Lebenswoche (4,5 bis 7 Monate) statt und bereits mit 34 Wochen (8 Monate) sind beim Beagle geringe Mengen an lebenden Spermien im Ejakulat zu finden (Günzel-Apel und Bostedt 2016 c).

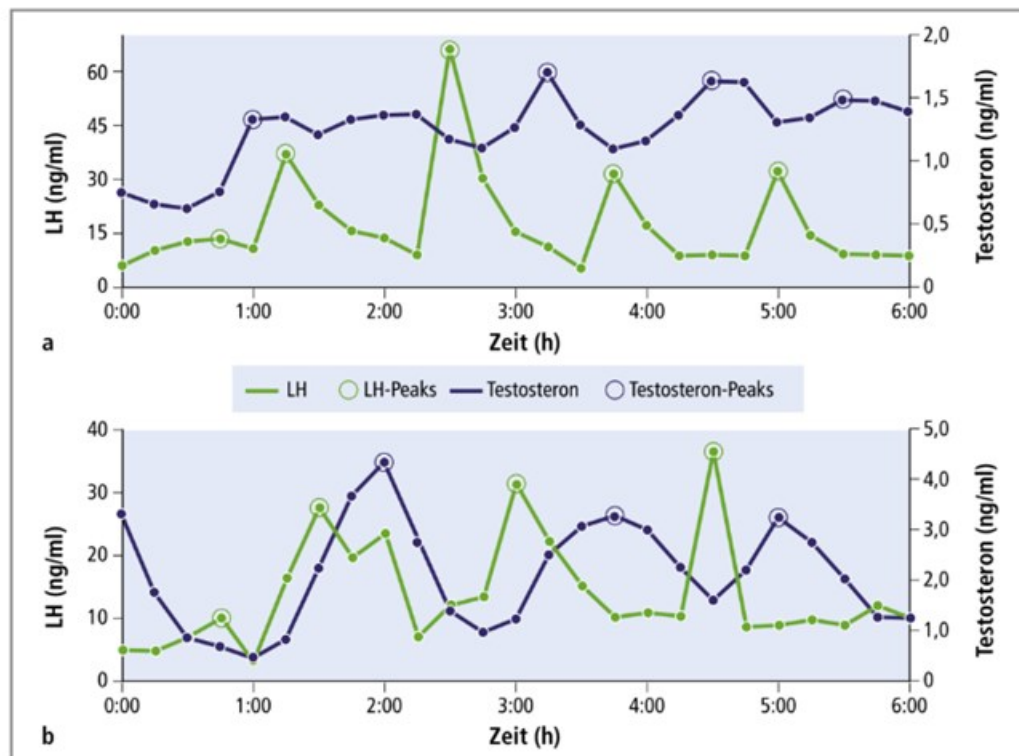


Abb. 3: Sekretionsmuster von LH und Testosteron (Messung über 6 Stunden, alle 15 Minuten) bei einem 7 Monate alten (a) und einem 4-jährigen Beaglerüden (b). Es besteht ein deutlicher Unterschied im mittleren Niveau der Hormonkonzentrationen und in der Pulsamplitude (aus Günzel-Apel und Bostedt 2016 c)

1.2.2. Pubertät Kater

Der Zeitpunkt zu dem die ersten Spermien im Ejakulat nachgewiesen werden, wird

beim Kater im Allgemeinen als Geschlechtsreife definiert. Zudem können verschiedene Verhaltensweisen wie Nackenbiss, Aufsteigeversuche, Friktionsbewegungen und Markieren als sichtbare Indikatoren für den Pubertätseintritt dienen. Dies ist häufig schon bei vier Monate alten Katern zu beobachten, aber es kommt frühestens mit fünf Monaten zur Immissio und Ejakulation. Da die Spermatogenese beim Kater erst mit ca. fünf Monaten beginnt, werden sie im Durchschnitt mit fünf bis sieben Monaten geschlechtsreif. Für den Eintritt in die Geschlechtsreife ist ein Körpergewicht von 2,5 bis 3,5 kg notwendig. Bei großen Rassen und freilebenden Katern ist sogar erst ein Eintritt mit 12 bis 18 Monaten beschrieben (Sánchez et al., 1993, Günzel-Apel und Bostedt 2016 d).

1.3. Pubertät weibliche Tiere

Beim weiblichen Tier können verschiedenen Definitionen genutzt werden, um den Zeitpunkt des Pubertätseintrittes zu bestimmen. Zum einen kann dies der erste Östrus sein und ist häufig durch Verhaltensmerkmale, die auf die sexuelle Empfänglichkeit hindeuten, zu erkennen. Besonders eindeutig ist es, wenn ein männliches Tier anwesend ist. Die erste Ovulation bei Kühen und Schafen geht im Allgemeinen nicht mit einer Verhaltensänderung einher und wird als stille Ovulation bezeichnet. Ein weiteres Kriterium ist der erste Östrus mit Ovulation. Dies kann zum Beispiel mit einer Ultraschalluntersuchung und der Bestimmung von Progesteron nachgewiesen werden. Auch die erste Ovulation gefolgt von einer Lutealphase von normaler Dauer gilt als Pubertätseintritt. Zudem ist das Alter, in dem das Tier trächtig werden und gebären kann, als Definition akzeptiert (Senger 2012 b, Atkins et al., 2013).

Juvenile weibliche Tiere zeigen noch keine Anzeichen für wiederkehrende oder zyklische Perioden sexueller Empfänglichkeit. Das Einsetzen solcher Veränderungen, wenn das Weibchen geschlechtsreif und fortpflanzungsfähig wird, wird als Pubertät bezeichnet. Bei den weiblichen Haustieren geht die Pubertät der Entwicklung der körperlichen Reife voraus und obwohl sie fortpflanzungsfähig werden, hat ihre Effizienz, insbesondere im Hinblick auf ihre Fruchtbarkeit (Anzahl der Nachkommen), noch nicht ihr Maximum erreicht (Noakes et al., 2019). So bringen junge Schafe, die kurz nach der Pubertät gedeckt werden, im Durchschnitt 0,6 Lämmer zur Welt, verglichen mit 1,2 Lämmern, die von einem Jahr älteren Schafen geboren werden (Kenyon et al., 2004). Dies wird durch eine geringere Ovulationsrate, vermehrte Befruchtungsausfälle und Embryoverluste bei den

jüngeren Tieren verursacht. Zudem bleibt die Paarung durch den Schafbock bei diesen häufiger aus (Edwards et al., 2016).

Der Beginn der Pubertät hängt überwiegend vom Alter und der körperlichen Reife des Tieres ab. Voraussetzung ist, dass die Umwelteinflüsse zu diesem Zeitpunkt günstig sind, so dass die biologische Uhr startet. Von da an läuft sie so lange weiter, wie die Umweltbedingungen es zulassen. Bei keiner unserer domestizierten Spezies gibt es eine physiologische Veränderung, die mit der Menopause der Frau vergleichbar ist. Bei Schwertwalen und Grindwalen wird jedoch über reproduktive Seneszenz berichtet. Bei diesen Arten wird angenommen, dass dies eine Strategie zur Steigerung der ökologischen Fitness ist. Nach der Fortpflanzung älterer Weibchen nehmen diese eine Führungsrolle in der Gruppe ein und sind somit von zentraler Bedeutung für die Reife der jüngeren Mitglieder der Gruppe (Brent et al., 2015).

Bei nicht-saisonalen polyzyklischen Tieren, wie Kuh und Sau, wird die wiederkehrende zyklische Aktivität durch Trächtigkeit, Laktation und pathologische Zustände unterbrochen. Bei den Arten, die saisonal polyzyklisch (z. Bsp. Stuten, Schafe, Ziegen und Katzen) oder asaisonal monozyklisch (z. Bsp. Hündinnen) sind, gibt es Perioden der sexuellen Ruhe, einen Anöstrus. Wenn das Weibchen in die Pubertät kommt, nehmen die Geschlechtsorgane an Größe und Gewicht zu. In der präpubertären Zeit ist das Wachstum der Geschlechtsorgane dem Wachstum der anderen Organe sehr ähnlich. In der Pubertät beschleunigt sich die Wachstumsrate der Geschlechtsorgane. Im Alter von 169 bis 186 Tagen steigt die Länge der Gebärmutterhörner im Durchschnitt um 58 %, das Gewicht der Gebärmutter um 72 % und das Gewicht der Eierstöcke um 32 % (Hafez und Hafez 2000).

Die Veränderungen, die in der Pubertät auftreten, hängen von der Aktivität der Eierstöcke ab. Diese haben zwei Funktionen: die Produktion der weiblichen Gameten und die Synthese von Hormonen. Bei der Geburt haben die Eierstöcke von Kälbern bis zu 150.000 Primär- oder Primordialfollikel und jeder Follikel beinhaltet eine Eizelle, die durch eine Schicht von Granulosazellen, aber noch nicht von Thekazellen umgeben ist. Kurz nach der Geburt beginnen die Eierstöcke wachsende Follikel zu produzieren, die aus einer Oozyte mit zwei oder mehr Schichten von Granulosazellen und einer Basalmembran bestehen. Der Impuls für die Entwicklung dieser Follikel entsteht intraovariell. Bis die Kälber die Pubertät

erreichen, entwickelt sich nur das Stadium der Theca interna der Follikel, das anschließend wieder degeneriert. Durch die Weiterdifferenzierung der Follikel in der Pubertät entstehen reife Graafsche- oder Antralfollikel. Abhängig vom Stimulus der gonadotropen Hormone, gibt es etwa 200 wachsende Follikel (Noakes et al., 2019). Trotz des fehlenden Östruszyklus findet bereits präpubertär ein Follikelwachstum statt, was bei zwei Wochen alten Kälbern mittels transrektalen Ultraschalls nachgewiesen wurde. Es wurde festgestellt, dass es Phasen follikulärer Entwicklung gibt, die mit Follikelwellen adulter Kühe unter der Sekretion von follikelstimulierendem Hormon (FSH) vergleichbar sind (Adams et al., 1994).

Es wird angenommen, dass der Grund für den ersten stillen Östrus des pubertären Tieres darin liegt, dass das zentrale Nervensystem mit Progesteron angeregt werden muss, bevor es reagiert und es Verhaltensanzeichen der Brunst zeigt (Noakes et al., 2019). Der erste Ovulationszyklus ist bei pubertären Färsen nachweislich kurz (7.7 ± 0.2 Tage) und der erste Gelbkörper hat nicht nur eine kürzere Lebensdauer, sondern ist auch kleiner als die folgenden. Eine Erklärung dafür ist, dass der dominante Follikel, der aus der ersten Follikelwelle hervorgeht, bereits in die stagnierende Wachstumsphase eingetreten ist. Das sich anschließende interovulatorische Intervall ist wiederum von normaler Dauer (Adams 1999). Sobald die Pubertät eingetreten ist, kommt es bei den meisten domestizierten Tierarten zu Wellen des Follikelwachstums und anschließender Rückbildung. Aber auch bei präpubertären Tieren sind Follikelwellen festgestellt worden. Dies ist bei Färsen (Evans et al., 1994a, b) und bei weiblichen Fohlen beschrieben (Nogueira und Ginther 2000).

Beim Schaf wurden die Mechanismen, die an der Einleitung der Pubertät beteiligt sind, intensiv untersucht (Noakes et al., 2019). Der Beginn der Pubertät wird entweder durch das Auftreten des ersten Östrus oder der ersten Ovulation definiert. Bei Schafen findet dies nicht gleichzeitig statt, denn die erste Ovulation geht, wie bei den Färsen, nicht mit einer Verhaltensänderung einher. Das Ausbleiben der zyklusbedingten Verhaltensänderungen ist bei geschlechtsreifen Schafen darüber hinaus auch zu Beginn der normalen Paarungszeit zu beobachten (Dýrmundsson 1981, Dýrmundsson 1987, Foster 1994).

Das Hormon, das in erster Linie mit dem Einsetzen der Eierstocksaktivität und damit der Pubertät in Verbindung gebracht wird, ist LH. Während der Fortpflanzungszeit in der Periode des maximalen Follikelwachstums steigt die

basale LH-Konzentration bei adulten Schafen zusammen mit der LH-Pulsfrequenz zu einer Pulsfrequenz pro Stunde an. Dies führt zur Entwicklung der Follikel bis zum präovulatorischen Stadium und zu ihrer Sekretion von Östradiol, welches die LH-Sekretion weiter steigert und somit den LH-Gipfel auslöst, der zum Eisprung mit der sich anschließenden Bildung des Corpus luteum führt (Noakes et al., 2019). Bei präpubertären Schafen treten die LH-Impulse mit ähnlichen Amplituden, aber viel niedrigeren Frequenzen (eine alle zwei bis drei Stunden) auf. Infolgedessen bleibt der LH-Gipfel aus und es kommt nicht zum Eisprung (Noakes et al., 2019).

Experimentelle Untersuchungen an präpubertären Lämmern haben gezeigt, dass Ovarialfollikel auf exogene Gonadotropinstimulation reagieren können und dass die Hypophyse in der Lage ist, LH in einer Frequenz abzusondern, die die Ovulation stimuliert. Das Scheitern des Eisprungs und des Östrus bei einem präpubertären Schaf ist auf die hohe Schwelle für den positiven Rückkoppelungseffekt des Östradiols zurückzuführen, wodurch der LH-Gipfel ausbleibt. Der endokrine Auslöser für die Pubertät basiert auf der Rückkopplungsregulation von Sexualsteroiden, die auf das tonische und stimulierende Zentrum im Hypothalamus wirken (Day et al., 1984, Ebling et al., 1990). Das Einsetzen der Pubertät erleichtert die Sekretion von ovariellm Östradiol, so dass die Konzentration im Blutkreislauf ausreicht, um einen präovulatorischen GnRH- und LH-Anstieg zu stimulieren. Vor der Pubertät ist die Östrogenkonzentration zu niedrig, um einen Eisprung auszulösen. Mit dem Herannahen der Pubertät beginnt die HPG-Achse aktiver zu werden, so dass die pulsierende Frequenz von GnRH sowie FSH und LH ansteigen. Dadurch wird die Entwicklung der Follikel angeregt, die beginnen Östrogen zu sekretieren. Dieser Prozess setzt sich fort, bis die Östrogenkonzentration hoch genug ist, um das stimulierende Zentrum des Hypothalamus anzuregen und so einen präovulatorischen GnRH- und LH-Anstieg auszulösen. Als endokriner Auslöser der Pubertät wird daher der Verlust der Rückkopplungshemmung von Östrogen auf das tonische Zentrum des Hypothalamus angesehen (Ebling et al., 1990).

Auch weitere Faktoren spielen eine Rolle. Die Frequenz der LH-Sekretion hängt von dem GnRH aus dem Hypothalamus ab, das von einem Bereich im Hypothalamus gesteuert wird, der als neuronaler Pulsgenerator bezeichnet wird (Noakes et al., 2019). Altersbedingte Veränderungen der Hirnmorphologie und der neuronalen Zytoarchitektur können ebenfalls von Bedeutung sein, denn Studien an Ratten haben gezeigt, dass die Zahl der GnRH-Zellen mit stachelartigen Fortsätzen

an Soma und Dendriten bis zur Pubertät zunimmt. Darüber hinaus nimmt die hemmende Wirkung von Opioidpeptiden auf die LH-Sekretion mit zunehmendem Alter ab, was eine neurochemische Erklärung für die in der Pubertät auftretenden Veränderungen der Hypophysenempfindlichkeit gegenüber dem Östradiol Feedback liefern könnte (Bhanot und Wilkinson 1983, Wray und Hoffman 2008).

1.3.1. Einfluss der Saisonalität auf die Pubertät

Das reproduktive Verhalten von Tieren ist nicht nur abhängig von der Art, sondern unter anderem auch vom Klima und der Tageslichtlänge. Ein short-day breeder ist ein Tier, das auf eine Verkürzung der Photoperiode (= Stunden der Lichtexposition) mit einer erhöhten Paarungsbereitschaft reagiert. Bei einem long-day breeder führt eine Verlängerung der Photoperiode zu einer erhöhten Paarungsbereitschaft (Karsch 1986). Bei Tierarten, die sich saisonabhängig fortpflanzen, wie z. Bsp. Schafe, Stuten und Katzen, steht der Pubertätseintritt im Zusammenhang mit der Jahreszeit. Ein weibliches Fohlen z. Bsp., das früh im Jahr geboren wird, wird seinen ersten Östrus wahrscheinlich bereits im Mai oder Juni des Folgejahres mit ca. 16 bis 17 Monaten haben (Tab. 2). Wird es allerdings spät im Jahr geboren (Juli oder August), wird es seinen ersten Östrus erst mit 21 oder 22 Monaten haben. Unter normalen Bedingungen wird somit meistens das erste Fohlen der Maidenstute in einem Alter von über drei Jahren geboren (Noakes et al., 2019). Die Definition eines saisonalen Zyklus beinhaltet eine Periode des Anöstrus, in dem keine Fortpflanzung stattfindet. Der jährliche Übergang von Anöstrus zu Östrus hat viele Gemeinsamkeiten mit der Pubertät (Noakes et al., 2019). In beiden Fällen ist der grundlegende endokrine Mechanismus, der es einem sexuell inaktiven Tier ermöglicht sexuell aktiv zu werden, sehr ähnlich. Z. Bsp. zeigt ein Tier im Anöstrus und in der Präpubertät das Fehlen des LH-Anstieges, was für den Eisprung notwendig ist. Wobei in beiden Fällen die Fähigkeit zur Erzeugung eines LH-Anstiegs als Reaktion auf einen Stimulus (GnRH) vorhanden ist. In beiden Fällen ist die Sekretion von LH pulsierend aber niedrigfrequent, so dass der Stimulus für einen angemessenen Östrogenanstieg fehlt (Noakes et al., 2019). Schließlich gilt der zuvor beschriebene Auslöser für die Pubertät auch für Tiere, die sich im Übergang zwischen Anöstrus und Östrus befinden (Noakes et al., 2019).

Die Zirbeldrüse scheint eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Fortpflanzung bei saisonal zyklischen Tieren und beim Pubertätseintritt zu spielen, indem sie die Freisetzung von LH, FSH und Prolaktin beeinflusst (Noakes et al., 2019). Am

wichtigsten scheint das Melatonin zu sein, doch auch die Wirkung der anderen Peptidhormone der Zirbeldrüse (Arginin, Vasotocin, Gonadotropin und Prolaktin) spielen als freisetzende und hemmende Hormone eine wichtige Rolle. Es gibt Hinweise darauf, dass Melatonin möglicherweise nicht direkt auf den Hypophysenvorderlappen wirkt, sondern indirekt über die anderen Peptidhormone der Zirbeldrüse. Melatonin wird immer nachts ausgeschüttet und saisonale Tierarten reagieren unterschiedlich mit ihrem Reproduktionszyklus darauf. So aktiviert eine verkürzte Photoperiode bei short-day breedern und eine verlängerte bei long-day breeder die Fortpflanzung. Die Ausschüttung von Melatonin bei Dunkelheit wird durch die Hell-Dunkel-Information an der Epiphyse ausgelöst, welche zuvor vom hypothalamischen Nucleus Suprachiasmaticus (SCN) auf dem polysynaptischen Weg über den paraventriculären Nukleus und die oberen Spinalganglien des verlängerten Rückenmarks dorthin gelangt ist (Reiter et al., 2011). Die Dunkelheit führt zu einer indirekten Aktivierung der beiden Melatonin-Rezeptoren M1 und M2. Dies bewirkt wiederum im SCN einen Rückgang der neuronalen Feuerungsrate (M1) und eine Phasenverschiebung bei nachtaktiven Säugetieren (M2) (Dubocovich und Markowska 2005, Hardeland et al., 2012).

Melatonin steuert die reproduktive Reaktion des weiblichen Schafes auf induktive Photoperioden (Bittman et al., 1983). Die rhythmische Verabreichung von Melatonin an erwachsene weibliche Schafe hat eine ähnliche Wirkung wie die Verlängerung der Dunkelheit. Beides bewirkt eine Senkung der Prolaktinkonzentration im Plasma und führt so zu der Einleitung der Paarungszeit (Kennaway et al., 1982, Arendt et al., 1983). Bei Schafen ist eine intakte Zirbeldrüse für eine normale photoperiodische Reaktion auf veränderte Tageslichtmuster erforderlich. Andere saisonale Umweltreize wie Ernährung, Temperatur und soziale Faktoren sind jedoch auch wichtig, da Schafe mit geschädigter Zirbeldrüse immer noch eine saisonale Aufzucht haben (Sadleir 1969, Bronson 1985, Lincoln et al., 1989).

Die Stute als long-day breeder hat ebenfalls einen saisonalen Zyklus, der mit zunehmender Tageslänge beginnt. Daran beteiligt ist die Zirbeldrüse, denn wenn sie entfernt wird, zeigt die Stute keine normale Reaktion auf Veränderungen der Photoperiode (Grubbaugh et al., 1982). Bei intakten Stuten steigt die Melatoninkonzentration während der Dunkelheit an (Grubbaugh et al., 1982). Es gibt Hinweise darauf, dass Fohlen schon früh durch den zirkadianen Rhythmus

konditioniert werden und ab einem Alter von etwa sieben Wochen einen normalen Rhythmus der Melatoninsekretion entwickeln, der der adulten Stute ähnelt (Kilmer et al., 1982).

Tabelle 2: Weibliche Tierart und Alter zum Pubertätseintritt (aus Noakes et al., 2019)

Tierart	Alter zum Zeitpunkt der Pubertät
Stute	1 bis 2 Jahre
Kuh	7 bis 18 Monate
Schaf	6 bis 15 Monate
Ziege	4 bis 8 Monate
Sau	6 bis 8 Monate
Hündin	6 bis 24 Monate
Katze	7 bis 12 Monate

1.3.2. Einfluss von Kisspeptin beim Eintritt in die Pubertät und Saisonalität

Viele Jahre lang ging man davon aus, dass eine Zunahme der Frequenz und Amplitude der GnRH-Sekretion der wichtigste Marker für die Pubertät ist. Die Pubertät und die Saisonalität werden jedoch von einer Reihe von Umweltfaktoren beeinflusst, darunter auch Ernährung und Fettgehalt des Körpers. Dies wird durch präsynaptische Neuronen vermittelt, die empfindlich auf Umwelteinflüsse reagieren und ihrerseits die neuronale GnRH-Sekretion stimulieren. Eines der wichtigsten Proteine, das von präsynaptischen Neuronen freigesetzt wird, ist das Hormon Kisspeptin. Wenn es freigesetzt wird, bindet es an seine Rezeptoren (KISS1R oder GPR54: Galanin-like G-protein-coupled Rezeptor 54), die die GnRH-sezernierenden Neuronen exprimieren. Es gibt inzwischen zahlreiche Belege dafür, dass ein intakter Kisspeptin-Signalweg eine grundlegende Voraussetzung für das Einsetzen der Pubertät bei Säugetieren ist (Dungan et al., 2006, Terasawa et al., 2013). Eine zusätzliche Rolle beim Einsetzen der Pubertät müssen daher auch die Kisspeptin-sezernierenden Neuronen spielen, die sich im Nucleus arcuatus und im periventrikulären Nucleus des Hypothalamus befinden.

Die steigenden Östrogenkonzentrationen, die schließlich die HPG-Achse aktivieren, bewirken dies durch einen positiven Rückkopplungseffekt auf die Kisspeptin-Signalgebung. Tatsächlich exprimieren Kisspeptin-sezernierende Zellen den Östrogenrezeptor-Subtyp alpha (ERAlpha), der für die Rückkopplungseffekte von Östrogen notwendig ist, während GnRH-sezernierenden Zellen diesen Rezeptor nicht aufweisen (Clarke et al., 2009). Es wird angenommen, dass der fehlende positive Rückkopplungseffekt von Östrogen vor der Pubertät durch einen verringerten Kisspeptinspiegel bewirkt wird. Dies geht über die Pubertät hinaus, da die Auswirkungen von Östradiol auf kisspeptinerge Kerne in den Mechanismus des Eisprungs beim adulten Tier integriert werden und im Fortpflanzungszyklus mitwirken (Noakes et al., 2019).

Kisspeptin spielt auch in Bezug auf die Saisonalität eine große Rolle. Studien an Schafen haben gezeigt, dass die Expression von Kisspeptin mit der verkürzten Photoperiode zunimmt. Diese jahreszeitlichen Veränderungen treten im Nucleus arcuatus des Hypothalamus auf. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass eine Behandlung mit Kisspeptin bei Schafen im Anöstrus die Fortpflanzungsfunktion wiederherstellt (Clarke et al., 2009).

Die erste Vorstufe des Kisspeptins ist ein Polypeptid mit 145 Aminosäuren, aus der verschiedene Isoforme gebildet werden. Unter anderem entsteht Kisspeptin 10, ein Dekapeptid, das volle biologische Aktivität besitzt und für die Kontrolle der Saisonalität sowohl bei short- als auch bei long-day breedern von zentraler Bedeutung ist (Revel et al., 2007). Studien an syrischen Hamstern haben gezeigt, dass die Verabreichung von Kisspeptin 10 die Fortpflanzungsfunktion unter photoinhibitorischen Bedingungen bei long-day breedern wiederherstellen kann (Ansel et al., 2011). Auch bei Schafen, die zu den short-day-breedern gehören, kann die Gabe von Kisspeptin 10 im Anöstrus den Eisprung auslösen (Caraty et al., 2007).

Trotz dieser Erkenntnisse ist der Mechanismus, durch den eine reduzierte Melatoninausschüttung gegensätzliche Auswirkungen auf die Saisonalität von short- und long-day breedern hat, sowie die Auswirkungen dieser Ausschüttung auf die Kisspeptinfunktion, noch nicht vollständig geklärt (Noakes et al., 2019). Die Untersuchung einer anderen Peptidfamilie, der RFamid-verwandten Peptide (RFRP), die ebenfalls von hypothalamischen Neuronen exprimiert werden und nachweislich die Freisetzung von Gonadotropin hemmen, hat jedoch einige

Erkenntnisse gebracht (Henningsen et al., 2016). RFRP3 scheint das wichtigste hemmende Peptid bei Säugetieren zu sein und wirkt vermutlich auf die gleichen GnRH-Neuronen, die durch Kisspeptin 10 reguliert werden. Daher wurde postuliert, dass die Saisonalität durch die relativen Aktivitäten der Kisspeptin 10 und RFRP3 sezernierenden Neuronen im Hypothalamus reguliert wird.

1.3.3. Weitere Einflüsse auf die Pubertät

Der Zeitpunkt des Einsetzens der Pubertät wird durch den Genotyp des Individuums bestimmt, wobei kleinere Tierrassen tendenziell etwas früher pubertieren (Noakes et al., 2019). Diese unterschiedlichen Zeitpunkte werden auch durch eine Reihe von weiteren externen Faktoren beeinflusst.

1.3.3.1. Ernährung

Bei den meisten Haustierarten ist der Beginn der Pubertät eng mit dem Erreichen eines kritischen Körpergewichts sowie eines Mindestprozentsatzes an Körperfett bzw. metabolischer Masse verbunden (Frisch 1984). Somit ist die Ernährung ein wichtiger Faktor. Tiere, die gut ernährt werden und gute Wachstumskurven aufweisen, kommen eher in die Pubertät als Tiere, die nur schlecht ernährt werden und eine langsame Wachstumskurve aufweisen. Der zelluläre Mechanismus, der dem metabolischen Einfluss auf die hypothalamischen GnRH-Neuronen zugrunde liegt, ist zwar noch nicht vollständig erforscht, doch Veränderungen in der Ernährung beeinflussen eindeutig die GnRH-Sekretion. Z. Bsp. verzögert die Nahrungsbeschränkung bei Schafen die Pubertät durch eine Verminderung der Frequenz und Amplitude der GnRH-Sekretion (I'Anson et al., 2000). Das Protein Leptin, das von den weißen Fettzellen im Fettgewebe ausgeschüttet wird, ist ein wichtiges Bindeglied zwischen dem Stoffwechselstatus und der neuroendokrinen Achse. Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Behandlung mit Leptin den Beginn der Pubertät sowohl bei Tieren mit eingeschränktem als auch mit freiem Zugang zur Nahrung vorverlegen kann (Barash et al., 1996, Ahima et al., 1997). Die Leptinkonzentrationen im Serum von Schweinen (Qian et al., 1999) und Färsen (Garcia et al., 2002) steigen während der Pubertät an. Trotzdem wird im Allgemeinen angenommen, dass Leptin nicht das auslösende Signal für die Pubertät ist, sondern ein initialisierendes Signal, dass das Eintreten der Pubertät ermöglicht (Barb und Kraeling 2004). Leptin wirkt als metabolischer Faktor, da die zirkulierenden Konzentrationen im Laufe der pubertären Entwicklung ansteigen.

