

4. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die morphologischen und funktionellen Charakteristika des dominanten Follikels (DF) bei Kühen und Färsen zu ermitteln. Weiterhin sollten die Beziehungen zwischen diesen Charakteristika untersucht werden. In einem dritten Untersuchungsabschnitt wurde der Einfluß des DF auf die Follikelpopulation bzw. -reifung nach einem PMSG-Stimulationsregim analysiert.

Morphologische Charakterisierung der Follikeldynamik bzw. des dominanten Follikels

In der Vergangenheit bot lediglich die rektale Untersuchung eine Möglichkeit ohne allzu starke Beeinträchtigung der Rinder die Follikeldynamik an den Ovarien zu verfolgen. Dieses Vorgehen war jedoch mit Ungenauigkeiten behaftet und nur für die Untersuchung größerer Blasen (ab 8 mm Durchmesser) geeignet (GRUNERT, 1979; STOLLA u. HIMMER, 1980; KOCH u. GLATZEL, 1990; BOTZ, 1991). Ebenso war die Untersuchung von Schlachthoforganen bzw. nach der Laparotomie oder nach Markierung der Follikel an bestimmten Zyklustagen sehr limitiert.

Durch die Gegenüberstellung der rektalen Palpationsbefunde und der sonographischen Untersuchungsergebnisse konnte BOTZ (1991) zeigen, daß die durch die rektale Exploration der Ovarien erreichte Genauigkeit durch die Ultraschalluntersuchung wesentlich gesteigert werden kann. Damit besteht die Möglichkeit, eine genauere Aussage über die Funktionsgebilde auf den Ovarien zu treffen und dadurch die Selektion der Spendertiere in Bezug auf den Funktionszustand der Ovarien zu verbessern. Weiterhin kann durch die Sonographie die Wachstumsdynamik der Funktionsgebilde (Follikel, Corpus luteum) während der Superovulation genauer verfolgt und interpretiert werden (PIERSON u. GINTHER, 1984; BOTZ, 1991; FEHRN et al., 1991).

In der eigenen Arbeit wurde die Follikeldynamik bei Kühen und Färsen vom Tag der Brunst bis zum 10. Zyklustag mittels täglicher Ultraschalluntersuchungen verfolgt. Dabei wurden die Follikelpopulation, die Entwicklung des dominanten Follikels (DF), des größten untergeordneten Follikels (guF) sowie des Corpus luteum (Cl) beobachtet. Weiterhin wurden die inter- bzw. intraovariellen Beziehungen zwischen DF, guF, Cl und Follikelpopulation betrachtet. An jedem Untersuchungspunkt wurden die Unterschiede zwischen Kühen und Färsen zusätzlich besonders berücksichtigt.

Die Follikelpopulation während der ersten Follikelwelle unterschied sich in der eigenen Studie bei Kühen und Färsen. War bei Kühen die Anzahl von Follikeln unter 5 mm vom Tag der Brunst bis zum 10. Zyklustag fast stabil (3-5 Follikel/Tier), so zeigten die Färsen eine höher Follikelzahl zwischen Tag der Brunst (Tag 0) und 4. Zyklustag (9-13,5 Follikel/Tier) als zwischen 5. und 10. Zyklustag (6,5-9 Follikel/Tier). Diese Ergebnisse bei Färsen stimmen mit den Angaben von MATTON et al. (1981) überein, die Ovarien geschlachteter Färsen am Zyklustage 3, 8, 13 und 18 untersuchten. Sie berichteten, daß die kleinen Follikel (1-3mm) vom 3. bis zum 18. Zyklustag stufenweise abnahmen, wobei die Follikelzahl am 3. Zyklustag höher als am 8. Zyklustag war. Auch stimmt die vorliegende Arbeit teilweise mit (GRASSO et al., 1989) überein, die mittels Ultraschall Färsen ab dem 3. Zyklustag täglich untersuchten. Sie fanden, daß die Follikelzahl (2-3 mm) zwischen dem 3. und 6. Zyklustag zunahm, um zwischen dem 6. und 10. Zyklustag stufenweise und langsam abzunehmen. SAVIO et al. (1988) beobachteten mittels täglicher Ultraschalluntersuchung bei Färsen, daß die Anzahl der kleinen Follikel während der meisten Zyklustage stabil war. Die Zahl nahmen in ihren Untersuchung am Ende des Zyklus rapide ab.

Es gibt in der Literatur bisher keine Hinweise über die Follikelpopulation bei Kühen.

Wir vermuten, daß der oben genannte Unterschied zwischen Kühen und Färsen (stabile Follikelzahl bei Kühen gegen abnehmende Follikelzahl bei Färsen) auf die Klassifizierung der Follikelgröße zurückzuführen ist, da der Durchmesser der Follikel bei Kühen immer größer war als bei Färsen. Demzufolge sind die Follikelklassen unter 5mm bei Kühen nicht ganz genau dieselben wie bei Färsen. Diese Klasse umfaßt bei Färsen einige mittelgroße Follikel. Diese mittelgroßen Follikel steigen am Anfang einer jeden Follikelwelle vermutlich unter dem Einfluß der FSH-Freisetzung bei Kühen und bei Färsen an und nehmen nach Selektion des DF wieder ab (s.u.). Dadurch schwankt die Anzahl von Follikeln unter 5mm bei Färsen, aber nicht bei Kühen.

Die Anzahl von Follikeln unter 5mm waren bei Färsen wesentlich höher als bei Kühen. Ein Grund dafür könnte sein, daß die Follikelpopulation mit zunehmendem Alter durch Atresie und Ovulation nur noch abnimmt, so daß z.B. bei einer 8jährigen Kuh nur noch etwa 2500 derartige Follikel vorhanden sind (MICHEL, 1983). ERIKSON (1966a) beobachtete, daß innerhalb von 40 Tagen bei der Kuh die Anzahl von Follikeln von ca. 250 000 auf 108 000 abnahm. Auch hier könnte der Unterschied in der Follikelgröße zwischen Kühen und Färsen eine Rolle spielen, so daß die Mehrheit der Follikelpopulation bei Färsen in der unteren Klasse lag, während bei Kühen mehr Follikel in der mittleren Klasse waren.

In der vorliegenden Studie stiegen die mittelgroßen Follikel (5-9mm) bei Kühen von einem Follikel am 1. Zyklustag auf fünf am 4. Zyklustag an. Dieser Anstieg fand bei Färsen zwischen dem 2. und 4. Zyklustag statt (von 0.5 auf 3 Follikel). Danach nahm die Anzahl vom 4. bis zum 7. Zyklustag bei Kühen und Färsen ab. Zwischen dem 7. u. 10. Zyklustag veränderte sie sich kaum. Zu ähnlichen Ergebnissen kam KÄHN (1989). Er berichtete, daß die Zahl der Follikel mit der Größe 5-7 mm und 8-10mm in den Tagen nach der Ovulation stark zunahm. Vom 1. bis 4. Zyklustag waren im Durchschnitt ca. vier Follikel mit einem Durchmesser von 5-7mm zu zählen. Zur Mitte des Diöstrus nahm die Anzahl dieser Follikel deutlich ab. Er beobachtete weiter, daß erst ab dem 11. Zyklustag wieder durchschnittlich zwei Follikel mit 5-7mm und ein Follikel mit 8-10 mm Durchmesser zu finden waren. SCHAMS et al. (1976) und TOTH (1977) konnten auch mittels Pelviskopie ein verstärktes Wachstum mittelgroßer Follikel (5-8 mm) am 4. Zyklustag, eine etwas verminderte Aktivität am 8. Zyklustag und einen erneuten Wachstumsschub am 12. Zyklustag feststellen. Relativ große Follikel (> 8mm) konnten ab dem 16. Zyklustag bis zur Ovulation und ebenso vom 4. bis 8. Tag beobachtet werden.

Diesen deutlichen Anstieg in der Zahl der mittelgroßen Follikel von 2. bis zum 4. Zyklustag nennt man Follikelwelle. Die wesentliche Ursache für diese Zunahme mittelgroßer Follikel ist die FSH-Ausschüttung aus dem Vorderlappen der Hypophyse. FSH stimuliert das Wachstum der antralen Follikel (DRIANCOURT, 1991). ADAMS et al. (1992), SUNDERLAND et al. (1994) und GINTHER et al. (1998) registrierten einen leichten FSH-Anstieg vor jeder Follikelwelle. Hemmt man den FSH-Anstieg durch Injektion boviner follikulärer Flüssigkeit, wurde der Beginn der follikulären Welle verzögert (TURZILLO u. FORTUNE, 1990). Welche Faktoren diese FSH-Ausschüttung initiieren ist unklar.

In der vorliegenden Studie war die Zahl der Follikel 5-9 mm zwischen dem 2. und 6. Zyklustag bei Kühen höher als bei Färsen. Hierfür könnte die Gruppierung der Follikelpopulation bei Kühen und Färsen ein Grund sein.

Bei Kühen und Färsen sank die Anzahl der Follikel über 9 mm vom 1. auf 2. Zyklustag (von 1 auf 0 Follikel). Sie blieben bei Null bis zum 4. Zyklustag. Zwischen dem 4. und 5. Zyklustag stieg die Zahl wieder an. Zwischen dem 5. u. 10. Zyklustag blieb die Follikelanzahl unverändert bei einem Follikel stehen.

