

Aus der  
**Tierklinik für Fortpflanzung**  
[www.tiergyn.de](http://www.tiergyn.de)  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Untersuchung zum Zusammenhang zwischen verkürztem  
Läufigkeitsintervall und dem Hypoluteinismus der Zuchthündin und zur  
Effektivität von Progesteronsubstitutionen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
FRIEDERIKE STRICKER  
Tierärztin aus Bergisch Gladbach  
Berlin 2008

Journal-Nr.: 3254

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Heuwieser  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Helmut Hartmann

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

bitches, progesterone, corpus luteum, reproduction, pregnancy

Tag der Promotion: 20.10.2010

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-876-0

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2010**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2010

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

**Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen**

A.	Arteria
Bzw.	Beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C.l.	Corpus luteum
ca.	circa
d.h.	das heißt
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
et al.	et alii
i.m.	intramuskulär
LH	Luteinisierendes Hormon
Max	Maximalwert
Min	Minimalwert
ml	Milliliter
n	Anzahl
ng	Nanogramm
p.ov.	post ovulationem
P <sub>4</sub>	Progesteron
RIA	Radioimmunoassay
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>Sc. canis</i>	<i>Streptococcus canis</i>
SD	Standardabweichung
sp.	Spezies
vs.	versus
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert
z.B.	zum Beispiel
$\Sigma$	Summe



<b>1</b>	<b>EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Reproduktion bei der Hündin</b> .....	<b>2</b>
2.1.1	Reproduktionszyklus der Hündin.....	2
2.1.2	Die Trächtigkeit.....	4
2.1.3	Der Gelbkörper (Corpus luteum) .....	5
<b>2.2</b>	<b>Steuerung der Lutealphase und Trächtigkeit</b> .....	<b>7</b>
2.2.1	Allgemeine Angaben.....	7
2.2.2	Progesteron.....	7
2.2.3	Östradiol-17 $\beta$ .....	9
2.2.4	LH (Luteinisierendes Hormon) .....	9
2.2.5	Prolaktin .....	10
2.2.6	Relaxin .....	11
2.2.7	PGF 2 $\alpha$ .....	12
<b>2.3</b>	<b>Luteotrope und luteolytische Faktoren im Rahmen der physiologischen Gelbkörperregression</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4</b>	<b>Embryonaler Fruchttod</b> .....	<b>14</b>
2.4.1	Infektiöse Ursachen embryonalen beziehungsweise fetalen Fruchttods.....	15
2.4.2	Nicht-infektiöse Ursachen embryonalen beziehungsweise fetalen Fruchttods....	16
<b>2.5</b>	<b>Ultrasonographische Charakteristika einer Dysfunktion in der frühen Trächtigkeit</b> .....	<b>16</b>
<b>2.6</b>	<b>Diagnose Hypoluteinismus</b> .....	<b>17</b>
<b>2.7</b>	<b>Therapeutische Maßnahmen bei der Gelbkörperinsuffizienz der Hündin</b> .....	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>21</b>
3.1.1	Ziel der Untersuchung.....	21
3.1.2	Auswahl der Tiere .....	21
3.1.3	Anamneseerhebung .....	21
3.1.4	Versuchsdurchführung .....	22
3.1.5	Endokrinologische Untersuchungen .....	24
3.1.6	Sonographische Untersuchung.....	26
<b>3.2</b>	<b>Einteilung der Gelbkörperphasen</b> .....	<b>27</b>
3.2.1	Substitution von exogenem Progesteron .....	27
3.2.2	Einteilung der Tiere (Gruppen 0-3).....	28
3.2.3	Statistische Auswertung der endokrinologischen Ergebnisse.....	28

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>29</b>
4.1	Anamnestische Befunde.....	29
4.2	<b>Progesteronsubstitution und Fruchtbarkeit.....</b>	<b>30</b>
4.2.1	Deckterminbestimmung.....	30
4.2.2	Substituierte Hündinnen.....	31
4.2.3	Tragende Hündinnen.....	33
4.2.4	Laktation.....	33
4.3	<b>Endokrinologische Befunde.....</b>	<b>34</b>
4.3.1	Durch den Radioimmunoassay ermittelte periphere Progesteronkonzentrationen.....	34
4.3.2	Durch Hormonost <sup>®</sup> ermittelte periphere Progesteronwerte.....	38
4.3.3	Vergleich der beiden Meßmethoden in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen.....	39
4.4	<b>Klinische und sonographische Anzeichen für den Fruchttod.....</b>	<b>41</b>
4.4.1	Vaginaausfluß in Zusammenhang mit einem Trächtigkeitsverlust.....	41
4.4.2	Spontane Fruchtresorption.....	41
4.4.3	Embryonale bzw. fetale Herzfrequenzen.....	42
4.4.4	Fruchttod im Zusammenhang mit niedrigen Progesteronkonzentrationen.....	42
4.5	<b>Mikrobiologische Befunde der Vaginaltupferproben.....</b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>52</b>
5.1	<b>Ziel der Arbeit.....</b>	<b>52</b>
5.2	<b>Klinische Befunde.....</b>	<b>52</b>
5.2.1	Mikrobiologische Befunde der Vaginaltupferproben.....	52
5.2.2	Deckterminbestimmung mittels Vaginoskopie, Vaginalzytologie und Hormonost <sup>®</sup> .....	53
5.2.3	Einfluss des exogenen Progesterons auf die Zyklusdauer und Fruchtbarkeit.....	53
5.3	<b>Endokrinologische Befunde.....</b>	<b>55</b>
5.3.1	Endokrinologische Befunde der Gruppe 0 (n=6).....	55
5.3.2	Endokrinologische Befunde der Gruppe 1 (n=9).....	55
5.3.3	Endokrinologische Befunde der Gruppe 2 (n=14).....	56
5.3.4	Endokrinologische Befunde der Gruppe 3 (n=17).....	57
5.4	<b>Fruchttod im Zusammenhang mit niedrigen P<sub>4</sub>-Konzentrationen.....</b>	<b>57</b>
5.5	<b>Semiquantitatives Testverfahren zur Bestimmung der Progesteronsekretion während der Lutealphase (Hormonost<sup>®</sup>).....</b>	<b>60</b>
5.6	<b>Sonographische Befunde im B-Mode.....</b>	<b>60</b>

---

<b>5.7</b>	<b>Spontane Fruchtresorption .....</b>	<b>62</b>
<b>5.8</b>	<b>Einfluss des exogenen Progesterons auf die Laktation .....</b>	<b>63</b>
<b>5.9</b>	<b>Substitution von natürlichem exogenem Progesteron .....</b>	<b>63</b>
<b>5.10</b>	<b>Zusammenfassende Schlussbetrachtung.....</b>	<b>64</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>66</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>68</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>70</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>89</b>
<b>10</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>91</b>
<b>11</b>	<b>SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....</b>	<b>92</b>



## **1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG**

Der Zeitraum zwischen der Ovulation und der Geburt dauert bei der Hündin im Durchschnitt 63 (61-65) Tage. Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen Gestationsdauer und der Anzahl der Feten (Tsutsui, 2006). Für die Aufrechterhaltung der Gravidität ist das Hormon Progesteron notwendig. Es wird bei der Hündin in klinisch relevanten Konzentrationen nur von den sich nach der Ovulation an den Eierstöcken bildenden Gelbkörpern produziert. Die Dauer der Gelbkörperphase entspricht bei der tragenden Hündin der Trächtigkeitsdauer.

Während die Gelbkörper in der ersten Hälfte der Trächtigkeit (bis etwa Tag 30 post ovulationem) weitgehend autonom funktionieren, trägt das im Hypophysenlappen gebildete Hormon Prolaktin in der zweiten Hälfte der Gravidität zur Aufrechterhaltung der Lutealfunktion bei (Onclin, 1997).

Bei Vorliegen einer Gelbkörperinsuffizienz ist die luteale Progesteronbildung und Sekretion gestört. Damit einhergehend sinkt die periphere Progesteronkonzentration im Blut unphysiologisch ab. Im Falle einer Trächtigkeit kann es zum Absterben und zur Resorption oder zum Abort einzelner oder aller Früchte kommen. Im Rahmen der klinischen Untersuchungen ist zu beobachten, dass bei einzelnen Früchten trotz des Progesteronmangels kein intrauteriner Fruchttod eintritt, sondern die Welpen nach physiologischer Trächtigkeitsdauer lebensschwach geboren werden.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Reproduktion bei der Hündin

#### 2.1.1 Reproduktionszyklus der Hündin

Der Zyklus des domestizierten Hundes wird als asaisonal und monoöstrisch bezeichnet. Er lässt keine jahreszeitlichen Abhängigkeiten mehr erkennen. Jeder sexuell aktiven Phase mit nur einem ovariellen Zyklus schließt sich ein Zeitraum der Sexualruhe an. Das durchschnittliche Interöstrus-Intervall (Zeitraum vom Ende der Stehphase bis zum Beginn des folgenden Proöstrus) beträgt  $200 \pm 45$  Tage und wird durch eine Trächtigkeit der Hündin nur unwesentlich beeinflusst (Christie, 1971; Sokolowski, 1977). Der Zyklus der Hündin lässt sich nach Feldman und Nelson (1987) in vier Phasen einteilen, die sich durch charakteristische Veränderungen definieren lassen. Diese Veränderungen finden auf klinischer, hormoneller, physiologischer und zytologischer Ebene statt und beeinflussen ebenso das Verhalten der Hündin.

Der Proöstrus umfasst den Zeitraum vom Beginn der proöstrischen Blutung bis zum Beginn der Duldung und dauert im Mittel 8-10 Tage (Christiansen, 1984; Arbeiter, 1994). Die Konzentration von Östradiol-17 $\beta$  im Blutplasma steigt in dieser Zeitspanne von Basalwerten um 25 pg/ml bis auf Maximalwerte von 60-100 pg/ml an (Edquist, 1975; Nett, 1975; Concannon, 1993, 1975). Dieser Anstieg geht mit charakteristischen klinischen Erscheinungen einher, wie der Ödematisierung der Vulva sowie einer Hyperämie und Proliferation der Vaginalschleimhaut (Concannon, 1989; Arbeiter, 1994). Die Hündinnen zeigen im Proöstrus blutigen Vaginalausfluss (Diapedeseblutung). Dieser kann jedoch in seiner Quantität sehr stark variieren und nimmt im späten Proöstrus eine Stroh-ähnliche Farbe an. Im Vaginalabstrich zeigen sich Erythrozyten und Intermediärzellen sowie eine eosinophile Tinktion der Epithelzellen. Die Vaginalschleimhaut ist in Längsfalten gelegt und mit rötlichem Sekret behaftet. In dieser Zeit gewinnt die Hündin zunehmend an Attraktivität für Rüden.