Die Leptinspiegel im Serum erreichen eine mutmaßlich stimulierende Schwelle, die die Aktivierung der HPG-Achse ermöglicht. Dies ist mit einer Verringerung der negativen Rückkopplung von Östradiol auf die Hypothalamus-Hypophysen-Achse und einer Stimulierung der Leptin-Genexpression im Fettgewebe verbunden (Barb und Kraeling 2004). Da GnRH-Neuronen keine Leptinrezeptoren exprimieren, müssen die Auswirkungen von Leptin auf die Pubertät indirekt sein und werden vermutlich durch präsynaptische hypothalamische Neuronen vermittelt. Es wird angenommen, dass Leptin nicht nur über Kisspeptin-Neuronen, sondern auch über neuronale Netzwerke im Hypothalamus von Proopiomelanocortin (POMC) und Neuropeptid Y (NPY) wirkt (Amstalden und Williams 2019). Es wird weiterhin angenommen, dass diese Neuronen Leptinsignale an die neuronalen Netzwerke weiterleiten, die die GnRH-Sekretion regulieren (Amstalden und Williams 2019). Andere Stoffwechselfaktoren, einschließlich Glukose und Fettsäuren, können auch indirekt auf GnRH wirken, indem sie stoffwechselsensitive Neuronen aktivieren, die dann die Kisspeptin- und schließlich die GnRH-Sekretion beeinflussen (Noakes et al., 2019).

Sowohl zur Fleischproduktion (Brito et al., 2007, Brito et al., 2007, Brito et al., 2007) als auch zur Milchproduktion (Dance et al., 2015, Byrne et al., 2018) haben Studien an Rindern gezeigt, dass das Angebot einer verbesserten Ernährung für präpubertäre Tiere zu einer verbesserten Stoffwechsellage führt, die wiederum einen Anstieg der Gonadotropinsekretion und einen fortgeschrittenen Beginn der Pubertät und Geschlechtsreife auslöst.

1.3.3.2. Einfluss des männlichen Tieres

Studien an Schafen und Schweinen haben gezeigt, dass die Exposition gegenüber dem männlichen Tier den Zeitpunkt des Pubertäteeintritts vorverlegt. Dieser so genannte Widder- oder Eber-Effekt wird wahrscheinlich durch Pheromone und andere sensorische Reize vermittelt, die die hypothalamische GnRH-Sekretion erhöhen (Underwood et al., 1944, Caton et al., 1986).

1.3.3.3. Klima

Durch anthropomorphe Extrapolation wurde angenommen, dass in den Tropen lebende Tiere früher in die Pubertät kommen als Tiere in gemäßigten Klimazonen (Noakes et al., 2019). An Rindern durchgeführte Studien haben gezeigt, dass dies bei Rindern nicht der Fall ist. Zebu-Rinder (*Bos indicus*) sind die vorherrschenden

Buckelrinder der Welt. Allein in Brasilien gibt es fast 170 Millionen Rinder, von denen 80 % Zebu- oder Zebu-Kreuzungen sind. Durch die in Südamerika vorherrschenden extensiven Haltungssysteme sind diese Rinder ständig den tropischen Klima- und Ernährungsbedingungen ausgesetzt, was durch den Selektionsdruck zu einer erhöhten Toleranz gegenüber diesen Bedingungen geführt hat. Diese Umwelttoleranz bedeutet, dass Zebu-Rinder dort leben und sich fortpflanzen können, wo Hausrinder (*Bos taurus*) nicht überleben können. Die Widerstandsfähigkeit gegenüber hohen Temperaturen und hoher Luftfeuchtigkeit in tropischen und subtropischen Regionen wurde mit der Fettansammlung am Buckel und der ausgeprägten Wamme dieser Rinder (Cartwright 1980) sowie mit ihrer Fähigkeit, minderwertiges Futter zu verdauen, in Verbindung gebracht (Rajaratne et al., 1983). Aufgrund dieser Merkmale ist das Zebu gut an extensive Zucht- und Haltungssysteme in einem tropischen Klima angepasst. Eine unerwünschte Folge der erhöhten Toleranz gegenüber Umweltbelastungen ist ein Rückgang der Produktivität und ein späterer Eintritt in die Geschlechtsreife. Die Pubertät setzt beim südamerikanischen Zebu erst mit 22-36 Monaten ein und das Alter beim ersten Abkalben liegt bei 44-48 Monaten (Pereira 1986, Souza et al., 1995, Pereira 2000). Bei Zebu-Rindern aus Sri Lanka liegt das durchschnittliche Alter der Pubertät bei 28,6 Monaten und das Alter bei der ersten Abkalbung bei 39,8 Monaten (Abeygunawardena et al., 1994). Ähnliche Daten wurden für einheimische Rassen in Bangladesch (Alam und Ghosh 1994) und Malaysia (Tan et al., 1986) erfasst.

1.3.3.4. Krankheit

Jede Krankheit, die die Wachstumsrate beeinflussen kann, verzögert den Beginn der Pubertät. Dies kann entweder direkt oder aufgrund einer Beeinträchtigung der Fütterung und der Nährstoffverwertung geschehen (Noakes et al., 2019).

Leptospirose und Durchfallerkrankungen, die z. Bsp. durch Rotaviren verursacht werden können (Barrington et al., 2005), hemmen nachweislich die Entwicklung und das Wachstum von Hirschen (Subharat et al., 2012) und Milchkühen (Donovan et al., 1998). Diese Krankheiten können zu einem verzögerten Pubertätsbeginn im Vergleich zu gesunden Tieren beitragen.

1.3.4. Pubertät Hündin

Das Einsetzen der Pubertät bei der Hündin ist zwischen 5 und 24 Monaten und wird

beeinflusst von der Rasse (Doucet und Vannimetus 2001), dem Körpergewicht und Umweltfaktoren (Günzel-Apel und Bostedt 2016 a). Kleinere Rassen erreichen die Pubertät fünf bis sechs Monate früher als große Rassen (Tab. 3). Es gibt kaum noch Hinweise auf eine Auswirkung der Photoperiode auf das Einsetzen der Pubertät beim Haushund, da die jahreszeitlichen Effekte, die bei Wildhunden beobachtet werden, nicht mehr vorhanden sind (Gobello 2014).

Tabelle 3: Alter bei Eintritt der Pubertät bei ausgewählten Hunderassen geordnet nach dem Körpergewicht (aus Günzel-Apel und Bostedt 2016 a)

Rasse	Alter (Monate) bei Eintritt der Pubertät	Rasse	Alter (Monate) bei Eintritt der Pubertät
Körpergewicht (kg) ≤ 10		Körpergewicht (kg) 21-30	
Bichon Frise	8–9	Bull Terrier	7-11
Griffon	bis 18	English Setter	7-20
Cavalier King Charles Spaniel	6-9	Norwegischer Elchhund	6-10
Italienischer Greyhound	18–24	Podenco	8-24
King Charles Spaniel	12-24	Saluki	8-24
Lakeland Terrier	bis 24	Samoyede	bis 12
Mops	9-12	Wolfsspitz	8-18
Schipperke	12-24	Körpergewicht (kg) 31-40	
Yorkshire Terrier	8-16	Berner Sennenhund	9-12
Körpergewicht (kg) 10-20		Barsoi	15-18
Basenji	10	Deerhound	bis 16
Welsh Corgi	9	Golden Retriever	9-11
Shetland Sheepdog (Sheltie)	7-17	Greyhound	11-30
Springer Spaniel	12	Großpudel	12-15
Whippet	12-24	Körpergewicht (kg) 41-50	
Körpergewicht (kg) 21-30		Akita	≥5
Afghane	7-30	Bloodhound	12
Airedale Terrier	15	Bullmastiff	6-16
American Staffordshire Terrier	10	Deutsch/Dänische Dogge	bis 18
Australian Shepherd	6-18	Pyrenäenschäferhund	12
Bearded Collie	8-12	Rottweiler	8
Belgischer Schäferhund (Tervuren)	10-12	Körpergewicht (kg) > 50	
Border Collie	6-8	Bernhardiner	9-15
Boxer	8-24	Irischer Wolfshund	14-18
Bretonischer Spaniel	9-12	Komondor	12
		Mastiff	11-12

1.3.4.2. Reproduktionszyklus der Hündin

Die Fortpflanzungsaktivität der Hündin unterscheidet sich von dem polyzyklischen Muster anderer Tierarten dadurch, dass es keine häufigen, wiederkehrenden

Läufigkeitsperioden gibt, die entweder das ganze Jahr über wiederholt werden wie bei Rindern und Schweinen oder saisonal auftreten, wie bei Pferden, Schafen, Ziegen und Katzen. Bei der Haushündin gibt es kaum Anzeichen für eine saisonale Beeinflussung der Fortpflanzungsfunktion, da das Auftreten der Läufigkeit relativ gleichmäßig über das Jahr verteilt ist (Sokolowski et al., 1977). Im Gegensatz dazu gibt es bei wildlebenden Caniden saisonale Einflüsse auf die Fortpflanzung. Eine Studie an in Gefangenschaft lebenden afrikanischen Wildhunden hat beispielsweise gezeigt, dass es Anzeichen für eine Saisonalität gibt. Die Weibchen weisen ein biphasisches Muster der Fortpflanzung auf, das sich im Winter und im Sommer manifestiert (Newell-Fugate et al., 2012).

Alle Hündinnen haben zwischen aufeinanderfolgenden Läufigkeiten einen längeren Zeitraum des Anöstrus, eine Phase der sexuellen Ruhe. Dies ist unabhängig davon, ob sie trächtig waren oder nicht. Dieses Muster wurde als monozyklisch beschrieben (Jöchle und Andersen 1977). Jüngste Erkenntnisse deuten darauf hin, dass endogene dopaminerge Substanzen einen direkten Einfluss auf die Regulierung der GnRH-Sekretion haben, wodurch die FSH-Sekretion stimuliert und die Follikulogenese eingeleitet wird (Okkens und Kooistra 2006). Das durchschnittliche Intervall zwischen aufeinanderfolgenden Fortpflanzungsperioden beträgt sieben Monate, ist aber variabel. Es gibt einige Hinweise darauf, dass die Rasse einen Einfluss haben kann. Beim Langhaarcollie sind es z. Bsp. 37 Wochen, beim Deutschen Schäferhund dagegen 26 Wochen (Christie und Bell 1971). Bei den anderen untersuchten Rassen liegen die mittleren Abstände zwischen diesen beiden Werten. Die Paarung scheint keinen großen Einfluss auf das Intervall zu haben, obwohl eine Trächtigkeit teils einen leichten Anstieg verursachen kann (Christie und Bell 1971).

1.3.5. Pubertät Katze

Das Körpergewicht ist der wichtigste Faktor beim Eintritt in die Pubertät bei wildlebenden Katzen (Feldman und Nelson 2004). Wildlebende Katzen zeigen ihren ersten Östrus, wenn sie ein Körpergewicht von mindestens 2,5 kg erreicht haben, was meist in einem Alter von zehn bis zwölf Monaten der Fall ist. Haus- oder auch Laborkatzen können schon mit einem Gewicht zwischen 2,3 und 2,5 kg geschlechtsreif werden, und zwar in der Regel um den siebten Lebensmonat. Somit wird die Hauskatze zwischen dem siebten und neunten Monat geschlechtsreif, wenn die körperliche Entwicklung noch nicht ganz abgeschlossen ist. Es wird jedoch von

Abweichungen zwischen 5 bis 18 Monaten berichtet (Günzel-Apel und Bostedt 2016 b). Die Pubertät ist zudem vom Zeitpunkt bzw. der Jahreszeit der Geburt abhängig. Weibliche Tiere, die früh im Jahr geboren wurden, kommen meist im Herbst desselben Jahres in die Pubertät, wobei Tiere die später im Jahr geboren werden erst im kommenden Frühjahr in die Pubertät kommen. Bei Haus- und Zuchtkatzen ist die Pubertät sehr viel variabler (Jemmett und Evans 1977). Orientalische Rassen wie Siam und Burma haben häufig vor dem 5. Lebensmonat ihren ersten Östrus, wobei Langhaarrassen häufig über ein Jahr alt sind (Noakes et al., 2019).

Die Phase der sexuellen Aktivität und ein Anzeichen der Geschlechtsreife ist bei der weiblichen Katze die Rolligkeit, die auch Raunze genannt wird. In dieser Zeit kommt es zu typischen Verhaltensmustern, wie das Reiben des Kopfes über den Boden, sich auf dem Rücken wälzen, schlangenförmiges Hin- und Herbewegen und raunzende Laute, aber auch die Ausscheidung von Geruchsstoffen über den Urin zur olfaktorischen Kommunikation zwischen den Geschlechtern (Günzel-Apel und Bostedt 2016 b).

1.3.5.2. Reproduktionszyklus der Katze

Freilebende Katzen und verwilderte Katzen sind saisonal polyöstrisch mit einer Anöstrusperiode, die im Spätherbst beginnt (Noakes et al., 2019). Die zunehmende Tageslichtlänge ist der wichtigste Faktor für die Wiederaufnahme der Fortpflanzungsaktivität und der erste Östrus tritt in der Regel kurz nach dem kürzesten Tag des Jahres auf. Wenn während der Brunstzeit täglich 14 Stunden Licht zur Verfügung steht, wird die sexuelle Aktivität das ganze Jahr über fortgesetzt. Diese Manipulation der Photoperiode verändert den zirkadianen Rhythmus der Melatoninproduktion (Leyva et al., 1984). Wenn die Beleuchtungsdauer von 14 auf 8 Stunden geändert wird, hört die zyklische Aktivität sofort auf (Leyva et al., 1984). Im Frühsommer kann es zu einer Periode scheinbar fehlender Fortpflanzungsaktivität kommen, die jedoch mit der Trächtigkeit oder Laktation nach der Paarung zu einem früheren Zeitpunkt des Jahres zusammenhängt (Noakes et al., 2019).

2. Das Anti-Müller Hormon (AMH)

Das Anti-Müller Hormon (AMH) ist ein Proteohormon und gehört zu den Glykoproteinen. Im englischsprachigen Raum wird es auch Müllerian Inhibitory

Factor (MIF) oder Müllerian Inhibiting Substance (MIS) genannt. Es gehört zu der Familie der transformierenden Wachstumshormone, im englischen Transforming-Growth-Factors- β (TGF- β), und somit zu den Signalmolekülen aus der Gruppe der Zytokine (Durlinger et al., 1999, Durlinger et al., 2002). Das AMH hat ein molekulares Gewicht von ca. 140 kDa und besteht aus 553 - 575 Aminosäuren (Cate et al., 1986). Es ist, im Gegensatz zu anderen Proteinen der TGF- β Familie, in seiner Wirkung auf den Reproduktionstrakt sehr spezifisch (Seifer et al., 2016). Erstmalig wurde es 1940 durch Versuche beim Kaninchen erforscht (Jost 1947). 1986 wurde das AMH-Gen, welches sich beim Menschen auf dem 19. Chromosom befindet, sequenziert (Cate et al., 1986). Seine inaktive Vorstufe besteht aus Polypeptidketten, die durch eine Disulfidbrücke miteinander verbunden sind und wird durch Proteolyse in die aktive Form umgewandelt (Belville et al., 2004).

Aktuelle Studien haben gezeigt, dass AMH und Anti-Müller Hormon Typ 2 Rezeptor (AMHR2) auch in der Prostata, der Lunge, dem Gehirn und der Hypophyse vorkommen, aber die spezifische Wirkung ist noch nicht geklärt (Silva und Giacobini 2021). Vermutet wird, dass AMH auch zentral an der HPG-Achse die Fertilität beeinflusst.

2.1. AMH in der Embryonalentwicklung

In der embryonalen Entwicklung liegt die Hauptfunktion von AMH in der Beteiligung der sexuellen Differenzierung bei allen Säugetieren. Zu Beginn der geschlechtlichen Entwicklung des Embryos besteht bei beiden Geschlechtern eine indifferente Anlage mit jeweils paarigem Wolff'schen und Müller'schen Gang (Senger 2012 a). Bei männlichen Embryonen werden große Mengen an AMH in den Sertolizellen der Hoden gebildet und bewirken die Rückbildung der Müller'schen Gänge, wodurch die Ausbildung weiblicher Geschlechtsorgane verhindert wird (Münsterberg und Lovell-Badge 1991). Dies stimuliert gleichzeitig die Leydigzellen Testosteron zu sezernieren, was zur Entwicklung der inneren männlichen Geschlechtsorgane, Nebenhoden, Samenleiter und Samenblasendrüse aus den Wolff'schen Gängen führt (Jost 1953, Josso 1973, Donahoe et al., 1977, Cate et al., 1986, Rey et al., 2000, Banco et al., 2010). Nur eine rudimentäre Uterovagina masculina bleibt noch aus den Müller'schen Gängen zurück (Senger 2012 a).

Es sind mehrere Gene bei der Differenzierung zum weiblichen Geschlecht

involviert. An der Entwicklung der Ovarien beteiligt sind z. Bsp. die Gene *Rspo1* und *Wnt4* (Christensen 2012). *Wnt4* aktiviert *Dax1*, ein auf dem X-Chromosom lokalisiertes Gen, das die Funktion von *SF1* unterdrückt und dadurch die Aktivierung von *Sox9* hemmt (Jakob und Lovell-Badge 2011). Infolgedessen entwickeln sich weder Sertoli- noch Leydigzellen und es wird weder AMH noch Testosteron ausgeschüttet. Ohne AMH und Testosteronwirkung kommt es zur Regression der Wolff'schen Gänge und aus den Müller'schen Gängen bilden sich die weiblichen Geschlechtsorgane, Eileiter, Uterus, Zervix und die kraniale Vagina, wobei die kaudalen Anteile der paarig angelegten Gänge miteinander verschmelzen (Jost 1953, Cate et al., 1986). Anstatt von Sertolizellen werden bei weiblichen Individuen Granulosazellen in den Gonaden gebildet, die erst nach der Pubertät größere Mengen an AMH sezernieren (Christensen 2012).

2.2. Bestimmung von AMH bei Hunden und Katzen

Zu Beginn der Kenntnis von AMH wurde es anhand seiner Bioaktivität nachgewiesen. So wurde gezeigt, dass sich die Müller'schen Gänge zurückbilden (Jost 1953). Anfang der 90er Jahre, wurde es bei Hundeembryonen mittels Immunhistochemie detektiert (Meyers-Wallen 1991). Die Immunhistochemie ist eine Analyse von Gewebeproben mittels immunchemischer Methoden, um die Anfärbung von Zell- oder Gewebestrukturen mit an Antikörper gekoppelten Farbstoffen durchzuführen (Lang 2013). Der Nachweis von AMH wird dabei durch den Avidin-Biotin Komplex (ABC) dargestellt (Banco et al., 2012). Aktuell werden verschiedene Immunoassays, Enzyme-linked Immunosorbent Assays (ELISA) oder Chemilumineszenzimmunoassays (CLIA), verwendet (Place et al., 2011, Claes et al., 2015). Bei dem antikörperbasierten Nachweisverfahren, dem ELISA, können unter anderem Hormone im Blutserum bestimmt werden, indem die enzymatische Farbreaktion gemessen wird (Kindt et al., 2007). In den ersten Studien wurden humane ELISA-Assays für die AMH-Bestimmung im Blutserum von Hunden verwendet (Diagnostic Systems Laboratory, Immunotech, Beckmann Coulter) (Holst 2017). In einer Studie mit Hündinnen lag die Sensitivität eines humanen ELISA-Kits bei nur 88 % (Alm und Holst 2018). Humanes AMH unterscheidet sich zum Teil von dem AMH der verschiedenen Tierarten und die Übereinstimmung von humanem und felinem AMH liegt bei unter 80 %. Es gibt zur Bestimmung von AMH neben dem humanen auch canine Testsysteme. Auf Grund der Sensitivität liefern canine Testsysteme deutlich höheren Messwerte bei Hunden als die human

spezifischen ELISA-Tests (Axnér und Ström Holst 2015, Turna Yilmaz et al., 2015, Themmen et al., 2016). Bei einer Gegenüberstellung eines humanen ELISA-Kit (Beckman Coulter, AMH- Gen II, USA) mit einem caninen (East BioPharm, China) wurde die Überlegenheit des humanmedizinischen Kits festgestellt, da der Abfall des AMHs nach der Kastration von dem caninen ELISA-Kit nicht verlässlich erkannt wurde (Pir Yagci et al., 2016). Es mangelt aktuell noch an der Standardisierung der AMH-Referenzbereiche bei den von verschiedenen Laboren angebotenen caninen Testsystemen (Pir Yagci et al., 2016).

Bei Immunoassays kann es auch zu Kreuzreaktionen mit anderen im Blut enthaltenen Proteinen kommen (Bergman et al., 2018, Bergman et al., 2019). So wurde bei kastrierten Hündinnen noch eine geringe AMH-Konzentration nachgewiesen, weil eine Kreuzreaktion mit Anti-Maus-Antikörpern vorlag (Bergman et al., 2018). Dies war allerdings nur bei 9 % der Hündinnen der Fall. Bei Katzen kommen bei 5 % der Tiere Immunglobuline vor, die zu Kreuzreaktionen führen können (Bergman et al., 2019).

2.3. AMH-Konzentration im Serum bei männlichen Säugetieren

AMH wird bei humanen männlichen Embryonen ab der fünften Schwangerschaftswoche in den Sertolizellen der Hoden produziert und bewirkt in der embryonalen Entwicklung die Rückbildung der Müller'schen Gänge (Grinspon und Rey 2010). Das Testosteron fällt postnatal in der ersten Lebenswoche ab und steigt in der zweiten wieder an. Ab da bleibt es die ersten drei bis sechs Lebensmonate auf diesem hohen Niveau (Forest et al., 1974). Anschließend fällt es wieder ab und steigt erst mit Eintritt in die Pubertät wieder an. Während der gesamten Schwangerschaft bleibt das AMH auf einem hohen Niveau und von der Geburt bis zur Pubertät ändert sich an der AMH-Konzentration nichts. Die Sertolizellen der Jungen reifen, produzieren AMH auf einem hohen Niveau und durchlaufen prämatüre Entwicklungsstadien (Grinspon und Rey 2010). Zu Beginn der Pubertät wird die HPG-Achse aktiviert, steigert die Produktion von Androgenen und führt somit zur Reifung der Sertolizellen (Pasqualini et al., 1981). Die AMH-Serumkonzentration fällt nach Erreichen der Geschlechtsreife ab (Kushnir et al., 2017). Das Wachstum der Sertolizellen und die Produktion von AMH steigen nicht weiter an (Rey et al., 2003) und hemmen so die Weiterentwicklung der Leydig-Zellen und die Sekretion von Androgenen (Laurich et al., 2002, Lee et al., 2003). Bei Männern (Lee et al., 1996), Bullen (Donahoe et al., 1977) und Hengsten (Claes

et al., 2013) ist ein Abfall der AMH-Konzentration nach der Pubertät beschrieben. Bei Bullen wurde ein AMH-Peak um den fünften Lebensmonat nachgewiesen (Rota et al., 2002). Hengstfohlen hingegen haben neonatal signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen als kurz vor der Pubertät (Claes et al., 2013). Die AMH-Konzentration wird durch den Anstieg von Testosteron, welches in den Leydigzellen gebildet wird, ab Eintritt in die Pubertät lebenslang herunterreguliert (Rota et al., 2002, Claes et al., 2013). Auch bei Männern ist eine negative Korrelation zwischen der AMH-Serumkonzentration und der intratestikulären Testosteronkonzentration beschrieben (Lee und Donahoe 1993). Aber nicht nur eine verminderte Sekretion ist für den AMH-Abfall im Blutserum verantwortlich, auch die Sekretionsrichtung ändert sich mit Eintritt in die Pubertät. AMH gelangt dann nicht mehr überwiegend in das Blut, sondern in das Lumen der Samenkanälchen, so dass die Konzentration im Blut zwar sinkt, aber im Seminalplasma dafür steigt (Fujisawa et al., 2002). Bei Fehlentwicklungen des Androgenrezeptors bleiben die AMH-Konzentrationen auch nach Eintritt der Geschlechtsreife hoch und steigen sogar noch weiter an (Rey et al., 1994).

Aktuell ist in der zugänglichen Literatur nichts über die AMH-Serumkonzentration bei präpubertären Rüden bekannt, aber eine positive Immunreaktion mit AMH-Antikörpern wurde in den Hoden fötaler Rüden ab dem 36. Tag der Trächtigkeit bis 48 Tage nach der Geburt bestätigt (Meyers-Wallen 1991, Banco et al., 2012, Balogh et al., 2021).

2.4. AMH-Konzentration im Serum bei weiblichen Säugetieren

AMH wird bei weiblichen humanen Feten bereits ab der 36. Schwangerschaftswoche in den Granulosazellen der Eierstöcke produziert (Rajpert-De Meyts et al., 1999) und erreicht maximale Serumkonzentrationen während der Pubertät (Broer et al., 2009). Bei weiblichen Säugetieren wird der Hauptanteil des AMH in den kleinen heranwachsenden Ovarialfollikeln produziert und die höchsten Konzentrationen wurden bei geschlechtsreifen Weibchen nachgewiesen (Vigier et al., 1984, Lee et al., 2003). Daher ist AMH zum Zeitpunkt der Geburt fast nicht und in den ersten Lebensjahren nur in sehr niedrigen Konzentrationen nachweisbar. AMH hemmt die Aromataseaktivität am Ovar und dadurch die Umwandlung von Androgenen zu Östrogenen (Hagen et al., 2015). In der Pubertät erhöht sich die Sekretion aus den Granulosazellen, wodurch ein erster Anstieg zu verzeichnen ist (Visser und Themmen 2005, Visser et al., 2006,

Broekmans et al., 2008). Im Vergleich zu den Sertolizellen der Hoden, welche bis zum Eintritt der Pubertät bei männlichen Individuen große Mengen AMH produzieren, arbeiten die Granulosazellen auf einem recht niedrigen Niveau der AMH-Expression (Josso et al., 2001). Bei jungen Mädchen ist bis zur Pubertät das AMH entweder sehr niedrig oder gar nicht messbar (Hudson et al., 1990, Lee et al., 1996). Die AMH-Konzentration steigt ab der zweiten Lebensdekade und mit dem Eintritt in die Pubertät deutlich an (Hudson et al., 1990). Bei Mädchen wurde ein AMH-Maximum mit durchschnittlich 15,8 Jahren nachgewiesen (Lie Fong et al., 2012). Bis zu einem Alter von 25 Jahren bleibt AMH auf einer konstanten Höhe, danach flaut es mit steigendem Alter stetig ab (Visser et al., 2006, Lie Fong et al., 2012). In der fertilen Lebensphase hemmt AMH die Entwicklung von zu vielen Primordialfollikeln zu weiteren follikulären Entwicklungsstufen durch einen negativen Feedback-Mechanismus auf den Pool der Primordialfollikel (Durlinger et al., 1999, Durlinger et al., 2002). Damit bewirkt AMH, dass der Pool der Primordialfollikel nicht zu früh komplett ausgeschöpft wird. Zusätzlich unterdrückt AMH die Sensitivität der wachsenden Präantralfollikel gegenüber FSH, um die Reifung und Selektion zu vieler Follikel zu verhindern (Durlinger et al., 2001). Vor dem Eintritt in die Menopause wird der Nachweis des AMHs immer schwieriger (Sowers et al., 2008, Freeman et al., 2012). In der vierten Lebensdekade, ungefähr zehn Jahre vor der Menopause (Freeman et al., 2012), und in der fünften Dekade, ungefähr fünf bis sechs Jahre vor der Menopause (Sowers et al., 2008), sinkt das AMH unter die Nachweisgrenze ab. Somit kommen Frauen mit geringen altersspezifischen AMH-Werten früher in die Menopause als Frauen mit höheren altersspezifischen AMH-Werten (Depmann et al., 2016, Depmann et al., 2018).