Die eigenen Ergebnisse stimmen dabei mit GRASSO et al. (1989) und KÄHN (1989) überein. RAJAKOSKI (1960), CHOUDARY et al. (1968), IRELAND et al. (1979) und MATTON et

al. (1981) kamen zu dem Schluß, daß vom 4. bzw. 5. Zyklustag bis zur Ovulation mindestens ein Follikel der Größe 10-20 mm auf den Ovarien zu finden sei.

In der vorliegenden Arbeit konnte der DF der ersten Follikelwelle (als einer der Klasse von 4-6 mm Durchmesser) erstmals am Zyklustag 1,6 bzw. 2,0 bei Kühen resp. Färsen entdeckt werden. Er hatte zu dieser Zeit 4,5 bzw. 4,3 mm im Durchmesser bei Kühen resp. Färsen. Dies ist mit den Ergebnissen zahlreicher Autoren (SAVIO et al., 1988; SIRIOS u. FORTUNE, 1988; KNOPF et al., 1989; GINTHER et al., 1996; RHODES et al., 1997) vergleichbar, die den DF erstmals am Tag der Ovulation oder einen Tag danach entdeckten.

Der DF konnte als der größte Follikel beider Ovarien erstmals am Zyklustag 3,6 bzw. 4,1 bei Kühen und Färsen identifiziert werden. Er maß zu dieser Zeit 9,0 bzw. 7,9 mm bei Kühen bzw. Färsen. Diese Ergebnisse bestätigen auch GINTHER et al. (1996). Sie berichteten, daß die Divergenz in der Wachstumsrate zwischen DF und guF erstmals am Tag 2,8 nach Eintritt der Follikelwelle beobachtet wurde. Der Durchmesser des DF betrug zu dieser Zeit 8,5mm. SAVIO et al. (1988), SIRIOS u. FORTUNE (1988) und SUNDERLAND et al. (1994) identifizierten den DF erstmals am 4. Zyklustag, wobei diese Autoren lediglich Färsen untersucht.

Die Divergenz des DF von dem guF in der Wachstumsrate bzw. im Durchmesser repräsentiert den Tag der morphologischen Selektion des DF. Der eigentliche Tag der DF-Selektion war aber sicherlich früher.

Nun stellt sich die Frage, welche Faktoren die Follikelselektion bestimmen? Die Antwort auf diese Frage ist noch unbekannt. GINTHER et al. (1996) und MIHM et al. (1997) bewiesen, daß das Absinken des FSH-Spiegels ca. zwei Tage nach Rekrutierung der Follikelwelle eine wichtige Komponente der Follikelselektion ist. Behandlungen zwei Tage vor sowie zwei Tage nach der Zeit der Selektion mit FSH verzögerten die Identifikation des DF (MIHM et al., 1997). So ist wahrscheinlich der Selektionprozeß als Konkurrenz um eine adäquate Gonadotropinversorgung zu verstehen (MARTIN et al., 1988; DRIAANCOURT, 1991). EVANS et al. (1997) berichteten allerdings, daß der DF schon vor dem Abfall des FSH Spiegels selektiert wurde. Sie vermuten, daß andere Faktoren außer den Gonadotropinen für die Selektion verantwortlich sein könnten.

Die Anbildung von LH-Rezeptoren an Granulosazellen des Follikels und die Zunahme der LH-Pulse im Blut sind wichtige Komponenten in der Follikelselektion (GONG et al., 1995; BAO u. GARVERICK, 1998; GINTHER et al., 1998). Eine Hemmung des LH-Pulses hinderte den größten Follikel über 7-9 mm hinaus zu wachsen (GINTHER et al., 1998; GONG et al., 1995).

SPICER u. ECHTERNKAMP, (1986) vermuteten, daß die Selektion die Folge der Zunahme von LH-Pulsen im Blut wäre, wobei Veränderungen in der Vaskularisation des Ovargewebes sowie Abweichungen im intrafollikulären Gehalt an Steroiden und Proteinen hinzukommen.

GINTHER et al., (1997) vermuten auch, daß das intrafollikuläre Östradiol eine Rolle in der Follikelselektion spielen könnte, da Östradiol zur Zeit der Follikelselektion sowie während seines Wachstums von dem selektierten Follikel produziert wird.

SUNDERLANT et al., (1994) vermuten, daß intrafollikuläres Progesteron eine wichtige Rolle bei der Selektion der Follikel spielen könnte, denn sein Gehalt war in dem zweiten sowie dritten untergeordneten Follikel immer höher als im DF.

BROWN u. DRIANCOURT (1989) berichten von einem erhöhten Blutfluß und verbesserter ovarieller Blutversorgung im Zusammenhang mit dem Phänomen der Dominanz.

FORTUNE (1994) nahm einfach an, daß der Follikel, welcher erwählt wird, derjenige ist, der genau am richtigen Platz zur richtigen Zeit ist. Solche Follikel reagieren besser auf den leichten Anstieg in FSH.

GINTHER et al. (1996) bewiesen, daß der selektierte Follikel schon von Anfang an einen Vorteil im Durchmesser im Vergleich zu den Nachbarfollikeln aufwies; demzufolge erreichte er das kritische Stadium der Selektion früher als die anderen.

Der Ablauf der Follikelselektion wird zusätzlich zum Einfluß der oben genannten Faktoren auch von lokalen Faktoren mitbestimmt. ROHDES et al. (1997) berichteten, daß der Follikel mit dem geringsten Gehalt an Insulin Like Growth-Bindingprotein 4 (IGF-BP4) am 2. bzw. 3. Zyklustag immer der DF wird.

Der DF erreichte seinen Maximaldurchmesser am Zyklustag 8,2 u. 7,4 bei Kühen bzw. Färsen. Zu fast gleichen Ergebnisse kamen auch SAVIO et al. (1988), SIRIOS u. FORTUNE (1988), KNOPH et al. (1989) und KÄHN et al. (1989), die den Maximaldurchmesser zwischen 6. u. 8. Zyklustag beobachteten.

Der Maximaldurchmesser des DF war bei Färsen deutlich kleiner (11,6 mm) als bei Kühen (15,3 mm). Nach den Untersuchungen von SAVIO et al. (1988), SIRIOS u. FORTUNE (1988), KNOPH et al. (1989) und KÄHN et al. (1989) schwankte der Maximaldurchmesser

des DF der ersten Follikelwelle bei Färsen zwischen 12,5 und 16 mm. Die Rasse und das exakte Alter der untersuchten Tiere könnten die Durchmesser des DF definiert haben.

Es konnte festgestellt werden, daß je früher der DF entdeckt wird, desto früher er seine Plateauphase erreicht. Demzufolge verliert er früher seine Aktivität. Dies gilt auch umgekehrt, je später die Entdeckung des DF ist, desto später erreicht er sein Plateau, demzufolge bleibt er für eine lange Zeit aktiv. Diese Phänomene könnten für die Brunstsynchronisations- bzw. Superovulationsregime wichtig sein. Bei Brunstsynchronisation, insbesondere beim Einsatz von $\text{PGF}_2\alpha$, braucht man zur Zeit der $\text{PGF}_2\alpha$ -Applikation einen aktiven DF, welcher auf die Medikamente reagieren kann. Hingegen braucht man bei Superovulationsprogrammen entweder keinen oder nur einen schwachen DF. Wenn man den Eintritt der Follikelwelle kontrollieren kann, z.B. durch Hormone (Gestagene, Östradiol, FSH) oder durch Follikelpunktion, kann man zielgenau einen gewünschten DF haben. Diese Erkenntnis bietet ein weites Forschungsgebiet.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, daß die Wachstumsrate des DF bei Kühen (1,7 mm/Tag) schneller als bei Färsen (1,4 mm/Tag) war. Bei Färsen berichtete KNOFF (1990) von einer Wachstumsrate um 2,0 mm/Tag für den anovulatorischen DF und 1,4 mm/Tag für den ovulatorischen DF.

Es konnte bei Kühen auch festgestellt werden, daß je schneller die Wachstumsgeschwindigkeit des DF ist, desto eher er seinen Maximaldurchmesser bzw. seine Plateauphase erreicht und umgekehrt. Dieser Zusammenhang konnte bei Färsen nicht beobachtet werden.

Insgesamt war der DF bei Färsen kleiner und wuchs langsamer als bei Kühen. Dieser Unterschied könnte teilweise die Differenz zwischen Färsen und Kühen in Brunstsynchronisationsprogrammen (z.B. Ovsynch-Programm oder zweimaliges $\text{PGF}_2\alpha$ -Programm) erklären. Beim Ovsynch-Protokoll reagierten die Färsen um 50% schlechter als die Kühe (PURSELY et al., 1995). Die Färsen reagieren nach der zweimaligen $\text{PGF}_2\alpha$ -Applikation besser in zehn bis elf Tagen Abstand, während die Kühe besser mit dem 13- bis 14- Tage -Intervall reagieren (WILTBANK, 1997).

Zahlreiche Autoren berichteten, daß der Beginn der Gonadotropinbehandlung zwischen dem 8. und 14. Zyklustag die besten Erfolge bei der Stimulation der Ovarien bringt (GREVE,

1976; SAUMANDE u. CHUPIN, 1977; HAHN, 1992; BUSSE, 1995). Deshalb wurde in der vorliegenden Studie der Start des Superovulationsprogrammes am 10. Zyklustag geplant. Es wurde nur ein bestimmter Zyklustag (Tag 10) ausgewählt um den Einfluß des Zyklustages reduzieren zu können. Dabei war eines der Hauptziele den DF an diesem Tag (10. Zyklustag) zu charakterisieren.