Der Östrus wird durch die Akzeptanz des Rüden eingeleitet und dauert etwa 9 (4-12) Tage (Christiansen, 1984; Concannon, 1993). Beim Hund wird die Duldung durch follikuläres Progesteron induziert (Concannon, 1977a). Etwa 24-96 Stunden nach dem präovulatorischen LH-Peak kommt es zur Ovulation. Im Durchschnitt ovulieren 70% der angebildeten Follikel

(Wildt, 1979). Das Besondere bei der Hündin im Gegensatz zu allen anderen Säugetierarten ist das Freisetzen einer noch unreifen Oozyte erster Ordnung. Um die Fruchtbarkeit zu gewährleisten, muss die Oozyte anschließend eine meiotische Teilung durchlaufen. Nach dieser Teilung wird sie als Oozyte zweiter Ordnung bezeichnet. Dieser Prozess dauert etwa 48-72 Stunden. In diesem Stadium sind die Oozyten zweiter Ordnung für 2 bis 3 Tage befruchtungsfähig (Phemister, 1973).

Im Verlauf des Östrus fällt die Konzentration von Östradiol-17 $\beta$  ab, während die Konzentration von Progesteron im Blutplasma steigt. Zur Zeit des Anstiegs der Konzentration von Progesteron auf etwa 5 ng/ml im Blutplasma erfolgt die Ovulation (Concannon, 1993). Zu diesem Zeitpunkt liegt der Anteil an Superfizialzellen bei 80-100%. Des Weiteren sind die für den Östrus charakteristischen azidophilen kernlosen Schollen erkennbar, die auch als „Chips“ bezeichnet werden. In Verbindung mit dem präovulatorischen Progesteronanstieg tritt auch die typische „Nesterbildung“ der Superfizialzellen auf (Gerres, 1988). Die Hündin zeigt nun die für den Östrus charakteristischen Verhaltensweisen, wie das Präsentieren der Hinterhand, Abstellen des Schwanzes und Lordosisreflex.

Der Metöstrus ist gekennzeichnet durch die An- und Rückbildung der Corpora lutea sowie der Endometriumsreparation. Besonders charakteristisch für den Beginn des Metöstrus ist ein gravierender Wechsel in der Vaginalzytologie. Im Abstrich treten neutrophile Granulozyten auf, die Tinktion wechselt nach basophil und der Anteil an Superfizialzellen nimmt stetig ab. Vorherrschend sind Intermediärzellen und im weiteren Verlauf kommen Parabasalzellen hinzu. Vaginoskopisch ist ein vermehrtes Verstreichen der Längsfältelung zu sehen und es sind überwiegend Querfalten zu erkennen. Nach der Ovulation steigt der Progesteronwert bis zum Tag 10-30 post ovulationem (p.ov.) meist auf über 25 ng/ml (15-85 ng/ml) an (Johnston, 1980; Concannon, 1989). Im Zuge der Gelbkörperregression sinken die Progesteronkonzentrationen ab Tag 30 p.ov. kontinuierlich ab (Luz, 2006a). Bei der tragenden Hündin fällt der Progesteronwert kurz vor der Geburt rapide ab, während er bei der nicht-tragenden Hündin langsam aber stetig sinkt. Der Metöstrus endet definitionsgemäß mit dem Abfall der Progesteronkonzentration im Blut unter 1 ng/ml (Concannon, 1989).

Kustritz (2005) sowie Luz et al. (2006a) beschreiben keinen statistischen Unterschied der mittleren Progesteronkonzentration tragender und nicht tragender Hündinnen, wohingegen England (1998) bei tragenden Hündinnen einen höhere Progesteronkonzentration im Vergleich zu nicht-tragenden Tieren aufweist.

Der Anöstrus beschreibt einen Zeitraum in dem keine Anzeichen sichtbarer ovarieller Aktivität beobachtet werden (Concannon, 1989). Er ist gekennzeichnet durch Basalwerte des Progesterons im Blutplasma von unter 1 ng/ml. Seine Dauer schwankt rassespezifisch und individuell zwischen 15-265 Tagen (Christiansen, 1984), weshalb die Läufigkeitsintervalle starken Schwankungen unterliegen (Günzel-Apel, 1994).

### **2.1.2 Die Trächtigkeit**

Die Gravidität wird generell definiert als das zeitliche Intervall zwischen Konzeption und Partus. Da jedoch bei der Hündin die Befruchtung selbst der klinischen Diagnostik nicht zugänglich ist, wird entweder der Tag der Bedeckung oder der Tag der Ovulation mit dem Trächtigkeitsbeginn gleichgesetzt (Günzel-Apel, 2001).

Es treten erhebliche Schwankungen in der Gestationsdauer auf, wenn der Zeitpunkt des Deckens mit dem Trächtigkeitsbeginn gleichgesetzt wird. Eine Bedeckung der Hündin kann bereits bis zu einer Woche vor der Ovulation zu einer Befruchtung führen, da die Spermien des Rüden im weiblichen Genitale bis zu sieben Tage befruchtungsfähig sind. Bei der Gleichsetzung des Trächtigkeitsbeginns mit dem Zeitpunkt der Ovulation kann es ebenfalls zu einer zeitlichen Diskrepanz kommen, die aus der Maturation (48-54 h) der freigesetzten Oozyten erster Ordnung resultiert (Reynaud, 2006).

Das zeitliche Intervall zwischen LH-Peak und Partus verhält sich mit 64-66 Tagen relativ konstant (Concannon, 1983). Variabel sind jedoch die Intervalle zwischen LH-Peak und Paarung sowie zwischen Paarung und Ovulation. Des Weiteren können die Oozytenmaturation, die Penetration der Spermien, die tatsächliche Befruchtung sowie die Passage der Morula sehr starken zeitlichen Schwankungen unterliegen (Concannon, 1989).

Die Erhebung endokrinologischer Parameter, die im Rahmen einer Deckterminbestimmung sicher diagnostizierbar sind, ist bei der Hündin somit eine notwendige Voraussetzung für die Trächtigkeitsüberwachung sowie für die Prognose des Geburtstermins (Günzel-Apel, 2001).

Die befruchteten Metaphase II Oozyten entwickeln sich im Eileiter bis zum Stadium der Morula, um etwa zehn bis zwölf Tage nach der Ovulation durch die uterotubercule Verbindung in den Uterus einzutreten (Reynaud, 2006). Die Embryonen bewegen sich im Uterus freischwimmend über einen Zeitraum von etwa vier bis fünf Tagen und migrieren von einem Uterushorn in das andere (Concannon, 1989). In dieser Zeitspanne ernähren sich die Embryonen von der sog. Uterinmilch (Histirotrophe). Im weiteren Verlauf verteilen sie sich schließlich gleichmäßig auf beide Uterushörner (Michel, 1995).

Bei der Implantation nistet sich der Trophoblast in das Uterusepithel ein. Thatcher et al. (1994) terminieren die Implantation bei der Hündin um Tag 17-18 nach der Ovulation und anhand histologischer Befunde am Endometrium an Tag 20 nach dem LH-Peak. Reynaud et al. (2006) beschreiben diesen Prozess um Tag 18-21 p.ov. Der Übergang von der Implantation zur Plazentation ist bei der Hündin durch kontinuierliche Umbauprozesse im Bereich der Plazenta zur Placenta endotheliochorialis gekennzeichnet (Schnorr, 1996). Bei dieser Plazentaform wird die Placenta materna des Muttertiers bis auf das Endothel ihrer Kapillaren abgebaut. Um Tag 27 bis 30 nach dem LH-Peak ist die Plazentation abgeschlossen. Eine Gürtelplazenta (Placenta bipartita) wird nun sonographisch erkennbar (Yeager, 1992, England, 2006). Bei einem Fruchttod bis zum Abschluss der Plazentation ist die Hündin noch in der Lage, den Embryo ohne äußerliche Anzeichen zu resorbieren. Das ist nach Abschluss der Plazentation nicht mehr möglich. In diesem Fall kommt es zum Abort, welcher mit Ausfluss und dem Abgang von Feten und Nachgeburtsanteilen verbunden ist.

Die ersten sonographischen Anzeichen der Frühträchtigkeit sind zwischen Implantationsbeginn und Ende der Plazentation als echofreie, d.h. flüssigkeitsgefüllte ovoide Strukturen darstellbar (England 2006). Man differenziert im Allgemeinen die Embryonalphase, in der sich die Organanlagen entwickeln, sowie die Fetalperiode, in der es zu einer Ausdifferenzierung der Früchte kommt, und die Früchte einem schnellen Wachstum unterworfen sind (Sinowatz, 1991; Schnorr, 1996). Die ovoiden Fruchtblasen wachsen nach Abschluss der Embryonalentwicklung, die Mitte der fünften Trächtigswoche abgeschlossen ist, allmählich in die Länge und gehen in das Schlauchstadium über (Schäfer, 2001). Erkennbare fetale Knochenstrukturen sind durch die Mineralisierung der Knochen erst 42 Tage post copulationem (Concannon, 1983; Schäfer, 2001) und 46 Tage nach dem LH-Peak (Concannon, 1989) röntgenologisch nachweisbar.

Zu weiteren Möglichkeiten der Trächtigsdiagnostik zählt der hormonelle (Relaxin) sowie der palpatorische Trächtigsnachweis.

### **2.1.3 Der Gelbkörper (Corpus luteum)**

Der die Ovulation initiiierende LH-Peak führt zu einer Luteinisierung der reifen Follikel. Während dieses Prozesses transformiert sich der im Durchmesser etwa 3,5 mm große Östrogen-sezernierende Follikel in einen Progesteron-sezernierenden Gelbkörper mit einem Durchmesser von 8-9 mm (Concannon, 1989).

Das Corpus luteum (C.l.) stellt eine endokrine Drüse von zeitlich bedingter Lebensdauer dar und besteht aus steroidproduzierenden Zellen parenchymatösen Ursprungs und Stromazellen.

Aus verbliebenen Zellen der Follikelwand und den Stromazellen der Theca follicularis entwickelt sich nach der Ovulation der Gelbkörper. Entsprechend der verschiedenen Graviditätsabschnitte kann die Gelbkörperphase aufgrund differierender struktureller Entwicklungsstufen in drei Abschnitte unterteilt werden: Anbildung im ersten Trimester der Trächtigkeit, Gelbkörperblüte mit maximaler sekretorischer Aktivität und Regression (Jöchle, 1977). Nach dem Riss des Graaf'schen Follikels und dem Entlassen der Oozyte in den Fimbrientrichter des Eileiters kollabiert die Follikelwand und legt sich in Falten. Kapillaren sprießen zusammen mit den Arteriolen der Theca externa in die vormals gefäßfreie Follikelwand ein. Mit den Gefäßen gelangen Stromazellen, Fibroblasten und Makrophagen, aber auch Granulozyten und Lymphozyten in großer Zahl in die ehemalige Follikelhöhle und beginnen innerhalb der ersten Tage nach der Ovulation mit der Organisation des jungen Gelbkörpers.