Eine positive Korrelation bei kleinen heranwachsenden Follikeln und der AMH-Serumkonzentration ist bei Kühen (Monniaux et al., 2012), Stuten (Claes et al., 2016), weiblichen Hamstern (Place und Cruickshank 2009) und Hündinnen (Anadol et al., 2020) beschrieben. Von heranwachsenden Follikeln wird AMH so lange exprimiert, bis sie die Größe und Differenzierung erreicht haben, um schließlich durch FSH-Wirkung als dominante Follikel selektiert zu werden. Bei Mäusen tritt dies im frühen Antralstadium kleiner heranwachsender Follikel auf (Durlinger et al., 2002). Bei Frauen werden 4 - 6 mm großen Antralfollikeln durch FSH als dominante Follikel selektiert (Weenen et al., 2004). Bei Schafen, Ziegen und Rindern sind in der Follikelflüssigkeit kleiner Antralfollikel die AMH-

Konzentrationen am höchsten und nehmen bei präovulatorischen Follikeln deutlich ab (Monniaux et al., 2012). Die AMH-Konzentration in der Follikelflüssigkeit korreliert bei der Stute negativ mit dem Durchmesser ovarieller Follikel und ist in präovulatorischen Follikeln nicht mehr nachweisbar (Vernunft et al., 2013).

Bei Hündinnen wurden signifikante Veränderungen des AMH-Spiegels im Verlauf des Östruszyklus festgestellt, wobei die AMH-Serumkonzentration beim Übergang von Anöstrus zu Proöstrus anstieg und der AMH-Spiegel vom postovulatorischen Östrus zum Metöstrus bei Hunden signifikant abnahm (Nagashima et al., 2016, Walter et al., 2019). Im Gegensatz dazu erreichten Katzen die höchsten AMH-Konzentrationen im Anöstrus und die niedrigsten während der Rolligkeit (Flock et al., 2022 b, Lapuente et al., 2023). In Bezug auf die Größe hatten Hündinnen großer Rassen niedrigere AMH-Serumwerte als mittelgroße und kleine Hündinnen (Hollinshead et al., 2017). Dieselben Autoren beschrieben einen allmählichen Rückgang der AMH-Serumkonzentration bei erwachsenen Hündinnen, die älter als vier Jahre waren.

Über die AMH-Konzentration bei präpubertären Katzen und Hündinnen ist jedoch wenig beschrieben. Jüngere Katzen wiesen höhere AMH-Konzentrationen auf als erwachsene Katzen (Snoeck et al., 2017, Ferré-Dolcet et al., 2022, Flock et al., 2022 b, Lapuente et al., 2023). Im Vergleich scheinen präpubertäre Hündinnen unter sechs Monaten niedrige AMH-Konzentrationen zu haben, wobei das genaue Alter nicht angegeben wurde (Place et al., 2011, Turna Yilmaz et al., 2015, Hill et al., 2018, Karakas Alkan et al., 2019).

2.5. AMH in der Diagnostik

Die Bedeutung von AMH in der Diagnostik von Erkrankungen und reproduktionsspezifischen Fragestellungen hat in den letzten Jahrzehnten in der Human- und schließlich auch in der Veterinärmedizin an Bedeutung gewonnen und wird immer häufiger eingesetzt. In den meisten Fällen kann zu jedem Zeitpunkt eine einmalige Blutentnahme zur Diagnose von bestimmten Erkrankungen genutzt werden und bei vielen Tierarten können einige Krankheitsbilder mit Hilfe der AMH-Bestimmung erkannt werden.

2.5.1. AMH in der Diagnostik in der Humanmedizin

AMH wird in der Humanmedizin bei Frauen als indirekter, nichtinvasiver Marker zur Bestimmung der ovariellen Follikelreserve genutzt (Josso 2019). Die AMH-

Serumkonzentration reflektiert die follikulären Reserven, da der Pool kleiner, wachsender Follikel mit der Gesamtzahl der Primordialfollikel positiv korreliert (Hansen et al., 2008). Somit kann AMH hinweisend für die verbleibenden fruchtbaren Jahre der Frau bis zum Eintritt der Menopause sein (Visser et al., 2006, Freeman et al., 2012, Peluso et al., 2014, Finkelstein et al., 2020). AMH kann, gemeinsam mit dem Alter und BMI der Frau, den Eintritt in die Menopause präziser bestimmen als FSH (Finkelstein et al., 2020). Während eines Menstruationszyklus kommt es bei Frauen nur zu geringen Schwankungen der AMH-Konzentration, was zu jeder Zeit eine aussagekräftige Bestimmung ermöglicht (Tsepelidis et al., 2007). Jedoch reicht eine einmalige Messung der AMH-Serumkonzentration bei Frauen nicht zur Einschätzung der Fruchtbarkeit aus. Es sollten mehrere AMH-Messungen über einen längeren Zeitraum hinweg erfolgen, um die Geschwindigkeit der Abnahme des AMH-Spiegels und somit die Depletion des Primordialfollikelpools genau interpretieren zu können (Pilsgaard et al., 2018). Zwar ist AMH ein exzellenter Marker für die ovarielle Follikelreserve, jedoch gibt es bisher keine einstimmigen Ergebnisse über die Verwendung von AMH als Fruchtbarkeitsmarker (Oh et al., 2019). Wenn eine Frau zur Ovulation befähigt ist, scheinen die ovariellen Follikelreserven nur einen geringen Einfluss auf die Fruchtbarkeit zu haben (Bressler und Steiner 2018).

In der Neonatologie und Pädiatrie findet das AMH auch Anwendung als klinisches Diagnostikum. Werden Neugeborene mit nicht eindeutigen Genitalien bzw. Geschlecht geboren, kann es als Marker für sexuelle Differenzierung genutzt werden. Zudem wird AMH als Biomarker bei Kryptorchismus und verzögertem Eintritt in die Pubertät, und somit der Geschlechtsreife, genutzt (Kushnir et al., 2017). Bei Jungen wird die AMH-Serumkonzentration bestimmt, um sexuelle Fehlbildungen zu diagnostizieren (Josso und Rey 2020). AMH kann bei präpubertären Jungen Hinweise auf testikuläres Gewebe geben und somit auch auf die Anzahl funktioneller Sertolizellen. Physiologische AMH-Werte weisen nicht auf eine Gonadendysgenese hin (Freire et al., 2018). Es ist beschrieben, dass Jungen mit abgestiegenen Hoden ähnliche AMH-Werte wie Jungen mit kryptorchiden Hoden haben. Somit kann durch die Bestimmung der AMH-Serumkonzentrationen ein Kryptorchismus von einer Anorchie unterschieden werden (Lee et al., 1997). Zusätzlich kann man durch die AMH-Bestimmung beim Müller-Gang-Persistenzsyndrom zwischen einer Mutation vom AMH und dem

AMH-Rezeptor-II-Gen unterscheiden (Picard et al., 2017). In einer großen Studie mit 124 Jungen mit Varikozele wurde gezeigt, dass die AMH-Serumkonzentration bei präpubertären Patienten mit Varikozele höher waren als bei den Kontrollpersonen (Trigo et al., 2004). Ein vermindertes Fruchtbarkeitspotenzial ist durch eine Abnahme der Spermienmotilität, der Spermienkonzentration, des Hodenvolumens und des Inhibin-B-Spiegels gekennzeichnet (Hutson 1986). Auch die AMH-Konzentration im Seminalplasma ist bei Azoospermie niedriger als bei gesunden Männern (Fujisawa et al., 2002). Die Bestimmung der AMH-Konzentration im Seminalplasma kann als Instrument zur Vorhersage des Erfolgs einer Gonadotropintherapie bei hypogonadotropem Hypogonadismus betrachtet werden, da ihr früher Anstieg ein Marker für eine gute spermatogene Reaktion sein kann (Sinisi et al., 2008). Beim Mann kann die AMH-Serumkonzentration zur Diagnose eines Sertolli-Zelltumors bestimmt werden (Rey et al., 2000, Grinspon und Rey 2010).

2.5.2. AMH in der Diagnostik in der Veterinärmedizin

AMH wird in vielen Bereichen der Veterinärmedizin bereits erfolgreich genutzt und eingesetzt.

2.5.3. Fertilitätsmarker

Bei Mäusen (Kevenaar et al., 2006), Kühen (Ireland et al., 2008) und Hamstern (Place und Cruickshank 2009) korreliert der AMH-Serumspiegel mit der Anzahl verbleibender Primordialfollikel. Bei der Hündin hingegen liegt keine Korrelation zwischen der AMH-Serumkonzentration und der Anzahl der Primordialfollikel vor (Anadol et al., 2020). Zusätzlich dient AMH bei der Kuh (Monniaux et al., 2010, Rico et al., 2012, Souza et al., 2015, Karl et al., 2022), dem Schaf (Lahoz et al., 2012, Lahoz et al., 2014), der Hündin (Hollinshead et al., 2017), der Ziege und der Stute als Fruchtbarkeitsmarker (Ball et al., 2019, Papas et al., 2021).

Untersuchungen bei der Hündin zur Wurfgröße ergaben, dass kleinere Rassen trotz höherer AMH-Serumwerte kleinere Würfe im Vergleich zu größeren Rassen hatten (Hollinshead et al., 2017). Jedoch hatten Hündinnen mit höheren AMH-Serumwerten von Rassen ähnlicher Größe signifikant größere Würfe. Es konnte kein Zusammenhang der AMH-Serumkonzentrationen und der Wurfraten nachgewiesen werden. Auch das Alter der Hündinnen hatte keinen Einfluss auf die Wurfraten. Eine aktuelle Studie zeigte, dass das Körpergewicht einen starken

Einfluss auf die Wurfgröße hat (Hornberger et al., 2025). Es besteht eine hoch signifikant negative Korrelation zwischen dem AMH-Wert und dem Körpergewicht. Dies führt zu einem signifikanten Effekt der AMH-Konzentration und der Wurfgröße bei Hündinnen mit gleichem Körpergewicht.

Bei reinrassigen Stuten konnte ein Zusammenhang zwischen den AMH-Serumkonzentrationen und der Fertilität nachgewiesen werden, da Stuten mit höheren AMH-Serumwerten eher trächtig wurden, als welche mit niedrigeren Werten (Ball et al., 2019). In einer weiteren Studie mit Eizellentnahmen und intrazytoplasmatischen Spermieninjektionen bei Stuten korrelierte die AMH-Serumkonzentration signifikant mit der Anzahl punktierter Follikel und der Anzahl gewonnener Eizellen (Papas et al., 2021). Die Stuten mit höheren AMH-Werten produzierten signifikant mehr Follikel, Oozyten und Blastozysten pro Eizellentnahme als Stuten mit niedrigeren AMH-Werten. Es gab jedoch keinen signifikanten Unterschied in der Blastozystenrate. Bei Stuten mit höheren AMH-Serumkonzentrationen konnten zwar mehr Eizellen gewonnen werden und mehr Embryonen entstehen, aber auch bei 58 % der Stuten mit niedrigeren AMH-Serumkonzentrationen entwickelte sich mindestens ein Embryo (Papap et al., 2021).

Bei Rasa-Aragonesa-Lämmern wurde AMH ebenfalls als Fertilitätsmarker untersucht. Die Fruchtbarkeit zur ersten Paarung korrelierte signifikant mit den AMH-Serumwerten, die mit drei bis sechs Monaten bestimmt wurden (Lahoz et al., 2012). In einer weiteren Studie an Rasa-Aragonesa-Schafen wurde AMH als verlässlicher Marker für die Reaktion der Ovarien auf FSH-Stimulation beschrieben (Lahoz et al., 2014). Zur Produktion von Embryonen in vivo konnte AMH als geeigneter Marker zur Selektion von Spender-Mutterschafen genutzt werden (Pinto et al., 2018).

Rinder mit hohen AMH-Serumkonzentrationen sprechen deutlich besser auf eine Superovulation an, als Rinder mit vergleichsweise niedrigen AMH-Serumkonzentrationen (Souza et al., 2015). Auch während der ersten Laktation, mehrere Monate vor der Superovulation, korreliert bereits die AMH-Serumkonzentration bei Spenderkühen für die Embryonenproduktion signifikant mit der maximalen Anzahl gesammelter und transferierbarer Embryonen (Monniaux et al., 2010). Somit konnte AMH zur Verbesserung der Effizienz von Superovulations-Programmen bei Milchkühen beitragen (Monniaux et al., 2010,

Souza et al., 2015). Im Vergleich war bei einer anderen Untersuchung die Korrelation zwischen der AMH-Serumkonzentration und dem Ergebnis nach der Eizellentnahme mit anschließender intrazytoplasmatischen Spermieninjektion zu gering, um den Erfolg bei Holstein-Friesian-Färsen vorherzusagen (Vernunft et al., 2015). Es kann jedoch dazu dienen sehr gut von sehr schlecht geeigneten Tieren für die Eizellspende zu unterscheiden. Der Zusammenhang zwischen der AMH-Serumkonzentration und der Anzahl der Antralfollikel wurde ebenfalls bei Holstein-Friesian-Kühen untersucht und Tiere mit einer höheren AMH-Serumkonzentration hatten auch mehr Antralfollikel (Guanga et al., 2022). Mit dieser Information konnten geeignete Spenderkühen für den Embryonentransfer ausgewählt werden. Daraus ergibt sich, dass mit der AMH-Serumkonzentration und der Anzahl der Antralfollikel bei einem Superovulationsprogramm an Färsen mit kleiner Ovarialreserve, zwar die Anzahl, aber nicht die Funktionalität der Ovulationsreife beurteilt werden kann (Karl et al., 2022).

Die AMH-Serumkonzentration kann auch bei Ziegen genutzt werden, um das Potential für eine hohe bzw. niedrige Anzahl qualitativ hochwertiger Embryonen vorherzusagen (Monniaux et al., 2011).

Eine verminderte Fertilität beim Rüden kann durch eine testikuläre Degeneration hervorgerufen werden und betrifft hauptsächlich ältere Hunde (Ortega-Pacheco et al., 2006, Câmara et al., 2018). Sowohl AMH als auch Insulin-like-Peptide 3 (INSL3) sind Biomarker, die einzig in Sertolizellen bzw. Leydigzellen sezerniert werden und somit Rückschlüsse auf deren Zellfunktion ermöglichen. In einer Studie an Rüden wurde eine Deslorelin induzierte Hodenatrophie als Modell für die gonadotropinabhängige Infertilität genutzt. Die Rüden mit Deslorelin-induzierter Hodenatrophie hatten, sobald das Testosteron fiel, signifikant höhere AMH-Werte als die Kontrollgruppe. Somit kann AMH, zusammen mit INSL3, als einzigartiger Biomarker bei der diagnostischen Aufarbeitung von Infertilität und Subfertilität beim Rüden genutzt werden (Balogh et al., 2021).

2.5.4. Kastrationsstatus

AMH wird beim weiblichen Tier ausschließlich von den Granulosazellen des Ovars sezerniert, daher lässt eine feststellbare Konzentration von AMH im Serum immer auf das Vorhandensein von Keimdrüsen schließen (Durlinger et al., 1999, Visser et al., 2006). Dies wurde in den letzten Jahren in verschiedenen Studien bei

Hündinnen und Katzen gezeigt (Axnér und Ström Holst 2015, Pir Yagci et al., 2016, Themmen et al., 2016). Tiere aus dem Tierheim, dem Ausland oder mit unbekannter Anamnese und Kastrationsstatus werden häufig in der tierärztlichen Praxis vorgestellt (Place et al., 2011, Themmen et al., 2016). So war die erste klinische Anwendungsmöglichkeit des AMHs die Differenzierung von sexuell intakten und kastrierten Tieren bei Hündinnen und Katzen (Place et al., 2011). Der Nachweis von AMH im Serum kann zu jedem Zeitpunkt erfolgen, unabhängig vom Zyklusstadium und es ist nur eine einmalige Blutprobenentnahme notwendig. Der Nachweis von Ovargewebe über die AMH-Bestimmung im Serum ist sehr verlässlich und wurde bereits mit verschiedenen Testsystemen bei Hündinnen durchgeführt. Es wurde nur in einer Studie ein falschpositiver hoher Wert bei einer bereits kastrierten Hündin gemessen (Place et al., 2011). Falsch negative AMH-Konzentrationen wurden jedoch schon häufiger in der Gruppe der sexuell intakten Tiere bestimmt (Place et al., 2011, Themmen et al., 2016, Alm und Holst 2018). Hiervon sind vermutlich vor allem präpubertäre Hündinnen betroffen, bei denen AMH noch in sehr geringen Mengen sezerniert wird (Place et al., 2011). Bei Katzen hingegen wurde in den bisherigen Studien keine falsch positiven oder negativen AMH-Konzentrationen gemessen (Place et al., 2011, Axnér und Ström Holst 2015).

2.5.5. Ovarrest-Syndrom

In den meisten Fällen ist das Ovarrest-Syndrom (ORS) die Folge einer unvollständigen Entfernung einer oder beider Ovarien im Rahmen einer routinemäßig durchgeführten Kastration (Wallace 1991, Miller 1995, Ball et al., 2010, Little 2011, Rota et al., 2011). Eine andere mögliche Ursache ist ektopisches Ovargewebe, hierfür gibt es in der Literatur jedoch keine Hinweise (Schlafer und Foster 2016). Meist zeigen betroffene Tiere Monate bis Jahre nach der Kastration Östrussympptome. Metropathien, Ovarzysten oder Ovartumoren können die Folge sein, wenn die Ovarreste nicht operativ entfernt werden (Miller 1995). Diese Folgeerkrankungen scheinen bei Katzen insgesamt seltener zu sein als bei Hündinnen, da sie in der Literatur häufig nur als Fallberichte auftauchen (Cellio und Degner 2000, Demirel und Acar 2012). Zudem ist ein Fall veröffentlicht, bei dem eine Katze mit Ovarrest-Syndrom einen Hyperandrogenismus entwickelte (Jones et al., 2019). Die Therapie der Wahl ist die chirurgische Entfernung des Ovargewebes, was entweder über eine Laparotomie oder endoskopisch erfolgt (Miller 1995, Ball et al., 2010, Naiman et al., 2014). In den meisten Fällen befindet

sich das Restovargewebe an einem oder beiden Stümpfen der Ovarligatur. Es ist aber auch beschrieben, dass Ovarreste an anderen Stellen in der Bauchhöhle revaskularisieren und hormonell aktiv werden können (DeNardo et al., 2001, Fontes und McCarthy 2020). Mit Hilfe der AMH-Serumkonzentration haben bereits verschiedene Studien gezeigt, dass sexuell intakte und kastrierte Tiere differenziert werden können. Zudem konnte bei Hündinnen gezeigt werden, dass die AMH-Serumkonzentration auch dazu genutzt werden kann Hündinnen mit ORS von vollständig kastrierten Tieren zu unterscheiden (Turna Yilmaz et al., 2015, Place et al., 2019). Der Vorteil in der Bestimmung des AMH gegenüber anderen diagnostischen Möglichkeiten liegt in der Unabhängigkeit vom Reproduktionszyklus und in der einmaligen Blutentnahme. Bei Katzen wurde die Eignung des AMH zur Diagnostik von Ovarrestgewebe ebenfalls untersucht (Place et al., 2011, Fontes und McCarthy 2020, Flock et al., 2022 a). Die Katzen mit ORS hatten signifikant niedrigere AMH-Serumwerte als sexuell intakte Katzen. Somit ist die Bestimmung der AMH-Serumkonzentration zur Diagnostik des ORS auch bei Katzen sehr gut geeignet und unbeeinflusst von der hormonellen Aktivität des ovariellen Restgewebes (Place et al., 2011, Flock et al., 2022 a).

2.5.6. Granulosazelltumor

Die Granulosazelltumore gehen vom Keimdrüsenstroma des Ovars aus und gehören zu den Keimzelltumoren. Es sind bei allen Haussäugetieren Ovarumoren beschrieben (MacLachlan 1987). Die häufigsten Tumore bei Hündinnen sind epitheliale Tumore, wie Adenome und Adenokarzinome, aber auch Granulosazelltumore kommen vor (Nielsen et al., 1976). Granulosazelltumore können sich, aufgrund ihrer hormonellen Aktivität, auf den Reproduktionszyklus, das geschlechtshormonbedingte Verhalten oder den Geschlechtstrakt auswirken. Beim Kleintier sind dies häufig Abweichungen von einem physiologischen Reproduktionszyklus, wie verlängerte Östrussymptome oder unregelmäßige Östrusintervalle. Daraus können Metropathien, wie eine glandulär-zystische Endometriumshyperplasie oder Pyometra resultieren (Johnston et al., 2001). Bei Stuten und Kühen mit Granulosazelltumoren konnte eine signifikant höhere AMH-Konzentration im Blut festgestellt werden, als bei trächtigen oder zyklischen Tieren (Ball et al., 2008 b, Banco et al., 2012, Ball et al., 2013, El-Sheikh Ali et al., 2013, Gharagozlou et al., 2013). Zudem wurde bei Kühen festgestellt, dass die AMH-Konzentration positiv mit der Tumorgroße korreliert (El-Sheikh Ali et al., 2013).

Die AMH-Konzentration sank bei Stuten und Kühen nach der operativen Tumorentfernung wieder ab (Almeida et al., 2011, El-Sheikh Ali et al., 2013). Auch bei Hündinnen kann AMH bereits genutzt werden, um Granulosazelltumore zu diagnostizieren. Denn auch diese wiesen höhere AMH-Werte als gesunde Tiere auf (Walter et al., 2018). Bei Katzen gibt es einen Fallbericht über eine Katze mit einem Granulosazelltumor, welche im Vergleich zu gesunden Vergleichstieren eine erhöhte AMH-Konzentration im Blutserum zeigte. Zwei Monate nach vollständiger Kastration nahm die AMH-Serumkonzentration der betroffenen Katze wieder ab (Heaps et al., 2017).

2.5.7. Sertollizelltumor

Bei männlichen Tieren kann AMH genutzt werden, um Sertolizelltumore, neoplastische Entartungen der Gonaden ausgehend von den Sertolizellen, zu diagnostizieren (Ball et al., 2008 a, Banco et al., 2010, Holst und Dreimanis 2015). Rüden mit Sertolizelltumoren hatten signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen als gesunde Rüden gleichen Alters (Holst und Dreimanis 2015, Leykam et al., 2018). Zusätzlich wiesen auch Rüden mit anderen testikulären Tumoren, Seminome und Leydigzelltumore, und auch bei entzündlichen Hodenpathologien signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen auf. Somit ist eine erhöhte AMH-Serumkonzentration hinweisend, jedoch müssen weitere diagnostische Maßnahmen ergriffen werden, um andere Hodenpathologien auszuschließen. Auch bei Hengsten mit Sertollizelltumoren konnten signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen bestimmt werden als bei gesunden Hengsten (Ball et al., 2008 a, Banco et al., 2010).

2.5.8. Kryptorchismus

In der Veterinärmedizin ist AMH als klinischer Marker bei Verdacht auf Kryptorchismus beschrieben. Rüden mit bilateralem oder unilateralem Kryptorchismus wiesen signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen als kastrierte Rüden auf (Gharagozlou et al., 2014, Hornáková et al., 2017, Leykam et al., 2018). Auch bei unilateralen kryptorchiden Kälbern wurden signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen nachgewiesen als bei bereits kastrierten Tieren (Kitahara et al., 2012). Bei Rüden konnten sogar zwischen kryptorchiden und sexuell intakten Rüden mit skrotalen Hoden anhand der AMH-Serumkonzentration unterschieden werden, da die kryptorchiden Rüden signifikant höhere AMH-

Serumwerte hatten (Hornáková et al., 2017). Es wurden auch signifikant höhere AMH-Serumkonzentrationen bei kryptorchiden Hengsten und Kälbern nachgewiesen als bei Hengsten (Claes et al., 2013) bzw. Kälbern (Kitahara et al., 2012) mit physiologischem Hodenabstieg. Als Begründung wird dafür die morphologische Ähnlichkeit kryptorchider Hoden mit präpubertären Hoden diskutiert (Claes et al., 2013). Im Gegensatz zu abgestiegenen Hoden weisen kryptorchide Hoden eine erhöhte AMH- und AMH-Rezeptor-II-Expression auf, was auf unreife Sertolizellen und/oder eine fehlende Suppression durch Testosteron hinweist (Almeida et al., 2013).

2.5.9. Kongenitale sexuelle Fehlbildungen

Kongenitale sexuelle Fehlbildungen kommen sowohl bei Katzen als auch bei Hunden vor (Meyers-Wallen 2012). Sie werden meist entsprechend der Geschlechtschromosomen als XX- beziehungsweise XY-Fehlbildungen bezeichnet (Poth et al., 2010, Meyers-Wallen 2012). Der Grund für eine sexuelle Fehlbildung ist eine gestörte Geschlechtsentwicklung. Es kann zu Störungen während der Phase der Festlegung des chromosomalen Geschlechts, der Gonadenentwicklung oder der Differenzierung des phänotypischen Geschlechts kommen (Christensen 2012). AMH wurde bei Hunden mit Störungen der Geschlechtsentwicklung bzw. testikulärer Dysgenese erforscht und kann als Marker für vorhandenes Hodengewebe genutzt werden (Walter et al., 2022). Die AMH-Serumkonzentrationen waren bei den Hunden mit Störungen der Geschlechtsentwicklung signifikant höher als bei gesunden, sexuell intakten Hündinnen und Rüden. Bei einem Pudel mit weiblichen äußeren Genitalien, der bis zum 48. Monate keine Läufigkeitsanzeichen zeigte, war kein AMH messbar. Pathohistologisch konnte zwar Nebenhodengewebe nachgewiesen werden, aber nicht sicher Gonadengewebe (Walter et al., 2022). Dies spricht dafür, dass die AMH-Serumkonzentration für die Diagnose einer gonadalen Dysgenese genutzt werden kann. In einer Studie zu den AMH-Serumkonzentrationen im Verlauf der verschiedenen Phasen des Reproduktionszyklus der weiblichen Katze war ein Tier azyklisch. Die Katze zeigte über den gesamten Untersuchungszeitraum keine Östrussympptome und hatte niedrigere AMH-Serumkonzentrationen als die Vergleichstiere. Die pathohistologische Untersuchung ergab auch hier einen unreifen Eierstock mit wenigen Primärfollikeln auf der rechten Seite und einen linken Eierstock mit einer Ovarialzyste (Flock et al., 2022 b). Die Autoren

schlussfolgerten, dass durch eine AMH-Bestimmung bei Katzen ein stiller Östrus von einer Gonadenhypoplasie unterschieden werden.

III. PUBLIKATION

Die Publikation wurde am 11. Juli 2024 im Journal „Animals“ eingereicht und am 29. August 2024 zur Veröffentlichung akzeptiert. Am 3. September 2024 wurde der Originalartikel online publiziert.

Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Ludwig-Maximilians-
University Munich, Germany

Physiological Anti-Müllerian Hormone Concentrations in Male and Female Dogs and Cats before and around Puberty

Tanja Alexander; Ulrike Flock; Ruth Klein; Sven Reese; Andrea Meyer-
Lindenberg; Beate Walter

Article

Physiological Anti-Müllerian Hormone Concentrations in Male and Female Dogs and Cats before and around Puberty

Tanja Alexander ¹, Ulrike Flock ¹, Ruth Klein ², Sven Reese ³ , Andrea Meyer-Lindenberg ¹ and Beate Walter ^{4,*} 

¹ Clinic of Small Animal Surgery and Reproduction, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Veterinaerstr. 13, 80539 Munich, Germany; andrea.meyer-lindenberg@lmu.de (A.M.-L.)