Am Tag 10 des Zyklus konnten unterschiedliche Wachstumszustände des DF beobachtet werden. Eine Ursache dafür ist, daß die DF nicht am gleichen Tag zu wachsen beginnen. Die zweite Ursache ist die unterschiedliche Wachstumsrate der DF.

In der vorliegenden Studie konnte der größte untergeordnete Follikel (guF) der ersten Follikelwelle erstmals am Zyklustag 1,5 bzw. 2,1 bei Kühen resp. Färsen entdeckt werden. Er maß zu dieser Zeit im Schnitt 4,5 bzw. 4,3 mm bei Kühen resp. Färsen. Er wuchs von seinem Entdeckungstag an bis zum Zyklustag 3,9 (Kühe) bzw. 3,5 (Färsen) um 1,6 mm/Tag. Er erreichte an diesem Tag einen Maximaldurchmesser von 7,7 bzw. 6,2 mm bei Kühen bzw. Färsen und fing danach an zu atresieren. SUNDERLAND et al. (1994) berichteten bei Färsen, daß der guF zwischen dem 1. und 4. Zyklustag an Größe zunahm um zwischen dem 5. und 10. Zyklustag kleiner wurde.

Wenn man den DF und den guF vergleicht, bemerkt man, daß der erste Beobachtungstag des DF und guF (1,6 vs. 1,5 bei Kühen; 2,0 vs. 2,1 bei Färsen) sowie ihre Durchmesser an diesem Tag (4,5 vs. 4,6 bei Kühe; 4,3 vs. 4,2 Färsen) nicht zu unterscheiden sind. Dies spricht dafür, daß der DF am Anfang der Follikelwelle keinen Größenvorteil aufweist. Zu ähnlichen Aussagen kamen KNOPF (1990) und KÄHN (1989). Sie fanden, daß zu Beginn jeder Welle sich der DF in seinem Durchmesser nicht von den untergeordneten Follikeln unterschied. KÄHN (1989) beobachtete, daß in den ersten vier Tagen nach einer Ovulation die Durchmesser der guF mit durchschnittlichen Werten zwischen 5,6 und 7,6 mm nur wenig kleiner als der größte Follikel der Population waren.

Der guF wuchs nur bis zum 4. Zyklustag und fing dann an zu atresieren, während der DF sich bis zum Tag 8,2 bzw. 7,4 weiterentwickelte. Gleichzeitig wurde ein positiver Zusammenhang zwischen dem Tag der Divergenz des DF und der ersten Abnahme an Follikelgröße 5-9 mm beobachtet. Dies unterstützt die Vermutung, daß der DF einen Hemmungseffekt auf die untergeordneten Follikel ausübt. KO et al. (1991) beobachteten, daß durch Kauterisation des DF am 3. Zyklustag die Atresie des guF verzögert wurde.

Nun ist die Frage, wie der DF seinen Hemmungseffekt auf die untergeordneten Follikel ausübt. Es wird vermutet, daß durch die Sekretion von Inhibin und/oder Östradiol, welches im DF produziert wird, über einen negativen Feedback-Mechanismus der Plasmaspiegel des FSH gesenkt wird und dadurch das Wachstum kleiner Follikel gehemmt wird. FSH steigt zwei Tage vor Eintritt jeder Welle an und nimmt 32 bis 16 Stunden nach DF-Divergenz wieder ab (RHODES et al., 1995; GINTHER et al., 1998). Parallel nimmt die intrafollikuläre Inhibin- bzw. Östradiolkonzentration beim Rind mit größer werdenden Follikeln zu und mit dessen Atresie wieder ab (HENDERSON et al., 1982; MARTIN et al., 1991). DRIANCOURT (1991) bezeichnet dies als den passiven Weg der Einflußnahme.

Der aktive Weg einer Beeinflussung des Wachstumsverhaltens kleiner Follikel durch einen großen Follikel ist beim Rind im Gegensatz zum Schaf ebenfalls möglich (DRIANCOURT, 1991). Dabei soll der reifende Follikel Substanzen (IGF, EGE u. a.) freisetzen, welche die Empfindlichkeit kleiner Follikel gegenüber FSH senken.

In der eigenen Untersuchung konnte das Corpus luteum (Cl) erstmals durchschnittlich am 3,5. bzw. 3.3. Zyklustag mit einem Durchmesser von 14,7 bzw. 11,5 mm bei Kühen und Färsen ultrasonographisch beobachtet werden. Nach KÄHN (1986) konnte das Cl erst ab dem 2. Zyklustag ermittelt werden. PIERSON u. GINTHER (1984, 1988) beobachteten dies am 3. Zyklustag. EDMONDSON et al. (1986) bezeichneten den 4. Tag nach der Brunst als Zeitpunkt des ersten Nachweises eines neuen Cl. KNOPF (1990) zeigte, daß es bei täglicher Untersuchung, bei genauer Lokalisation des Ovulationsfollikels und bei der entsprechenden Erfahrung des Untersuchers möglich ist, mit Hilfe der Ultrasonographie das sich anbildende Cl ab dem Tag der Ovulation zu identifizieren.

Obwohl die Größe der ovulatorischen Follikel bei Kühen kleiner als bei Färsen (Data nicht gezeigt) waren, konnte der Unterschied in der Größe des Cl bei Kühen und Färsen vom 4. bis zum 10. Zyklustag nicht erkannt werden. Dabei beobachteten FIGUEIREDO et al. (1997) bei Kühen der Neolored Rasse (*Bos indicus*) in Brasilien, daß der Durchmesser des Cl bei Färsen größer als bei Kühen war.

In der vorliegenden Arbeit nahm der Durchmesser des Cl bei Kühen vom 3. bis zum 8. Zyklustag um 1,9 mm/Tag zu. Er erreichte am Tag 8 einen Durchmesser von 23,0 mm. Bei einer täglichen Zunahme um 2,3 mm/Tag erreichte das Cl bei Färsen seinen Maximaldurchmesser mit 23,1 mm am Tag 8.

Bei Färsen (Braunvieh) berichtete KNOPF (1990), daß während des Zyklus die Durchmesser der Cl mit Hohlraum über 7 mm bis Tag 6 (Ovulation = Tag 0) um 2.7 mm/Tag zunahmen.

Der größte Außendurchmesser wurde am Tag 5.6 mit 26.3 mm erreicht. Die Cl mit einem Hohlraumdurchmesser von mehr als 7 mm hatten bis zum Tag 5 eine tägliche Zunahme von 3,7 mm/Tag. Der größte Außendurchmesser wurde erst am Tag 7 mit 24,5 mm erreicht. Der geringe Unterschied zwischen den eigenen Ergebnisse und der Angabe von KNOPH könnte auf unterschiedlichen Rassen der Tiere zurückzuführen sein. In den eigenen Untersuchungen wurde nicht auf die Hohlenraumbildung geachtet.

Es konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Häufigkeit des DF auf dem rechten oder linken Ovar bei Kühen und Färsen festgestellt werden. Dies stimmt mit den Untersuchungen von KÄHN (1988), SIRIOS u. FORTUNE (1988) und KNOPH (1990) überein. Im Gegensatz zu diesen Angaben berichteten PIERSON u. GINTHER (1987), daß der DF der ersten Welle häufiger auf dem rechten Ovar anzutreffen war. Es wurde auch häufig von einer größeren Aktivität der Follikel im rechten Ovar berichtet. So sind auf dem rechten Ovar mehr Follikel über 5 mm (RAJAKOSKI, 1960) oder 4 mm (PIERSON u. GINTHER, 1987) anzutreffen. Ebenso ovulierten mehr Follikel auf der rechten als der linken Seite (REIAKOSKI, 1960; GLATZEL et al., 1983).

Das Cl hatte keinen Einfluß auf die Lokalisation des DF bei Kühen und Färsen. Dies stimmt mit KNOPF (1990) überein. Im Gegensatz dazu beobachteten SAVIO et al. (1988), daß die Entwicklung des DF häufiger auf dem Cl-tragenden Ovar war. KÄHN (1989) fand, daß der Östrusfollikel in der Mehrheit der Fälle auf dem Ovar war, auf dem im zurückliegenden Zyklus kein periodisches Cl zu finden war. Außerdem waren die Ausprägungen des DF ipsilateral bzw. kontralateral zum Cl nicht zu unterscheiden. Dies stimmt mit IRELAND et al. (1979), KÄHN (1989) und KNOPF (1990) überein. Das Ergebnis steht jedoch im Widerspruch zu den Resultat von MATTON et al. (1981), STAGMILLER u. ENGLAND (1982) und DUFOUR u. ROY (1985).

Der DF hatte keinen Einfluß auf die Lage des guF bei Kühen und Färsen.

Während sich der DF bis zum 8,2. bzw. 7,4. Zyklustag bei Kühen und Färsen weiterentwickelte, wuchs der guF nur bis zum 3,9. bzw. 3,5. Zyklustag bei Kühen bzw. Färsen. Gleichzeitig waren die Charakteristika des guF (Wachstumsrate, Maximaldurchmesser, Tag des Maximaldurchmessers) ipsilateral bzw. kontralateral zum DF bei Kühen und Färsen nicht zu unterscheiden. Dies spricht dafür, daß der DF das Wachstum des guF auf einem systemischen Weg hemmen könnte.