Nach der Herkunft der Luteinzellen unterscheidet man zwei Arten steroidproduzierender Zellen: Die kleineren Thecaluteinzellen entwickeln sich aus der Theca interna, die größeren Granulosaluteinzellen entwickeln sich aus den Granulosazellen der Follikelwand. Granulosaluteinzellen weisen einen großen, ovalen, euchromatinreichen Zellkern sowie einen das Zytoplasmabild beherrschenden Steroidsyntheseapparat auf, der vorzugsweise der Bildung von Progesteron, aber auch Östrogen dient. Relaxin, ein Peptidhormon, wird in 200-400 nm großen membranumhüllten Sekretgranula auf Abruf gespeichert und gelangt via Exozytose zur Extrusion (Schmollich, 1992).

Im zweiten Trimester, um Tag 24 bis 37 p.ov, erreicht der Gelbkörper seine maximale Größe sowie sein Sekretionsmaximum mit Progesteronwerten um bis zu 70 ng/ml (Concannon, 1975). In diesem Stadium der Gelbkörperblüte stehen die Kapillarschlingen in engem Kontakt zu den Luteinzellen und nehmen Progesteron in das zirkulierende Blut auf (Liebich, 1998).

Im Zuge der Gelbkörperregression nimmt der interzelluläre Abstand zwischen den Lutealzellen nach dem 45. Tag deutlich ab, wobei die Anzahl der Kapillaren sinkt und Kollagenfasern elektronenmikroskopisch zunehmend sichtbar werden. Die Luteinzellen unterliegen einer fettigen Degeneration, wobei erste Anzeichen dafür um Tag 60 p.ov. sichtbar werden (Hoffmann, 2004a). Der Gelbkörper verliert 20-30% seines Umfangs. Es zeigt sich eine Ischämie und Involution der umgebenen Lymphbahnen.

Ausgehend von diesen Beobachtungen scheint die Regression des Corpus luteum daher weniger durch eine primäre Zunahme des Bindegewebes (Vollmerhaus, 1994), sondern eher durch eine Abnahme des interzellulären Raumes bei annähernd gleich bleibender Größe der Lutealzellen gekennzeichnet zu sein. Bei der physiologischen Luteolyse der Hündin spielen

nach Hoffmann et al. (2004) immunvermittelte Ereignisse eine Rolle. Die Lutealphase der graviden Hündin endet mit der Geburt (Concannon, 1989).

## **2.2 Steuerung der Lutealphase und Trächtigkeit**

### **2.2.1 Allgemeine Angaben**

Das Hormon Progesteron wird bei der Hündin im Metöstrus sowie während der Trächtigkeit in klinisch relevantem Maße ausschließlich in den Corpora Lutea gebildet.

Zentrale und übergeordnete Faktoren bei der Kontrolle der C.I. Funktion sind die Gonadotropine hypophysären Ursprungs sowie, in Abhängigkeit der Spezies, luteolytische Faktoren aus dem Endometrium. Dabei ist die Sekretion im C.I. ab dem Tag 25-35 p.ov. von LH (Concannon, 1989; Riesenbeck, 1997) und Prolaktin (Onclin, 1997) abhängig. Studien von Hori et al. (2004) beschreiben jedoch Prolaktin alleine als wichtigsten Faktor zur Aufrechterhaltung des funktionellen Gelbkörpers. Onclin et al. (2000) unterscheiden eine relative (d 25-30 p.ov.) sowie eine totale hormonelle Abhängigkeit (d 35-40 p.ov.) des Gelbkörpers. Die funktionelle Bedeutung von Östradiol-17 $\beta$ , welches ebenfalls in den Luteinzellen der Hündin synthetisiert wird, ist noch unklar (Nishiyama, 1999).

Darüber hinausgehend haben Untersuchungen beim Menschen (Rossmann, 1990; Hinney, 1995) und Schwein (Wuttke, 1998) gezeigt, dass im C.I. produzierte Substanzen wie z.B. Steroide, Eicosanoide, Zytokine und Wachstumsfaktoren als auto- und/oder parakrine Faktoren ebenfalls an der Steuerung der lutealen Progesteron- und Östradiol-17 $\beta$ -Sekretion beteiligt sind.

Inwieweit weitere hormonelle Wirkstoffe im C.I. der Hündin gebildet werden, ist derzeit nicht bekannt. Auf Grund von Untersuchungen an hysterektomierten Hündinnen ist davon auszugehen, dass kein uterines Luteolysin an der Regulation der Gelbkörperphase und damit auch der Zykluslänge beteiligt ist (Okkens, 1986; Olson, 1989). Prostaglandin F $_{2\alpha}$  (PGF $_{2\alpha}$ ) spielt als luteolytischer Faktor uterinen Ursprungs erst 48 h ante partum eine wichtige Rolle (Concannon, 1988; Hoffmann, 1992). Hoffmann et al. (1996) schließen daher auf lokale, autokrine und parakrine Mechanismen.

### **2.2.2 Progesteron**

Die Aufrechterhaltung der Trächtigkeit bei der Hündin ist absolut abhängig von dem in den Ovarien produzierten Hormon Progesteron (Sokolowski, 1971; Concannon, 1977).

Im Rahmen der präovulatorischen Luteinisierung der Follikel in Koinzidenz mit dem LH-Peak kommt es zu einem Anstieg der peripheren Progesteronkonzentration (Concannon, 1977). Die Progesteronsynthese in den Granulosazellen manifestiert sich in dem deutlich messbaren Progesteronanstieg von 1 ng/ml am Ende des Proöstrus auf 2 ng/ml zum Zeitpunkt des LH-Peaks bzw.  $4,9 \pm 1$  ng/ml zum Zeitpunkt der Ovulation (Bouchard, 1991; Concannon, 1993). Im Anschluss an die Ovulation kommt es zu einem drastischen Anstieg der peripheren Progesteronwerte, mit Höchstwerten von 15-90 ng/ml um den frühen-mittleren Metöstrus, gefolgt von einem Absinken auf Basalwerte gegen Ende der Lutealphase (Concannon, 1975; Hadley, 1975; Nett, 1975). Die Progesteronkonzentrationen in der Lutealphase unterliegen starken individuellen Schwankungen (Hoppen, 1990). Des Weiteren treten beim Einzeltier erhebliche Schwankungen im Tagesverlauf auf (Linde-Forsberg, 2008).

Eine Besonderheit bei der Hündin ist, dass die Corpora lutea sowohl im Metöstrus als auch während der Gravidität die einzige Progesteronbildungsstätte darstellen (Steinetz, 1989). Bei der ingraviden Hündin ist Progesteron noch bis zu 110 Tage p.ov. nachweisbar (Concannon, 1993). Beim graviden Tier dagegen nimmt die Progesteronproduktion 12-24 Stunden ante partum abrupt ab, so dass die Konzentration von etwa 10 ng/ml auf unter 3 ng/ml abfällt und unter der Geburt noch weiter abnimmt (Concannon, 1977). Dieser spezifische Verlauf der Progesteronsekretion gegen Ende der Lutealphase lässt auf verschiedene Regelmechanismen schließen. Die Verlaufskurve bei der graviden Hündin deutet auf die Existenz eines oder mehrerer luteolytischen Faktoren hin.

Zu den graviditätsspezifischen Aufgaben des Progesterons p.ov. gehört die Vorbereitung des Endometriums auf die bevorstehende Implantation. Ebenso wird die Proliferation des Endometriums gefördert. Dieses führt unter anderem auch zur Sekretion der Uterinmilch, welche die Blastozyste bis zur Implantation nährt (Concannon, 1989).

Eine wichtige Rolle spielt der „Progesteron-Block“. Dabei wird eine Progesteron-vermittelte Unterdrückung der Myometriumskontraktionen basierend auf einer verstärkten Bindung von intrazellulärem Calcium an Zellmembranen oder intrazellulären Organellen hervorgerufen. Hierdurch steht dem Myometrium das für die Bildung des Calcium-Calmodulin-Komplexes und somit auch für die Phosphorylierung von Myosin notwendige Calcium nicht zur Verfügung, so dass Uteruskontraktionen unterbunden werden (Csapo, 1977). Chwalisz et al. (1995) schreibt dem Progesteron auch eine regulatorische Wirkung auf die Calcium Kanäle zu, durch welche der Calcium Einstrom in die Myozyten stattfindet.

### 2.2.3 Östradiol-17 $\beta$

Im Proöstrus erreicht die Konzentration von Östradiol-17 $\beta$  Maximalwerte, um bereits fünf bis neun Tage nach dem Maximum basale Werte um 10 pg/ml zu erreichen (Olson, 1982; Concannon, 1986). Im weiteren Verlauf der Lutealphase liegen nach Döcke (1994) keine Unterschiede zwischen den peripheren Östradiolkonzentrationen gravider und nicht gravider Tiere vor. Onclin et al. (2002) beobachteten im Anschluss an die proöstrischen Maximalkonzentrationen von Östradiol zunächst das Absinken auf basale Werte. Sowohl bei tragenden als auch bei nicht tragenden Tieren kam es ab Tag sieben p.ov. zu einem leichten Wiederanstieg der Konzentration von Östradiol-17 $\beta$ . Der Östradiolspiegel sank gegen Ende der Gelbkörperphase, ebenso wie Progesteron, wieder auf basale Werte ab. Es besteht die Möglichkeit, dass Östradiol-17 $\beta$  im Zusammenspiel mit Prolaktin und LH eine Rolle im luteolytischen Geschehen der Hündin spielt (Verstegen-Onclin, 2008). Luz et al. (2006) beobachteten einen leichten, signifikanten Anstieg zwei Wochen ante partum. Bei nicht tragenden Hündinnen ist in diesem Zeitraum ein Abfall der Östradiol-17 $\beta$  Konzentration zu verzeichnen. Der Autor vermutet daher, dass Östradiol-17 $\beta$  eine Rolle bei der Vorbereitung des Gewebes auf endokrine Veränderungen im Rahmen der Gravidität spielt. Bei einigen Spezies ist Östradiol wichtig für die Synthese von PGF 2 $\alpha$ , die letztendlich zur Geburt führt (Olson, 1995). Des Weiteren vermittelt der präpartale Östradiol-17 $\beta$  Anstieg die heraufgesetzte uterine Sensitivität gegenüber Oxitocin und PGF 2 $\alpha$  (Challis, 1999).