² Laboklin GmbH & Co.KG, Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen, Germany; r.klein@laboklin.com

³ Chair of Anatomy, Histology and Embryology, Department of Veterinary Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Veterinaerstr. 13, 80539 Munich, Germany; sven.reese@lmu.de

⁴ Small Animals Clinic, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Veterinaerstr. 13, 80539 Munich, Germany

* Correspondence: beate.walter@lmu.de

Simple Summary: The diagnostic value of anti-Müllerian hormone (AMH) is well established but less is known about physiological concentrations in young individuals. The aim of this study was to determine AMH levels in small animals before and around puberty and to correlate these levels with testosterone in males entering puberty. Blood samples were collected between 2 and 48 weeks after birth for AMH and testosterone measured using a chemiluminescence immune assay. AMH concentrations were higher in males than in females, with no significant differences among male individuals. However, queens had significantly higher AMH concentrations compared to bitches. A significant decrease in AMH was observed in the males beginning 24 weeks after birth, which correlated only in dogs with an increase in testosterone. In bitches, AMH remained below the detection limit until 16 weeks after birth after which it increased slightly. In queens, AMH was detectable from week 2 with a significant increase starting at week 8, even approaching the chemiluminescence immune assay's upper limit. In conclusion, queens secreted AMH much earlier and in significantly higher amounts than bitches. The decrease of AMH in male species entering puberty was observed in both dogs and tomcats, but a negative correlation with testosterone was derived only for male dogs.



Citation: Alexander, T.; Flock, U.; Klein, R.; Reese, S.; Meyer-Lindenberg, A.; Walter, B. Physiological Anti-Müllerian Hormone Concentrations in Male and Female Dogs and Cats before and around Puberty. *Animals* **2024**, *14*, 2561. <https://doi.org/10.3390/ani14172561>

Academic Editor: Juan Carlos Illera del Portal

Received: 11 July 2024

Revised: 22 August 2024

Accepted: 29 August 2024

Published: 3 September 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: In recent years several studies established the diagnostic value of anti-Müllerian hormone (AMH) in companion animals. However, less is known about physiological AMH concentrations in young individuals highlighting the necessity to apply the diagnostic findings to this group. The aim of this study was to determine the AMH values of healthy male and female dogs between the age of 8 and 48 weeks, tomcats under 8 weeks and up to 48 weeks of age and queens between 2 to 12 weeks of age. In total, 96 blood samples were collected. Anti-Müllerian hormone was measured in all samples and testosterone was measured in the oldest age group of the males in both species. The hormones were analyzed using a human based chemiluminescence immune assay. Overall, AMH concentrations were higher in males than in females ($p < 0.001$). According to the AMH concentration there was no difference in males, but queens had significant higher AMH concentrations than bitches ($p < 0.001$). AMH remained high in males up to week 24 and decreased significantly thereafter (tomcats: $p = 0.015$; male dogs: $p = 0.013$), which correlated with an increase in testosterone levels for male dogs only. In bitches, AMH remained below the detection limit until the week 16 and slightly increased subsequently. In queens, AMH was detectable from the beginning with a significant increase in the older age group ($p = 0.003$). Half of the cats in the older age group even approached the chemiluminescence immune assay's upper limit. The results show that female cats secrete AMH much earlier than female dogs in which AMH secretion begins just shortly before the start of the puberty. In the male animals, the decrease in AMH concentration around puberty was similar in dogs and cats, but a correlation with the increase of testosterone was only observed in dogs. Further

research is required to determine the origin of the high AMH concentrations in female kittens and the lack of correlation between testosterone and AMH concentrations in male kittens.

Keywords: anti-Müllerian hormone; reproduction; dog; cat; bitch; queen; tomcat

1. Introduction

Anti-Müllerian hormone (AMH), a glycoprotein of the transforming growth factor- β -family, is secreted primarily by Sertoli cells in males and granulosa cells in females. The key function of AMH is the regression of the Müllerian ducts during embryogenesis in males, in which high levels are secreted [1]. In females, under the absence of AMH, the Müllerian ducts progress into the outer epithelium of the ovaries, the salpinx, the uterus, the cervix, and the cranial part of the vagina during embryogenesis [2]. After puberty, AMH inhibits the recruitment of primordial follicles into the pool of growing follicles and reduces the responsiveness of growing follicles to the follicle stimulating hormone in females [3]. In males, AMH has a paracrine action on Leydig cells and reduces testosterone secretion [4]. Recent studies showed the expression of AMH and its receptor-2 in the prostate, lungs, brain, and hypophyses as well, but the specific action of AMH has not yet been determined [5].

Over the last decade, several studies have proven the diagnostic value of AMH in small animal reproduction. So far, AMH levels have helped to distinguish between intact and castrated dogs and cats [6–8], to identify bitches and queens with ovarian remnant syndrome [9–11], or to diagnose scrotal Sertoli cell tumor in male dogs and granulosa cell tumor in bitches [12,13]. Significantly higher AMH concentrations, in comparison to healthy animals, have been described in cryptorchid dogs and dogs with other disorders of sexual development [14,15] as well as in male dogs with deslorelin-induced testicular atrophy [16]. Furthermore, physiological factors influencing AMH concentration in dogs and cats can be observed during the estrous cycle and among different breeds and age groups. Significant changes in AMH levels over the estrous cycle in bitches have been reported with a rise in serum concentration of AMH from the transition of anestrus to proestrus and a significant decrease in AMH level from postovulatory estrus to metestrus in dogs [17,18]. In contrast, queens reached the highest AMH concentrations in anestrus and the lowest during heat [18,19]. Relating to the size, giant breed bitches had lower AMH values than medium and small size female dogs and the same authors described a gradual decline in AMH in adult dogs older than 4 years of age [20]. However, less is known about the AMH concentration in prepubertal cats and dogs. One study in cats has described measurable AMH serum concentrations in five female and male cats between 4 and 8 weeks after birth as AMH concentrations above 23 ng/mL. Further, it has been described that younger queens have higher AMH concentrations than adult cats [18,19,21,22]. In contrast, prepubertal bitches under 6 months of age seem to have low AMH concentrations [6,9,23,24]. To the authors' knowledge, nothing is known about the AMH serum concentration in prepubertal male dogs, but a positive immunoreaction with AMH antibodies has been confirmed in the testes of fetal male dogs from the 36th day of pregnancy up to 48 days after birth [16,25,26].

The aim of this study was to investigate the time of the postnatal rise in AMH concentration in female dogs and cats and the postnatal decrease in AMH level in male dogs and cats, as well as its relation to the rise in testosterone as it is described in other species.

2. Materials and Methods

2.1. Animal and Blood Sample Collection

This study included 15 prepubertal bitches, 17 male dogs, 10 queens, and 21 tomcats. The animal population was drafted from Ludwig Maximilian University small animal clinic patients and shelter animals. This study was approved by the ethical commission of

the veterinary faculty Ludwig Maximilian University Munich (no. 228-13-07-2020) and the owners gave their consent. The animals in this study were in general good health, proper body condition, and showed normal external genital organs. This study was designed cross-sectionally, and blood sample collections were performed once in 63 animals and twice in 33 animals during general health checks or antibody titer controls. The samples were grouped according to species, gender, and age of the animal, as shown in Table 1. Each group included 8 samples. The dogs consisted of 13 different breeds: mixed breed ($n = 10$), border collie ($n = 1$), Louisiana Catahoul leopard dog ($n = 1$), poodle ($n = 4$), Rhodesian ridgeback ($n = 5$), Pomeranian ($n = 3$), Maltese ($n = 2$), labrador ($n = 1$), Akita Inu ($n = 1$), cocker spaniel ($n = 1$), American bulldog ($n = 1$), Doberman ($n = 1$), and Deutsche Bracke ($n = 1$). The cats consisted of the following breeds: Bengal cats ($n=15$), Norwegian forest cats ($n = 4$), and European short-haired cats ($n = 12$). The weight distribution was between 1.00 kg and 27.50 kg (median: 12.25 kg) in the dog sample and between 0.38 kg and 4.40 kg (median: 2.40 kg) in the cat sample. In total, 96 blood samples were collected. Blood was obtained by puncture of the saphenous or cephalic vein with a 25-gauge needle. Blood samples were centrifuged at 600 G for ten minutes, and serum was drained directly afterwards and stored at -20°C until the measurement of AMH. Testosterone was measured additionally in the oldest group of male dogs and tomcats to determine the phase of puberty. The female kittens were chosen before puberty and the bitches before their first heat.

Table 1. Experimental group division by species, gender, and age.

Species	Gender	Age in Weeks and Size of Group					
Cats	Female	2 to 6 8 animals	-	6 to 12 8 animals	-	-	-
	Male	-	<8 8 animals	-	8 to 16 8 animals	16 to 24 8 animals	24 to 48 8 animals
Dogs	Female	-	-	-	8 to 16 8 animals	16 to 24 8 animals	24 to 48 8 animals
	Male	-	-	-	8 to 16 8 animals	16 to 24 8 animals	24 to 48 8 animals

2.2. Hormone Analysis

AMH was measured using a chemiluminescence immunoassay on a cobas E602 analyser (Roche) using murine anti-AMH antibodies validated for cats [18]. In dogs, the intra-assay co-efficient of variation was 1.8% and the inter-assay co-efficient of variation was 7.4%. In addition, the intra-assay co-efficient of variation was calculated for serial dilutions (1:2, 1:5, 1:10, 1:20) using physiological salt solution as a diluting agent. The intra-assay co-efficients of variation were 4.51% at 23.61 ng/mL, 2.52% at 1.30 ng/mL and 6.85% at 0.81 ng/mL. Comparing the expected values to the measured values after dilution in the dogs' sample gave a recovery rate of 88.89% to 104.94%. Visual inspection of the data plotted in a scatter diagram and a correlation analysis ($r^2 = 99.0\%$) confirmed the linearity under dilution. Recovery of human AMH standard added to canine plasma showed changes in optical density parallel to the AMH standard curve. Minimum detection limit of the AMH test was 0.01ng/mL, and maximum detection limit was 22.96 ng/mL. Testosterone concentrations were determined using a chemiluminescence immunoassay. Minimum detection limit of the testosterone test was 0.07 ng/mL and maximum detection limit was 15.00 ng/mL. The intra-assay co-efficient of variation in male dogs was 10.00% and in tomcats 10.98%, and the inter-assay co-efficient of variation in male dogs was 4.94% and in tomcats 5.21%.

2.3. Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out by using SPSS 28.0.1.0 (IBM, Ehningen, Germany). AMH concentrations were displayed as mean $\pm$ standard deviation and median with range.

Statistical analyses used unifactorial and multifactorial methods. Unifactorial statistical analysis for independent data employed Mann–Whitney U test, and Spearman’s Rho was used as a non-parametric test to measure the strength of association between two variables, where the value $r = 1$ means a perfect positive correlation and the value $r = -1$ means a perfect negative correlation.

AMH concentrations were compared between sexes for each species and between species for each sex using the Mann–Whitney U test. In addition, the dependence of the AMH concentration in males and females on age was determined.

The Spearman’s Rho method was used to determine the dependence of AMH concentration in males and females on age, and on testosterone levels in male animals over 20 weeks of age.

3. Results

The median, minimum, and maximum AMH concentrations within the different groups classified according to their species, gender, and age can be seen in Table 2. The AMH concentration was significantly higher in males than in females within each species ($p < 0.001$). There was no significant difference in the mean AMH concentration between the male cats and male dogs ($p = 0.682$). In contrast, the median AMH concentration in queens was significantly higher than in bitches ($p < 0.001$).

Table 2. Median, minimum, and maximum AMH and testosterone concentrations within the different groups classified according to their species, gender, and age.

Species	Gender	Age [Weeks]	AMH [ng/mL]			Testosterone [ng/mL]		
			Median	Minimum	Maximum	Median	Minimum	Maximum
Cats	Female	2 to 6	0.4	0.12	1.22	-	-	-
		6 to 12	20.71	0.87	22.96	-	-	-
		<8	22.96	22.96	22.96	-	-	-
	Male	8 to 16	22.96	22.96	22.96	-	-	-
		16 to 24	22.96	22.96	22.96	-	-	-
		24 to 48	14.12	6.46	22.96	5.5	<0.07	7.6
Dogs	Female	8 to 16	0.01	0.01	0.01	-	-	-
		16 to 24	0.035	0.01	0.1	-	-	-
		24 to 48	0.245	0.07	0.56	-	-	-
	Male	8 to 16	22.96	22.96	22.96	-	-	-
		16 to 24	22.96	22.96	22.96	-	-	-
		24 to 48	19.68	5.49	22.96	1.95	0.3	4.4

As displayed in Figure 1, the entire male dog and tomcat populations reached the chemiluminescence immune assay’s upper limit (>22.96 ng/mL) up to week 24 after birth and declined afterwards. Between week 24 and 48, there was a subsequent significant decrease in AMH serum concentration in tomcats ($p = 0.015$) and male dogs ($p = 0.013$). The AMH serum concentration decrease correlated negatively with the increasing testosterone concentration in male dogs; in tomcats, the increase in testosterone did not correlate with the decrease in AMH.

In queens and bitches, AMH concentration increased significantly with increasing age (queen: $\rho = 0.899$, $p < 0.001$; bitch: $\rho = 0.931$, $p < 0.001$), as shown in Figure 2. However, the AMH concentration increase starts earlier in queens and reaches significantly higher levels than in bitches ($p < 0.001$). The bitches had no detectable AMH levels up to week 16 (<0.01 ng/mL). Between week 16 and 24, the AMH concentration slowly increased in seven out of eight female dogs and every bitch older than 24 weeks had evident AMH values. In contrast, every queen in this study had measurable AMH concentrations, with a significant increase in AMH concentration in the older age group ($p = 0.003$), and half of the cats older than six weeks even reached chemiluminescence immune assay’s upper limit.

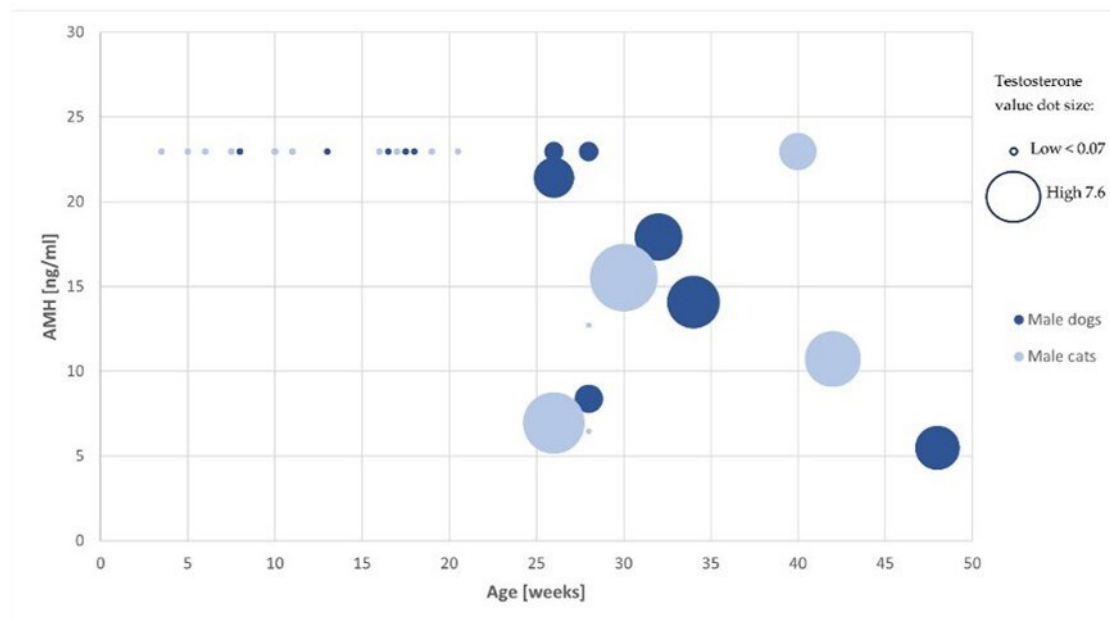


Figure 1. Dot plot of AMH values (Y-axis) in the examined tomcats (light blue) and male dogs (dark blue) in relation to their age (X-axis) showing the testosterone value by the size of the dots.

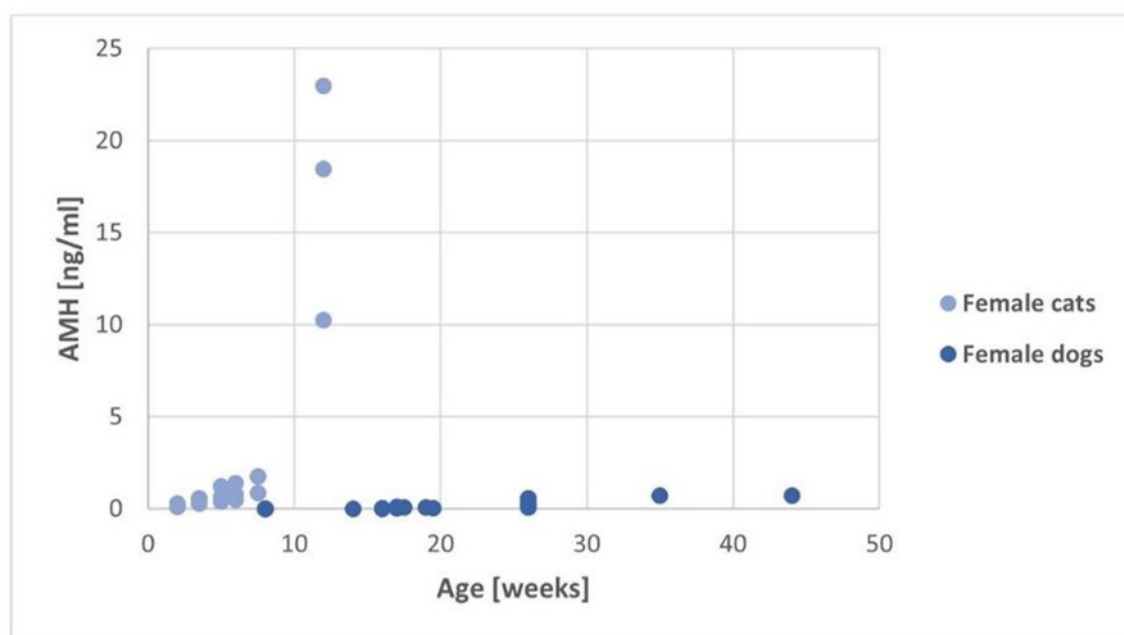


Figure 2. Dot plot of AMH values (Y-axis) in all examined queens and bitches in relation to their age (X-axis).

4. Discussion

The use of the AMH serum concentration as a diagnostic tool requires knowledge of the physiological secretion. The purpose of this study was to determine the physiological AMH serum concentrations in adolescent female and male dogs and cats and to identify any correlation between the increase in testosterone and decrease in AMH levels in male individuals around puberty, a subject which has barely been researched.

To the author's best knowledge, this is the first study to examine AMH serum concentrations in correlation to age and testosterone concentration in male dogs and tomcats under

6 months. The AMH concentrations of all examined male dogs and tomcats in this study reached the chemiluminescence immune assay's upper limit up to week 20. This matches the finding in one other study in which five tomcats between 4 and 8 weeks also had AMH concentrations above 23 ng/mL [19]. These high concentrations of AMH are most likely due to immature Sertoli cells that are present in the testes of prepubertal individuals, and which secrete higher amounts of AMH than mature Sertoli cells [26–28]. In human male embryos, AMH secretion starts at the end of the fifth week of pregnancy, whereas in male embryos of dogs, it has been described from 35th day of pregnancy in [26,29]. After birth, the AMH concentration stays high in male youth until puberty [30]. During this time, the Sertoli cells grow and pass the premature development stage [29]. With the activation of the hypothalamic–pituitary–gonadal axis at the beginning of puberty, the secretion of androgens increases, which leads to maturation of the Sertoli cells and subsequently reduction in their growth rate and AMH secretion [31,32].

After week 20, a continuous decrease in AMH concentration was observed for male dogs and tomcats in this study. In male calves, an AMH peak with five months of age has been described [33] and in male kids, a temporary decrease in AMH concentration within the first week after birth followed by an increase in the second week has been described [34]. To mitigate a prepubertal peak of the AMH concentration in male dogs and tomcats, further studies with repeated measurements in the same individuals from birth until puberty and dilution of the serum samples are required.

A decrease in AMH concentration in correlation with an increase in testosterone concentration at the time of puberty has already been described in bulls in 1977 with a graded organ culture assay to detect AMH activity [35]. A decrease in AMH concentration in the oldest male individuals was also noted in this study and confirms the lower AMH concentrations described in post-pubertal male dogs and tomcats [7,8]. In the male dogs, the AMH concentration correlated negatively with the testosterone concentrations, as has also been described in horses, in which a negative correlation between AMH and testosterone in young stallions from puberty until adulthood has been determined [28,33]. However, there was no correlation between the increase in testosterone concentration and AMH concentration in the tomcats in this study. In two tomcats' AMH decreased at a time where testosterone was still not measurable. A possible explanation could be a difference in the testosterone concentration in the blood serum and in the testicles, as described in men. In them, a negative correlation between the testosterone concentration in blood serum and in the testicles have been described [36]. In male lambs, the AMH concentrations in the testicular veins and the rete testis fluid have been determined, but the authors could not find a direct correlation [37]. Further studies are needed to examine if the decrease in AMH concentration in blood serum is correlated to an increase in testicular testosterone in tomcats and if there is an increase in the AMH concentration in seminal plasma around puberty in male dogs and cats.

On the other hand, there were two tomcats in this study with increasing testosterone concentrations and remaining high AMH concentrations. A possible explanation for this phenomenon could be that the decrease in AMH concentration took place at a higher level, and we were not able to notice it because the concentrations were above the upper detection limit of the test system. To examine this further a dilution of the samples would be necessary, but there was no serum left.

In male youths, it has been shown that the decrease in the AMH concentration around puberty is not only caused by reduced secretion of AMH, but also related to a change in the direction of its release [38]. It has been described that from puberty on, higher amounts of AMH are secreted into the spermatic tubules and less in the blood. Hence, the concentration of AMH in seminal plasma increases whereas in blood serum a decrease takes place [38]. In stallions, no correlation between the AMH concentration in blood serum and seminal plasma could be found [28]. Whether there are any correlations in male dogs and cats needs to be examined in further studies.

In female kids, the AMH concentration stays low until puberty and is sometimes not even measurable [39,40]. The highest AMH concentrations in female kids are reached on average by 15.8 years [41]. Afterwards, AMH stays high until the age of 25 years before it starts its continual decline [40]. In one study, prepubertal females had significantly lower AMH serum concentrations than males at the same age, but all females had measurable AMH concentrations [42].

In female dogs, the AMH concentration did not reach the chemiluminescence immune assay's detection limit in the first 16 weeks in the current study. Between weeks 16 and 24, seven out of the eight female dogs had measurable but low AMH serum concentrations. This finding matches the result of another study in which a canine-specific AMH test was used and the authors determined measurable AMH concentration in prepubertal bitches between 4 and 6 months of age [9]. In another study in which a human-specific ELISA test comparable to the one used in the current study, only half of the female dogs between 12 and 24 weeks had AMH concentrations above the detection limit [6]. A possible explanation may be that AMH was not measurable in the youngest dogs examined, but the authors did not mention the specific age of the bitches in which AMH was determined.

Female calves with higher AMH concentrations between 8 and 16 weeks of age reached puberty earlier than individuals with lower AMH concentrations at the same age [43]. Further, the AMH concentrations at week 16 after birth correlated positively with the AMH concentrations 4 to 6 weeks after puberty. Thus, the authors postulated that AMH can be used as a fertility marker in calves at this young age, because of the interference of the AMH concentration with the antral follicle count. There were also differences in the rise in AMH concentrations in the female dogs in this study, but whether the AMH concentrations in prepubertal female dogs can be used to predict the start of the first heat—due to the described start of the AMH secretion in the ovaries with the development of epithelial cells of primordial follicles to granulosa cells of the primary follicles [3]—has to be investigated in further studies.

In contrast, the female kittens in this study already had AMH concentrations above the detection limit from week 2 with a subsequent rapid increase. In half of the queens, between weeks 8 and 12, AMH concentrations reached the chemiluminescence immune assay's upper limit. A previous study has described significantly higher AMH concentrations in female kittens under three months of age than in adult queens [21]. Other studies also determined higher AMH concentrations in younger individuals between 4 and 12 months [18,19,22,44]. Later on, a decline in AMH concentrations seems to occur, because in adult cats, lower AMH concentrations with mean concentrations of 5.5 ng/mL, 7.3 ng/mL, and 5.65 ng/mL have been described [18,22,44]. A decline in the AMH concentration has also been described in women, bitches and mares, but in these species, it occurs later in the reproductive life [20,45,46]. The very high AMH concentrations in female kittens contrast with the AMH secretion patterns in other females in which the rise in AMH started later on [3,6,9,21]. In female dogs, the AMH concentration stayed low for 12 to 16 weeks after birth and increased only slightly afterwards, as mentioned above [6,9]. In female calves, it has been described that the AMH concentration stays constantly low over the first year of life [33], whereas in mares, a slight increase in the AMH concentration has been detected between 24 and 28 weeks after birth [47]. In female sheep lambs, a prepubertal peak in the AMH concentration has been noted [48], but the extremely high AMH concentrations in female kittens are unlikely a prepubertal peak because they were measured several months before the onset of puberty in this study and are still high even in young individuals [18,22]. Another possible explanation for the high AMH concentrations in queens may be cross reactions of other serum components with the ELISA test system [49,50]. However, in a previous study using the same test system, significant changes in AMH concentration over the estrous cycle within the same cats has been noted; therefore, cross-reactions cannot be the only reason for the overall high AMH serum concentrations in young cats, although they cannot be totally excluded [18]. Comparable high AMH serum concentration as in young female kittens has been determined in cats during anestrus. There is no plausible

explanation for the origin of these high AMH values. At both times, there should not be much ovarian activity with numerous growing follicles, which are responsible for secreting the highest amounts of AMH in women and other females [47,51–54]. Further studies in female cats are needed to examine the ovaries of cats with high AMH serum concentrations to determine the origin of AMH. And studies in the future are needed to determine if there are breed-related differences, or other influences like environmental and also longitudinal studies in the same individuals will probably provide further insights in AMH secretion in these species.

5. Conclusions

Anti-Müllerian hormone concentrations were measurable in queens from early age on with a significant increase in the older age group in which half of the cats even exceed the chemiluminescence immune assay's upper limit. Female cats secrete AMH much earlier than female dogs, in which the AMH secretion begins shortly before puberty with lower AMH concentrations. The decrease in AMH concentration in the male group entering puberty followed a similar pattern for both species, but a correlation with the increase in testosterone was only observed in the canines. Further research is required to determine the factors for the high AMH concentrations in female kittens and the lack of correlation between testosterone and AMH levels in tomcats.

Author Contributions: Conceptualization: B.W.; Methodology, Statistical Analysis: S.R.; Validation Hormonal Tests: R.K.; Investigation: T.A. and U.F.; Writing—Original Draft Preparation: T.A., U.F. and B.W.; Writing—Review and Editing: R.K., S.R. and A.M.-L.; Supervision: A.M.-L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: There was no funding received for this study.

Institutional Review Board Statement: Ethical review and approval were waived for this study by the institutional ethics committee of the veterinary faculty of the LMU Munich (AZ 228-13-07-2020).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The original contributions presented in the study are included in the article, further inquiries can be directed to the corresponding author.