ADAMS et al. (1993) beobachteten, daß bei Elektrokauterisierung der DF die guF einen größeren Maximaldurchmesser als die Kontrolle erreichten (11 vs. 8 mm). Der guF kam später zum Maximaldurchmesser (9,2. vs. 3,1. Zyklustag) und begann auch später zu atresieren (14,3. vs. 5,7. Zyklustag) als die Kontrolle.

Dabei wurde bei Kühen beobachtet, daß die Follikelpopulation über 5 mm an Ovarien mit dem DF geringer war als am gegenüberliegenden Ovar. Dies spricht dafür, daß der DF einen lokalen Einfluß auf die Follikelpopulation kleiner Follikel bei Kühen ausübte. Andererseits wurde bei Färsen beobachtet, daß die Follikel kleiner als 5 mm gleichzeitig auf beiden Ovarien ab 4. Zyklustag abnahmen. Es gab keine Unterschiede bezüglich Anzahl der Follikel kleiner als 5 mm zwischen dem ipsilateral oder kontralateralen Ovar zum DF. Dies bedeutet, daß der DF bei Färsen vermutlich einen systemischen inhibitorischen Effekt auf die Population kleiner Follikel ausübt.

Diese widersprüchlichen Effekte des DF auf guF bzw. die kleinen Follikel bei Kühen und Färsen sprechen vermutlich dafür, daß der DF sowohl einen systemischen als auch einen lokalen Einfluß hat. Er übt manchmal einen deutlichen systemischen Effekt in bestimmten Situationen, aber auch einen lokalen Effekt bei anderen Zuständen aus. Der aktive Weg (lokal) einer Beeinflussung des Wachstumsverhaltens kleinerer Follikel durch einen großen Follikel ist für DRIANCOURT (1991) beim Rind möglich. GINTHER et al. (1989b) nehmen an, daß der DF die untergeordneten Follikel über einen systemischen Weg hemmt.

Statistisch konnte bewiesen werden, daß jeder rekrutierte Follikel zwischen dem 2. und 3. Zyklustag die gleiche Chance hat zu dominieren. Dies bestätigen die Angaben anderer Autoren. Bei Eliminierung aller rekrutierten Follikel bis auf einen zufällig selektierten entwickelte sich dieser Follikel weiter und wurde zum DF dieser Welle (GIBBONS et al., 1996). Auch bei einer FSH-Applikation am Anfang einer Follikelwelle wuchsen mehrere Follikel gemeinsam und erreichten dabei den Durchmesser des DF (ADAMS et al., 1993). Außerdem wurde festgestellt, daß, wenn der selektierte DF eliminiert wird, der größte untergeordnete Follikel zum neuen DF heranwächst (KO et al., 1991; ADAMS et al., 1993).

In der vorliegenden Arbeit wurde beobachtet, daß die Follikel mit einem Durchmesser von 5-9 mm am Anfang der ersten Follikelwelle nicht auf beiden Ovarien sowohl bei Kühen (zwischen dem 2. und 3. Zyklustag) als auch bei Färsen (vom Tag der Brunst bis zum 4. Zyklustag) gleich verteilt waren. Da jeder Follikel dieser Klasse die gleiche Chance zu

dominieren hatte, wurde festgestellt, daß diese ungleiche Verteilung eine Vorbereitung dafür ist, welches Ovar den zukünftigen DF tragen wird. Die DF stammten in der Mehrheit von dem Ovar, welches mehrere Follikel der Größe 5-9 mm aufwies. Diese Ergebnisse lassen das Ovar als Einflußfaktor für das Phänomen der DF-Selektion erscheinen. BROWN u. DRIANCOURT (1989) berichten von einem erhöhten Blutfluß und verbesserter ovarieller Blutversorgung im Zusammenhang mit dem Phänomen der Dominanz. SPICER u. ECHTERNKAMP (1986) vermuteten, daß die DF-Selektion die Sequenz einer Veränderung der Vaskularisation im Ovargewebe ist.

Funktionelle Charakterisierung des dominanten Follikels

Zur Überprüfung der funktionellen Situation des DF wurden sein Hormongehalt sowie seine Reaktion nach einer PGF₂α-Applikation als Kriterien herangezogen.

Der Gehalt des DF an E₂, P₄, und Inhibin hängt von seiner Größe, dem Grad der Atresie sowie dem Zyklustag ab (SUNDERLAND et al., 1994). Der nicht atretische Follikel über 8 mm wurde immer als E₂-dominant bezeichnet (RHODES et al., 1995). Außer beim präovulatorischen Follikel wurde ein höherer Gehalt an P₄ als Zeichen für eine Atresie akzeptiert (RHODES et al., 1995). Das intrafollikuläre E₂/P₄ Verhältnis, nicht aber die Follikelgröße, wurde als Merkmal für potentiell dominante oder atretische Follikel herangezogen (IRELAND u. ROCHE, 1982, 1983a,b, 1987; SUNDERLAND et al., 1994).

Die E₂ Synthese erfolgt durch eine „Kooperation“ zwischen den follikulären Zellen und den Gonadotropinen. Thekazellen produzieren Androgene unter dem Einfluß von LH. Granulosazellen aromatisieren dann Androgene zu E₂ (FORTUNE, 1994). Die Steigerung der E₂ Synthese ist das Resultat einer Zunahme der Fähigkeit der Thekazellen Androgene (unter Einfluß von LH) zu produzieren sowie der Granulosazellen die Androgene zu E₂ zu aromatisieren (FORTUNE, 1994). Die Veränderungen der Steroidhormonkonzentrationen in der Follikelflüssigkeit können auf das Vorhandensein von Gonadotropin-Rezeptoren bzw. Variationen des LH-Pulses zurückgeführt werden (HANSEL u. CONVEY, 1983). Kleine Follikel haben LH-Rezeptoren an den Thekazellen und können Androgene produzieren (ENGLAND et al., 1981). Gleichzeitig haben sie weniger LH-Rezeptoren an den Granulosazellen. Demzufolge können sie Androgen nicht zu Östrogen umwandeln (TSONIS et al., 1984). Kleine Follikel sind deswegen weitgehend Androgen-dominant. Während der Entwicklung des größten Follikels bekommt er mehr LH-Rezeptoren sowohl an den

Thekazellen als auch an den Granulosazellen. So kann er mehr E₂ produzieren (WEBB u. ENGLAND, 1982; IRELAND u. ROCHE, 1982; ENGLAN et al., 1981, TSONIS et al., 1984). Eine Atresie bedeutet die Abnahme von LH-Rezeptoren an den Granulosazellen (MERZ et al., 1981) und demzufolge eine verminderte E₂ Produktion.

In der eigenen Studie wurde beobachtet, daß der E₂-Gehalt des DF am 10. Zyklustag zwischen 0,3 und 400ng/ml schwankte. IRELAND et al. (1979) berichteten, daß E₂ in FF von 4 pg/ml bis 194 ng/ml in kleinen Follikeln, von 300 pg/ml bis 257 ng/ml in mittelgroßen Follikeln und von 70 ng/ml bis 257 ng/ml in großen Follikeln variierte. E₂ war in der FF 250-24,000fach höher als im Plasma. BECKER (1994) registrierte eine E₂ Konzentration von 139, 154, 121 bzw. 95 ng/ml im DF am 5., 8., 11. bzw. 14. Zyklustag. STAIGMILLER et al. (1982) fand E₂-Konzentration von > 500 ng/ml in FF einigen der größten Follikeln, aber nicht in allen großen Follikeln. HUSS (1991) registrierte von 18 zufällig ausgewählten Schlachtorganen eine E₂-Konzentration zwischen 10 und 10000 pg/ml.

Die DF, welche bis zum 10. Zyklustag im Wachstum oder bis zu drei Tagen auf dem Plateau waren, zeigten einen signifikant höheren E₂-Gehalt als diejenigen, die sich weniger als 3 Tage auf dem Plateau oder in Regression befanden. Es bestand eine negative Korrelation zwischen E₂-Gehalt des DF und seiner Plateaudauer. Dies stimmt mit PRICE et al. (1995); SINGH et al. (1998) überein, die fanden, daß E₂ in der FF vom Wachstum bis zur späten Plateauphase abnahm. GINTHER et al. (1997) stellen fest, daß die Atresie einen fortschreitenden Abfall von E₂ im DF bedingte.

In der vorliegenden Arbeit betrug die P₄ Konzentration in der FF des DF am 10. Zyklustag 31 ng/ml (zwischen 6 u. 380 ng/ml). Dies stimmt mit HUSS (1991) überein. Er fand eine P₄-Konzentration zwischen 2 und 1000 ng/ml, wobei 85% der Werte zwischen 2 und 25ng/ml lagen. Diese Werte liegen jedoch wesentlich unter den von IRELAND et al. (1979) und BECKER (1994) angeführten, die Werte zwischen 100 u. 200 ng/ml an verschiedenen Zyklustagen fanden. Diese Unterschiede könnten auf Grund der angewendete Methode der Hormonbestimmung zurückzuführen sein.

Es konnte keine Korrelation zwischen dem P₄-Gehalt des DF und seiner Plateaudauer festgestellt werden. Dies stimmt mit SINGH et al. (1998) überein. Diese Autoren fanden, daß P₄ nur im finalen Stadium der Follikelatresie anstieg.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten, daß die DF, welche bis zum 10. Zyklustag im Wachstum oder maximal zwei Tage auf dem Plateau waren, immer E₂-Dominanz aufwiesen.