### 2.2.4 LH (Luteinisierendes Hormon)

Das Freisetzungsmuster von LH ist wie auch bei anderen Spezies pulsatil, wobei die Intervalle zwischen den einzelnen Ausschüttungen im Durchschnitt zwischen einer bis zu sieben Stunden betragen. Die Wirkungen von LH sind weitgehend an die Frequenz und Amplitude der LH-Ausschüttung gekoppelt, wie dies u.a. von Schallenberger et al. (1985) beim Rind gezeigt werden konnte. In Abhängigkeit vom Zyklusstand ergeben sich charakteristische Profile bezüglich Basalkonzentration, Pulsfrequenz und Amplitude (Schallenberger, 1990). Der postovulatorische steile Progesteronanstieg in der Phase der Gelbkörperanbildung kommuniziert über einen negativen Rückkopplungsmechanismus mit der Hypophysen-Gonaden-Achse. Dies bewirkt ein Absinken des LH-Spiegels auf basale Werte, die bis zum Ende der Gelbkörperphase beibehalten werden (Wildt, 1979). Lediglich in der frühen Lutealphase kommt es zu geringen wellenförmigen Konzentrationsanstiegen von LH (Hegstad, 1993).

Simultan zu der einsetzenden Abnahme der peripheren Progesteronkonzentration kommt es im Zuge der Gelbkörperregression zu einer Frequenzzunahme der LH-Peaks (Hoffmann, 1993). Studien von Concannon et al. (1993) beschreiben hypophysäres LH als luteotrop, wohingegen Verstegen-Onclin et al. (2008) aufgrund Ihrer Studien keinen essentiellen Einfluss auf die morphologische und funktionelle Integrität des Gelbkörpers feststellen können.

### 2.2.5 Prolaktin

Prolaktin ist ein im Hypophysenvorderlappen produziertes Peptidhormon, das bei einigen Spezies luteotrope Effekte auf den Gelbkörper besitzt (Aurich, 2002). Ab dem 28. bis 35. Tag nach dem LH-Gipfel beginnt die Prolaktinkonzentration bei graviden als auch bei pseudograviden Hündinnen auf Werte von 40 bis 50 ng/ml zu steigen. Ab diesem Zeitpunkt übernimmt das Prolaktin eine wichtige Aufgabe in der Aufrechterhaltung der Trächtigkeit (Onclin, 1997). Etwa 16 bis 56 Stunden vor der Geburt steigt der Prolaktinwert stark an und erreicht ein peripartales Maximum von über 100 ng/ml. Bei nicht trächtigen Hündinnen kommt es im Metöstrus zu einem weitaus geringeren Anstieg auf im Durchschnitt 5 ng/ml (Onclin, 1997; Kooistra, 2001) und die Serumkonzentration des Prolaktins kehrt früher zu Basalwerten zurück (Jöchle, 1989).

Die luteolytische Wirkung von potenten Prolaktinantagonisten beruht auf der Supprimierung der Prolaktinproduktion. Sie wirken somit indirekt (sekundär) auf die Corpora lutea. Als direkte Stimulatoren der Dopaminrezeptoren (D<sub>2</sub>) der prolaktinproduzierenden Zellen des Hypophysenvorderlappens wirken Antiprolaktine wie der „Prolactin inhibiting factor“ (PIF) Dopamin und unterdrücken die Prolaktinfreisetzung (Jöchle, 1995).

Da Prolaktin als wichtigster luteotroper Faktor erst ab der Mitte der Trächtigkeit zum Tragen kommt (Concannon, 1990; Okkens, 1990), können Antiprolaktine vorher keine ausreichende Suppression der Gelbkörperfunktion herbeiführen (Concannon, 1977; Conley, 1984; Post, 1988). In der zweiten Hälfte der Trächtigkeit führt jedoch die Verabreichung von Dopaminagonisten zum Abfall der Progesteronkonzentration (Okkens, 1990).

Eine aus dem Wegfall der luteotropen Wirkung des Prolaktins resultierende permanente Absenkung des Progesteronspiegels auf basale Werte, d.h. eine vollständige Luteolyse, sowie der darauf beruhende Abbruch der Gravidität, sind erst im letzten Graviditätsdrittel zuverlässig möglich (Concannon, 1987; Wichtel, 1990; Onclin, 1993). Bei einem früheren Zeitpunkt kommt es zu einem vorübergehenden Abfall der peripheren Progesteronkonzentration, wobei die Werte den kritischen Wert von 2 ng/ml nicht

unterschreiten und es im Anschluss zu einem Wiederanstieg des Progesteronspiegels kommt (Onclin, 1997).

Daraus resultiert der schwerwiegende Nachteil eines Trächtigkeitsabbruchs mit Dopaminagonisten. Da die Fetalentwicklung im letzten Drittel der Trächtigkeit, also zum Zeitpunkt des wirksamen Aborts durch Dopaminagonisten bereits weit fortgeschritten ist, ist ein Trächtigkeitsabbruch auch unter ethischen Gesichtspunkten kritisch zu bewerten.

Günzel-Appel et al. (2006) fanden bei Hündinnen, die mit exogenem Progesteron substituiert wurden, signifikant niedrigere Prolaktin Konzentrationen als bei den Kontrolltieren. Es ist möglich, dass die Zufuhr von exogenem Progesteron zu einer Supprimierung der Prolaktin Sekretion führt. Eine unzureichende Prolaktin Sekretion als primäre Ursache einer Gelbkörperinsuffizienz konnten die Autoren nicht ausschließen (Günzel-Apel, 2006).

### **2.2.6 Relaxin**

Relaxin ist bei der Hündin das derzeit einzige nachweisbare trächtigkeitsspezifische Hormon (Concannon, 2001). Ein signifikanter Anstieg des insulinähnlichen Peptidhormons Relaxin kann bei der graviden Hündin zwischen Tag 20 und 25 p.ov. dokumentiert werden. Relaxin wird hauptsächlich in der Plazenta, aber auch in den Ovarien der Hündin produziert. Dabei ist der Synzythiotrophoblast als primäre Produktionsstätte anzusehen (Steinetz, 1989; Stewart, 1992; Klonisch, 1999).

Da die Hauptbildungsstelle der gravide Uterus ist, können folgerichtig physiologische und pathologische Vorgänge an Uterus und/oder Plazenta in den peripheren Relaxinkonzentrationen manifestiert werden und damit Angaben über den plazentären/uterinen Status der Trächtigkeit liefern (Einspanier, 2002). Hündinnen, bei denen der Implantationsprozess Störungen aufweist, zeigen keinen initialen Relaxinanstieg.

Relaxin schafft durch entsprechende Veränderungsprozesse im Gewebe die Voraussetzung für die Implantation, indem es die Angiogenese fördert (Einspanier, 2001) und spezifische Enzyme aktiviert (Hwang, 1996).

Da für die Formation des Corpus luteum ebensolche Remodellierungsvorgänge wie Umbau und Angiogenese wichtig sind, ist eine ähnliche Funktion des Relaxin auch am Ovar denkbar (Dickson, 2001). Beim Weißbüschelaffen wurde in der mittleren Lutealphase eine Perfusion der Ovarien mit Relaxin durchgeführt. Dies führte zu einer signifikant gesteigerten Produktion von Progesteron und Östradiol-17 $\beta$  und weist somit auf eine deutlich luteotrope Wirkung des Relaxin auf Lutealzellen hin (Beindorff, 2001; Verhagen, 2002). Die genaue Funktion von Relaxin am Ovar der Hündin ist zurzeit noch ungeklärt.

### 2.2.7 PGF 2 $\alpha$

Es wird angenommen, dass der praepartale PGF 2 $\alpha$  Anstieg gegen Ende der Trächtigkeit eine Folge der Aktivierung der fetalen Nebenniere-Hypophysen-Achse ist, wie dies bei einigen anderen Spezies der Fall ist (McCracken, 1999; Luz, 2006). Dieser Mechanismus wird aufgrund von Beobachtungen bei Primaten auch bei der Hündin postuliert. Allerdings fehlt der direkte Nachweis, dass Corticosteroide zu einer zunehmenden PGF 2 $\alpha$  Sekretion am trächtigen Uterus führen (Concannon, 2001).

Der Gelbkörper der Hündin reagiert, anders als bei den meisten Säugetierspezies, etwa ab Tag 30 sensibel auf PGF 2 $\alpha$ . Ab diesem Zeitpunkt ist es möglich eine Trächtigkeit durch Verabreichung von PGF 2 $\alpha$ , bzw. Analoga zu terminieren. Allerdings sind dafür sehr hohe Dosen (>5mg/kg/Tag) sowie wiederholte Anwendungen notwendig (Concannon, 1977; Ramagnoli, 1991). Ebenso besteht die Gefahr erheblicher Nebenwirkungen (Lein, 1989).

Hündinnen, bei denen in der frühen Lutealphase mittels PGF 2 $\alpha$  ein Abort induziert wurde, wiesen einen verkürzten Interöstrus von 134 $\pm$ 45 Tagen auf (Romagnoli, 1993).

## 2.3 Luteotrope und luteolytische Faktoren im Rahmen der physiologischen Gelbkörperregression

Der Zeitraum zwischen der Ovulation bis zum Stadium des Corpus albicans beträgt bei der Hündin im Schnitt acht Monate (Dore, 1989). Als Corpus albicans wird das fibröse, narbig strukturierte Überbleibsel eines früheren funktionellen Gelbkörpers definiert.

In den ersten 30 Tagen p.ov. verläuft die Lutealfunktion weitgehend autonom. Weder eine Hypophysektomie (Concannon, 1980; Okkens, 1986) noch eine Hemmung von LH konnten in dieser Phase Änderungen der Lutealfunktion bewirken. Daher schließt man einen wirklichen Einfluss gonadotroper Hormone in dieser Phase aus.

Spätestens in der zweiten Hälfte der Lutealphase wirken LH und vor allem Prolaktin als luteotrope Faktoren und ihre Verfügbarkeit steigt in diesem Zeitraum an (Gräf, 1978; Hoffmann, 1993; Onclin, 1997). In dieser Zeitspanne führt eine Hypophysektomie innerhalb von 3 bis 4 Tagen zu einem Abfall der Progesteronkonzentration auf Basalwerte.

Als das Ende der Lutealphase definieren Olson et al. (1989) den Zeitpunkt, an dem die Progesteronkonzentration auf Werte abfällt, bei dem eine Aufrechterhaltung der Gravidität nicht mehr möglich ist (1-2 ng/ml). Die der caninen Luteolyse zugrunde liegende Mechanismen sind derzeit noch weitgehend unbekannt. Die funktionelle Luteolyse, bei der es

zu einem Abfall der Progesteronwerte kommt, unterscheidet sich von der strukturellen, bzw. morphologischen Luteolyse. Die rapide funktionelle Luteolyse, die unverzüglich kurz vor der Geburt eintritt, resultiert vermutlich aus einem prepartalen Anstieg des peripheren, luteolytisch agierendem PGF 2 $\alpha$ . Die strukturelle Luteolyse beschreibt eine allmähliche Involution des Drüsengewebes bis zum Verbleiben einer bindegewebigen Narbe (McCracken, 1999).