Acknowledgments: We are thankful to the owners of the cats and dogs for participating in this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Jost, A. Problems of fetal endocrinology: The gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Prog. Horm. Res.* **1953**, *8*, 379–418.
2. Kitahara, G.; El-Sheikh Ali, H.; Sato, T.; Kobayashi, I.; Hemmi, K.; Shirao, Y.; Kamimura, S. Anti-Müllerian hormone (AMH) profiles as a novel biomarker to evaluate the existence of a functional chryptorchid testis in Japanese black calves. *J. Reprod. Dev.* **2012**, *58*, 310–315. [[CrossRef](#)]
3. Durlinger, A.L.; Gruijters, M.J.; Kramer, P.; Karels, B.; Ingraham, H.A.; Nachtigal, M.W.; Uilenbroek, J.T.J.; Grootegoed, J.A.; Themmen, A.P. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* **2002**, *143*, 1076–1084. [[CrossRef](#)]
4. Sriraman, V.; Niu, E.; Matias, J.; Donahoe, P.; MacLaughlin, D.; Hardy, M.; Lee, M. Müllerian inhibiting substance inhibits testosterone synthesis in adult rats. *J. Androl.* **2001**, *22*, 750–758. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Silva, M.S.; Giacobini, P. New insights into anti-Müllerian hormone role in the hypothalamic–pituitary–gonadal axis and neuroendocrine development. *Cell. Mol. Life Sci.* **2021**, *78*, 1–16. [[CrossRef](#)]
6. Place, N.J.; Hansen, B.S.; Cheraskin, J.-L.; Cudney, S.E.; Flanders, J.A.; Newmark, A.D.; Barry, B.; Scarlett, J.M. Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2011**, *23*, 524–527. [[CrossRef](#)]
7. Themmen, A.P.; Kalra, B.; Visser, J.A.; Kumar, A.; Savjani, G.; de Gier, J.; Jaques, S. The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs. *Theriogenology* **2016**, *86*, 1467–1474. [[CrossRef](#)]
8. Axné, E.; Holst, B.S. Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology* **2015**, *83*, 817–821. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Turna Yilmaz, Ö.; Toydemir, T.S.F.; Kirsan, I.; Gunay Ucmak, Z.; Caliskan Karacam, E. Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches. *Vet. Res. Commun.* **2015**, *39*, 159–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

10. Place, N.J.; Cheraskin, J.-L.; Hansen, B.S. Evaluation of combined assessments of serum anti-Müllerian hormone and progesterone concentrations for the diagnosis of ovarian remnant syndrome in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2019**, *254*, 1067–1072. [\[CrossRef\]](#)
11. Flock, U.; Fischer, S.; Weeger, J.; Reese, S.; Walter, B. Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool to identify queens with ovarian remnant syndrome. *J. Feline Med. Surg.* **2022**, *24*, e168–e174. [\[CrossRef\]](#)
12. Holst, B.S.; Dreimanis, U. Anti-Müllerian hormone: A potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours. *BMC Vet. Res.* **2015**, *11*, 166. [\[CrossRef\]](#)
13. Walter, B.; Coelfen, A.; Jäger, K.; Reese, S.; Meyer-Lindenberg, A.; Aupperle-Lellbach, H. Anti-Muellerian hormone concentration in bitches with histopathologically diagnosed ovarian tumours and cysts. *Reprod. Domest. Anim.* **2018**, *53*, 784–792. [\[CrossRef\]](#)
14. Hornakova, L.; Vrbovska, T.; Pavlak, M.; Valencakova-Agyagosova, A.; Halo, M.; Hajurka, J. The evaluation of blood concentrations of testosterone, 17 β -oestradiol and anti-Muellerian hormone in dogs with cryptorchidism and testicular tumours. *Pol. J. Vet. Sci.* **2017**, *20*, 677–685.
15. Walter, B.; Flock, U.; Leykam, C.; Otdorff, C.; Simmet, K.; Hecht, W.; Kempker, L.; Aupperle-Lellbach, H.; Reese, S. Serum anti-Müllerian hormone concentration as a diagnostic tool to identify testicular tissue in canine disorders of sexual development. *Domest. Anim. Endocrinol.* **2022**, *78*, 106654. [\[CrossRef\]](#)
16. Balogh, O.; Somoskői, B.; Kollár, E.; Kowalewski, M.P.; Gram, A.; Reichler, I.M.; Klein, R.; Kawate, N.; Mester, L.; Walter, B. Anti-Müllerian hormone, testosterone, and insulin-like peptide 3 as biomarkers of Sertoli and Leydig cell function during deslorelin-induced testicular downregulation in the dog. *Theriogenology* **2021**, *175*, 100–110. [\[CrossRef\]](#)
17. Nagashima, J.; Hansen, B.; Songsasen, N.; Travis, A.; Place, N. Anti-müllerian hormone in the domestic dog during the anestrus to oestrous transition. *Reprod. Domest. Anim.* **2016**, *51*, 158–164. [\[CrossRef\]](#)
18. Flock, U.; Reese, S.; Otdorff, C.; Klein, R.; Walter, B. Anti-Müllerian hormone concentrations in queens throughout the estrous cycle. *Domest. Anim. Endocrinol.* **2022**, *81*, 106749. [\[CrossRef\]](#)
19. Lapuente, C.; Faya, M.; Blanco, P.; Grisolia-Romero, M.; Marchetti, C.; Gobello, C. Anti-Müllerian hormone in queens: Serum concentrations and total ovarian follicle population. *Theriogenology* **2023**, *197*, 111–115. [\[CrossRef\]](#)
20. Hollinshead, F.; Walker, C.; Hanlon, D. Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reprod. Domest. Anim.* **2017**, *52*, 35–40. [\[CrossRef\]](#)
21. Snoeck, F.; Sarrazin, S.; Wydooghe, E.; Van Soom, A. Age and anti-Müllerian hormone levels predict the success of in vitro maturation of cat oocytes. *Reprod. Domest. Anim.* **2017**, *52*, 98–102. [\[CrossRef\]](#)
22. Ferré-Dolcet, L.; Ferro, S.; Contiero, B.; Andretta, F.; Cattai, A.; Fontaine, C.; Romagnoli, S. Resumption of ovarian activity following removal of a 4.7 mg deslorelin implant in queens. *Reprod. Domest. Anim.* **2022**, *57*, 3–9. [\[CrossRef\]](#)
23. Hill, J.; Wilkinson, J.; Mallyon, J.; Anderson, S. Low sensitivity of a test for anti-Mullerian hormone to assess presence of ovaries in prepubertal bitches. *Aust. Vet. J.* **2018**, *96*, 356–359. [\[CrossRef\]](#)
24. Karakas Alkan, K.; Ceylan, A.; Alkan, H.; Ozen, D.; Bayraktaroglu, A.G.; Kaymaz, M. Immunohistochemical and qPCR determination of the expression and serum level of anti-Müllerian hormone in pre-pubertal, intact and ovarian remnant syndrome detected bitches. *Reprod. Domest. Anim.* **2019**, *54*, 979–986. [\[CrossRef\]](#)
25. Meyers-Wallen, V.; Palmer, V.; Maclaughlin, D.; Donahoe, P. Mullerian-inhibiting substance secretion is delayed in XX sex-reversed dog embryos. *Mol. Reprod. Dev.* **1994**, *39*, 1–7. [\[CrossRef\]](#)
26. Banco, B.; Veronesi, M.; Giudice, C.; Rota, A.; Grieco, V. Immunohistochemical evaluation of the expression of anti-Müllerian hormone in mature, immature and neoplastic canine Sertoli cells. *J. Comp. Pathol.* **2012**, *146*, 18–23. [\[CrossRef\]](#)
27. Ball, B.; Conley, A.; Grundy, S.; Sabeur, K.; Liu, I. Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) in the equine testis. *Theriogenology* **2008**, *69*, 624–631. [\[CrossRef\]](#)
28. Claes, A.; Ball, B.A.; Almeida, J.; Corbin, C.J.; Conley, A.J. Serum anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: Developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology* **2013**, *79*, 1229–1235. [\[CrossRef\]](#)
29. Grinspon, R.P.; Rey, R.A. Anti-müllerian hormone and sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm. Res. Paediatr.* **2010**, *73*, 81–92. [\[CrossRef\]](#)
30. Rey, R.; Lordereau-Richard, I.; Carel, J.C.; Barbet, P.; Cate, R.L.; Roger, M.; Chaussain, J.L.; Josso, N. Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1993**, *77*, 1220–1226. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Pasqualini, T.; Chemes, H.; Rivarola, M. Testicular testosterone levels during puberty in cryptorchidism. *Clin. Endocrinol.* **1981**, *15*, 545–554. [\[CrossRef\]](#)
32. Rey, R.; Lukas-Croisier, C.; Lasala, C.; Bedecarrás, P. AMH/MIS: What we know already about the gene, the protein and its regulation. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2003**, *211*, 21–31. [\[CrossRef\]](#)
33. Rota, A.; Cozzi, B.; Rey, R.; Ballarin, C. AMH plasma concentrations in bovine freemartins, a model of spontaneously occurring mammalian intersexes. *Gen. Comp. Endocrinol.* **2002**, *129*, 39–44. [\[CrossRef\]](#)
34. Forest, M.G.; Sizonenko, P.C.; Cathiard, A.M.; Bertrand, J. Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life: I. Evidence for testicular activity in early infancy. *J. Clin. Invest.* **1974**, *53*, 819–828. [\[CrossRef\]](#)
35. Donahoe, P.K.; Ito, Y.; Price, J.M.; Hendren, W.H., III. Müllerian Inhibiting Substance Activity in Bovine Fetal, Newborn and Prepubertal Testes. *Biol. Reprod.* **1977**, *16*, 238–243. [\[CrossRef\]](#)

36. Lee, M.M.; Donahoe, P.K. Mullerian Inhibiting Substance: A Gonadal Hormone with Multiple Functions*. *Endocr. Rev.* **1993**, *14*, 152–164. [[CrossRef](#)]
37. Cazorla, O.; Seck, M.; Pisselet, C.; Perreau, C.; Saumande, J.; Fontaine, J.; de Reviers, M.; Hochereau-de Reviers, M.T. Anti-Müllerian hormone (AMH) secretion in prepubertal and adult rams. *Reproduction* **1998**, *112*, 259–266. [[CrossRef](#)]
38. Fujisawa, M.; Yamasaki, T.; Okada, H.; Kamidono, S. The significance of anti-Müllerian hormone concentration in seminal plasma for spermatogenesis. *Hum. Reprod.* **2002**, *17*, 968–970. [[CrossRef](#)]
39. Weenen, C.; Laven, J.S.E.; von Bergh, A.R.M.; Cranfield, M.; Groome, N.P.; Visser, J.A.; Kramer, P.; Fauser, B.C.J.M.; Themmen, A.P.N. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: Potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol. Hum. Reprod.* **2004**, *10*, 77–83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Lee, M.M.; Donahoe, P.K.; Hasegawa, T.; Silverman, B.; Crist, G.B.; Best, S.; Hasegawa, Y.; Noto, R.A.; Schoenfeld, D.; MacLaughlin, D.T. Mullerian inhibiting substance in humans: Normal levels from infancy to adulthood. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1996**, *81*, 571–576. [[CrossRef](#)]
41. Fong, I.; Valkenburg, O.; de Jong, F.H.; Visser, J.A.; Laven, J.S.E. The role of anti-Müllerian hormone in the classification of anovulatory infertility. *Eur. J. Obstetrics Gynecol. Reprod. Biol.* **2015**, *186*, 75–79. [[CrossRef](#)]
42. Visser, J.A.; de Jong, F.H.; Laven, J.S.E.; Themmen, A.P.N. Anti-Müllerian hormone: A new marker for ovarian function. *Reproduction* **2006**, *131*, 1–9. [[CrossRef](#)]
43. Bedaiwy, M.A.; Mahfouz, R.Z.; Kubaney, H.R.; Plautz, G.E.; Hurd, W.; Falcone, T. The role of anti-Müllerian hormone (AMH) in prepubertal gonadal reserve screening. *Fertil. Steril.* **2010**, *94*, S46. [[CrossRef](#)]
44. El-Sheikh Ali, H.; Kitahara, G.; Takahashi, T.; Mido, S.; Sadawy, M.; Kobayashi, I.; Hemmi, K.; Osawa, T. Plasma anti-Müllerian hormone profile in heifers from birth through puberty and relationship with puberty onset. *Biol. Reprod.* **2017**, *97*, 153–161. [[CrossRef](#)]
45. Claßen, S.; Aurich, J.; Walter, I.; Gautier, C.; Aurich, C. Abundance of Anti-Muellerian hormone in cat ovaries and correlation of its plasma concentration with animal age, weight and stage of the estrous cycle. *Theriogenology* **2023**, *212*, 30–36. [[CrossRef](#)]
46. La Marca, A.; Spada, E.; Grisendi, V.; Argento, C.; Papaleo, E.; Milani, S.; Volpe, A. Normal serum anti-Müllerian hormone levels in the general female Population and the relationship with reproductive history. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2012**, *163*, 180–184. [[CrossRef](#)]
47. Claes, A.; Ball, B.A.; Scoggin, K.E.; Esteller-Vico, A.; Kalmar, J.J.; Conley, A.J.; Squires, E.L.; Troedsson, M.H.T. The interrelationship between anti-Müllerian hormone, ovarian follicular populations and age in mares. *Equine Vet. J.* **2015**, *47*, 537–541. [[CrossRef](#)]
48. Scarlet, D.; Wulf, M.; Kuhl, J.; Köhne, M.; Ille, N.; Conley, A.J.; Aurich, C. Anti-Müllerian hormone profiling in prepubertal horses and its relationship with gonadal function. *Theriogenology* **2018**, *117*, 72–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Bergman, D.; Larsson, A.; Hansson-Hamlin, H.; Svensson, A.; Ström Holst, B. Prevalence of interfering antibodies in dogs and cats evaluated using a species-independent assay. *Vet. Clin. Pathol.* **2018**, *47*, 205–212. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Bergman, D.; Larsson, A.; Hansson-Hamlin, H.; Ström Holst, B. Investigation of interference from canine anti-mouse antibodies in hormone immunoassays. *Vet. Clin. Pathol.* **2019**, *48*, 59–69. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Lahoz, B.; Alabart, J.L.; Cocero, M.J.; Monniaux, D.; Echegoyen, E.; Sanchez, P.; Folch, J. Anti-Müllerian hormone concentration in sheep and its dependence of age and independence of BMP15 genotype: An endocrine predictor to select the best donors for embryo biotechnologies. *Theriogenology* **2014**, *81*, 347–354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Hagen, C.P.; Mouritsen, A.; Mieritz, M.G.; Tinggaard, J.; Wohlfart-Veje, C.; Fallentin, E.; Brocks, V.; Sundberg, K.; Jensen, L.N.; Anderson, R.A.; et al. Circulating AMH Reflects Ovarian Morphology by Magnetic Resonance Imaging and 3D Ultrasound in 121 Healthy Girls. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2015**, *100*, 880–890. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Rico, C.; Fabre, S.; Médigue, C.; Clemente, N.d.; Clément, F.; Bontoux, M.; Touzé, J.-L.; Dupont, M.; Briant, E.; Rémy, B.; et al. Anti-Müllerian Hormone Is an Endocrine Marker of Ovarian Gonadotropin-Responsive Follicles and Can Help to Predict Superovulatory Responses in the Cow1. *Biol. Reprod.* **2009**, *80*, 50–59. [[CrossRef](#)]
54. Monniaux, D.; Baril, G.; Laine, A.-L.; Jarrier, P.; Poulin, N.; Cognié, J.; Fabre, S. Anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction* **2011**, *142*, 845–854. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

IV. DISKUSSION

In der Reproduktionsmedizin hat das Anti-Müller-Hormon (AMH) in den letzten Jahren bei vielen Tierarten, besonders bei adulten Hunden und Katzen, einen hohen Stellenwert als nützliches klinisches Diagnostikum erlangt (Place et al., 2011, Axnér und Ström Holst 2015, Holst und Dreimanis 2015, Turna Yilmaz et al., 2015, Themmen et al., 2016, Leykam et al., 2018, Walter et al., 2018, Place et al., 2019, Walter et al., 2022, Flock et al., 2022 a). Um die AMH-Serumkonzentration als Diagnoseinstrument zu nutzen erfordert es Kenntnisse über die physiologische Sekretion. Da es in der zugänglichen Literatur bisher überwiegend nur Untersuchungen dazu bei adulten Hunden und Katzen gibt, war es Ziel dieser Arbeit erstmals Referenzwerte für die physiologischen AMH-Serumkonzentrationen bei heranwachsenden, unter sechs Monate alten, weiblichen und männlichen Hunden und Katzen zu bestimmen. Zudem sollte eine mögliche Korrelation zwischen dem Anstieg des Testosteronspiegels und der Abnahme des AMH-Spiegels bei männlichen Individuen um die Pubertät untersucht werden. Dieses Thema wurde bisher kaum erforscht. Bisher wurden nur einzelne AMH-Bestimmungen bei jüngeren Tieren ohne genaue Altersangabe zu anderen Fragestellungen ermittelt (Place et al., 2011, Snoeck et al., 2017).

Die AMH-Konzentrationen wurden in einem kommerziellen Labor (Laboklin GmbH & Co. KG, Bad Kissingen) mit einem Chemilumineszenz-Immunoassay auf dem Cobas E602 von Roche bestimmt (Alexander et al., 2024). In weiteren Studien beim Kleintier wurde das gleiche Testsystem zur Bestimmung von AMH verwendet (Hornáková et al., 2017, Walter et al., 2018, Karakas Alkan et al., 2019, Walter et al., 2019, Flock et al., 2022 a, Flock et al., 2022 b). In anderen Studien wurden die AMH-Konzentration mit ELISA-Testsystemen gemessen, bei denen die Intraassay- und Interassay-Variationskoeffizienten in der Regel etwas höher waren (Place et al., 2011, Gharagozlou et al., 2014, Axnér und Ström Holst 2015, Holst und Dreimanis 2015, Nagashima et al., 2016, Pir Yagci et al., 2016, Alm und Holst 2018, Place et al., 2019). Bei dem in der eigenen Studie verwendeten CLIA-Testsystem zeigte sich eine Linearität in der AMH-Wiederfindung von Verdünnungsreihen auf und die Wiederfindungsrate betrug fast 100 % (Flock et al., 2022 b, Alexander et al., 2024). Dies war auch bei den ELISA-Testsystemen der Fall. Bei Hunden und Katzen beider Geschlechter konnten vergleichbare AMH-

Werte mit beiden Testsystemen festgestellt werden. Mit hundespezifischen ELISA-Testkits wurden dagegen deutlich höhere AMH-Werte bei Hunden gemessen (Axnér und Ström Holst 2015, Turna Yilmaz et al., 2015, Themmen et al., 2016). Dies ist durch eine bessere Bindung der verwendeten Antikörper an das canine AMH zu erklären, da es dem humanen AMH nicht vollständig ähnelt (Turna Yilmaz et al., 2015, Pir Yagci et al., 2016, Hollinshead et al., 2017).

Die AMH-Konzentrationen aller untersuchten männlichen Hunde und Kater in der eigenen Studie erreichten die obere Grenze des Chemilumineszenz-Immunassays bis zur 20. Lebenswoche (Alexander et al., 2024). Dies entspricht dem Ergebnis einer anderen Studie, in der fünf Kater zwischen vier und acht Wochen ebenfalls AMH-Konzentrationen von über 23 ng/ml aufwiesen (Lapiente et al., 2023). Diese hohen AMH-Konzentrationen sind höchstwahrscheinlich auf unreife Sertoli-Zellen zurückzuführen, die in den Hoden präpubertärer Individuen vorhanden sind und welche höhere Mengen an AMH sezernieren als reife Sertoli-Zellen (Ball et al., 2008 a, Banco et al., 2012, Claes et al., 2013). Bei menschlichen männlichen Embryonen beginnt die AMH-Sekretion am Ende der fünften Schwangerschaftswoche, während sie bei männlichen Hundeembryonen ab dem 35. Tag der Trächtigkeit beschrieben wurde (Grinspon und Rey 2010, Banco et al., 2012). Nach der Geburt bleibt die AMH-Konzentration bei männlichen Jugendlichen bis zur Pubertät hoch (Rey et al., 1993). Während dieser Zeit wachsen die Sertoli-Zellen und durchlaufen beim Menschen verschiedene Entwicklungsstadien (Grinspon und Rey 2010). Mit der Aktivierung der HPG-Achse zu Beginn der Pubertät nimmt die Sekretion von Androgenen zu, was zur Reifung der Sertoli-Zellen und anschließend zur Verringerung ihrer Wachstumsrate und der AMH-Sekretion führt (Pasqualini et al., 1981, Rey et al., 2003).

Nach der 20. Lebenswoche wurde ein kontinuierlicher Rückgang der AMH-Konzentration bei männlichen Hunden und Katern in dieser Studie beobachtet (Alexander et al., 2024). Bei männlichen Kälbern wurde ein AMH-Peak im Alter von fünf Monaten beschrieben (Rota et al., 2002) und bei männlichen Ziegen wurde ein vorübergehender Rückgang der AMH-Konzentration in der ersten Woche nach der Geburt, gefolgt von einem Anstieg in der zweiten Woche, beschrieben (Forest et al., 1974). Um herauszufinden ob es auch präpubertäre AMH-Erhöhungen bei männlichen Hunden und Katern gibt, könnten in weiteren Studien Verlaufsuntersuchungen, mit wiederholten Messungen an denselben Individuen

von der Geburt bis zur Pubertät, durchgeführt werden. Wobei eine Verdünnung der Serumproben erforderlich ist, um die genauen Werte zu ermitteln.

Eine Abnahme der AMH-Konzentration in Korrelation mit dem Anstieg der Testosteronkonzentration zum Zeitpunkt der Pubertät wurde bereits 1977 bei Bullen mit einem abgestuften Organkulturtest zum Nachweis der AMH-Aktivität beschrieben (Donahoe et al., 1977). Eine Abnahme der AMH-Konzentration bei den ältesten männlichen Individuen wurde auch in der vorliegenden Studie festgestellt und bestätigt die niedrigeren AMH-Konzentrationen (Alexander et al., 2024), die bei postpubertären männlichen Hunden und Katern in anderen Studien ermittelt wurden (Axnér und Ström Holst 2015, Themmen et al., 2016). Bei den männlichen Hunden korrelierte die AMH-Konzentration negativ mit der Testosteronkonzentration, was auch bei Pferden untersucht wurde, bei denen eine negative Korrelation zwischen AMH und Testosteron bei jungen Hengsten von der Pubertät bis zum Erwachsenenalter festgestellt wurde (Rota et al., 2002, Claes et al., 2013). Es gab jedoch keine Korrelation zwischen dem Anstieg der Testosteron- und der AMH-Konzentration bei den Katern in der vorliegenden Studie (Alexander et al., 2024). Bei zwei Katern sank die AMH-Konzentration zu dem Zeitpunkt ab, als Testosteron noch nicht messbar war. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die beschriebene Besonderheit bei Katern, dass auch bei adulten Tieren die Serumtestosteronkonzentration teilweise nicht messbar ist. In einer weiteren Studie wurde ebenfalls beschrieben, dass gesunde, geschlechtsreife, männliche Kater häufig nicht messbare Serumtestosteronkonzentrationen zeigten und nach einer Injektion von HCG eine Messung von Testosteron nach einer Stunde möglich war (Johnston et al., 1996). Des Weiteren könnte auch ein Unterschied in der Testosteronkonzentration im Blutserum und in den Hoden ursächlich sein, wie es bei Männern nachgewiesen wurde, bei denen eine negative Korrelation zwischen der Testosteronkonzentration im Blutserum und in den Hoden beschrieben wurde (Lee und Donahoe 1993). Bei männlichen Lämmern wurden die AMH-Konzentrationen in den Hodenvenen und der Hodenflüssigkeit bestimmt, wobei jedoch keine direkte Korrelation festgestellt werden konnte (Cazorla et al., 1998). Da der Zusammenhang zwischen Testosteron und AMH unklar ist, sind weitere Studien erforderlich, um zu untersuchen, ob der Rückgang der AMH-Konzentration im Blutserum mit einem Anstieg des Testosterons im Hoden bei Katern korreliert und ob es einen Anstieg der AMH-Konzentration in der intratestikulären

Flüssigkeit um die Pubertät bei Rüden und Katern gibt.

Andererseits gab es in der vorliegenden Studie zwei Kater mit steigenden Testosteronkonzentrationen und weiterhin hohen AMH-Konzentrationen (Alexander et al., 2024). Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen könnte sein, dass der Rückgang der AMH-Konzentration auf einem höheren Niveau stattfand und es in der eigenen Studie nicht möglich war, ihn zu bemerken, weil die Konzentrationen über der oberen Nachweisgrenze des Testsystems lagen. Um dies weiter zu untersuchen, wäre eine Verdünnung der Proben erforderlich gewesen, aber hierfür reichten die gewonnenen Serummengen nicht aus.

Bei männlichen Jugendlichen hat sich gezeigt, dass der Rückgang der AMH-Konzentration um die Pubertät nicht nur auf eine verringerte Sekretion von AMH zurückzuführen ist, sondern auch mit einer Änderung der Sekretionsrichtung (Fujisawa et al., 2002). Es wurde beschrieben, dass ab der Pubertät größere Mengen von AMH in die Samentubuli und weniger in das Blut sezerniert werden. Daher steigt die AMH-Konzentration im Seminalplasma an, während im Blutserum eine Abnahme stattfindet (Fujisawa et al., 2002). Bei Hengsten konnte keine Korrelation zwischen der AMH-Konzentration im Blutserum und im Seminalplasma festgestellt werden (Claes et al., 2013). In der vorliegenden Studie wurden dazu keine Untersuchungen durchgeführt, daher muss in weiteren Studien untersucht werden, ob es Zusammenhänge bei Rüden und Katern gibt.

Bei Mädchen bleibt die AMH-Konzentration bis zur Pubertät niedrig und ist manchmal nicht einmal messbar (Lee et al., 1996, Visser et al., 2006). Die höchsten AMH-Konzentrationen bei weiblichen Jugendlichen werden im Durchschnitt mit 15,8 Jahren erreicht (Lie Fong et al., 2012). Danach bleibt AMH bis zum Alter von 25 Jahren hoch, bevor es kontinuierlich abfällt (Visser et al., 2006). Auch hatten in einer Studie präpubertäre Mädchen signifikant niedrigere AMH-Serumkonzentrationen als Jungen gleichen Alters, aber alle Mädchen hatten messbare AMH-Konzentrationen (Bedaiwy et al., 2010). In der vorliegenden Studie erreichte die AMH-Konzentration bei Hündinnen in den ersten 16 Lebenswochen nicht die Nachweisgrenze des Chemilumineszenz-Immunassays (Alexander et al., 2024). Zwischen Woche 16 und 24 wiesen sieben der acht weiblichen Hunde messbare, aber niedrige AMH-Serumkonzentrationen auf. Dieser Befund stimmt mit dem Ergebnis einer anderen Studie überein, in der ein hundespezifischer AMH-Test verwendet wurde und die Autoren messbare AMH-Konzentrationen bei

präpubertären Hündinnen im Alter von vier bis sechs Monaten feststellten (Turna Yilmaz et al., 2015). In einer anderen Studie, in der ein human-spezifischer ELISA-Test verwendet wurde, der mit dem in der aktuellen Studie vergleichbar ist (Alexander et al., 2024), wies nur die Hälfte der Hündinnen zwischen 12 und 24 Wochen AMH-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze auf (Place et al., 2011). Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass AMH bei den jüngsten untersuchten Hunden deshalb nicht messbar war, weil sie zu jung waren. Jedoch haben die Autoren das spezifische Alter der Hündinnen, bei denen AMH bestimmt wurde, nicht aufgeschlüsselt.

Weibliche Kälber mit höheren AMH-Konzentrationen im Alter von 8 bis 16 Wochen kamen früher in die Pubertät als Tiere mit niedrigeren AMH-Konzentrationen im gleichen Alter (Bedaiwy et al., 2010). Außerdem korrelierten die AMH-Konzentrationen in der 16. Woche nach der Geburt positiv mit den AMH-Konzentrationen vier bis sechs Wochen nach der Pubertät. Daher postulierten die Autoren, dass AMH als Fruchtbarkeitsmarker bei Kälbern in diesem jungen Alter verwendet werden kann, da die AMH-Konzentration mit der Anzahl der Antralfollikel korreliert (Alexander et al., 2024). Es gab auch Unterschiede im Anstieg der AMH-Konzentrationen bei den Hündinnen der eigenen Studie (Alexander et al., 2024). Ein Grund dafür kann der unterschiedliche Beginn der AMH-Sekretion in den Eierstöcken mit der Entwicklung von Epithelzellen der Primordialfollikel zu Granulosazellen der Primärfollikel sein (Durlinger et al., 2002). Ob die AMH-Konzentrationen bei präpubertären weiblichen Hunden zur Vorhersage des Beginns der ersten Läufigkeit verwendet werden kann, konnte in der eigenen Studie nicht sicher geklärt werden und muss in weiteren Studien untersucht werden.