Dagegen waren die DF, welche fünf Tage auf dem Plateau oder sich in Regression befanden, immer P₄-dominant waren. Bis hierher kann man den funktionellen Charakter des DF (E₂ oder P₄-dominant) anhand seines morphologischen Charakters (Wachstumszustand) fehlerfrei beurteilen. Im Gegensatz dazu waren nur 50% bzw. 20% der DF, welche drei bzw. vier Tage auf dem Plateau blieben, E₂-dominant. Das heißt, daß man den funktionellen Zustand solcher DF nicht einfach von ihrem morphologischen Charakter ableiten kann. Aus diesem Grund gab es in der Literatur eine große Kontroverse über den Einfluß des DF auf den Erfolg der Superovulation (s. Tab. 6), da alle Autoren den DF nur nach seinem morphologischen Charakter definierten. Einige definierten den DF als den größten Follikel beider Ovarien (WILSON et al., 1990; GRAY et al., 1992; LAUNTER et al., 1997). Andere definierten ihn als den größten Follikel, welcher im Wachstum oder für eine unterschiedlich lange Zeitspanne auf dem Plateau war (GRASSO et al., 1989; ROUILLIER et al., 1990; GUILBAULT, et al., 1991; BARTMAN, 1992; HUHTINEN et al., 1992; BUNGARTZ u. NIEMANN, 1994; MACIEL et al., 1995). Auf diese Art und Weise mußte in der Literatur der Einfluß des DF auf die Superovulation kontrovers diskutiert werden!

Dabei ist es wichtig, daß für die Beurteilung des DF die E₂ und P₄ Werte herangezogen werden, da die einzelnen Werte (E₂ oder P₄), außer bei extrem niedrigen Konzentrationen, wenig Bedeutung haben. Zu ähnlichen Aussage kamen auch IRELAND u. ROCHE (1982, 1983a,b, 1987) und SUNDERLAND (1994).

Als zweites Kriterium zur Beurteilung der funktionellen Aktivität des DF wurde seine Reaktion auf die PGF₂α-Applikation herangezogen. Funktionell aktive DF ovulieren und funktionell inaktive DF atresieren nach PGF₂α- Applikation (SAVIO et al., 1990).

Nach SAVIO et al. (1990) ovulierte der DF der ersten Follikelwelle nach PGF₂α-Applikation am 7. Zyklustag in 37 von 40 Fällen, atresierte in 2 Fällen und wurde in einem Fall zystisch. Am 9. Zyklustag ovulierte der DF in 6 von 8 Fällen und atresierte in 2 Fällen (DRIANCOURT et al., 1991). Zwischen dem 12.-15. Zyklustag ovulierte der DF in 3 Fällen und atresierte in 3 Fällen (QUIRK et al., 1986).

Nach PGF₂α-Applikation bei 14 Kühen ovulierte der DF am 10. ZT in fünf Fällen, atresierte er und entwickelte einen neuen Follikel in sechs Fällen. Bei drei Tieren kam es zur Persistierung des DF. Alle DF, welche im Wachstum waren, ovulierten nach PGF₂α. Gleichzeitig atresierten alle DF, die in Regression oder fünf Tage auf dem Plateau waren. Die DF, welche drei bis vier Tage auf dem Plateau waren ovulierten in einem Fall und atresierten

in einem anderen. Dies bestätigt die eigene Hypothese über den Zusammenhang zwischen dem Hormongehalt des DF und seiner funktionellen Aktivität. Dafür spricht auch, daß es schwierig ist, die funktionelle Aktivität des DF, welche über drei bzw. vier Tage auf dem Entwicklungsplateau verharren, von seinem morphologischen Aussehen her zu beurteilen und seine Funktion rein klinisch-morphologisch zu bestimmen.

Gleichzeitig unterstreicht diese Aussage die Vermutung, daß zur Beurteilung der Aktivität des DF das E_2/P_4 Verhältnis in der FF des DF ein sicherer Indikator seiner funktionellen Aktivität ist.

In drei Fällen konnte der DF weder ovulieren noch atresieren sondern persistierte nach $PGF_2\alpha$ - Applikation. Über die Ursache kann man nur Vermutungen anstellen.

Hierzu gehört es, daß ein verzögerter P_4 Abfall nach PG Applikation häufig mit einer Abweichung des LH-Peaks einher geht. Abweichungen im LH-Spiegel sind oftmals mit einer Störung der Ovulation des Follikels vergesellschaftet (CALLESEN et al., 1988). Geringe P_4 -Konzentrationen im Blut stimulieren den Follikel zu weiterem Wachstum und verhindern dabei seine rechtzeitige Ovulation (FORTUNE et al., 1991). Hohe Milchleistung, subklinische Krankheiten, Störungen bei Fütterung, Klima oder Transport hemmen oder verzögern den LH-Peak und damit die Ovulation (GLATZEL, 1999).

Nach der $PGF_2\alpha$ -Applikation variiert der Tag des Brunsteintritts (zwischen zwei und fünf Tagen) bzw. der Ovulation (zwischen vier und sechs Tagen). Dabei kamen die Kühe, bei denen der DF nach $PGF_2\alpha$ reagierte, signifikant früher in Brunst (2,8 vs. 4,6 Tage) bzw. zur Ovulation (4,6 vs. 6 Tage) als diejenigen, bei denen der DF atresierte.

Wenn der DF nicht in der Lage ist zu ovulieren, beginnt nach der $PGF_2\alpha$ Applikation ein kleiner Follikel zu wachsen. Der junge Follikel benötigt vergleichsweise mehr Zeit, um E_2 in einer Konzentration zu produzieren, die den LH-Peak auslösen. Derartige Follikel ovulieren vergleichsweise später. Diese Erklärung stimmt mit KASTELIC et al. (1990), SAVIO et al.,(1990) STOCK u. STOLLA (1995) und KANITZ et al. (1996) überein.

Bei Eliminierung des DF am 10. Zyklustag und gleichzeitiger $PGF_2\alpha$ -Applikation bei sieben Kühen wurde in der vorliegenden Arbeit beobachtet, daß eine neue Welle im Schnitt 1,3 Tage nach der Behandlung begann. Aus dieser Welle entwickelten sich immer zwei DF. Die beiden DF ovulierten im Schnitt 7,2 Tage nach der Behandlung (Doppelovulation).

Nach Eliminierung des DF stiegen innerhalb von 24 Stunden die FSH- und LH-Konzentrationen im Blut (ADAMS et al., 1992). Es ist deswegen zu vermuten, daß der DF die Ausschüttung der Gonadotropine hemmt. Durch die Eliminierung kommt es nach ein bis zwei Tagen zu einer neuen Follikelwelle, wobei die Zahl und Größe der Follikel zunehmen (STAIGMILLER u. ENGLAND, 1982; KO et al., 1991; ADAMS et al., 1993; BERGFELT et al., 1994). Dasselbe Phänomen wird auch nach einseitiger Ovariectomie beobachtet (SAIDUDDIN et al., 1970; STAIGMILLER u. ENGLAND, 1982; LUSSIER et al., 1994; MOHAN u. RAJAMAHENDRAN; 1998). Außerdem erhöht sich bei Immunisierung gegen Inhibin die Ovulationsrate bei Färsen (MORRIS et al., 1993).

Doppelovulationen nach Follikelablation, wie in der vorliegenden Arbeit festgestellt, wurden bisher nur bei wenigen Tieren beobachtet (BERGFELT et al., 1994; MOHAN u. RAJAMAHENDRAN, 1998).

Einfluß des dominanten Follikels auf den Erfolg der Superovulation

Alle früheren Untersuchungen nahmen die morphologischen Charakteristika des DF als Kriterien seiner Aktivität. Die eigenen Untersuchungen zeigten, daß die morphologischen Befunde nicht immer den funktionellen Zustand widerspiegeln. Auch kamen HUHTINER et al. (1992) zur Schlußfolgerung, daß es schwierig sei einen DF durch seine morphologische Charakteristika zu definieren, denn der sich rückbildende DF blieb der größte Follikel auf den Ovarien für mindestens drei bis vier Tagen (FORTUNE et al., 1988). Deswegen wurde in den eigenen Untersuchungen der Hormongehalt des DF als Kriterium seiner funktionellen Aktivität gewählt. Es wurde in der vorliegenden Arbeit auch nachgewiesen, daß das E₂/P₄ Verhältnis in der FF des DF ein sicherer Indikator der funktionellen Eigenschaften des DF ist.

AHMED ELBBIARY et al. (1995) konnte bei Frauen eine Technik etablieren, durch die eine Flüssigkeitsprobe (200 µl) aus dem DF (≥ 10 ml) mittels einer transvaginal ultraschallgeleiteten Follikelpunktion entnommen werden konnte. Sie nannten diese Technik „Follikulocentese“. Der DF konnte mehrfach innerhalb eines Zyklus ohne Schädigung punktiert werden. Die Autoren kamen zum Schluß, daß die Follikulocentese eine sichere und einfache Technik ist. Diese Technik hatte keinen negativen Effekt weder auf das Follikelwachstum noch auf den Hormongehalt des DF. Zusätzlich gab diese Technik wichtige Informationen über die ovarielle Endokrinologie in vivo. GINTHER et al. (1997) nahmen eine Probe (20 µl) aus den Follikeln durch eine transvaginale ultraschallgestützte

Follikelpunktion bei Färsen. Aus 132 Follikeln (6-12,5mm) am 1., 2., 3. oder 4. ZT (Tag 0 = Beginn der Follikelwelle) konnten sie bei 77% eine Probe ohne Beeinflussung des Follikelwachstum entnehmen.