Eine Hysterektomie bei der graviden Hündin hat, im Gegensatz zum Wiederkäuer, Schwein und Pferd, keinen Einfluss auf die Lebensspanne des Gelbkörpers (Okkens, 1986; Hoffmann, 1992). Demnach wird bei der zyklischen Hündin, anders als bei den meisten Nutztieren, die langsame Regression des Gelbkörpers nicht durch ein uterines, venenkonstriktorisches Luteolysin (PGF 2 $\alpha$ ) hervorgerufen (Olson, 1984; Hoffmann, 1992; Kowalewski, 2008). Gerber et al. (1979) fanden niedrige Konzentrationen von PGF 2 $\alpha$  im venösen Blut des Uterus spätgravider Hündinnen. Indessen entdeckten Sie höhere Konzentrationen von PGE 2 und PGI 2, deren physiologische Rolle bei der Hündin noch unklar ist (McCracken, 1999). Bei der Hündin liegen verschiedene Untersuchungsprotokolle vor, bei denen ein Trächtigungsabbruch mit Hilfe eines PGF 2 $\alpha$ -Analogon in Kombination mit einem Antiprolaktin induziert werden kann (Onclin, 1996; 1999). Der Zeitraum von Beginn der Medikation bis zum vollständigen Trächtigungsabbruch weist z.T. starke individuelle Variationen auf. In einer von Gobello et al. (2002) durchgeführten klinischen Studie an 25 Hündinnen unterschiedlicher Rassen, die 25 bis 42 Tage tragend waren, konnten die Graviditäten innerhalb von 1,5 bis 10 Tagen (durchschnittlich 4,5 Tage) beendet werden. Nach dem so induzierten Trächtigungsabbruch konnte die Verkürzung des anschließenden Läufigkeitsintervalls um ca. einen Monat bis vier Monate festgestellt werden (Onclin, 1995; 1996; 1999).

Nur während der zweiten Hälfte der Trächtigkeit und besonders während des prepartalen Abfalls der Progesteronwerte und dem damit korrelierenden PGF 2 $\alpha$ -Anstieg agiert PGF 2 $\alpha$  als luteolytisch wirkendes Agens. So wurde beobachtet, dass nach einer Hemmung der PGF 2 $\alpha$ -Synthese durch den Cyclooxygenasehemmer Indomethacin eine Verlängerung der Tragezeit auftrat (Hoffmann, 1999). Im Gegenzug konnten Williams et al. (1999) durch die Anwendung des PGF 2 $\alpha$  Analogons Na-Cloprostenol eine vorzeitige Luteolyse und damit den Beginn der Wehentätigkeit auslösen. Es scheint jedoch im Hinblick auf die notwendigen hohen Dosierungen sowie der sich daraus ergebenden Nebenwirkungen (Ramagnoli, 1993) problematisch, daraus physiologische Regelmechanismen ableiten zu wollen (Hoffmann, 1996). Kowalewski et al. (2006) untersuchten die Expression von Cyclooxygenase 1 und 2 (Cox 1 und 2), zwei Schlüsselenzyme der Prostaglandinsynthese, im Gelbkörper nicht-

tragender Hündinnen. Ihre Ergebnisse lassen darauf schließen, dass PGF 2 $\alpha$  lutealen Ursprungs bei der C.I. Regression der nicht-tragenden Hündin keine Rolle spielt. Im Zusammenhang mit erhöhten Konzentrationen von VEGF (Mariani, 2004) scheint PGF 2 $\alpha$  vielmehr bei der Formation des Gelbkörpers eine Rolle zu spielen, da zu diesem Zeitpunkt die höchsten Konzentrationen von Cox 2 nachgewiesen werden konnte.

Kowalewski et al. (2009) beobachteten bei Hündinnen mit einer durch Aglepristone induzierten Luteolyse einen signifikanten Abfall zweier Substrate (StAR und 3 $\beta$ HSD), die für die Synthese von P<sub>4</sub> essentiell sind, was in einem Abfall der P<sub>4</sub> Konzentration resultiert. Ebenso konnte eine signifikant erhöhte Expression der PGF 2 $\alpha$ -Synthase festgestellt werden. Die Autoren vermuten die Plazenta als Ursprungsorgan des luteolytisch wirksamen PGF 2 $\alpha$ .

Engel et al. (2005) hat bei der Hündin die Expression (mRNA) verschiedener Zytokine nachgewiesen, wobei Interleukin-8 (IL-8), IL-10, IL-12 und Transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ 1) eine konstant hohe Expression zeigen. Auffällig war eine stark erhöhte Expression von IFN $\gamma$  (Interferon  $\gamma$ ) an den Tagen 35 – 45 und TNF $\alpha$  (Tumor Nekrose Faktor  $\alpha$ ) am Tag 5 und ab Tag 35 des Diöstrus. Auch beim Rind konnte eine Stimulation der PGF2 $\alpha$  Sekretion durch eine erhöhte Expression von TNF $\alpha$  nachgewiesen werden (Sakumoto, 2000). Diese Ergebnisse lassen auf eine Beteiligung dieser Zytokine an der Regulation der Lutealfunktion bei Hündin schließen (Hoffmann, 2004b). Die genaue Bedeutung ist jedoch noch unklar.

## 2.4 Embryonaler Fruchttod

Der Fruchttod wird definiert als ein Absterben der Frucht und hat vielfältige Ursachen. Er kann bereits mit dem Moment der Befruchtung erfolgen und über das Embryonal- und Fetalstadium bis unmittelbar zum Geburtstermin hin eintreten. Bei einem Trächtigkeitsverlust kommen, je nach Ursache, unterschiedliche Varianten des Abbruchs in Frage. Der embryonale beziehungsweise fetale Fruchttod ist bei der Hündin eine regelmäßig zu beobachtende Störung. Ursächlich für den Fruchttod nennen Verstegen et al. (2008) in erster Linie verschiedene Viruserkrankungen sowie bakterielle Infektionen. Des Weiteren werden Traumata, Neoplasien, teratogene Medikamente, chromosomale Anomalien und Entwicklungsstörungen der Früchte ebenso wie maternale endokrine Dysfunktion beschrieben. Hündinnen sind in der Lage, einzelne Früchte des Wurfes klinisch inapparent zu resorbieren. Die noch im Uterus verbleibenden Embryonen beziehungsweise Feten werden durch diese Resorptionsvorgänge nicht beeinflusst und können sich bis zur Geburt weiter physiologisch entwickeln (England, 1993; Günzel-Apel, 2001).

Die Inzidenz spontaner Fruchtresorptionen variiert stark und liegt nach England (2006) bei 10,6%, nach Müller und Arbeiter (1993) bei 12,9% der untersuchten tragenden Hündinnen. Die Inzidenz dieses Phänomens bei Hündinnen mit vorausgegangenen Fruchtbarkeitsstörungen ist nicht unbedingt höher (England, 1992).

Bis zum 25. Tag der Trächtigkeit findet nach Auftreten des embryonalen Fruchttods in der Regel die Resorption der abgestorbenen Früchte statt (Evans, 1979). Ebenso klinisch inapparent verläuft in den meisten Fällen der fetale Tod bis etwa Tag 35 nach der Ovulation bei der Hündin (Günzel-Apel, 2001). Bei einem Abort wird eine tote oder noch lebende, aber nicht lebensfähige Frucht ausgestoßen. Je nach Zeitpunkt in der Trächtigkeit differenzieren Richter et al. (1993) zwischen Früh- und Spätabort. Ein Abort der Hündin wird von dem Halter oft nicht registriert, da die Muttertiere die abortierten Früchte üblicherweise fressen oder auch vergraben (Lein, 1989; Post, 1995).

#### **2.4.1 Infektiöse Ursachen embryonalen beziehungsweise fetalen Fruchttods**

Infektiöse Aborte liegen dann vor, wenn durch Infektionserreger (Bakterien, Viren, Pilze, Protozoen) eine Schädigung des plazentaren Haft- und Ernährungsorgans oder der gesamten Frucht hervorgerufen wird, die zum Absterben und/oder zur Ausstoßung führt. Infektiöse Fehl- und Frühgeburten sind teils enzootischer, teils sporadischer Natur (Richter, 1993).

Vorkommen und Art der Fehlgeburt sind abhängig von den jeweils auslösenden Faktoren sowie dem Zeitpunkt ihrer Einwirkung. Gegebenenfalls geht dieser Prozess mit vaginalem Ausfluss einher.

Verschiedene bakterielle Infektionen können zu Komplikationen während der Trächtigkeit führen. Besonders gravierend sind jedoch Infektionen mit *Brucella canis*; auch andere *Brucella* sp. können in Zusammenhang mit Aborten bei der Hündin gebracht werden (Johnson, 1992). Des Weiteren sind *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp., und *E. coli* Infektionen als Abortauslöser bei der Hündin zu nennen. Da bei der gesunden Hündin eine ganze Reihe verschiedener bakterieller Organismen im kaudalen Reproduktionstrakt nachzuweisen sind, ist es in vielen Fällen schwierig den wirklichen Primärfaktor für einen Abort zu evaluieren.

Viral bedingte Fruchtbarkeitsstörungen werden in den meisten Fällen durch das canine Herpesvirus (CHV-1) oder das Minute Virus of Canines (MVC oder canines Parvovirus Typ1) begründet. CHV-1 etabliert in einem infizierten Hund eine lebenslange, latente Infektion, in deren Verlauf es schubweise ausgeschieden werden kann (Ronsse, 2004). Das klinische Bild der CHV-Infektion ist abhängig vom Zeitpunkt der Infektion der Feten bzw.

der Welpen. Bei der MVC-Infektion einer tragenden Hündin kann es zum Fruchttod und nachfolgender Auflösung der Feten oder einer Fehlgeburt kommen, in Einzelfällen auch zu Missbildungen (Ronsse, 2005).