Im Unterschied zu den Hündinnen, lagen die AMH-Konzentrationen bei den weiblichen Katzen in dieser Studie bereits ab der zweiten Lebenswoche über der Nachweisgrenze und stiegen anschließend rasch an (Alexander et al., 2024). Bei der Hälfte der Katzen erreichten die AMH-Konzentrationen zwischen Woche acht und zwölf die Obergrenze des Chemilumineszenz-Immuntests. In einer anderen Studie wurden bei weiblichen Jungtieren unter zwölf Wochen signifikant höhere AMH-Konzentrationen beschrieben als bei erwachsenen Katzen (Snoeck et al., 2017). In anderen Studien wurden ebenfalls höhere AMH-Konzentrationen bei jüngeren Individuen zwischen vier und zwölf Monaten festgestellt (El-Sheikh Ali

et al., 2017, Ferré-Dolcet et al., 2022, Flock et al., 2022 b, Lapuente et al., 2023). Nach zwölf Monaten scheint es zu einem Rückgang der AMH-Konzentrationen zu kommen, denn bei erwachsenen Katzen wurden mit demselben Testsystem aus der eigenen Studie niedrigere AMH-Konzentrationen mit mittleren Werten von 5,5 ng/ml, 7,3 ng/ml und 5,65 ng/ml beschrieben (Flock et al., 2022 b). Ein Rückgang der AMH-Konzentration mit fortschreitendem Alter wurde auch bei Frauen, Hündinnen und Stuten beschrieben, aber bei diesen Spezies tritt er erst später im fortpflanzungsfähigen Alter auf (La Marca et al., 2012, Hollinshead et al., 2017, Claßen et al., 2023). Die sehr hohen AMH-Konzentrationen bei weiblichen Katzenwelpen in der eigenen Studie stehen im Gegensatz zu den AMH-Sekretionsmustern bei Hündinnen und Mädchen, bei denen der Anstieg von AMH erst später einsetzt (Lee et al., 1996, Visser et al., 2006, Place et al., 2011, Turna Yilmaz et al., 2015). Bei den weiblichen Hundewelpen in der eigenen Studie blieb die AMH-Konzentration 12 bis 16 Wochen nach der Geburt niedrig und stieg danach nur geringfügig an (Alexander et al., 2024). Bei weiblichen Kälbern wurde beschrieben, dass die AMH-Konzentration während des ersten Lebensjahres konstant niedrig bleibt (Rota et al., 2002), während bei Stuten ein leichter Anstieg der AMH-Konzentration zwischen 24 und 28 Wochen nach der Geburt festgestellt wurde (Claes et al., 2015). Bei weiblichen Schafslämmern wurde eine präpubertäre Spitze in einem Alter von 3 bis 4,5 Monaten in der AMH-Konzentration festgestellt (Lahoz et al., 2014). Die in der eigenen Studie gemessene extrem hohen AMH-Konzentrationen bei weiblichen Katzenwelpen sind jedoch wahrscheinlich keine präpubertäre Spitze (Alexander et al., 2024), da sie mehrere Monate vor Beginn der Pubertät gemessen wurden und selbst bei jungen Katzen sind sie noch sehr hoch (Ferré-Dolcet et al., 2022, Flock et al., 2022 b). Eine weitere mögliche Erklärung für die hohen AMH-Konzentrationen bei den Katzenwelpen könnten Kreuzreaktionen anderer Serumbestandteile mit dem ELISA-Testsystem sein (Bergman et al., 2018, Bergman et al., 2019). Bei Hunden wurde z. Bsp. ein Anti-Maus-Antikörper nachgewiesen, der dazu führte, dass bei bereits kastrierten Hündinnen trotzdem noch AMH nachgewiesen wurde (Bergman et al., 2018). Dies trat jedoch nur bei 9 % der Tiere auf. Bei 5 % der Katzen kommen Immunglobuline vor, die potentiell zu Kreuzreaktionen führen können (Bergman et al., 2019). In einer früheren Studie, in der dasselbe Testsystem (CLIA Immunoassay Cobra E602 von Roche) verwendet wurde, wurden jedoch signifikante Veränderungen der AMH-Konzentration bei Katzen, die mehrfach zu unterschiedlichen Zeitpunkten

im Verlauf ihres Östruszyklus untersucht wurden, festgestellt (Flock et al., 2022 b). Kreuzreaktionen können somit nicht der einzige Grund für die insgesamt hohen AMH-Serumkonzentrationen bei den jungen Katzen sein, obwohl sie nicht völlig ausgeschlossen sind (Flock et al., 2022 b). Eine weitere mögliche Betrachtung könnte sein, dass sich die Follikel bei den jungen Katzenwelpen differenzierter weiterentwickeln, als bei anderen Tierarten zu diesem Zeitpunkt, und so bereits mehr AMH ausschütten. Auch bei zwei Wochen alten Kälbern wurde trotz des noch fehlenden Östruszyklus mittels transrektalen Ultraschalles bereits ein Follikelwachstum nachgewiesen (Adams et al., 1994). Eine vergleichbar hohe AMH-Serumkonzentration wie bei den jungen weiblichen Katzenwelpen wurde bei Katzen im Anöstrus festgestellt (Flock et al., 2022 b). Es gibt keine plausible Erklärung für den Ursprung dieser hohen AMH-Werte. Zu beiden Zeiten sollte es keine große ovarielle Aktivität mit zahlreichen wachsenden Follikeln geben, welche den Hauptteil des im Serum zu messenden AMH-Spiegels bei Frauen (Hudson et al., 1990) und weiblichen Tieren sezernieren (Rico et al., 2009, Monniaux et al., 2011, Lahoz et al., 2014, Claes et al., 2015, Hagen et al., 2015). Weitere Studien an weiblichen Katzen sind erforderlich, um die Eierstöcke von Katzenwelpen mit hohen AMH-Serumkonzentrationen zu untersuchen und den Ursprung des AMH zu bestimmen. Außerdem sind zukünftige Studien erforderlich, um festzustellen, ob es rassebedingte Unterschiede oder aber auch andere Einflüsse, wie z. Bsp. Umwelteinflüsse gibt. Zusätzlich könnten Verdünnungsreihen angefertigt werden, um die genaue AMH-Serumkonzentration zu bestimmen und weitere Unterschiede aufzuweisen. So könnte überprüft werden, ob wirklich alle Werte ähnlich hoch sind oder es weitere individuelle Unterschiede gibt. Auch Longitudinalstudien an denselben Individuen wären hilfreich, um weitere Erkenntnisse über die AMH-Sekretion bei Katzen zu liefern.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Für präpubertäre und pubertäre, männliche und weibliche Hunde und Katzen gibt es bislang keine Referenzwerte, sondern nur einzelne AMH-Bestimmungen zu anderen Fragestellungen in wenigen Studien, wobei in diesen das Alter häufig nicht genau definiert wurde. Die vorliegende Studie diente daher erstens der Grundlagenforschung zur Bestimmung physiologischer AMH-Konzentrationen bei gesunden präpubertären und pubertären Hunden und Katzen und zweitens der Feststellung, ob eine Korrelation von AMH mit Testosteron bei pubertierenden Rüden und Katern besteht.

Die Blutproben wurden von Patienten der Chirurgischen und Gynäkologischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität und den Tierheimen gewonnen. Die klinische Untersuchung der Tiere zeigte keine Auffälligkeiten, sie waren in einem guten Gesundheitszustand mit guter Körperkondition und wiesen normale äußere Genitalien auf. Die Untersuchungen umfassten 15 Hündinnen, 17 Rüden, 10 Katzen und 21 Kater. Bei den Rüden und Hündinnen handelte es sich um 13 und bei den Katern und Katzen um 3 verschiedene Rassen. Die Arbeit war als Querschnittsstudie angelegt und Blutproben (Serum) wurden einmal bei 63 Tieren und zweimal bei 33 Tieren, also insgesamt 96 Blutproben, im Rahmen allgemeiner Gesundheitschecks oder Antikörpertiterkontrollen entnommen. War bei einem Tier eine zweite Blutentnahme zu einem späteren Zeitpunkt notwendig, wurde diese auch mit in die Studie aufgenommen. Die Proben wurden nach Tierart, Geschlecht und Alter des Tieres in Gruppen eingeteilt. Jede Gruppe umfasste acht Blutproben von acht unterschiedlichen Tieren. Die Hündinnen, Rüden und Kater wurden in die Altersgruppen von 8 bis 16, 16 bis 24 und 24 bis 48 Wochen eingeteilt. Die Kater noch zusätzlich in die Altersgruppe unter 8 Wochen. Die Katzen wurden in die Altersgruppen 2 bis 6 und 6 bis 12 Wochen eingeteilt. Die Gewichtsverteilung lag bei den Hunden zwischen 1,00 kg und 27,50 kg (Median: 12,25 kg) und bei den Katzen zwischen 0,38 kg und 4,40 kg (Median: 2,40 kg). Das Blut wurde an der Vena saphena oder der Vena cephalica genommen und in einem Serumröhrchen ohne Beschichtung aufgefangen. Die Blutproben wurden zehn Minuten lang bei 600 G zentrifugiert und das Serum direkt danach abpipettiert und bis zur AMH-Bestimmung bei -20 °C gelagert. Bei der ältesten Gruppe der Rüden und Kater, 24 bis 48 Wochen, wurde zusätzlich Testosteron gemessen. In dieser

Studie wurde ein humaner, für Hunde und Katzen validierter CLIA Immunoassay (Coba E602, Roche) verwendet.

Die AMH-Konzentration war bei den männlichen Tieren unabhängig von Tierart und Alter signifikant höher als bei den weiblichen ($p < 0,001$). Es gab keinen signifikanten Unterschied in der mittleren AMH-Konzentration zwischen den Katern und den Rüden ($p = 0,682$). Im Gegensatz dazu war die mittlere AMH-Konzentration bei Katzen signifikant höher als bei Hündinnen ($p < 0,001$). Alle Rüden und Kater hatten bis zur 20. Woche AMH-Konzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze ($> 22,96$ ng/ml). Zwischen der 20. und 48. Woche kam es zu einem signifikanten Rückgang der AMH-Serumkonzentration bei Katern ($p = 0,015$) und Rüden ($p = 0,013$). Der Rückgang der AMH-Serumkonzentration korrelierte negativ mit dem Anstieg der Testosteronkonzentration bei den Rüden, aber nicht bei den Katern. Bei den Katzen und Hündinnen stieg die AMH-Konzentration mit zunehmendem Alter signifikant an (Katze: $\rho = 0,899$, $p < 0,001$; Hündin: $\rho = 0,931$, $p < 0,001$). Der Anstieg der AMH-Konzentration begann jedoch bei den Katzen deutlich früher und erreichte signifikant höhere Werte als bei den Hündinnen ($p < 0,001$). Bei den Hündinnen waren bis zur 16. Woche keine AMH-Werte nachweisbar ($< 0,01$ ng/ml). Zwischen Woche 16 und 24 stieg die AMH-Konzentration bei sieben von acht Hündinnen langsam an und jede Hündin, die älter als 24 Wochen war, hatte nachweisbare AMH-Werte in unterschiedlicher Höhe. Im Gegensatz dazu wies jede Katze in der Studie messbare AMH-Konzentrationen auf, mit einem signifikanten Anstieg der AMH-Konzentration in der älteren Altersgruppe ($p = 0,003$). Die Hälfte der Katzen, die älter als sechs Wochen waren, erreichten sogar die Obergrenze des Chemilumineszenz-Immunassays ($> 22,96$ ng/ml).

Weibliche Katzen sezernierten AMH wesentlich früher als Hündinnen, bei denen die AMH-Sekretion erst kurz vor der Pubertät mit niedrigeren AMH-Konzentrationen beginnt. Der Rückgang der AMH-Konzentration in den männlichen Gruppen, die in die Pubertät eintreten, folgten bei beiden Spezies einem ähnlichen Muster, aber eine Korrelation mit dem Anstieg des Testosterons wurde nur bei den Hunden beobachtet.

VI. SUMMARY

For prepubertal and pubertal, male and female dogs and cats, there are no reference values to date. Only a few studies have investigated AMH levels in these animals for other research purposes, in which the age was often not precisely defined. The present study therefore served firstly as basic research to determine physiological AMH concentrations in healthy prepubertal and pubertal dogs and cats and secondly to determine whether there is a correlation between AMH and testosterone in pubertal male and female dogs and cats.

The blood samples were obtained from patients at the Clinic of Small Animal Surgery and Reproduction of the Ludwig Maximilian University and the animal shelters. The clinical examination of the animals showed no abnormalities, they were in good health with good body condition and had normal external genitalia. The study included 15 female dogs, 17 male dogs, 10 female cats, and 21 male cats. The male and female dogs belonged to 13 different breeds, while the male and female cats represented three different breeds. The study was designed as a cross-sectional study, and blood samples (serum) were taken, as part of general health checks or antibody titer controls. once from 63 animals and twice from 33 animals, resulting in a total of 96 blood samples. If a second blood sample had to be taken from an animal at a later date, this was also included in the study. The samples were categorized into groups according to species, sex and age of the animal. Each group comprised 8 blood samples from 8 different animals. Female and male dogs, as well as male cats, were divided into age groups of 8 to 16, 16 to 24 and 24 to 48 weeks. Only for male cats, there was a additional group under 8 weeks. Female cats were divided into the age groups 2 to 6 and 6 to 12 weeks. The body weight of dogs ranged from 1.00 kg to 27.50 kg (median: 12.25 kg) and for the cats between 0.38 kg and 4.40 kg (median: 2.40 kg). The blood was taken from the saphenous vein or the cephalic vein and collected in a serum tube without any coating. The blood samples were centrifuged at 600 G for ten minutes and the serum was immediately pipetted off and stored at -20 °C until the AMH determination. In the oldest group of males and females, 24 to 48 weeks of age, testosterone was also measured. A human CLIA immunoassay validated for dogs and cats (Coba E602, Roche) was used in this study.

The AMH concentration was significantly higher in males than in females regardless of species and age ($p < 0.001$). There was no significant difference in the mean AMH concentration between male cats and male dogs ($p = 0.682$). In contrast, the mean AMH concentration was significantly higher in female cats than in female dogs ($p < 0.001$). All male dogs and male cats had AMH concentrations above the detection limit (> 22.96 ng/ml) up to the 20th week. Between the 20th and 48th week, there was a significant decrease in AMH serum concentrations in male cats ($p = 0.015$) and male dogs ($p = 0.013$). The decrease in AMH serum concentration correlated negatively with the increase in testosterone concentration in male dogs but not in male cats. In female cats and female dogs, the AMH concentration significantly increased with age (cat: $\rho = 0.899$, $p < 0.001$; dog: $\rho = 0.931$, $p < 0.001$). However, the increase in AMH concentration began significantly earlier in female cats and reached significantly higher values than in female dogs ($p < 0.001$). No AMH levels were detectable in female dogs until week 16 (< 0.01 ng/ml). Between weeks 16 and 24, AMH levels slowly increased in seven out of eight female dogs and every female dog older than 24 weeks had detectable AMH levels at different levels. In contrast, all female cats in the study exhibited measurable AMH concentrations, with a significant increase in the older age group ($p = 0.003$). Half of the female cats older than six weeks even reached the upper detection limit of the chemiluminescence immunoassay (> 22.96 ng/ml).

Female cats secreted AMH much earlier than female dogs, in which AMH secretion begins shortly before puberty with lower AMH concentrations. The decrease in AMH concentration in the male groups entering puberty followed a similar pattern in both species, but a correlation with the increase in testosterone was only observed in the male dogs.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Abeygunawardena, H., W. D. Abayawansa, D. Ratnayake und M. W. A. P. Jayatilaka (1994). Zebu cattle farming in Sri Lanka: production systems and reproductive characteristics. Strengthening research on animal reproduction and disease diagnosis in Asia through the application of immunoassay techniques: Proceedings of the Final Research Co-ordination Meeting. Bangkok, Thailand, International Atomic Energy Agency (IAEA): 37–51.

Abreu, A. P. (2023). "Unveiling the Central Regulation of Pubertal Development." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **109**(3): 1307-1308.

Adams, G. P. (1999). "Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants." Journal of Reproduction and Fertility Supplement: 17-32.

Adams, G. P., A. C. O. Evans und N. C. Rawlings (1994). "Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers." Reproduction **100**(1): 27-33.

Ahima, R. S., J. Dushay, S. N. Flier, D. Prabakaran und J. S. Flier (1997). "Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice." The Journal of Clinical Investigation **99**(3): 391-395.

Alam, M. G. S. und A. Ghosh (1994). Reproductive patterns of indigenous cows in Bangladesh and the effect of urea-molasses-mineral blocks (UMMB) on puberty and post-partum ovarian activity. Strengthening research on animal reproduction and disease diagnosis in Asia through the application of immunoassay techniques: Proceedings of the Final Research Co-ordination Meeting. Bangkok, Thailand, International Atomic Energy Agency (IAEA): 53–64.

Alexander, T., U. Flock, R. Klein, S. Reese, A. Meyer-Lindenberg und B. Walter (2024). "Physiological Anti-Mullerian Hormone Concentrations in Male and Female Dogs and Cats before and around Puberty." Animals **14**(17): 2561.

Alm, H. und B. S. Holst (2018). "Identifying ovarian tissue in the bitch using anti-Müllerian hormone (AMH) or luteinizing hormone (LH)." Theriogenology **106**: 15-20.

Almeida, J., B. A. Ball, A. J. Conley, N. J. Place, I. K. M. Liu, E. L. Scholtz, L. Mathewson, S. D. Stanley und B. C. Moeller (2011). "Biological and clinical significance of anti-Müllerian hormone determination in blood serum of the mare." Theriogenology **76**(8): 1393-1403.

Almeida, J., A. J. Conley und B. A. Ball (2013). "Expression of anti-Müllerian hormone, CDKN1B, connexin 43, androgen receptor and steroidogenic enzymes in the equine cryptorchid testis." Equine Veterinary Journal **45**(5): 538-545.

Amstalden, M. und G. Williams (2019). "Kisspeptin neuronal networks in pubertal development of domestic female ruminants." Bioscientifica Proceedings **8**: 127-140.

Anadol, E., N. Gultiken, G. F. Yarim, E. Karaca, H. Kanca und M. Yarim (2020). "Investigation of diagnostic use of serum anti-Müllerian hormone concentration in dioestrus and anoestrus bitches before and after ovariohysterectomy and therelationship with ovarian follicle numbers." Polish Journal of Veterinary Sciences **23**(3): 391-397.

Ansel, L., A. H. Bentsen, C. Ancel, M. Bolborea, P. Klosen, J. D. Mikkelsen und V. Simonneaux (2011). "Peripheral kisspeptin reverses short photoperiod-induced gonadal regression in Syrian hamsters by promoting GNRH release." Reproduction **142**(3): 417-425.

Apter, D., T. L. Bützow, G. A. Laughlin und S. S. Yen (1993). "Gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity during pubertal transition in girls: pulsatile and diurnal patterns of circulating gonadotropins." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **76**(4): 940-949.

Arendt, J., A. M. Symons, C. A. Laud und S. J. Pryde (1983). "Melatonin can induce early onset of the breeding season in ewes." Journal of Endocrinology **97**(3): 395-400.

Argente, J., L. Dunkel, U. B. Kaiser, A. C. Latronico, A. Lomniczi, L. Soriano-Guillén und M. Tena-Sempere (2023). "Molecular basis of normal and pathological puberty: from basic mechanisms to clinical implications." Lancet Diabetes Endocrinology **11**(3): 203-216.

Atkins, J. A., K. G. Pohler und M. F. Smith (2013). "Physiology and endocrinology of puberty in heifers." Veterinary Clinics: Food Animal Practice **29**(3): 479-492.

Axnér, E. und B. Ström Holst (2015). "Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol." Theriogenology **83**(5): 817-821.

Baker, T. G. (1963). "A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries." Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences **158**(972): 417-433.

Ball, B. A., J. Almeida und A. J. Conley (2013). "Determination of serum anti-Müllerian hormone concentrations for the diagnosis of granulosa-cell tumours in mares." Equine Veterinary Journal **45**(2): 199-203.

Ball, B. A., A. J. Conley, S. A. Grundy, K. Sabeur und I. K. M. Liu (2008 a). "Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) in the equine testis." Theriogenology **69**(5): 624-631.

Ball, B. A., A. J. Conley, D. T. MacLaughlin, S. A. Grundy, K. Sabeur und I. K. M. Liu (2008 b). "Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) in equine granulosa-cell tumors and in normal equine ovaries." Theriogenology **70**(6): 968-977.

Ball, B. A., H. El-Sheikh Ali, K. E. Scoggin, W. T. Riddle, M. Schnobrich, E. Bradekamp, M. Agnew, E. L. Squires und M. H. T. Troedsson (2019). "Relationship between anti-Müllerian hormone and fertility in the mare." Theriogenology **125**: 335-341.

Ball, R. L., S. J. Birchard, L. R. May, W. R. Threlfall und G. S. Young (2010). "Ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 21 cases (2000–2007)." Journal of the American veterinary medical association **236**(5): 548-553.

Balogh, O., B. Somoskoi, E. Kollar, M. P. Kowalewski, A. Gram, I. M. Reichler, R. Klein, N. Kawate, L. Mester, B. Walter und L. Muller (2021). "Anti-Mullerian hormone, testosterone, and insulin-like peptide 3 as biomarkers of Sertoli and Leydig cell function during deslorelin-induced testicular downregulation in the dog." Theriogenology **175**: 100-110.

Banco, B., C. Giudice, M. C. Veronesi, E. Gerosa und V. Grieco (2010). "An immunohistochemical study of normal and neoplastic canine sertoli cells." Journal of Comparative Pathology **143**(4): 239-247.

Banco, B., M. C. Veronesi, C. Giudice, A. Rota und V. Grieco (2012). "Immunohistochemical evaluation of the expression of anti-Müllerian hormone in mature, immature and neoplastic canine Sertoli cells." Journal of Comparative Pathology **146**(1): 18-23.

Barash, I. A., C. C. Cheung, D. S. Weigle, H. Ren, E. B. Kabigting, J. L. Kuijper, D. K. Clifton und R. A. Steiner (1996). "Leptin is a metabolic signal to the reproductive system." Endocrinology **137**(7): 3144-3147.

Barb, C. R. und R. R. Kraeling (2004). "Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals." Animal Reproduction Science **82-83**: 155-167.

Barrington, G. M., J. M. Gay und J. F. Evermann (2005). "Biosecurity for neonatal gastrointestinal diseases." The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice **18**(1): 7.

Bedaiwy, M. A., R. Z. Mahfouz, H. R. Kubaney, G. E. Plautz, W. Hurd und T. Falcone (2010). "The role of anti-müllerian hormone (AMH) in prepubertal gonadal reserve screening." Fertility and Sterility **94**(4): S46.

Belville, C., H. Van Vlijmen, C. Ehrenfels, B. Pepinsky, A. R. Rezaie, J.-Y. Picard, N. Josso, N. d. Clemente und R. L. Cate (2004). "Mutations of the anti-müllerian hormone gene in patients with persistent müllerian duct syndrome: biosynthesis, secretion, and processing of the abnormal proteins and analysis using a three-dimensional model." Molecular Endocrinology **18**(3): 708-721.

Bergman, D., A. Larsson, H. Hansson-Hamlin und B. Ström Holst (2019). "Investigation of interference from canine anti-mouse antibodies in hormone immunoassays." Veterinary Clinical Pathology **48**: 59-69.

Bergman, D., A. Larsson, H. Hansson-Hamlin, A. Svensson und B. S. Holst (2018). "Prevalence of interfering antibodies in dogs and cats evaluated using a species-independent assay." Veterinary Clinical Pathology **47**(2): 205-212.

Bhanot, R. und M. Wilkinson (1983). "Opiatergic Control of Gonadotropin Secretion during Puberty in the Rat: A Neurochemical Basis for the Hypothalamic 'Gonadostat?'.*" Endocrinology **113**(2): 596-603.

Binder, G. und J. Wölfle (2020). Störungen des Wachstums. Pädiatrische Endokrinologie und Diabetologie. Berlin, Heidelberg, Springer Reference Medizin. **93**: 299-321.

Biro, F. M., A. W. Lucky, G. A. Huster und J. A. Morrison (1995). "Pubertal staging in boys." The Journal of pediatrics **127**(1): 100-102.

Bittman, E. L., R. J. Dempsey und F. J. Karsch (1983). "Pineal Melatonin Secretion Drives the Reproductive Response to Daylength in the Ewe." Endocrinology **113**(6): 2276-2283.

Brent, L. J., D. W. Franks, E. A. Foster, K. C. Balcomb, M. A. Cant und D. P. Croft (2015). "Ecological knowledge, leadership, and the evolution of menopause in killer whales." Current biology **25**(6): 746-750.

Bressler, L. H. und A. Steiner (2018). "Anti-Müllerian hormone as a predictor of reproductive potential." Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity **25**(6): 385-390.

Brito, L. F. C., A. D. Barth, N. C. Rawlings, R. E. Wilde, D. H. Crews, Y. R. Boisclair, R. A. Ehrhardt und J. P. Kastelic (2007). "Effect of feed restriction during calthood on serum concentrations of metabolic hormones, gonadotropins, testosterone, and on sexual development in bulls." Reproduction **134**(1): 171-181.

Brito, L. F. C., A. D. Barth, N. C. Rawlings, R. E. Wilde, D. H. Crews Jr, P. S. Mir und J. P. Kastelic (2007). "Circulating metabolic hormones during the peripubertal period and their association with testicular development in bulls." Reproduction in Domestic Animals **42**(5): 502-508.

Brito, L. F. C., A. D. Barth, N. C. Rawlings, R. E. Wilde, D. H. Crews Jr, P. S. Mir und J. P. Kastelic (2007). "Effect of nutrition during calthood and peripubertal period on serum metabolic hormones, gonadotropins and testosterone concentrations, and on sexual development in bulls." Domestic Animal Endocrinology **33**(1): 1-18.

Broekmans, F. J., J. A. Visser, J. S. E. Laven, S. L. Broer, A. P. N. Themmen und B. C. Fauser (2008). "Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction." Trends in Endocrinology & Metabolism **19**(9): 340-347.

Broer, S. L., B. W. Mol, D. Hendriks und F. J. Broekmans (2009). "The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count." Fertility and Sterility **91**(3): 705-714.

Bronson, F. H. (1985). "Mammalian reproduction: an ecological perspective." Biology of Reproduction **32**(1): 1-26.

Bruserud, I. S., M. Roelants, N. H. B. Oehme, A. Madsen, G. E. Eide, R. Bjerknes, K. Rosendahl und P. B. Juliusson (2020). "References for Ultrasound Staging of Breast Maturation, Tanner Breast Staging, Pubic Hair, and Menarche in Norwegian Girls." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **105**(5): 1599-1607.

Busch, A. S., C. P. Hagen und A. Juul (2020). "Heritability of pubertal timing: detailed evaluation of specific milestones in healthy boys and girls." European Journal of Endocrinology **183**(1): 13-20.

Byrne, C. J., S. Fair, A.-M. English, C. Urh, H. Sauerwein, M. A. Crowe, P. Lonergan und D. A. Kenny (2018). "Plane of nutrition before and after 6 months of age in Holstein-Friesian bulls: II. Effects on metabolic and reproductive endocrinology and identification of physiological markers of puberty and sexual maturation." Journal of Dairy Science **101**(4): 3460-3475.

Câmara, L. B. R. M., D. R. Câmara, F. C. Maiorino, V. A. S. Júnior und M. M. P. Guerra (2018). "Canine testicular disorders and their influence on sperm morphology." Animal Reproduction (AR) **11**(1): 32-36.

Caraty, A., J. T. Smith, D. Lomet, S. Ben Saïd, A. Morrissey, J. Cognie, B. Doughton, G. Baril, C. Briant und I. J. Clarke (2007). "Kisspeptin Synchronizes Preovulatory Surges in Cyclical Ewes and Causes Ovulation in Seasonally Acyclic Ewes." Endocrinology **148**(11): 5258-5267.

Cartwright, T. C. (1980). "Prognosis of Zebu Cattle: Research and Application." Journal of Animal Science **50**(6): 1221-1226.

Cate, R. L., R. J. Mattaliano, C. Hession, R. Tizard, N. M. Farber, A. Cheung, E. G. Ninfa, A. Z. Frey, D. J. Gash und E. P. Chow (1986). "Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells." Cell **45**(5): 685-698.

Caton, J. S., G. W. Jesse, B. N. Day und M. R. Ellersieck (1986). "The effect of duration of boar exposure on the frequency of gilts reaching first estrus." Journal of Animal Science **62**(5): 1210-1214.