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig der Einfluß des DF anhand seiner funktionellen Aktivität (Hormongehalt) auf das Follikelwachstum bzw. -reifung nach der Superovulation überprüft.

In der vorliegenden Arbeit wiesen Tiere mit funktionell inaktivem DF (Gruppe 2) mehr Follikel über 5 mm am Tag der Superovulationseinleitung auf als Tiere mit funktionell aktivem DF (Gruppe 3) oder ohne DF (Gruppe 1). Allerdings war der Unterschied statistisch nicht abzusichern. Die Vermehrung der Follikel unter 5 mm bei Gruppe 2 könnte eine Folge der verlorenen Aktivität des DF und demzufolge des Eintrittes einer neuen Welle sein. Die Eliminierung des DF einen Tag vor der Superovulationseinleitung brachte keine Verbesserung der Anzahl kleiner Follikel. Andere Autoren konnten nach Eliminierung der DF ein (BARTMANN, 1992) bis zwei Tage vor der Superovulationseinleitung gute Spülergebnisse erzielen. LAUNTER et al. (1997) eliminierten zwischen dem 7. u. 12. Zyklustag alle Follikel über 8 mm und leiteten ein bis sechs Tage später eine Superovulation ein. Sie fanden keinen Unterschied in den Spülergebnissen im Vergleich zu nicht punktierten Spendertieren. Allerdings sind vier Tage in diesen Zusammenhang eine lange Zeit, und es ist anzunehmen, daß sich bereits ein neuer DF gebildet hatte.

Nach PMSG-Applikation am 10. Zyklustag und unabhängig von der Gruppenzugehörigkeit veränderte sich die Zahl der Follikel ab dem 11. Zyklustag, wodurch die Zahl der kleinen Follikel abnahm, während die Zahl der größeren zunahm. Die Klasse über 9 mm nahm erst am 12.-14. Zyklustag deutlich zu. Es bestehen positive Beziehungen zwischen der Anzahl kleiner Follikel zum Zeitpunkt der Stimulation, der entstehenden Cl, der Gesamtzahl der Ova und der transfertauglichen Embryonen (GRASSO et al., 1989; KAWAMATA, 1994).

In einer histologischen Studie von MONNIAUX et al. (1984) wurde beobachtet, daß 148 Stunden nach PMSG-Applikation bei Kühen die Anzahl von präantralen Follikeln über 150 µm sich vermehrte. PMSG hatte jedoch keinen Einfluß auf die Anzahl der antralen Follikel. PMSG reduzierte aber die Atresie der frühen antralen Follikel (1,7mm). So kann man den Einfluß des PMSG auf Follikeldynamik durch zwei Mechanismen verstehen. Zum Ersten

verhindert PMSG einige Follikel atretisch zu werden. Zum Zweiten bringt es einige Follikel von der frühen Atresie zum normalen Wachstum zurück (MONNIAUX et al., 1984).

Es wurde in der eigenen Studie beobachtet, daß die nach der Stimulation sich entwickelnden größten Follikel (> 9 mm) schneller in Gruppe 2 als Gruppe 1 und 3 erschienen. GRASSO et al. (1989) stellten fest, daß der DF das Erscheinen der Follikel über 7 mm verzögerte, demzufolge reduziert er die zur Ovulation verfügbare Follikelzahl.

GUIBAULT et al. (1991) beobachteten, daß Follikel 7-10 mm bzw. über 10 mm früher nach der Stimulation bei Tieren ohne DF als bei solchen mit DF erschienen. Diese Follikel ovulierten auch schneller bei Tieren ohne DF. Anschließend war die Anzahl von CI bei Tieren ohne DF höher als bei Tieren mit DF.

ROUILLIER et al. (1990) wiesen in einer histologischen und endokrinologischen Untersuchungen darauf hin, daß die Anwesenheit eines DF am Anfang der Superovulation keinen Einfluß auf die Follikelanzahl hatte, sondern daß er die Häufigkeit der Atresie innerhalb der Follikelklasse 4,5-8 mm vermehrte. Eine Atresie der mittelgroßen Follikel limitiert den Eintritt von Follikeln in die Klasse der großen Follikel. ROUILLIER et al. (1996) folgerten, daß der DF die Anzahl wachsender Follikel nur am Ende aber nicht am Anfang der Stimulation beeinflussen konnte. Sie vermuteten, daß die rekrutierten Follikel schon am Anfang ihrer Aktivierung durch den DF funktionell beeinträchtigt waren. Diese Schädigung manifestiert sich aber erst ab dem 4.Tag nach der Stimulation.

Für den Einfluß des DF auf den Erfolg der Superovulation gibt es im wesentlichen zwei Erklärungen. Bei Anwesenheit eines funktionellen DF zum Zeitpunkt des Stimulationsbeginns kann die FSH-Versorgung anderer Follikel über den negativen Rückkopplungsmechanismus mit Östradiol und/oder Inhibin gehemmt werden. Beim Rind wird dieser passive Weg vermutlich durch einen aktiven Prozeß unterstützt (DRIANCOURT, 1991). Der DF unterdrückt durch unbekannte parakrine Substanzen das Wachstum anderer Follikel. WOLFSDORF et al. (1997) halten diesen Weg für sehr wahrscheinlich.

Zum Zweiten wurde nachgewiesen, daß es zu einer Ovulation des DF als Reaktion auf ein mit LH verunreinigtes Hormonpräparat kommen kann (STOCK et al., 1996). Die vorzeitige Ovulation des DF führt zur Anbildung eines zusätzlichen CI, das wegen seines frühen Entwicklungsstadiums in der Regel nicht auf die nachfolgende PG-Applikation reagiert. Die unterschwellige Progesteronkonzentration verhindert in diesem Fall den für die Ovulation der

angebildeten Follikel erforderlichen FSH- und LH-Anstieg, d.h., daß diese Tiere keine Brunst zeigen und die Ovulation der angebildeten Follikel unterbleibt (STOCK et al., 1996).

In der eigenen Arbeit wurde das E_2/P_4 Verhältnis in der Flüssigkeit der stimulierten Follikel als Indikator seines Reifungszustandes genommen.

Es wurde festgestellt, daß der Progesterongehalt des ovulatorischen Follikels direkt nach der LH-Freisetzung leicht zunimmt, dann auf die Stufe vor dem LH-Peak abfällt, um schließlich pulsierend auf seinen höchsten Wert kurz vor der Ovulation anzusteigen (IRELAND u. ROCHE, 1982, 1983a,b; FORTUNE u. HANSEL, 1985; CALLESEN et al., 1986, 1988; DE LOOS et al., 1991a; WISE et al., 1994; ASSEY et al., 1994). E_2 nimmt dabei kurz vor der Ovulation deutlich ab.

Kurz vor der Ovulation wurden die DF als E_2 -inaktiv klassifiziert (IRELAND u. ROCHE, 1983a). Die Autoren kamen zur Schlußfolgerung, daß das E_2/P_4 Verhältnis bzw. Androgene in der Follikelflüssigkeit ein effektiver Indikator für den potentiell ovulatorischen Follikel sind. CALESSEN et al., (1986) beobachteten auch ein E_2/P_4 Verhältnis von 5 (E_2 -Dominanz), 0,5 (P_4 -Dominanz), bzw. 0,1 (P_4 -Dominanz) in der FF der stimulierten Follikel 0-6, 12-17 bzw. 21-23 Stunden nach dem LH-Peak. Tiere ohne nachgewiesene LH-Peak hatten ein E_2/P_4 Verhältnis von 10 (E_2 -Dominanz).

Nach den Literaturangaben tritt der LH-Peak bei stimulierten Tiere ca. 20-59 Stunden nach einer $PGF_2\alpha$ -Applikation (s. Tab. 4) auf. Der Abstand zwischen LH-Peak und der Ovulation betrug 22-33 Stunden. Nach einem PMSG/Anti PMSG Stimulationsprogramm traten 56,3% der Ovulationen zwischen 48-72 Stunden nach $PGF_2\alpha$ ein. 12,5% der Follikel ovulierten nach über 72 Stunden. Die übrigen Follikel ovulierten nicht.

Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit die Follikel 48 Stunden nach der $PGF_2\alpha$ Applikation (bzw. 96 Stunden nach PMSG) punktiert um die stimulierten Follikel dicht an der erwarteten Ovulation zu aspirieren. Mittels der eigenen modifizierten Punktionstechnik wurden von den zwölf Färsen insgesamt 122 Follikel punktiert (im Schnitt 10,4 Follikel/Tier), davon wurden 82 Follikel (6,8 Follikel/Tier) auf den Gehalt von E_2 und P_4 analysiert. In der Follikelflüssigkeit wurden insgesamt 36 Oozyten gefunden (im Schnitt 3 Oozyten/Tier, Gewinnungsrate 29,5%).