#### **2.4.2 Nicht-infektiöse Ursachen embryonalen beziehungsweise fetalen Fruchttods**

Nicht-infektiöse Ursachen eines Trächtigkeitsverlusts umfassen Traumata, genetische Anomalien der Früchte, mangelhafte Ernährung sowie maternale hormonelle Dysfunktionen. Zu diesen zählen Diabetes mellitus, Hyperadrenokortizismus, Hypoadrenokortizismus, Hypothyreoidismus (Fontbonne, 1992) und der Hypoluteinismus. Des Weiteren können schwerwiegende extragenitale Erkrankungen des Muttertiers einen embryonalen/fetalen Fruchttod hervorrufen. Dazu zählen etwa kardiale Erkrankungen, welche zur Minderperfusion des Uterus während der Trächtigkeit führen. Ebenso können Allgemeinerkrankungen des Muttertiers, wie z.B. Diabetes mellitus (Sloan, 1975; McCann, 1987) oder eine Trächtigkeitsintoxikation (Rosmos, 1981) zu Komplikationen führen.

Die „Lutealinsuffizienz“ (Hypoluteinismus) bei der Hündin beschreibt einen vom Gelbkörper ausgehenden Mangel an Progesteron, der ein Absinken der peripheren Progesteronkonzentrationen auf basale Werte mit sich führt. Diese Störung äußert sich gehäuft zwischen dem 20. und 35. Tag nach der Ovulation. Vorberichtlich deuten in vielen Fällen In- oder Subfertilität (mit einer gehäuften Inzidenz an Fruchttoden) in Kombination mit einer verkürzten Zyklusdauer auf diesen Missstand hin (Günzel-Apel, 2003). Zu diesem Themenkomplex gibt es bisher wenige Studien, da viele Züchter das Risiko eines Trächtigkeitsverlustes fürchten, wenn die Konzentration von peripherem Progesteron auf ein kritisches Maß abfällt (Verstegen, 2008).

### **2.5 Ultrasonographische Charakteristika einer Dysfunktion in der frühen Trächtigkeit**

Kugelförmige Fruchtanlagen sind im Schnitt um den 19.- 20. Tag nach dem präovulatorischen LH-Peak (Tag 0) ultrasonographisch darstellbar. Zwischen dem 23.- 24.Tag wird der Keimling sichtbar. Zum selben Zeitpunkt etwa werden auch die Herzschläge darstellbar. Die Allantois erscheint als eine echofreie, flüssigkeitsgefüllte Struktur um Tag 26. Schließlich wird das fetale Skelett um den Tag 35 in Form echogener Strukturen augenscheinlich (England, 2006). In dem Zeitraum zwischen Tag 19 und 32 kommt es zu einem linearen Anstieg der gemessenen Durchmesser der Frucht sowie der Länge des Embryos. Bei der

Entwicklung der Fruchtanlagen, die anschließend resorbiert wurden, konnte eine signifikant spätere Entwicklung sowie ein signifikant langsames Wachstum verzeichnet werden (England, 2006). Der zeitliche Ablauf einer spontanen embryonalen Resorption umfasst nach England et al. (2006) zwei bis fünf Tage in denen eine Reihe charakteristische Merkmale zu beobachten sind. Zu Anfang sind eine zunehmend echoarme Allantoisflüssigkeit und die Anwesenheit echogener Partikel innerhalb der Flüssigkeit erkennbar. Zu einem späteren Zeitpunkt kommt es zu einer Abnahme der Flüssigkeitsmenge in der Fruchtblase gefolgt von einer Abnahme der Größe des Konzeptus. Die Uteruswand beginnt sich nach innen einzustülpen. Häufig ist der den Konzeptus umgebende Teil der Gebärmutter echoarmer im Vergleich zu den Abschnitten zwischen den Fruchtanlagen. Im Zuge der Resorption kommt es üblicherweise zu einem anfänglichen Aussetzen der Herzaktivität, einer Unschärfe der Embryonalkonturen und der Entwicklung einer echoarmen Allantoisflüssigkeit. Schließlich kommt es zu einer Ablösung der Plazenta und somit zu einem Flüssigkeitsaustritt in das Uteruslumen (England, 2006). Mit Fortschreiten der Resorption verschwindet das Fruchtwasser mehr und mehr, so dass der Nachweis von Resorptionen im fortgeschrittenen Stadium schwierig oder nicht mehr möglich ist (Günzel-Apel, 2001).

Ungeachtet der Ursache ist es möglich, durch eine genaue Dokumentation eine Verzögerung in der Entwicklung spezifischer embryonaler Parameter sowie den Nachweis einer langsamen Wachstumsrate eine bevorstehende Resorption voraus zu sagen. In den meisten klinischen Fällen ist dies jedoch nur schwer durchführbar, da der Tag der Ovulation häufig nicht bekannt und somit der Soll-Entwicklungsgrad nicht kalkulierbar ist. Es besteht jedoch die Möglichkeit, die Größe und den Entwicklungsgrad der Fruchtanlagen untereinander zu vergleichen (England, 2006).

## **2.6 Diagnose Hypoluteinismus**

Die Diagnose Hypoluteinismus basiert auf Messungen unphysiologisch niedriger Konzentrationen peripheren Progesterons im Blutplasma während des Diöstrus bzw. der Gravidität. Zeitgleich bedarf es bei der trächtigen Hündin einer ultrasonographischen Darstellung entwicklungsfähiger Föten im Uterus.

In der Ätiologie der Gelbkörperinsuffizienz sind grundsätzlich zwei verschiedene pathogenetische Mechanismen zu unterscheiden. Einerseits können äußere Einflüsse sekundär zu einer frühzeitigen Regression des Corpus luteum führen und auf der anderen Seite kann eine primär gestörte Gelbkörperfunktion eine mangelhafte Progesteronsekretion nach sich

ziehen (Johnston, 2001). Zu den exogenen Faktoren, die die Gelbkörperfunktion beeinträchtigen können, gehören jede mechanische, chemische und mikrobiologische Irritation des Uterus, die direkt oder indirekt mit einer Freisetzung von PGF<sub>2α</sub> einhergeht. Entzündliche Prozesse im Uterus, wie z.B. durch *Brucella canis* oder andere bakterielle Infektionen hervorgerufen, sind auch imstande, eine frühzeitige Freisetzung von Prostaglandinen aus dem Endometrium mit anschließender Lyse des Gelbkörpers zu induzieren. Diese frühzeitige Regression des Gelbkörpers geht einher mit einer Verkürzung des Zyklusintervalls (Ramagnoli, 1993).

Bei Hündinnen mit Störungen während der Gravidität ist ein alleiniger Abfall der peripheren Progesteronkonzentration im Serum nicht ausreichend für die Diagnose des primären Hypoluteinismus. Weitere Ursachen für einen nicht-infektiösen Trächtigkeitsverlust mit einhergehender Verminderung der Progesteronproduktion/-sekretion beinhalten z.B. Missbildungen der Welpen, systemische Erkrankung der Hündin sowie Traumata (Post, 1995).

Konzentrationen von Progesteron können im Blutserum entweder mit einem handelsüblichen semi-quantitativen Testverfahren nach dem ELISA-Prinzip (z.B. Target® canine ovulation timing kit oder Hormonost®) oder durch ein quantitatives Verfahren ermittelt werden. Dabei handelt es sich um einen Radioimmunoassay (RIA), der vornehmlich in kommerziellen Laboratorien vorzufinden ist. Hündinnen mit vorausgegangener verkürzten Gelbkörperphase (Läufigkeitsintervalle  $\leq 5$  Monate) sollten in regelmäßigen Abständen während des Diöstrus einer Verlaufskontrolle ihres Progesteron-Profils unterzogen werden. Kustritz (2001) empfiehlt eine wöchentliche Blutprobenentnahme beginnend fünf bis sieben Tage nach dem letzten Deckakt. Wenn die periphere Progesteronkonzentration im Blutserum unter 10 ng/ml fällt, sollten die Intervalle der Probenentnahme auf zwei bis vier Tage verkürzt werden. Bei einem verzeichneten Abfall der Progesteronkonzentration unter 5 ng/ml vor Tag 58 – 60 nach der Ovulation muss eine Substitutionstherapie mit exogenem Progesteron eingeleitet werden, um Störungen in der Trächtigkeit entgegenzuwirken. Kustritz (2001) sieht je nach verwendetem Testverfahren zur Ermittlung der peripheren Progesteronkonzentration ein abweichendes Überwachungsschema vor.

Tabelle1: Eine Hilfe zur Diagnose des Hypoluteinismus bei der Hündin unter Verwendung eines Radioimmunoassays oder eines semi-quantitativen Laborkits stellt das von Kustritz (2001) entwickelten Schemas zur begleitenden Kontrolle der peripheren Progesteronkonzentrationen im Serum dar.

Art des verwendeten Testverfahrens	Überwachungsschema
Kommerzielles Testverfahren (Radioimmunoassay [RIA] Chemilumineszenz) Quantitative Ergebnisse	Wöchentliche Blutentnahme 5-7 Tage nach dem letzten Deckakt. Bei einem Abfall der Progesteronkonzentration im Serum auf unter 10 ng/ml wird eine engmaschigere Kontrolle mit Blutentnahmen alle 2-4 Tage empfohlen. Bei einem Konzentrationsabfall auf unter 5 ng/ml wird mit der Substitution von exogenem Progesteron begonnen. Dies gilt, zur Gewährleistung einer ungestörten Geburt nur bis Tag 58-60 p.ov.
handelsübliche Testverfahren für die Praxis (enzyme linked immunosorbent assay [Elisa]) Semi-quantitative Ergebnisse	Blutentnahme zweimal wöchentlich 5-7 Tage nach dem letzten Deckakt. Bei einem Konzentrationsabfall auf unter 5 ng/ml wird mit der Substitution von exogenem Progesteron begonnen. Dies gilt nur bis Tag 58-60 p.ov. (s.o.).

## 2.7 Therapeutische Maßnahmen bei der Gelbkörperinsuffizienz der Hündin

Bei trächtigen Hündinnen mit einer nachgewiesenen primären Gelbkörperinsuffizienz bedarf es einer Substitution des unzureichend vorhandenen Progesterons, um die Trächtigkeit aufrecht zu erhalten und einem möglichen embryonalen beziehungsweise fetalen Fruchttod entgegen zu wirken.

Die primäre Gelbkörperinsuffizienz kann, zumindest temporär, durch die Substitution von injizierbarem natürlichem Progesteron bzw. oral aktivem synthetischen Progesteron erfolgreich therapiert werden und somit zu einer Geburt vitaler Welpen führen (Tsutsui, 1983; Eilts, 1992; Görlinger, 2005; Günzel-Apel, 2006). Bei dem natürlichen Progesteron handelt es sich um ein Depot-Präparat in einer öligen Suspension. Diese Zubereitung wird in einer

Dosierung von 2 mg/kg intramuskulär alle 72 Stunden verabreicht (Scott-Moncrieff, 1990; Purswell, 1991). Da es sich um eine Aufbereitung von natürlichem Progesteron handelt, kann nach der Injektion der effektive Progesteronwert im Serum sowohl mit einem semi-quantitativen als auch mit einem kommerziellen quantitativen Testverfahren gemessen und somit beurteilt werden. Synthetisch hergestellte Progesteron-Präparate sind dahingegen durch keines der o.g. Testverfahren messbar.