Cazorla, O., M. Seck, C. Pisselet, C. Perreau, J. Saumande, J. Fontaine, M. Reviers und M. Reviers (1998). "Anti-Müllerian hormone (AMH) secretion in prepubertal and adult rams." Journal of Reproduction and Fertility **112**: 259-266.

Cellio, L. M. und D. A. Degner (2000). "Testosterone-producing thecoma in a female cat." Journal of the American Animal Hospital Association **36**(4): 323-325.

Christensen, B. W. (2012). "Disorders of sexual development in dogs and cats." Veterinary Clinics: Small Animal Practice **42**(3): 515-526.

Christie, D. W. und E. T. Bell (1971). "Some observations on the seasonal incidence and frequency of oestrus in breeding bitches in Britain." Journal of Small Animal Practice **12**(3): 159-167.

Claaßen, S., J. Aurich, I. Walter, C. Gautier und C. Aurich (2023). "Abundance of Anti-Muellerian hormone in cat ovaries and correlation of its plasma concentration with animal age, weight and stage of the estrous cycle." Theriogenology **212**: 30-36.

Claes, A., B. A. Ball, J. Almeida, C. J. Corbin und A. J. Conley (2013). "Serum anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings." Theriogenology **79**(9): 1229-1235.

Claes, A., B. A. Ball, K. E. Scoggin, A. Esteller-Vico, J. J. Kalmar, A. J. Conley, E. L. Squires und M. H. T. Troedsson (2015). "The interrelationship between anti-Müllerian hormone, ovarian follicular populations and age in mares." Equine Veterinary Journal **47**(5): 537-541.

Claes, A., B. A. Ball, M. H. T. Troedsson, T. E. Curry Jr, E. L. Squires und K. E. Scoggin (2016). "Molecular changes in the equine follicle in relation to variations in antral follicle count and anti-Müllerian hormone concentrations." Equine Veterinary Journal **48**(6): 741-748.

Clarke, I. J., J. T. Smith, A. Caraty, R. L. Goodman und M. N. Lehman (2009). "Kisspeptin and seasonality in sheep." Peptides **30**(1): 154-163.

Clarkson, J., X. d. A. de Tassigny, A. S. Moreno, W. H. Colledge und A. E. Herbison (2008). "Kisspeptin–GPR54 signaling is essential for preovulatory gonadotropin-releasing hormone neuron activation and the luteinizing hormone surge." Journal of Neuroscience **28**(35): 8691-8697.

Claus, R. und U. Weiler (1985). "Influence of light and photoperiodicity on pig prolificacy." Journal of Reproduction and Fertility **33**: 185-197.

Counts, D. R., O. H. Pescovitz, K. M. Barnes, K. D. Hench, G. P. Chrousos, R. J. Sherins, F. Comite, D. L. Loriaux und G. B. Cutler, Jr. (1987). "Dissociation of adrenarche and gonadarche in precocious puberty and in isolated hypogonadotropic hypogonadism." The Journal of Clinical and Endocrinology Metabolism **64**(6): 1174-1178.

Dance, A., J. Thundathil, R. Wilde, P. Blondin und J. Kastelic (2015). "Enhanced early-life nutrition promotes hormone production and reproductive development in Holstein bulls." Journal of dairy science **98**(2): 987-998.

Day, M. L., K. Imakawa, M. Garcia-Winder, D. D. Zalesky, B. D. Schanbacher, R. J. Kittok und J. E. Kinder (1984). "Endocrine Mechanisms of Puberty in Heifers: Estradiol Negative Feedback Regulation of Luteinizing Hormone Secretion1." Biology of Reproduction **31**(2): 332-341.

Demirel, M. A. und D. B. Acar (2012). "Ovarian remnant syndrome and uterine stump pyometra in three queens." Journal of Feline Medicine and Surgery **14**(12): 913-918.

DeNardo, G. A., K. Becker, N. O. Brown und S. Dobbins (2001). "Ovarian remnant syndrome: revascularization of free-floating ovarian tissue in the feline abdominal cavity." Journal of the American Animal Hospital Association **37**(3): 290-296.

Depmann, M., M. J. C. Eijkemans, S. L. Broer, G. J. Scheffer, I. A. J. Van Rooij, J. S. E. Laven und F. J. M. Broekmans (2016). "Does anti-Müllerian hormone predict menopause in the general population? Results of a prospective ongoing cohort study." Human Reproduction **31**(7): 1579-1587.

Depmann, M., M. J. C. Eijkemans, S. L. Broer, F. R. Tehrani, M. Solaymani-Dodaran, F. Azizi, C. B. Lambalk, J. F. Randolph Jr, S. D. Harlow und E. W. Freeman (2018). "Does AMH relate to timing of menopause? Results of an individual patient data meta-analysis." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **103**(10): 3593-3600.

Donahoe, P. K., Y. Ito, J. M. Price und W. H. Hendren III (1977). "Mullerian inhibiting substance activity in bovine fetal, newborn and prepubertal testes." Biology of Reproduction **16**(2): 238-243.

Donovan, G. A., I. R. Dohoo, D. M. Montgomery und F. L. Bennett (1998). "Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA." Preventive Veterinary Medicine **33**(1-4): 1-10.

Doucet, F. Y. T. und C. E. L. Vannimetus (2001). Contribution a l'etude de la reproduction chez la chienne: analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'etude en reproduction canine assistee de l'Ecole nationale veterinaire d'Alfort de 1994 a 1998. Doctoral degree Doctoral dissertation, École nationale vétérinaire d'Alfort.

Dubocovich, M. L. und M. Markowska (2005). "Functional MT 1 and MT 2 melatonin receptors in mammals." Endocrine **27**: 101-110.

Duittoz, A. H. und D. A. Kenny (2023). "Review: Early and late determinants of puberty in ruminants and the role of nutrition." Animal **17**: 100812.

Dungan, H. M., D. K. Clifton und R. A. Steiner (2006). "Minireview: Kisspeptin Neurons as Central Processors in the Regulation of Gonadotropin-Releasing Hormone Secretion." Endocrinology **147**(3): 1154-1158.

Dunger, D. B., M. L. Ahmed und K. K. Ong (2006). "Early and late weight gain and the timing of puberty." Molecular and Cellular Endocrinology **254**: 140-145.

Durlinger, A. L. L., M. J. G. Gruijters, P. Kramer, B. Karels, H. A. Ingraham, M. W. Nachtigal, J. T. J. Uilenbroek, J. A. Grootegoed und A. P. N. Themmen (2002). "Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary." Endocrinology **143**(3): 1076-1084.

Durlinger, A. L. L., M. J. G. Gruijters, P. Kramer, B. Karels, T. R. Kumar, M. M. Matzuk, U. M. Rose, F. H. de Jong, J. T. J. Uilenbroek und J. A. Grootegoed (2001). "Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary." Endocrinology **142**(11): 4891-4899.

Durlinger, A. L. L., P. Kramer, B. Karels, F. H. de Jong, J. T. J. Uilenbroek, J. A. Grootegeed und A. P. N. Themmen (1999). "Control of Primordial Follicle Recruitment by Anti-Müllerian Hormone in the Mouse Ovary1." Endocrinology **140**(12): 5789-5796.

Durlinger, A. L. L., J. A. Visser und A. P. N. Themmen (2002). "Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone." Reproduction **124** 5: 601-609.

Dýrmundsson, Ó. (1987). Advancement of puberty in male and female sheep. New techniques in sheep production, Elsevier: 65-76.

Dýrmundsson, Ó. R. (1981). "Natural factors affecting puberty and reproductive performance in ewe lambs: A review." Livestock Production Science **8**(1): 55-65.

Ebling, F. J. P., R. H. Kushler und D. L. Foster (1990). "Pulsatile LH secretion during sexual maturation in the female sheep: photoperiodic regulation in the presence and absence of ovarian steroid feedback as determined in the same individual." Neuroendocrinology **52**(3): 229-237.

Edwards, S. J., B. Smaill, A. R. O'Connell, P. D. Johnstone, D. R. Stevens, L. D. Quirke, P. A. Farquhar und J. L. Juengel (2016). "Reduced ovulation rate, failure to be mated and fertilization failure/embryo loss are the underlying causes of poor reproductive performance in juvenile ewes." Animal Reproduction Science **167**: 125-132.

El-Sheikh Ali, H., G. Kitahara, K. Nibe, R. Yamaguchi, Y. Horii, S. Zaabel und T. Osawa (2013). "Plasma anti-Müllerian hormone as a biomarker for bovine granulosa-theca cell tumors: comparison with immunoreactive inhibin and ovarian steroid concentrations." Theriogenology **80**(8): 940-949.

El-Sheikh Ali, H., G. Kitahara, T. Takahashi, S. Mido, M. Sadawy, I. Kobayashi, K. Hemmi und T. Osawa (2017). "Plasma anti-Müllerian hormone profile in heifers from birth through puberty and relationship with puberty onset." Biology of Reproduction **97**(1): 153-161.

Ersoy, B., C. Balkan, T. Gunay und A. Egemen (2005). "The factors affecting the relation between the menarcheal age of mother and daughter." Child: Care, Health and Development **31**(3): 303-308.

Euling, S. Y., M. E. Herman-Giddens, P. A. Lee, S. G. Selevan, A. Juul, T. I. Sørensen, L. Dunkel, J. H. Himes, G. Teilmann und S. H. Swan (2008). "Examination of US puberty-timing data from 1940 to 1994 for secular trends: panel findings." Pediatrics **121**(Supplement_3): S172-S191.

Feldman, E. C. und R. W. Nelson (2004). "Infertility, associated breeding disorders, and disorders of sexual development." Canine and Feline Endocrinology and Reproduction **3**: 893-898.

Ferré-Dolcet, L., S. Ferro, B. Contiero, C. Fontaine, T. Badon, D. Gelli und S. Romagnoli (2022). "Clinical use of Anti-Müllerian Hormone to monitor resumption of ovarian activity following removal of a 4.7 mg deslorelin implant in queens." Veterinary Research Communications **46**: 1-8.

Finkelstein, J. S., H. Lee, A. Karlamangla, R. M. Neer, P. M. Sluss, S.-A. M. Burnett-Bowie, K. Darakananda, P. K. Donahoe, S. D. Harlow und S. H. Prizand (2020). "Antimüllerian hormone and impending menopause in late reproductive age: the study of women's health across the nation." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **105**(4): e1862-e1871.

Flock, U., S. Fischer, J. Weeger, S. Reese und B. Walter (2022 a). "Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool to identify queens with ovarian remnant syndrome." Journal of Feline Medicine and Surgery **24**(8): e168-e174.

Flock, U., S. Reese, C. Otzdorff, R. Klein und B. Walter (2022 b). "Anti-Mullerian hormone concentrations in queens throughout the estrous cycle." Domestic Animal Endocrinology **81**: 106749.

Fontes, G. S. und R. J. McCarthy (2020). "Ovarian remnant syndrome in a cat with ovarian tissue in the omentum." Journal of the American Veterinary Medical Association **257**(6): 631-634.

Forest, M. G., P. C. Sizonenko, A. M. Cathiard und J. Bertrand (1974). "Hypophyso-gonadal function in humans during the first year of life: I. Evidence for testicular activity in early infancy." The Journal of clinical investigation **53**(3): 819-828.

Foster, D. L. (1994). "Puberty in the Sheep." The Physiology of Reproduction: 411-452.

Foster, D. L., L. M. Jackson und V. Padmanabhan (2006). "Programming of GnRH feedback controls timing puberty and adult reproductive activity." Molecular and Cellular Endocrinology **254**: 109-119.

Freeman, E. W., M. D. Sammel, H. Lin und C. R. Gracia (2012). "Anti-mullerian hormone as a predictor of time to menopause in late reproductive age women." The Journal of Clinical Endocrinology **97**(5): 1673-1680.

Freire, A. V., R. P. Grinspon und R. A. Rey (2018). "Importance of serum testicular protein hormone measurement in the assessment of disorders of sex development." Sexual Development **12**(1-3): 30-40.

Frisch, R. E. (1984). "Body fat, puberty and fertility." Biological Reviews **59**(2): 161-188.

Fujisawa, M., T. Yamasaki, H. Okada und S. Kamidono (2002). "The significance of anti-Müllerian hormone concentration in seminal plasma for spermatogenesis." Human Reproduction **17**(4): 968-970.

Fuqua, J. S. und E. A. Eugster (2022). "History of Puberty: Normal and Precocious." Hormone Research in Paediatrics **95**(6): 568-578.

Gajdos, Z. K. Z., K. D. Henderson, J. N. Hirschhorn und M. R. Palmert (2010). "Genetic determinants of pubertal timing in the general population." Molecular and Cellular Endocrinology **324**(1-2): 21-29.

Garcia, M. R., M. Amstalden, S. W. Williams, R. L. Stanko, C. D. Morrison, D. H. Keisler, S. E. Nizielski und G. L. Williams (2002). "Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle1." Journal of Animal Science **80**(8): 2158-2167.

Gharagozlou, F., R. Youssefi, V. Akbarinejad und J. Ashrafihelan (2013). "Elevated serum anti-müllerian hormone in an Arabian mare with granulosa cell tumor." Journal of Equine Veterinary Science **33**(8): 645-648.

Gharagozlou, F., R. Youssefi, V. Akbarinejad, N. I. Mohammadkhani und T. Shahpoorzadeh (2014). "Anti-Müllerian hormone: a potential biomarker for differential diagnosis of cryptorchidism." Theriogenology **79**: 1229-1235.

Gharagozlou, F., R. Youssefi, V. Akbarinejad, F. Sasani, M. Taghizadeh-Jahed, T. Shahpoorzadeh, H. V. Moradipor, N. Hasani und M. Atashbaste (2014). "Evaluation of serum anti-Müllerian hormone (AMH) in a Persian queen cat with bilateral cystic ovarian disease." Comparative Clinical Pathology **23**(1): 237-239.

Gobello, C. (2014). "Prepubertal and pubertal canine reproductive studies: conflicting aspects." Reproduction in Domestic Animals **49**(6): e70-e73.

Golub, M. S., G. W. Collman, P. M. D. Foster, C. A. Kimmel, E. Rajpert-De Meyts, E. O. Reiter, R. M. Sharpe, N. E. Skakkebaek und J. Toppari (2008). "Public health implications of altered puberty timing." Pediatrics **121**: 218-230.

Grinspon, R. und R. Rey (2010). "Anti-Mullerian Hormone and Sertoli Cell Function in Paediatric Male Hypogonadism." Hormone Research in Paediatrics **73**: 81-92.

Grubaugh, W., D. C. Sharp, L. A. Berglund, K. J. McDowell, D. M. Kilmer, L. S. Peck und K. W. Seamans (1982). "Effects of pinealectomy in Pony mares." Journal of Reproduction and Fertility **32**: 293-295.

Guanga, L. A., S. Astiz, J. D. Sanango, J. X. Samaniego, R. X. L. Cabrera, F. Perea, H. J. Hernandez-Fonseca und J. L. P. Pacheco (2022). "Relationship between the concentration of anti-Müllerian hormone and antral follicle count in pasture-managed Holstein cows in the high tropics." Journal of Dairy Research **89**(1): 60-64.

Günzel-Apel, A.-R. und H. Bostedt (2016 a). Gynäkologie und Geburtshilfe beim Hund. Reproduktionsmedizin und Neonatologie von Hund und Katze. C. Pfarrer. Stuttgart, Schattauer Verlag: 3 - 398.

Günzel-Apel, A.-R. und H. Bostedt (2016 b). Gynäkologie und Geburtshilfe bei der Katze. Reproduktionsmedizin und Neonatologie von Hund und Katze. C. Pfarrer. Stuttgart, Schattauer Verlag: 399 - 528.

Günzel-Apel, A.-R. und H. Bostedt (2016 c). Andrologie des Hundes. Reproduktionsmedizin und Neonatologie von Hund und Katze. A.-R. Günzel-Apel. Stuttgart, Schattauer Verlag: 629 - 715.

Günzel-Apel, A.-R. und H. Bostedt (2016 d). Andrologie der Katze. Reproduktionsmedizin und Neonatologie von Hund und Katze. C. Pfarrer. Stuttgart, Schattauer Verlag: 716 - 738.

Günzel-Apel, A.-R., H. G. Brinckmann und H. O. Hoppen (1990). "Dynamics of LH and testosterone secretion in Beagle dogs at different ages." Reproduction in Domestic Animals **25**(2): 78–86.

Hafez, B. und E. S. E. Hafez (2000). Reproduction in Farm Animals. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.

Hagen, C. P., A. Mouritsen, M. G. Mieritz, J. Tinggaard, C. Wohlfart-Veje, E. Fallentin, V. Brocks, K. Sundberg, L. N. Jensen und R. A. Anderson (2015). "Circulating AMH reflects ovarian morphology by magnetic resonance imaging and 3D ultrasound in 121 healthy girls." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **100**(3): 880-890.

Hansen, K. R., N. S. Knowlton, A. C. Thyer, J. S. Charleston, M. R. Soules und N. A. Klein (2008). "A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause." Human Reproduction **23**(3): 699-708.

Hardeland, R., J. A. Madrid, D. X. Tan und R. J. Reiter (2012). "Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling." Journal of Pineal Research **52**(2): 139-166.

Heaps, L. A., C. J. Scudder, V. J. Lipscomb, S. M. L. Steinbach, S. L. Priestnall, H. Martineau, B. Szladovits, R. C. Fowkes und O. A. Garden (2017). "Serum anti-Müllerian hormone concentrations before and after treatment of an ovarian granulosa cell tumour in a cat." Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports **3**(2): 2055116917722701.

Henningsen, J. B., F. Gauer und V. Simonneaux (2016). "RFRP neurons—the doorway to understanding seasonal reproduction in mammals." Frontiers in Endocrinology **7**: 36.

Hero, M., J. Tømmiska, K. Vaaralahti, E.-M. Laitinen, I. Sipilä, L. Puhakka, L. Dunkel und T. Raivio (2012). "Circulating antimüllerian hormone levels in boys decline during early puberty and correlate with inhibin B." Fertility and Sterility **97**(5): 1242-1247.

Hill, J. R., J. Wilkinson, J. Mallyon und S. T. Anderson (2018). "Low sensitivity of a test for anti-Müllerian hormone to assess presence of ovaries in prepubertal bitches." Australian Veterinary Journal **96**(9): 356-359.

Hollinshead, F. K., C. Walker und D. W. Hanlon (2017). "Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size." Reproduction in Domestic Animals **52**: 35-40.

Holst, B. S. (2017). "Diagnostic possibilities from a serum sample—Clinical value of new methods within small animal reproduction, with focus on anti-Müllerian hormone." Reproduction in Domestic Animals **52**: 303-309.

Holst, B. S. und U. Dreimanis (2015). "Anti-Müllerian hormone: a potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours." BMC Veterinary Research **11**: 166.

Hornáková, L., T. Vrbovská, M. Pavl'ak, A. Valenčáková-Agyagosová, M. Halo und J. Hajurka (2017). "The evaluation of blood concentrations of testosterone, 17 β -oestradiol and anti-Müllerian hormone in dogs with cryptorchidism and testicular tumours." Polish Journal of Veterinary Sciences **20** 4: 677-685.

Hornberger, T., S. Reese, K. Perbandt, A. Meyer-Lindenberg und B. Walter (2025). "Correlation of Anti-Müllerian hormone serum concentration measured in proestrus and estrus with the litter size as a fertility marker in bitches." Domestic Animal Endocrinology **91**: 106897.

Hudson, P. L., I. Dougas, P. K. Donahoe, R. L. Cate, J. Epstein, R. B. Pepinsky und D. T. Maclaughlin (1990). "An immunoassay to detect human mullerian inhibiting substance in males and females during normal development." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **70**(1): 16-22.

Hutson, J. M. (1986). "Testicular feminization: a model for testicular descent in mice and men." Journal of Pediatric Surgery **21**(3): 195-198.

I'Anson, H., J. M. Manning, C. G. Herbosa, J. Pelt, C. R. Friedman, R. I. Wood, D. C. Bucholtz und D. L. Foster (2000). "Central Inhibition of Gonadotropin-Releasing Hormone Secretion in the Growth-Restricted Hypogonadotropic Female Sheep1." Endocrinology **141**(2): 520-527.

Ireland, J. L. H., D. Scheetz, F. Jimenez-Krassel, A. P. N. Themmen, F. Ward, P. Lonergan, G. W. Smith, G. I. Perez, A. C. O. Evans und J. J. Ireland (2008). "Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle." Biology of reproduction **79**(6): 1219-1225.

Jakob, S. und R. Lovell-Badge (2011). "Sex determination and the control of Sox9 expression in mammals." The FEBS journal **278**(7): 1002-1009.

Jemmett, J. E. und J. M. Evans (1977). "A survey of sexual behaviour and reproduction of female cats." Journal of Small Animal Practice **18**(1): 31-37.

Jöchle, W. und A. C. Andersen (1977). "The estrous cycle in the dog: A review." Theriogenology **7**(3): 113-140.

Johnston, S. D., M. V. Kustritz und P. N. S. Olson (2001). "Disorders of canine ovary." Canine and Feline Theriogenology **1**: 193-205.

Johnston, S. D., M. V. Root und P. N. S. Olson (1996). "Ovarian and testicular function in the domestic cat: clinical management of spontaneous reproductive disease." Animal Reproduction Science **42**(1-4): 261-274.

Jones, S. A., S. L. Owens und S. J. Birchard (2019). "Hyperandrogenism associated with an ovarian remnant in a spayed female cat." Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports **5**(2): 2055116919885698.

Josso, N. (1973). "In vitro synthesis of mullerian-inhibiting hormone by seminiferous tubules isolated from the calf fetal testis." Endocrinology **93**(4): 829-834.

Josso, N. (2019). "Women in reproductive science: Anti-Müllerian hormone: a look back and ahead." Reproduction **158**(6): F81-F89.

Josso, N., N. di Clemente und L. Gouédard (2001). "Anti-Müllerian hormone and its receptors." Molecular and Cellular Endocrinology **179**(1-2): 25-32.

Josso, N. und R. A. Rey (2020). "What Does AMH Tell Us in Pediatric Disorders of Sex Development?" Frontiers in Endocrinology (Lausanne) **11**: 619.

Jost, A. (1947). "Action of testosterone on the castrated rabbit embryo." Comptes rendus des seances de la Societe de biologie et de ses filiales **141**(5-6): 275.

Jost, A. (1953). "Problems of fetal endocrinology: the gonadal and nypophyseal hormones." Recent Progress in Hormone Research **8**: 379-418.

Karakas Alkan, K., A. Ceylan, H. Alkan, D. Ozen, A. G. Bayraktaroglu und M. Kaymaz (2019). "Immunohistochemical and qPCR determination of the expression and serum level of anti-Müllerian hormone in pre-pubertal, intact and ovarian remnant syndrome detected bitches." Reproduction in Domestic Animals **54**(7): 979-986.

Karl, K. R., J. L. H. Ireland, Z. L. Clark, R. J. Tempelman, K. E. Latham und J. J. Ireland (2022). "Limitations in use of ovarian reserve biomarkers to predict the superovulation response in small ovarian reserve heifers." Theriogenology **182**: 53-62.

Karsch, F. J. (1986). "A role for melatonin as a timekeeping hormone in the ewe." Journal of Neural transmission. Supplementum **21**: 109-124.

Kennaway, D. J., T. A. Gilmore und R. F. Seamark (1982). "Effects of melatonin implants on the circadian rhythm of plasma melantonin and prolactin in sheep." Endocrinology **110**(6): 2186-2188.

Kenny, D. A., J. Heslin und C. J. Byrne (2018). "Early onset of puberty in cattle: implications for gamete quality and embryo survival." Reproduction, Fertility and Development **30**(1): 101-117.

Kenyon, P. R., G. L. Pinchbeck, N. R. Perkins, S. T. Morris und D. M. West (2004). "Identifying factors which maximise the lambing performance of hoggets: a cross sectional study." New Zealand Veterinary Journal **52**(6): 371-377.

Kevenaar, M. E., M. F. Meerasahib, P. Kramer, B. M. van de Lang-Born, F. H. de Jong, N. P. Groome, A. P. Themmen und J. A. Visser (2006). "Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice." Endocrinology **147**(7): 3228-3234.

Kilmer, D. M., D. C. Sharp, L. A. Berglund, W. Grubaug, K. J. McDowell und L. S. Peck (1982). "Melatonin rhythms in Pony mares and foals." Journal of Reproduction and Fertility **32**: 303-307.

Kindt, T. J., R. Goldsby und B. Osborn (2007). Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Elisa). Immunology. New York, W. H. Freeman & Co Ltd.

Kitahara, G., H. El-Sheikh Ali, T. Sato, I. Kobayashi, K. Hemmi, Y. Shirao und S. Kamimura (2012). "Anti-Müllerian hormone (AMH) profiles as a novel biomarker to evaluate the existence of a functional cryptorchid testis in Japanese Black calves." Journal of Reproduction and Development **58**(3): 310-315.

Krishna, K. B. und S. F. Witchel. (2000, 2024 Apr 9). "Normal and Abnormal Puberty." Endotext 2025 Feb 14, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279024/>.

Kushnir, V. A., D. B. Seifer, D. H. Barad, A. Sen und N. Gleicher (2017). "Potential therapeutic applications of human anti-Müllerian hormone (AMH) analogues in reproductive medicine." Journal of Assisted Reproduction and Genetics **34**: 1105-1113.

La Marca, A., E. Spada, V. Grisendi, C. Argento, E. Papaleo, S. Milani und A. Volpe (2012). "Normal serum anti-Müllerian hormone levels in the general female population and the relationship with reproductive history." European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology **163**(2): 180-184.

Lahoz, B., J. L. Alabart, M. J. Cocero, D. Monniaux, E. Echegoyen, P. Sánchez und J. Folch (2014). "Anti-Müllerian hormone concentration in sheep and its dependence of age and independence of BMP15 genotype: an endocrine predictor to select the best donors for embryo biotechnologies." Theriogenology **81**(2): 347-357.

Lahoz, B., J. L. Alabart, D. Monniaux, P. Mermillod und J. Folch (2012). "Anti-Müllerian hormone plasma concentration in prepubertal ewe lambs as a predictor of their fertility at a young age." BMC Veterinary Research **8**: 1-9.

Lang, G. (2013). Immunhistochemie. Histotechnik: Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik. Vienna, Springer-Verlag: 269-304.

Lapiente, C., M. Faya, P. G. Blanco, M. Grisolia-Romero, C. Marchetti und C. Gobello (2023). "Anti-Müllerian hormone in queens: Serum concentrations and total ovarian follicle population." Theriogenology **197**: 111-115.

Laurich, V. M., A. M. Trbovich, F. H. O'Neill, C. P. Houk, P. M. Sluss, A. H. Payne, P. K. Donahoe und J. Teixeira (2002). "Müllerian Inhibiting Substance Blocks the Protein Kinase A-Induced Expression of Cytochrome P450 17 α -Hydroxylase/C17–20 Lyase mRNA in a Mouse Leydig Cell Line Independent of cAMP Responsive Element Binding Protein Phosphorylation." Endocrinology **143**(9): 3351-3360.

Lee, M. M. und P. K. Donahoe (1993). "Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions." Endocrine reviews **14**(2): 152-164.

Lee, M. M., P. K. Donahoe, T. Hasegawa, B. Silverman, G. B. Crist, S. Best, Y. Hasegawa, R. A. Noto, D. Schoenfeld und D. T. MacLaughlin (1996). "Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **81**(2): 571-576.

Lee, M. M., P. K. Donahoe, B. L. Silverman, T. Hasegawa, Y. Hasegawa, M. L. Gustafson, Y. Chang und D. T. MacLaughlin (1997). "Measurements of serum Müllerian inhibiting substance in the evaluation of children with nonpalpable gonads." New England Journal of Medicine **336**(21): 1480-1486.

Lee, M. M., M. Misra, P. K. Donahoe und D. T. MacLaughlin (2003). "MIS/AMH in the assessment of cryptorchidism and intersex conditions." Molecular and Cellular Endocrinology **211**(1-2): 91-98.

Leykam, C., C. Otzdorff, U. Flock, L. Kempker, H. Aupperle, A. Coelfen und B. Walter (2018). "Anti-Müllerian hormone concentration in dogs with unilateral cryptorchidism." Reproduction in Domestic Animals **53**: 20.