Obwohl die eigene Technik ohne Sichtkontrolle durchgeführt wurde, ist sie in ihrer Effektivität mit den anderen Methoden vergleichbar und viel billiger und einfacher. Nach einem FSH/ $PGF_2\alpha$ Stimulationsprogramm und mittels ultraschallgeleiteter transvaginaler

Follikelpunktion konnten 42 % COK gewonnen werden (CALLESEN et al., 1987). Mit PMSG und PG behandelte Holstein Friesian Kühe wurden von VOS et al. (1994) punktiert. Bei einer Gewinnungsrate von 28% wurden pro Einzeltier im Schnitt 18 Follikel punktiert und fünf COK gewonnen. PIETERSE et al. (1988) erzielten eine Gewinnungsrate von 55% nach einer ultraschallgeleiteten transvaginalen Follikelpunktion bei nicht stimulierten Tiere. BECKER et al. (1996) erreichten eine Gewinnungsrate von 39 % (5,2 Oozyten/Tier) bzw. 44% (4,7 Oozyten/Tier) nach einer endoskopischen bzw. ultraschallgeleiteten transvaginalen Follikelpunktion bei nicht stimulierten Tieren.

Gruppe 3 (mit einem funktionell aktiven DF zur Zeit der Einleitung der Superovulation) hatte ein signifikant höheres E_2/P_4 Verhältnis als Gruppe 2 (mit einem funktionell inaktiven DF) und Gruppe 1 (ohne DF).

Es hatten 46% der Follikel bei Gruppe 3 ein E_2/P_4 Verhältnis <1 (Progesteron-Dominanz) im Vergleich zu 78% und 70% in den Gruppen 2 und 1.

Die Variabilität der Follikel bezüglich des E_2/P_4 Verhältnisses war in Gruppe 3 wesentlich höher als in den Gruppe 2 und 1.

Dies spricht dafür, daß der funktionell aktive DF einen negativen Einfluß auf die Reifung der stimulierten Follikel ausübte.

Die Frage ist jetzt, wie der DF diesen negativen Einfluß ausübt. Nach den Ergebnissen der eigenen Studien verzögert der funktionell aktive DF den Eintritt und das Wachstum der nach PMSG rekrutierten Follikel. Dadurch erreichten solche Follikel das kritische Reifungsstadium (nach $PGF_2\alpha$ -Applikation) mit einem relativ kleinen Durchmesser. Solche retardierten Follikel konnten nicht richtig unter dem Einfluß von LH maturiert werden. Diese Follikel könnten auch während ihrer Rekrutierung funktionell gestört worden sein, was nach dem LH-Peak durch eine abnorme Steroidogenese manifestiert wurde.

D'OCCHIO et al. (1999) konnten durch Verlängerung der FSH-Applikation (über sechs Tage) oder Verzögerung des endogenen LH-Peaks (bis 16 Stunden) eine verbesserte Superovulationsreaktion erzielen. In solchen Programmen bekommen die nach FSH rekrutierten Follikel genug Zeit um zu wachsen, bevor der LH-Peak eintritt.

Daß der DF einen negativen Einfluß auf die LH-Freisetzung hatte, konnte nicht ausgeschlossen werden. Ein Fehlen des LH-Peak (JENSEN et al., 1982; GREVE et al., 1984) oder ein zu früher bzw. zu später Eintritt (GREVE et al., 1983; DONALDSON, 1985) war immer mit schlechtem Superovulationserfolg vergesellschaftet. Bei Elektrokauterisierung oder Röntgenbestrahlung der Follikel auf beiden Ovarien nahm der LH-Gehalt im Blut zu

(VILLA-GODOY et al., 1985). Bei Eliminierung des DF und gleichzeitiger PGF₂α-Applikation konnte in der eigenen Arbeit eine Doppelovulation erzielt werden. Diese könnte durch den Anstieg von FSH und/oder LH erklärt werden. Tiere mit einem LH-Peak hatten höhere P₄ Werte in der FF als solche ohne LH-Peak (WISE et al., 1994).

Ob die Follikel, welche mit hohem E₂/P₄ Verhältnis (E₂ Dominanz) dicht an der Ovulation waren, etwas später ovulieren werden oder ob sie als anovulatorische Follikel persistieren, ist fraglich. Beide Phänomene wurden sehr häufig in Superovulationsprogrammen beobachtet (BOTZ, 1991). STOCK et al. (1996) fanden, daß der DF keinen Einfluß auf die Rekrutierung von Follikeln hatte, sondern er verhinderte ihre Ovulation. GRASSO et al. (1989) beobachteten auch eine Abnahme in der Ovulationsrate bei der Anwesenheit eines DF.

LAURINCIK et al. (1992) berichteten, daß der Expansionsgrad des Cumulus Oophorus ein effektiver Indikator zu Evaluierung des Reifungszustandes der COK ist.

In der vorliegenden Arbeit zeigte Gruppe 3 eine Tendenz von weniger expandierten COK als Gruppe 2 und Gruppe 1. Dies spricht dafür, daß der DF einen negativen Einfluß auf die Reifung der COK selbst hatte. Dies könnte die Folge eines direkten Drucks des DF und/oder des abnormen Hormongehaltes der Follikel sein. WISE et al. (1994) konnten eine enge Korrelation zwischen dem E₂/P₄ Verhältnis und dem Expansionsgrad des COK feststellen. Follikel mit kompaktem Cumulus, kompakter Korona bzw. gelockertem Cumulus hatten E₂/P₄ Verhältnisse von 1,8; 1,0 bzw. 0,4.

Der negative Effekt des DF auf die Cumulusexpansion könnte auch durch eine systemische Wirkung bedingt sein. WISE et al. (1994) beobachteten, daß mittlere und große Follikel einen deutlich gelockerten Cumulus zeigten, wenn der LH-Peak nachgewiesen wurde. Dagegen zeigten sie einen kompakten Cumulus, wenn der LH-Peak fehlte.

Es wurde bei Gruppe 1 (Tiere ohne DF) beobachtet, daß diese Tiere keine große Follikelanzahl am Tag der Stimulation aufwiesen. Trotzdem hatten sie eine bessere Follikel- bzw. Oozytenqualität als Tiere mit funktionell aktivem DF. Die Ursache dafür könnte sein, daß bei dieser Gruppe der DF 1 Tag vor der Stimulation punktiert wurde und dies nicht ausreichte um die Anzahl von Follikeln am Tag der Stimulation zu verbessern. Die rekrutierten Follikel entwickelten sich jedoch bei Abwesenheit eines DF mit besserer Follikel- und Oozytenqualität.

Deswegen ist es sinnvoll, den DF vor der Einleitung der Superovulation zu eliminieren. Dabei ist zu berücksichtigen, wie groß die Möglichkeit ist einen aktiven DF innerhalb von einem

Zyklus zu finden. Dies ist in 70% der Fall (14/20 Tage) bei zweiwelligem Zyklus und in 65% (15/23) bei dreiwelligem Zyklus (ADAMS, 1998). Aus praktischen Gründen ist es deshalb empfehlenswert den DF ca. zwei Tage vor Einleitung der Superovulation zu eliminieren.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, daß der funktionell aktive DF einen negativen Einfluß auf die Reifung des Follikels ausübt. Diese Aussage bestätigte und begründete auch die Befunde anderer Autoren, die von einem negativen Einfluß des DF auf den Erfolg der Superovulation berichteten (GRASSO et al., 1989; ROUILLIER et al., 1990, 1996; BOTZ, 1991; GUILBAULT et al., 1991; BARTMAN, 1992; HUHTINEN et al., 1992; BUNGARTZ u. NIEMANN, 1994; STOCK et al., 1996; WOLFSDORF et al., 1997).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stehen jedoch im Widerspruch zu den Resultaten von WILSON et al. (1990), GRAY et al. (1992), MACIEL et al. (1995) und LAUNTER et al. (1997). Diesen Widerspruch konnten die Ergebnisse dieser Studie jedoch teilweise erklären.

WILSON et al. (1990) untersuchten die Tiere nur einmal mit Ultraschall während der Lutealphase und definierten dabei den DF als solchen mit einem Durchmesser von über 9 mm. Tatsächlich kann man nicht von einer einmaligen Ultraschalluntersuchung bzw. nur von der Größe des DF seine Aktivität beurteilen.

GRAY et al. (1992) stimulierten die Tiere während der Regression des DF, hatten also keinen funktionellen DF zur Zeit der Einleitung der Superovulation.

MACIEL et al. (1995) definierten den DF als solchen im Wachstum oder auf dem Plateau seit vier Tagen oder weniger. Die DF, welche drei oder vier Tage auf dem Plateau sind, sind nach den eigenen Untersuchungen manchmal aktiv oder inaktiv.

LAUNTER et al. (1997) punktierten alle Follikel über 8mm und starteten die Stimulation ein bis vier Tage später. Vier Tage sind genug Zeit um einen neuen DF zu selektieren bzw. zu aktivieren. Also könnte es gut sein, daß zur Zeit der Stimulation sich bereits ein neuer DF entwickelt hatte, obwohl von solchen Tiere ang wurde, daß sie keinen DF trügen.

5. Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die morphologischen (mittels Ultraschall) und funktionellen (Hormongehalt und Reaktion nach $\text{PGF}_2\alpha$ - Gabe) Charakteristika des dominanten Follikels (DF) bei Kühen und Färsen zu ermitteln. Weiterhin sollten die Beziehungen zwischen den morphologischen und den funktionellen Charakteristika des DF untersucht werden. In einem dritten Untersuchungsabschnitt wurde der Einfluß des DF auf die Follikelpopulation bzw. -reifung nach einem PMSG-Stimulationsregime analysiert.