Bei einer Hündin, die erniedrigte Progesteronwerte während der Trächtigkeit aufweist, ist die Substitution von Progesteron kontraindiziert, wenn in der ultrasonographischen Untersuchung nicht-lebensfähige Feten dargestellt werden. Das exogene Progesteron unterdrückt uterine Kontraktionen und behindert somit die natürliche Abstoßung. Eine Zufuhr von exogenem Progesteron sollte daher nie ohne den Nachweis eines unphysiologisch niedrigen Progesteronwert im Serum sowie der Darstellung lebensfähiger Feten eingeleitet werden. Die Substitution von exogenem Progesteron bei physiologischen Konzentrationen von Progesteron erhöht das Risiko einer Gebärmutterentzündung und kann zu einer Maskulinisierung weiblicher Feten führen (Mickelsen, 1995).

Es gilt, eine Substitution mit exogenem Progesteron spätestens zwei bis drei Tage vor dem errechneten Geburtstermin abzusetzen (Kustritz, 2001). Bei einer künstlichen Aufrechterhaltung der Progesteronkonzentration im Blutserum bis bzw. über den errechneten Geburtstermin hinaus, ist es der Hündin nicht mehr möglich, spontan zu gebären und es besteht ein erhöhtes Risiko von Geburtskomplikationen und Totgeburten (Tsutsui, 1983). Bei dem Einsatz von oral verabreichtem synthetischem Progesteron fällt die Progesteronkonzentration im Blutserum nach einem Tag auf die Ausgangswerte zurück. Wird natürliches Progesteron in einer Ölsuspension verwendet, kann die Progesteronkonzentration bis zu drei Tage nach der letzten Injektion aufrechterhalten werden (Kustritz, 2001). Dies muss beim Absetzen der exogenen Progesteronzufuhr unbedingt berücksichtigt werden.

### **3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN**

#### **3.1 Material und Methoden**

##### **3.1.1 Ziel der Untersuchung**

Ziel der Untersuchung war es, die Funktion der Corpora lutea gravidarum sowie nicht gravidarum Hündinnen mit einem verkürzten Interöstrus ( $4\pm 1$  Monate) in Zusammenhang mit einer Subfertilität zu untersuchen. In der Lutealphase wurden begleitende Hormonanalysen zur Charakterisierung der C.L. Funktion durchgeführt.

##### **3.1.2 Auswahl der Tiere**

Im Rahmen der Studie wurde bei tragenden sowie bei nicht tragenden Hündinnen die Gelbkörperphase mit Hilfe klinischer und endokrinologischer Verfahren untersucht.

Tiere mit folgenden Beobachtungen wurden in die Studie aufgenommen:

- Verkürzte Interöstrusintervalle
- Nichtträchtigkeit zum Zeitpunkt der ersten Ultraschalluntersuchung trotz Deckterminbestimmung
- Nachweis einer Trächtigkeit mit Resorption einzelner oder aller Fruchtanlagen in den Folgewochen
- Subfertilität
- Wiederholt geringe Wurfgröße bei einer Hündin aus einer sehr fruchtbaren Linie
- Aborte

Insgesamt wurden 40 Hündinnen mit Läufigkeitsintervallen von  $4\pm 1$  Monat und eingeschränkter Fruchtbarkeit sowie sechs Kontrollhündinnen in die Studie aufgenommen. Aufnahmekriterium für die Kontrollhündinnen waren Läufigkeitsintervalle von  $\geq 6$  Monaten und zwei vorhergehende physiologische Trächtigkeiten. Alle klinischen Verdachtsfälle auf eine Gelbkörperinsuffizienz wurden einer Verlaufsuntersuchung unterzogen.

##### **3.1.3 Anamneseerhebung**

Die Hündinnen wurden aufgrund ihrer Sterilitätsanamnese sowie klinischer Beobachtungen in die Studie aufgenommen. Zur Erfassung der Anamnese wurde ein Fragebogen entworfen, um mögliche Ursachen der Sterilität zu verifizieren. Dieser Anamnesebogen basiert auf den

Daten der Patientendatei der Klinik für Fortpflanzung, FU-Berlin, und den Angaben der Besitzer. Folgende Punkte wurden evaluiert:

- A. Allgemeine Krankheitsanamnese
  - (a) kürzlich vorausgegangene Krankheiten
  - (b) aktuelle Probleme
  - (c) Medikation
  - (d) Futter- und Ergänzungsfuttermittel
- B. Fortpflanzungsanamnese
  - (a) Zyklus
  - (b) Zuchtanamnese
  - (c) Trächtigkeitsanamnese
  - (d) wiederholter Fruchtverlust
  - (e) Erkrankungen der Geschlechtsorgane
  - (f) Zwingersituation
  - (g) Sonographische Untersuchungen

### **3.1.4 Versuchsdurchführung**

Bei den 46 Hündinnen wurden vor und während der Trächtigkeit zu festgelegten Zeitpunkten endokrinologische (Progesteron) sowie sonografische Untersuchungen (Real-Time Verfahren und M-Mode) durchgeführt (s. Tab. 4). Vor Versuchsbeginn wurden die Hunde einer klinischen Allgemeinuntersuchung sowie einer speziellen gynäkologischen Untersuchung unterzogen. Es wurden nur klinisch allgemein- und geschlechtsgesunde Tiere in den Versuch aufgenommen und den weiteren Untersuchungen zugeführt.

#### **3.1.4.1 Klinisch-gynäkologische Untersuchung**

Zur Erhebung des Ovulationszeitpunktes wurden die Hündinnen vom ersten Tag der Läufigkeit (Auftreten von blutigem Sekret im Vastibulum vaginae) in zwei- bis dreitägigen Abständen kontrolliert. Im Zuge der ersten klinisch-gynäkologischen Untersuchung einer jeden Läufigkeit wurde im Rahmen der vaginoskopischen Untersuchung eine Vaginaltupferprobe (Cultiplast<sup>®</sup> Transport Swab) im Bereich des kranialen Scheidendachs entnommen und einer mikrobiologischen Untersuchung zugeführt. Bei Vorliegen einer nicht-physiologischen Vaginalflora wurde eine systemische Therapie über einen Zeitraum von sieben Tagen durchgeführt. Das dafür verwendete Antibiotikum (Synulox<sup>®</sup>, 2x tägl. 12,5

mg/kg Körpergewicht) ist nicht fruchtschädigend und kann über den Deckzeitpunkt hinaus verabreicht werden.

Während der Trächtigkeit wurden die Tiere beim Auftreten von resorptions- bzw. abortbedingtem Ausfluss klinisch untersucht. Mit einem sterilen Tupfer wurde eine Probe aus der kranialen Vagina entnommen und im Institut für Mikrobiologie der FU-Berlin untersucht. Konnte ein pathogener vaginaler Keimgehalt nachgewiesen werden, wurde eine antibiotische Therapie nach Erstellung eines AntibioGRAMMS durchgeführt.

#### **3.1.4.2 Bestimmung des Ovulations- und Deckzeitpunktes**

Jede Untersuchung beinhaltete die Adspektion der Vulva und die Beurteilung eventuell vorhandenen, austretenden Sekrets. Anschließend wurde die Vulva palpiert um die Gewebekonsistenz und die Paarungsbereitschaft zu überprüfen. Zur vaginoskopischen Untersuchung wurde ein steriles Röhrenspekulum in die Vagina eingeführt und mit Hilfe eines mit steriler isotoner Kochsalzlösung befeuchteten Wattetupfers ein Abstrich aus dem kranialen Scheidendrittel entnommen. Die Vaginalschleimhaut wurde mittels einer Lichtquelle hinsichtlich Farbe, Feuchtigkeit und dem Grad der Fältelung beurteilt (Günzel-Apel, 1997). Der entnommene Tupfer wurde anschließend in drei Bahnen auf einem Objektträger ausgerollt und luftgetrocknet. Bei der anschließenden lichtmikroskopischen Untersuchung wurden Art und Lage der Epithelzellen, das Vorkommen von Erythrozyten oder neutrophilen Granulozyten sowie der Ausstrichhintergrund beurteilt. Die Untersuchung erfolgte bei 128-facher Vergrößerung.

Anhand der vaginoskopischen, vaginalzytologischen und hormonellen Befunde konnte das Erreichen der späten Follikelphase ermittelt werden. Zu diesem Zeitpunkt wurden Blutproben zur Bestimmung der peripheren Progesteronkonzentration in zwei- bis dreitägigen Abständen entnommen (3.1.5.1.). Bei einem präovulatorischen Progesteronanstieg von  $\geq 5,0$  ng/ml wurde die Hündin zwei Tage später zum Decken geschickt. In den meisten Fällen erfolgte ein zweiter Deckakt 24-48 Stunden nach dem ersten Deckakt. Bei den Deckrüden handelt es sich um Rüden in regelmäßigem Zuchteinsatz. Bei folgenden Ergebnissen der Hormonanalyse mittels ELISA wurde auf den jeweiligen Zyklusstand geschlossen.

Tabelle 2: Beziehung der Progesteronkonzentration im Serum mit signifikanten reproduktiven Abläufen

Progesteronkonzentration im Serum	Zyklusabhängiges Ereignis
$\leq 1,0$ ng/ml	Anöstrus oder früher Proöstrus
1,0-1,9 ng/ml	Ovulation minus 3 Tage Empfohlene Kontrolluntersuchung
2,0-2,9 ng/ml	Ovulation minus 2 Tage
3,0-3,9 ng/ml	Ovulation minus 1 Tag
4,0-10 ng/ml	Ovulation
$\geq 10,0$ ng/ml	Ovulation plus 2 Tage Optimaler Deckzeitpunkt

### 3.1.5 Endokrinologische Untersuchungen

#### 3.1.5.1 Gewinnung und Lagerung der Blutserumproben

Die Gewinnung der Blutproben begann im späten Proöstrus und erfolgte bis ca. eine Woche vor dem errechneten Geburtstermin (Tag 50-60 p.ov.). Sie erfolgte in Abständen von 5-7 Tagen. Bei einem Absinken der peripheren Progesteronkonzentration auf  $\leq 10$  ng/ml wurde die Frequenz auf einmal in 2-4 Tagen erhöht. Die Blutentnahme erfolgten durch Punktion der gestauten Vena cephalica antebrachii bzw. Vena saphena lateralis mittels einer sterilen Einmalkanüle (0,9 x 40 mm). Das Blut wurde nach etwa zehnminütiger Koagulation bei  $-3^{\circ}\text{C}$  für zehn Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert (Fa. Hettich) und der Überstand abpipettiert. Das Serum wurde in zwei Teile aliquotiert. Ein Teil des Serums (0,5 ml) wurde in ein mit dem Namen der Hündin, dem Tag nach der vermuteten Ovulation und dem Datum gekennzeichnetes Polypropylenröhrchen mit Schraubverschluss verbracht.