Leyva, H., L. Addiego und G. Stabenfeldt (1984). "The Effect of Different Photoperiods on Plasma Concentrations of Melatonin, Prolactin, and Cortisol in the Domestic Cat*." Endocrinology **115**(5): 1729-1736.

Lie Fong, S., J. A. Visser, C. K. Welt, Y. B. De Rijke, M. J. C. Eijkemans, F. J. Broekmans, E. M. Roes, W. H. M. Peters, A. C. S. Hokken-Koelega und B. C. J. M. Fauser (2012). "Serum anti-müllerian hormone levels in healthy females: a nomogram ranging from infancy to adulthood." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **97**(12): 4650-4655.

Lincoln, G. A., E. A. Libre und G. R. Merriam (1989). "Long-term reproductive cycles in rams after pinealectomy or superior cervical ganglionectomy." Reproduction **85**(2): 687-704.

Little, S. (2011). "Feline reproduction: problems and clinical challenges." Journal of feline medicine and surgery **13**(7): 508-515.

MacLachlan, N. J. (1987). "Ovarian disorders in domestic animals." Environmental health perspectives **73**: 27-33.

Marshall, W. A. und J. M. Tanner (1969). "Variations in pattern of pubertal changes in girls." Archives of Disease in Childhood **44**(235): 291-303.

Marshall, W. A. und J. M. Tanner (1970). "Variations in the pattern of pubertal changes in boys." Archives of Disease in Childhood **45**(239): 13-23.

McCann, S. M., M. Kimura, A. Walczewska, S. Karanth, V. Rettori und W. H. Yu (1998). "Hypothalamic Control of FSH and LH by FSH-RF, LHRH, Cytokines, Leptin and Nitric Oxide." Neuroimmunomodulation **5**(3-4): 193-202.

McGee, E. A. und A. J. W. Hsueh (2000). "Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles." Endocrine Reviews **21**(2): 200-214.

Meyers-Wallen, V. N. (1991). "Clinical approach to infertile male dogs with sperm in the ejaculate." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice **21**(3): 609-633.

Meyers-Wallen, V. N. (2012). "Gonadal and sex differentiation abnormalities of dogs and cats." Sexual Development **6**(1-3): 46-60.

Mieritz, M. G., L. L. Rakê, C. P. Hagen, J. E. Nielsen, M. L. Talman, J. H. Petersen, S. H. Sommer, K. M. Main, N. Jørgensen und A. Juul (2015). "A Longitudinal Study of Growth, Sex Steroids, and IGF-1 in Boys With Physiological Gynecomastia." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **100**(10): 3752-3759.

Miller, D. M. (1995). "Ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 46 cases (1988–1992)." Journal of Veterinary Diagnostic Investigation **7**(4): 572-574.

Miller, W. L. (2009). "Androgen synthesis in adrenarche." Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders **10**(1): 3-17.

Monniaux, D., S. Barbey, C. Rico, S. Fabre, Y. Gallard und H. Larroque (2010). "Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle?" Reproduction, Fertility and Development **22**(7): 1083-1091.

Monniaux, D., G. Baril, A.-L. Laine, P. Jarrier, N. Poulin, J. Cognié und S. Fabre (2011). "Anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat." Reproduction **142**(6): 845-854.

Monniaux, D., L. Drouilhet, C. Rico, A. Estienne, P. Jarrier, J.-L. Touzé, J. Sapa, F. Phocas, J. Dupont und R. Dalbiés-Tran (2012). "Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals." Reproduction, Fertility and Development **25**(1): 1-16.

Morris, D. H., M. E. Jones, M. J. Schoemaker, A. Ashworth und A. J. Swerdlow (2011). "Familial concordance for age at menarche: analyses from the Breakthrough Generations Study." Paediatric and Perinatal Epidemiology **25**(3): 306-311.

Münsterberg, A. und R. Lovell-Badge (1991). "Expression of the mouse anti-Müllerian hormone gene suggests a role in both male and female sexual differentiation." Development **113**(2): 613-624.

Mustanski, B. S., R. J. Viken, J. Kaprio, L. Pulkkinen und R. J. Rose (2004). "Genetic and environmental influences on pubertal development: longitudinal data from Finnish twins at ages 11 and 14." Developmental psychology **40**(6): 1188.

Nagashima, J. B., B. S. Hansen, N. Songsasen, A. J. Travis und N. J. Place (2016). "Anti-müllerian hormone in the domestic dog during the anestrus to oestrous transition." Reproduction in Domestic Animals **51**(1): 158-164.

Naiman, J. H., P. D. Mayhew, M. A. Steffey, W. T. N. Culp, J. J. Runge und A. Singh (2014). "Laparoscopic treatment of ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 7 cases (2010–2013)." Journal of the American Veterinary Medical Association **245**(11): 1251-1257.

Newell-Fugate, A. E., O. J. Nöthling und J. H. Bertschinger (2012). "Seasonal changes in steroid hormone profiles, body weight, semen quality, and the reproductive tract in captive African wild dogs (*Lycaon pictus*) in South Africa." General and Comparative Endocrinology **178**(2): 272-281.

Nielsen, S. W., W. Misdorp und K. McEntee (1976). "Tumours of the ovary." Bulletin of the World Health Organization **53**(2-3): 203-215.

Noakes, D. E., T. J. Parkinson und G. C. W. England (2019). Puberty and Seasonality. Veterinary reproduction and obstetrics. Edinburgh, Scotland, Elsevier: 54 - 62.

Nogueira, G. P. und O. J. Ginther (2000). "Dynamics of follicle populations and gonadotropin concentrations in fillies age two to ten months." Equine Veterinary Journal **32**(6): 482-488.

Oakley, A. E., D. K. Clifton und R. A. Steiner (2009). "Kisspeptin signaling in the brain." Endocrine reviews **30**(6): 713-743.

Oh, S. R., S. Y. Choe und Y. J. Cho (2019). "Clinical application of serum anti-Müllerian hormone in women." Clinical and Experimental Reproductive Medicine **46**(2): 50.

Okkens, A. C. und H. S. Kooistra (2006). "Anoestrus in the Dog: a Fascinating Story." Reproduction in Domestic Animals **41**(4): 291-296.

Ong, K. K., P. Emmett, K. Northstone, J. Golding, I. Rogers, A. R. Ness, J. C. Wells und D. B. Dunger (2009). "Infancy weight gain predicts childhood body fat and age at menarche in girls." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **94**(5): 1527-1532.

Ortega-Pacheco, A., J. C. Rodríguez-Buenfil, J. C. Segura-Correa, M. E. Bolio-Gonzalez, M. Jiménez-Coello und C. Linde Forsberg (2006). "Pathological conditions of the reproductive organs of male stray dogs in the tropics: prevalence, risk factors, morphological findings and testosterone concentrations." Reproduction in domestic animals **41**(5): 429-437.

Padmanabhan, V. und A. McNeilly (2001). "Is there an FSH-releasing factor?" Reproduction **121**: 21-30.

Papas, M., J. Govaere, S. Peere, I. Gerits, M. Van de Velde, D. Angel-Velez, T. De Coster, A. Van Soom und K. Smits (2021). "Anti-Müllerian hormone and OPU-ICSI outcome in the mare." Animals **11**(7): 2004.

Parent, A.-S., D. Franssen, J. Fudvoye, A. Pinson und J.-P. Bourguignon (2016). "Current changes in pubertal timing: revised vision in relation with environmental factors including endocrine disruptors." Puberty from bench to clinic **29**: 174-184.

Parent, A.-S., G. Teilmann, A. Juul, N. E. Skakkebaek, J. Toppari und J.-P. Bourguignon (2003). "The Timing of Normal Puberty and the Age Limits of Sexual Precocity: Variations around the World, Secular Trends, and Changes after Migration." Endocrine Reviews **24**(5): 668-693.

Pasqualini, T., H. Chemes und M. A. Rivarola (1981). "Testicular testosterone levels during puberty in cryptorchidism." Clinical Endocrinology **15**(6): 545-554.

Pedersen, J. L., K. Nysom, M. Jørgensen, C. T. Nielsen, J. Müller, N. Keiding und N. E. Skakkebaek (1993). "Spermaturia and puberty." Archives of Disease in Childhood **69**(3): 384-387.

Peluso, C., F. L. A. Fonseca, I. F. Rodart, V. Cavalcanti, G. Gastaldo, D. M. Christofolini, C. P. Barbosa und B. Bianco (2014). "AMH: An ovarian reserve biomarker in assisted reproduction." Clinica Chimica Acta **437**: 175-182.

Pereira, F. A. (1986). "Crescimento e desempenho reprodutivo de animais zebus e mestiços Chianina-zebu." Revista da Sociedade Brasileira de zootecnia **15**: 116-123.

Pereira, J. C. C. (2000). "Contribuição genética do Zebu na pecuária bovina do Brasil." Informe Agropecuário **21**(205): 30-38.

Picard, J.-Y., R. L. Cate, C. Racine und N. Josso (2017). "The persistent Müllerian duct syndrome: an update based upon a personal experience of 157 cases." Sexual Development **11**(3): 109-125.

Pilsgaard, F., A. G. A. Grynnerup, K. Løssl, L. Bungum und A. Pinborg (2018). "The use of anti-Müllerian hormone for controlled ovarian stimulation in assisted reproductive technology, fertility assessment and-counseling." Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica **97**(9): 1105-1113.

Pinto, P. H. N., M. F. A. Balaro, J. M. G. Souza-Fabjan, L. dos Santos Ribeiro, G. M. Bragança, C. R. Leite, E. K. N. Arashiro, K. de Moraes Silva, J. F. Da Fonseca und F. Z. Brandão (2018). "Anti-Müllerian hormone and antral follicle count are more effective for selecting ewes with good potential for in vivo embryo production than the presence of FecGE mutation or eCG pre-selection tests." Theriogenology **113**: 146-152.

Pir Yagci, I., M. Pekcan, I. M. Polat, H. Kalender und H. C. Macun (2016). "Does serum anti-Müllerian hormone levels always discriminate presence of the ovaries in adult bitches? Comparison of two ELISA kits." Reproduction in Domestic Animals **51**(6): 910-915.

Place, N. J., J.-L. Cheraskin und B. S. Hansen (2019). "Evaluation of combined assessments of serum anti-Müllerian hormone and progesterone concentrations for the diagnosis of ovarian remnant syndrome in dogs." Journal of the American Veterinary Medical Association **254**(9): 1067-1072.

Place, N. J. und J. Cruickshank (2009). "Graded response to short photoperiod during development and early adulthood in Siberian hamsters and the effects on reproduction as females age." Hormones and behavior **55**(3): 390-397.

Place, N. J., B. S. Hansen, J.-L. Cheraskin, S. E. Cudney, J. A. Flanders, A. D. Newmark, B. Barry und J. M. Scarlett (2011). "Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy." Journal of Veterinary Diagnostic Investigation **23**(3): 524-527.

Plant, T. M. (2015). "Neuroendocrine control of the onset of puberty." Frontiers in Neuroendocrinology **38**: 73-88.

Pool, K. R., J. P. Rickard und S. P. de Graaf (2020). "Overcoming neuroendocrine and metabolic barriers to puberty: the role of melatonin in advancing puberty in ewe lambs." Domestic Animal Endocrinology **72**: 106457.

Poth, T., W. Breuer, B. Walter, W. Hecht und W. Hermanns (2010). "Disorders of sex development in the dog—Adoption of a new nomenclature and reclassification of reported cases." Animal Reproduction Science **121**(3-4): 197-207.

Prader, A. (1966). "Testicular size: assessment and clinical importance." Triangle **7**(6): 240-243.

Prentice, P. und R. M. Viner (2013). "Pubertal timing and adult obesity and cardiometabolic risk in women and men: a systematic review and meta-analysis." International Journal of Obesity **37**(8): 1036-1043.

Qian, H., C. R. Barb, M. M. Compton, G. J. Hausman, M. J. Azain, R. R. Kraeling und C. A. Baile (1999). "Leptin mRNA expression and serum leptin concentrations as influenced by age, weight, and estradiol in pigs 33Current address: USDA, ARS, Growth Biology Laboratory, Livestock and Poultry Sciences Institute, Bldg. 200, Beltsville, MD 20705." Domestic Animal Endocrinology **16**(2): 135-143.

Rajaratne, A. A. J., S. S. E. Ranawana, N. Tilakaratne und A. Srikanthakumar (1983). "Comparative tolerance of hot-humid climatic conditions by three species (Bos taurus, Bos indicus and Bubalus bubalis) of Bovidae." Sri Lanka Veterinary Journal **31**(1/2): 21–26.

Rajpert-De Meyts, E., N. Jørgensen, N. Græm, J. Müller, R. L. Cate und N. E. Skakkebak (1999). "Expression of Anti-Müllerian Hormone during Normal and Pathological Gonadal Development: Association with Differentiation of Sertoli and Granulosa Cells*." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **84**(10): 3836-3844.

Reiter, E. O., V. G. Fuldauer und A. W. Root (1977). "Secretion of the adrenal androgen, dehydroepiandrosterone sulfate, during normal infancy, childhood, and adolescence, in sick infants, and in children with endocrinologic abnormalities." The Journal of Pediatrics **90**(5): 766-770.

Reiter, R. J., S. Rosales-Corral, A. Coto-Montes, J. Antonio Boga, D. X. Tan, J. M. Davis, P. C. Konturek, S. J. Konturek und T. Brzozowski (2011). "The photoperiod, circadian regulation and chronodisruption: the requisite interplay between the suprachiasmatic nuclei and the pineal and gut melatonin." Journal of Physiology and Pharmacology **62**(3): 269.

Revel, F. G., L. Ansel, P. Klosen, M. Saboureau, P. Pévet, J. D. Mikkelsen und V. Simonneaux (2007). "Kisspeptin: A key link to seasonal breeding." Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders **8**(1): 57-65.

Rey, R., I. Lordereau-Richard, J. C. Carel, P. Barbet, R. L. Cate, M. Roger, J. L. Chaussain und N. Josso (1993). "Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **77**(5): 1220-1226.

Rey, R., C. Lukas-Croisier, C. Lasala und P. Bedecarrás (2003). "AMH/MIS: what we know already about the gene, the protein and its regulation." Molecular and cellular endocrinology **211**(1-2): 21-31.

Rey, R., F. Mebarki, M. G. Forest, I. Mowszowicz, R. L. Cate, Y. Morel, J.-L. Chaussain und N. Josso (1994). "Anti-müllerian hormone in children with androgen insensitivity." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **79**(4): 960-964.

Rey, R., J.-C. Sabourin, M. Venara, W.-Q. Long, F. Jaubert, W. P. Zeller, P. Duvillard, H. Chemes und J.-M. Bidart (2000). "Anti-Müllerian hormone is a specific marker of sertoli-and granulosa-cell origin in gonadal tumors." Human Pathology **31**(10): 1202-1208.

Rico, C., L. Drouilhet, P. Salvetti, R. Dalbies-Tran, P. Jarrier, J.-L. Touzé, E. Pillet, C. Ponsart, S. Fabre und D. Monniaux (2012). "Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm." Reproduction, Fertility and Development **24**(7): 932-944.

Rico, C., S. Fabre, C. Médigue, N. di Clemente, F. Clément, M. Bontoux, J.-L. Touzé, M. Dupont, E. Briant, B. Rémy, J.-F. Beckers und D. Monniaux (2009). "Anti-Müllerian Hormone Is an Endocrine Marker of Ovarian Gonadotropin-Responsive Follicles and Can Help to Predict Superovulatory Responses in the Cow." Biology of Reproduction **80**(1): 50-59.

Rota, A., C. Ballarin, B. Vigier, B. Cozzi und R. Rey (2002). "Age dependent changes in plasma anti-Müllerian hormone concentrations in the bovine male, female, and freemartin from birth to puberty: relationship between testosterone production and influence on sex differentiation." General and Comparative Endocrinology **129**(1): 39-44.

Rota, A., P. Pregel, F. T. Cannizzo, A. Sereno und S. Appino (2011). "Unusual case of uterine stump pyometra in a cat." Journal of Feline Medicine and surgery **13**(6): 448-450.

Sadleir, R. M. F. S. (1969). The effects of minor ecological factors on the breeding season. The Ecology of Reproduction in Wild and Domestic Mammals. R. M. F. S. Sadleir. Dordrecht, Springer Netherlands: 153-163.

Sánchez, B., M. Pizarro, P. Garcia und J. M. Flores (1993). "Postnatal development of seminiferous tubules in the cat." Journal of Reproduction and Fertility **47**: 343-348.

Schlafer, D. H. und R. A. Foster (2016). Pathology of the genital system. Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals. M. Grant. Philadelphia, Elsevier. **1**: 359-464.

Schmidt, R. F., G. Thews und F. Lang (2000). Physiologie des Menschen. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg.

Seifer, D. B., O. Tal, E. Wantman, P. Edul und V. L. Baker (2016). "Prognostic indicators of assisted reproduction technology outcomes of cycles with ultralow serum antimüllerian hormone: a multivariate analysis of over 5,000 autologous cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcome Reporting System database for 2012–2013." Fertility and Sterility **105**(2): 385-393. e383.

Senger, P. L. (2012 a). Embryogenesis of the Pituitary Gland & the Male or Female Reproductive System. Pathways to Pregnancy and Parturition Washington, Corrent Conceptions, Inc.: 80 - 99.

Senger, P. L. (2012 b). Puberty. Pathways to Pregnancy and Parturition Washington, Current Conceptions, Inc.: 126 - 139.

Silva, M. S. B. und P. Giacobini (2021). "New insights into anti-Müllerian hormone role in the hypothalamic–pituitary–gonadal axis and neuroendocrine development." Cellular and Molecular Life Sciences **78**(1): 1-16.

Silveira, L. G., S. D. Noel, A. P. Silveira-Neto, A. P. Abreu, V. N. Brito, M. G. Santos, S. D. C. Bianco, W. Kuohung, S. Xu und M. Gryngarten (2010). "Mutations of the KISS1 gene in disorders of puberty." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **95**(5): 2276-2280.

Sinisi, A. A., D. Esposito, L. Maione, M. C. Quinto, D. Visconti, A. De Bellis, A. Bellastella, G. Conzo und G. Bellastella (2008). "Seminal anti-Müllerian hormone level is a marker of spermatogenic response during long-term gonadotropin therapy in male hypogonadotropic hypogonadism." Human reproduction **23**(5): 1029-1034.

Snoeck, F., S. Sarrazin, E. Wydooghe und A. Van Soom (2017). "Age and anti-Mullerian hormone levels predict the success of in vitro maturation of cat oocytes." Reproduction in Domestic Animals **52**: 98-102.

Sokolowski, J. H., D. G. Stover und F. VanRavenswaay (1977). "Seasonal incidence of estrus and interestrous interval for bitches of seven breeds." Journal of the American Veterinary Medical Association **171**(3): 271-273.

Sørensen, K., A. Mouritsen, L. Aksglaede, C. P. Hagen, S. S. Mogensen und A. Juul (2012). "Recent secular trends in pubertal timing: implications for evaluation and diagnosis of precocious puberty." Hormone Research in Paediatrics **77**(3): 137-145.

Souza, A. H., P. D. Carvalho, A. E. Rozner, L. M. Vieira, K. S. Hackbart, R. W. Bender, A. R. Dresch, J. P. Verstegen, R. D. Shaver und M. C. Wiltbank (2015). "Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows." Journal of Dairy Science **98**(1): 169-178.

Souza, E. M., J. C. Milagres, M. Silva, A. J. Regazzi und A. G. C. Castro (1995). "Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro." Revista Brasileira de Zootecnia **24**: 926-935.

Sowers, M. F. R., A. D. Eyvazzadeh, D. McConnell, M. Yosef, M. L. Jannausch, D. Zhang, S. Harlow und J. F. Randolph Jr (2008). "Anti-mullerian hormone and inhibin B in the definition of ovarian aging and the menopause transition." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **93**(9): 3478-3483.

Subharat, S., P. R. Wilson, C. Heuer und J. M. Collins-Emerson (2012). "Growth response and shedding of *Leptospira* spp. in urine following vaccination for leptospirosis in young farmed deer." New Zealand Veterinary Journal **60**(1): 14-20.

Tan, H. S., H. Kassim und T. K. Mak (1986). "Reproductive performance of indigenous cattle in Malaysia." Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria: 189-203.

Terasawa, E., K. A. Guerriero und T. M. Plant (2013). Kisspeptin and Puberty in Mammals. Kisspeptin Signaling in Reproductive Biology. A. S. Kauffman and J. T. Smith. New York, NY, Springer New York: 253-273.

Themmen, A. P. N., B. Kalra, J. A. Visser, A. Kumar, G. Savjani, J. de Gier und S. Jaques (2016). "The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs." Theriogenology **86**(6): 1467-1474.

Trigo, R. V., I. Bergadá, R. Rey, M. G. Ballerini, P. Bedecarrás, C. Bergadá, S. Gottlieb und S. Campo (2004). "Altered serum profile of inhibin B, Pro- α C and anti-Müllerian hormone in prepubertal and pubertal boys with varicocele." Clinical Endocrinology **60**(6): 758-764.

Tsepidis, S., F. Devreker, I. Demeestere, A. Flahaut, C. Gervy und Y. Englert (2007). "Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women." Human Reproduction **22**(7): 1837-1840.

Turna Yilmaz, O., T. S. Toydemir, I. Kirsan, Z. Gunay Ucmak und E. Caliskan Karacam (2015). "Anti-Mullerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches." Veterinary Research Communications **39**(3): 159-162.

Underwood, E. J., F. L. Shier und N. Davenport (1944). "Studies in sheep husbandry in W.A. V. The breeding season of Merino, crossbred and British breed ewes in the agricultural districts." Journal of the Department of Agriculture for Western Australia **21**: 135–143.

Vernunft, A., B. Lührke, A. Tuchscherer, J. M. Weitzel und T. Viergutz (2013). "Concentrations of anti-Muellerian-hormone in follicular fluid from antral follicles and their relation to functional characteristics of follicle development in mares." Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift **126**(1-2): 77-82.

Vernunft, A., M. Schwerhoff, T. Viergutz, M. Diederich und A. Kuwer (2015). "Anti-Muellerian hormone levels in plasma of Holstein-Friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes." Journal of Reproduction and Development **61**(1): 74-79.

Vigier, B., J.-Y. Picard, D. Tran, L. Legeai und N. Josso (1984). "Production of anti-Müllerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells." Endocrinology **114**(4): 1315-1320.

Visser, J. A., F. H. de Jong, J. S. Laven und A. P. Themmen (2006). "Anti-Mullerian hormone: a new marker for ovarian function." Reproduction **131**(1): 1-9.

Visser, J. A. und A. P. N. Themmen (2005). "Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis." Molecular and Cellular Endocrinology **234**(1): 81-86.

Wallace, M. S. (1991). "The ovarian remnant syndrome in the bitch and queen." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice **21**(3): 501-507.

Walter, B., A. Coelfen, K. Jager, S. Reese, A. Meyer-Lindenberg und H. Aupperle-Lellbach (2018). "Anti-Muellerian hormone concentration in bitches with histopathologically diagnosed ovarian tumours and cysts." Reproduction in Domestic Animals **53**(3): 784-792.

Walter, B., H. Feulner, C. Otzdorff, R. Klein, S. Reese und A. Meyer-Lindenberg (2019). "Changes in anti-Mullerian hormone concentrations in bitches throughout the oestrous cycle." Theriogenology **127**: 114-119.

Walter, B., U. Flock, C. Leykam, C. Otzdorff, K. Simmet, W. Hecht, L. Kempker, H. Aupperle-Lellbach und S. Reese (2022). "Serum anti-Mullerian hormone concentration as a diagnostic tool to identify testicular tissue in canine disorders of sexual development." Domestic Animal Endocrinology **78**: 106654.

Wang, J., T. Yao, X. Zhang, Q. Chen, S. Gong, L. Jiang, H. Yao und X. Hu (2021). "Age-specific reference intervals of serum anti-Müllerian hormone in Chinese girls." Annals of Clinical Biochemistry **58**(4): 350-357.

Wang, Y., G. E. Dinse und W. J. Rogan (2012). "Birth weight, early weight gain and pubertal maturation: a longitudinal study." Pediatric Obesity **7**(2): 101-109.

Wauters, M., R. V. Considine und L. F. Van Gaal (2000). "Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator." European Journal of Endocrinology **143**(3): 293-311.

Weenen, C., J. S. E. Laven, A. R. M. Von Bergh, M. Cranfield, N. P. Groome, J. A. Visser, P. Kramer, B. C. J. M. Fauser und A. P. N. Themmen (2004). "Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment." Molecular Human Reproduction **10**(2): 77-83.

Witchel, S. F. und A. K. Topaloglu (2019). Chapter 17 - Puberty: Gonadarche and Adrenarche. Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology (Eighth Edition). J. F. Strauss and R. L. Barbieri. Philadelphia, Elsevier: 394-446. e316.

Wohlfahrt-Veje, C., A. Mouritsen, C. P. Hagen, J. Tinggaard, M. G. Mieritz, M. Boas, J. H. Petersen, N. E. Skakkebæk und K. M. Main (2016). "Pubertal Onset in Boys and Girls Is Influenced by Pubertal Timing of Both Parents." The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **101**(7): 2667-2674.

Wohlfahrt-Veje, C., H. R. Andersen, I. M. Schmidt, L. Aksglaede, K. Sørensen, A. Juul, T. K. Jensen, P. Grandjean, N. E. Skakkebaek und K. M. Main (2012). "Early breast development in girls after prenatal exposure to non-persistent pesticides." International Journal of Andrology **35**(3): 273-282.

Wray, S. und G. Hoffman (2008). "Postnatal Morphological Changes in Rat LHRH Neurons Correlated with Sexual Maturation." Neuroendocrinology **43**(2): 93-97.

VIII. ANHANG

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Tanner Stadien (aus Binder und Wölfle 2020).....</i>	<i>7</i>
<i>Abbildung 2: Prader Orchidometer nach Andreas Prader (aus Krishna und Witchel 2000)</i>	<i>8</i>

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Männliche Tierart und Alter zum Pubertätseintritt (aus Kenny et al., 2018, Günzel-Apel und Bostedt 2016 c, Günzel-Apel und Bostedt d).....</i>	<i>13</i>
<i>Tabelle 2: Weibliche Tierart und Alter zum Pubertätseintritt (aus Noakes et al., 2019)</i>	<i>21</i>
<i>Tabelle 3: Alter bei Eintritt der Pubertät bei ausgewählten Hunderassen geordnet nach dem Körpergewicht (aus Günzel-Apel und Bostedt 2016 a)</i>	<i>27</i>

IX. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich herzlich Frau Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg danken, die mir als Leiterin der Chirurgischen und Gynäkologischen Kleintierklinik die Möglichkeit zur Promotion gegeben hat.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Beate Walter für die herausragende Betreuung meiner Arbeit. Ihre fachliche Expertise, ihre kompetente Unterstützung und ihre stets konstruktive Beratung haben maßgeblich zum Erfolg dieser Dissertation beigetragen.

Ebenso möchte ich mich bei meinen Co-Autoren der Publikation, Dr. Ruth Klein, PD Dr. Sven Reese und vor allem bei Dr. Ulrike Flock bedanken. Ohne ihre wertvolle Hilfe bei der Probenbeschaffung sowie ihre Unterstützung und Motivation, hätte ich diese Arbeit nicht fertig stellen können.

Nicht unerwähnt bleiben sollen an dieser Stelle auch meine tierischen Patienten im Tierheim und in der Uniklinik – ein herzliches Dankeschön, insbesondere an Ihre Besitzer, die der Untersuchung zugestimmt haben.

Mein Dank geht zudem an meine Freunde Christin, Sebastian, Berry, Matthias, Enrico und Verena für ihre kostbaren Einwände, Korrekturlesen und Hilfestellung bei der Übersetzung. Es bedeutet mir viel, dass Ihr ein Teil meiner akademischen Reise gewesen seid.

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie und meinen Eltern meinen tiefsten Dank aussprechen. Vor allem meinem Ehemann Sven, der mich unermüdlich unterstützt, an mich geglaubt und mir stets den Rücken freigehalten hat, und unserem Sohn Alexander, der in der Endphase meiner Arbeit die allergrößte Motivation für mich war.