Folgende Ergebnisse wurden ermittelt:

1. Der DF der ersten Follikelwelle konnte erstmals am Zyklustag 1,6 bzw. 2,0 bei Kühen resp. Färsen entdeckt werden. Er war zu dieser Zeit 4,5 bzw. 4,3 mm im Durchmesser bei Kühen resp. Färsen. Er konnte als der größte Follikel beider Ovarien erstmals am Zyklustag 3,6 bzw. 4,1 bei Kühen resp. Färsen identifiziert werden. Er maß zu dieser Zeit 9,0 bzw. 7,9 mm bei Kühen resp. Färsen. Er erreichte seinen Maximaldurchmesser am Zyklustag 8,2 u. 7,4 bei Kühen resp. Färsen. Der Maximaldurchmesser des DF war bei Färsen deutlich kleiner (11,6 mm) als bei Kühen (15,3 mm). Die Größenzunahme des DF war bei Kühen (1,7 mm/Tag) bedeutender als bei Färsen (1,4 mm/Tag).
2. Es konnte am 10. Zyklustag eine Mischung von unterschiedlichen Wachstumszuständen des DF beobachtet werden.
3. Der E_2 Gehalt des DF am 10. Zyklustag schwankte zwischen 0,3 und 400ng/ml. Die DF, welche bis zum 10. Zyklustag im Wachstum oder bis zu drei Tagen auf dem Plateau waren, zeigten einen signifikant höheren E_2 -Gehalt als diejenigen, die mehr als drei Tage auf dem Plateau oder in Regression waren. Es bestand eine negative Korrelation zwischen E_2 -Gehalt des DF und seiner Plateaudauer.
4. Die P_4 Konzentration in der Flüssigkeit des DF am 10. Zyklustag schwankte zwischen 6 und 380 ng/ml. Es konnte keine Korrelation zwischen dem P_4 -Gehalt des DF und seiner Plateaudauer festgestellt werden.
5. DF, welche bis zum 10. Zyklustag im Wachstum oder maximal zwei Tage auf dem Plateau waren, zeigten immer E_2 -Dominanz. Dagegen waren DF, welche fünf Tage auf dem Plateau oder in Regression waren, immer P_4 dominant. Im Gegensatz dazu waren nur 50% bzw. 20% der DF, welche drei bzw. vier Tage auf dem Plateau blieben, E_2 dominant. Dabei ist es wichtig, daß für die Beurteilung der Aktivität des DF E_2 und P_4 Werte

herangezogen werden mußten, da die einzelnen Werte (E_2 oder P_4), außer bei extrem niedrigen Werten, wenig Bedeutung haben. Das E_2/P_4 Verhältnis in der Flüssigkeit des DF ist ein sicherer Indikator seiner funktionellen Aktivität.

6. Nach $PGF_2\alpha$ -Applikation bei 14 Kühen am 10. Zyklustag ovulierten die DF bei fünf Tieren, atresierten und entwickelten einen neuen Follikel in sechs Fälle und persistierten in drei Fällen. Alle DF, welche im Wachstum waren, ovulierten nach $PGF_2\alpha$ -Applikation. Gleichzeitig atresierten alle DF, die in Regression oder fünf Tage auf dem Plateau waren. DF, welche drei bis vier Tage auf dem Plateau waren ovulierten in einem Fall und atresierten in einem anderen.
7. Es ist schwierig, die funktionelle Aktivität des DF, welche für 3 bzw. 4 Tage auf dem Plateau blieb, allein aufgrund ihrer Morphologie zu definieren.
8. Nach Eliminierung des DF am 10. Zyklustag und gleichzeitiger $PGF_2\alpha$ -Applikation bei sieben Kühen entwickelten sich immer zwei DF. Die beiden DF ovulierten im Schnitt 7,2 Tage nach der Behandlungen (Doppelovulation).
9. Tiere mit funktionell inaktivem DF wiesen mehr Follikel unter 5 mm am Tag der Superovulationseinleitung auf als Tiere mit funktionellem aktivem DF oder ohne DF.
10. Die nach der Stimulation sich entwickelnden größten Follikel (> 9 mm) erschienen bei Tieren mit funktionell inaktivem DF schneller als bei Tieren mit funktionell aktivem DF oder bei Tieren ohne DF.
11. Tiere mit einem funktionell aktiven DF zur Zeit der Einleitung einer Superovulation hatten ein signifikant höheres E_2/P_4 Verhältnis in der Flüssigkeit der stimulierten Follikel als Tiere mit einem funktionell inaktiven DF oder Tiere ohne DF. Die Variabilität zwischen den Follikeln bezüglich des E_2/P_4 Verhältnisses war bei Tieren mit funktionell aktivem DF wesentlich höher als bei Tieren mit funktionell inaktivem DF oder ohne DF.
12. Tiere mit funktionell aktivem DF zeigten eine Tendenz von weniger expandierten COK als Tiere mit funktionell inaktivem DF oder Tiere ohne DF.
13. Es ist empfehlenswert den DF ca. zwei Tage vor Einleitung der Superovulation zu eliminieren, da die Eliminierung des DF einen Tag vor Einleitung der Superovulation nicht ausreicht um die Anzahl von Follikeln am Tag der Stimulation zu erhöhen.
14. Mittels der eigenen modifizierten einfachen Punktionstechnik wurde von den zwölf Färsen insgesamt 122 Follikel punktiert (im Schnitt 10,4 Follikel/Tier). In der gewonnenen Follikelflüssigkeit wurden insgesamt 36 Oozyten gefunden (im Schnitt 3 Oozyten/Tier).

6. Summary

Characteristics of the dominant follicle of the first follicular wave in cattle with special reference to its effect on the superovulation in embryo transfer programs

Ahmed Ali

The aim of the current work was to characterise the dominant follicle (DF) morphologically (through ultrasonography) and functionally (through its hormonal contents and its reaction after application of prostaglandine). The correlation between morphological and functional characters of the dominant follicles were further investigated. In the last experiment the effect of the DF on follicular dynamics and maturation after gonadotropin application were examined.

The obtained results could be summarised in the following points:

1. The DF of the first follicular wave was initially detected, as one of a cohort of 4-6 mm follicles, on days 1,6 and 2 of the oestrous cycle in cows and heifers respectively. When measured at that time it gave an average diameter of 4,5 and 4,3 mm in cows and heifers respect. DF was detected as the largest one of both ovaries on day 3,6 in cows and day 4,1 in heifers. It reached a maximal diameter of 15, 3 and 11,6 mm on days 8,2 and 7,4 in cows and heifers respect. It grew from the first day of its detection up to day of its maximal diameter by 1,7 and 1,4 mm/day in cows and heifers respect. Diameter and growth rate of the DF were significantly larger and quicker in cows than in heifers.
2. DF reached the day of the planned superovulation (day 10 of the oestrous cycle) in different developmental statuses.
3. The E₂ content of the DF on day 10 of the oestrous cycle ranged from 0,3 to 400 ng/ml. Growing DF and DF standing on plateau less than 3 days contained a higher concentration of E₂ than those stand on plateau for more than 3 days or those in regression. Generally there was a negative correlation between E₂ content of the DF and the duration of its plateau.
4. P₄ concentration in the DF on day 10 ranged between 6 to 380 ng/ml. There was no relationship between P₄ concentration of the DF and the duration of its plateau life span.

5. All growing DF and DF standing on plateau status for less than 3 days showed E_2 dominance ($E_2 > P_4$). On the other hand, all DF which stayed on plateau for more than 4 days or those in regression were P_4 dominant ($E_2 < P_4$). However, only 50% and 20% of all DF which remained on plateau status for 3 or 4 days showed E_2 dominance. E_2/P_4 ratio in follicular fluid of the DF was an accurate indicator for their functional status.
7. It was difficult to predict the functional character of the DF from its morphological appearance when it was staying on the plateau for 3 to 4 days.
8. After $PGF_2\alpha$ application on 14 cows on day 10 of the oestrous cycle, the DF ovulated in 5 cases, regressed and a new ovulatory follicle developed in 6 cases and persisted in 3 cases. All of the DF which were in growing status ovulated after $PGF_2\alpha$ application. Regression was observed for all DF which were on plateau for less than 4 days or in regression. On the other hand DF which were on plateau since 3 or 4 days ovulated in one case and regressed in another.
8. Application of $PGF_2\alpha$ at the same time of DF aspiration on days 10 of the cycle induce a double ovulation in 6/7 cows.
9. Heifers with a functional inactive DF (group 2) showed a tendency for more small sized follicles on the day of initiation of superovulation (day 10) than those with functional active (group 3) or those without DF (group 1).
10. After initiation of superovulation the large sized follicles (> 9 mm) appeared earlier in heifers with functional inactive DF than in the other 2 groups.
11. The stimulated follicles of animals with functional active DF had a higher E_2/P_4 ratio in their follicular fluid than those of animals with functional inactive DF or those of animals without DF. Further, the interfollicular variability in relation to the E_2/P_4 was higher in heifers with functional active DF than the other 2 groups.
12. Heifers with functional active DF showed a tendency of less expanded cumulus oophorus complexes than the other 2 groups.
13. It is advisable to eliminate the DF 2 days before starting the superovulation regime, since ablation of the DF one day before introduction of superovulation was not enough to increase the number of small follicle at the beginning of treatment.
14. A total of 112 stimulated follicles could be punctured from 12 heifers (10,4 follicle/animal) by the presented modified and simple transvaginal follicle puncture. A total number of 36 oocytes were found in their follicular fluid (3 oocyte/animal).