Proben für die Bestimmung von Progesteron mittels Radioimmunoassay (ImmuChem™ Double Antibody Progesteron®) wurden in einem Gefrierschrank bei  $-25^{\circ}\text{C}$  eingefroren und gelagert. Die tiefgefrorenen Serumproben wurden nach Abschluss der Untersuchungen retrospektiv gemeinsam analysiert. Proben für die Ermittlung der Progesteronkonzentration mittels des semi-quantitativen ELISA-Testverfahrens (Hormonost®) wurden unmittelbar untersucht.

### 3.1.5.2 Hormonassays

Für den semi-quantitativen Progesteronnachweis wurde ein visueller ELISA-Test (Hormonost<sup>®</sup>, biolab GmbH, München) herangezogen. Der Test macht die verschiedenen Stadien der Läufigkeit sowie einen kritischen Abfall der Progesteronkonzentration (Farbe blass bläulich) während der Trächtigkeit bzw. während des Diöstrus bei der Hündin sichtbar. Eine Farbtabelle und mitgelieferte standardisierte Seren (Standardserum 1 „Proöstrus“, Standardserum 2 „Ovulation“ wurden für die Interpretationssicherheit der Ergebnisse mitgeliefert. Für die Auswertung wurden die unterschiedlichen Messbereiche entsprechend der Farbabstufungen in sechs Kategorien von eins bis sechs unterteilt. Hierbei steht die eins für Werte unter Standard 1 (<1 ng/ml), zwei für Werte zwischen 1,0-1,9 ng/ml, drei für Werte zwischen 2,0-4,9 ng/ml, vier für Werte zwischen 5,0-7,9 ng/ml, fünf für Werte zwischen 8,0-11,9 ng/ml und sechs für Werte von  $\leq 12$  ng/ml.

Tabelle 3: Interpretation der Farbwerte des semiquantitativen Schnelltestverfahrens

Hormonost <sup>®</sup>	Kategorie (mw_Hormonost <sup>®</sup> )	Interpretation	Progesteron
Dunkler als Standard 1	1 (0,5 ng/ml)	Basalwert	< 1 ng/ml
Gleich Standard 1	2 (1,5 ng/ml)	Proöstrus	1-2 ng/ml
Heller als Standard 1 Dunkler als Standard 2	3 (3,5 ng/ml)	Beginn Cl. Aktivität LH-Peak	2-5 ng/ml
Gleich Standard 2	4 (6,5 ng/ml)	Ovulation	5-8 ng/ml
Geringfügig heller als Standard 2	5 (10 ng/ml)	Konzeption	8-12 ng/ml
Deutlich heller als Standard 2	6 (20,0 ng/ml)	Hohe Cl. Aktivität	> 12 ng/ml

Die Serumproben für den quantitativen Progesteronnachweis wurden im Labor der Tierklinik für Fortpflanzung der FU-Berlin ausgewertet. Dazu wurde ein <sup>125</sup>I-Radioimmunoassay (RIA) der Fa. MP Biomedicals Germany GmbH, Eschwege verwendet.

Um einen Vergleich anzustreben, welche der beiden Methoden sich zur Kontrolle der Progesteronkonzentration in der Lutealphase besser eignet bzw. in welchen Messbereichen eventuelle Ungenauigkeiten auftreten, wurden für verschiedenen Messbereiche des ELISA-Tests Mittelwerte festgelegt (mw\_Hormonost<sup>®</sup>), die mit den Werten des RIA verglichen wurden.

### **3.1.6 Sonographische Untersuchung**

#### **3.1.6.1 Vorbereitung und Handhabung der Tiere**

Die sonographische Untersuchung fand in einem abgedunkelten Raum statt. Die Hündinnen waren unsediert und wurden stehend oder nach der von Günzel-Apel und Dietrich (2001) beschriebener Vorgehensweise in Seitenlage auf einer gepolsterten Unterlage untersucht. Die Tiere wurden, wenn notwendig, beidseitig unterhalb der Lendenmuskulatur und kaudal des Rippenbogens auf einer ca. handtellergroßen Fläche sowie im Bereich des ventralen Abdomens geschoren. Die ausrasierte Fläche wurde mit 90%igem Ethanol entfettet und anschließend wurde ein handelsübliches Ultraschallgel aufgetragen. Zum besseren Auffinden der Uteri und der Früchte wurde bei den Tieren eine zwölfstündige Nahrungskarenz eingehalten.

#### **3.1.6.2 Untersuchungsablauf**

Alle sonographischen Untersuchungen wurden mit dem Modell CS 9100 „Oculus“ (Picker International GmbH, Espelkamp) und unter Verwendung eines 7,5-MHz-Linearschallkopfes durchgeführt.

Zwischen Tag 19 und 21 nach der Ovulation wurde der sonographische Trächtigkeitssnachweis erstmals durchgeführt. War zu diesem Zeitpunkt eine Gravidität nicht eindeutig feststellbar, wurde die Untersuchung zwei Tage später wiederholt. Von Tag 21 bis 58 p.ov. wurde der gravide Uterus sowohl im Real-Time-Verfahren (Anzahl und Integrität der Früchte) als auch im M-Mode (embryonale/fetale Herzfrequenz) in 5-7tägigen Abständen untersucht. Die Untersuchungsfrequenz wurde bei Abweichungen von physiologischen Befunden erhöht.

Der Schallkopf wurde an der seitlichen Brustwand kaudal des Rippenbogens und ventral der Lendenmuskulatur angelegt. Zur Orientierung wurden zunächst an jeder Körperseite die Harnblase sowie der jeweilige Eierstock aufgesucht. Der Uterus konnte vom Ovar aus in Richtung Zervix durch langsames Schwenken des Schallkopfes verfolgt werden und war bei der Erstuntersuchung in ganzer Länge darstellbar.

Die Embryonen bzw. Feten wurden im Real-Time-Verfahren (zweidimensionales B-Bild-Verfahren) hinsichtlich ihrer Anzahl und ihrer Entwicklung sowie ihrer Integrität bzw. Vitalität beurteilt. Die fetalen bzw. embryonalen Herzfrequenzen sowie ein eventuelles Sistieren der Herzaktion wurden im M-Mode ermittelt. Dazu wurde die Ebene der Ultraschallwellen so positioniert, dass Sie das embryonale bzw. fetale Herz durchtraten.

Beurteilt wurden die in Kap. 2.5 aufgeführten Charakteristika einer Dysfunktion in der frühen Trächtigkeit. Hierbei wurden „intakte Fruchtkammern“, „frische Resorption“ und „Resorption“ voneinander unterschieden. Bei der „frischen Resorption“ wurde der Fruchttod am jeweiligen Untersuchungstag oder am Vortag festgestellt. In der Kategorie „Resorption“ ist der Fruchttod mindestens zwei Tage vorher eingetreten, d.h. ein Verschwimmen der fetalen Organstrukturen, die Zersetzung der Frucht sowie das „Aufquellen“ der Plazenta (Günzel-Apel, 2001).

### 3.2 Einteilung der Gelbkörperphasen

Die zur Charakterisierung der Ovarfunktion ermittelten Progesteronkonzentrationen sowie die Ergebnisse der sonographischen Untersuchungen wurden folgenden Untersuchungsabschnitten zugeordnet (Tag 0=Ovulation): Tag 5-15 (Gelbkörperanbildung, vor Implantation), Tag 16-20 (Gelbkörperanbildung, Implantation), Tag 21-25 (Gelbkörperblüte 1), Tag 26-30 (Gelbkörperblüte 2), Tag 31-40 (Gelbkörperblüte 3), Tag 41-50 (frühe Gelbkörperregression), Tag 51-60 (späte Gelbkörperregression).

Tabelle 4: zeitlicher Versuchsablauf

Untersuchung	Tage post ovulationem						
	5-15	16-20	21-25	26-30	31-40	41-50	51-60
B-Mode		x	x	x	x	x	x
M-Mode		x	x	x	x	x	x
Blutentnahme*	x	x	x	x	x	x	x

\* nach der Blutentnahme folgte die direkte Analyse der Progesteronkonzentration mittels Elisa

#### 3.2.1 Substitution von exogenem Progesteron

Bei Hündinnen, die in der Trächtigkeit erniedrigte Progesteronwerte ( $\leq$  Standard 2 im Hormonost<sup>®</sup>-Test) in Zusammenhang mit der sonographischen Darstellung lebensfähiger Föten aufwiesen, wurde exogenes Progesteron substituiert. Bei dem substituierten Progesteron handelt es sich um ein natürliches Progesteron in einer öligen Suspension (Progesteron I.B.V, Albrecht, Aulendorf, Deutschland). Diese Zubereitung wurde i.d.R. von den Besitzern in einer Dosierung von 2 mg/kg Körpergewicht alle 48 Stunden i.m. verabreicht (Scott-Moncrieff, 1990). Die drei letzten Injektionen wurden in einer Dosierung von 1 mg/kg

Körpergewicht verabreicht. Die Zufuhr von exogenem Progesteron wurde bis spätestens 58 Tage p.ov. fortgesetzt, um eine termingerechte Geburt zu gewährleisten.

### **3.2.2 Einteilung der Tiere (Gruppen 0-3)**

Die 46 Tiere, die in die Studie eingingen wurden zum Vergleich der Progesteronverläufe in den verschiedenen Lutealphasen in insgesamt vier Gruppen eingeteilt. Die Kontrolltiere bilden die Gruppe 0. In der Gruppe 1 befinden sich Tiere, die nicht tragend sind. Dabei handelt es sich um Hündinnen, die entweder gar nicht gedeckt wurden oder aber gedeckt und nicht tragend wurden. Hündinnen, die tragend waren, im Laufe der Gravidität jedoch nicht mit exogenem Progesteron substituiert wurden befinden sich in Gruppe 2. Diejenigen Tiere, die auf Grund ihrer niedrigen Progesteronwerte mit exogenem Progesteron substituiert wurden (siehe 3.2.1) finden sich in Gruppe 3 wieder.

### **3.2.3 Statistische Auswertung der endokrinologischen Ergebnisse**

Die statistische Auswertung der endokrinologischen Ergebnisse erfolgt aufgrund der geringen Tierzahl rein deskriptiv. Die Hormonprofile wurden durch die deskriptiven Messgrößen arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichung (SD) sowie des minimalen (Min) und des maximalen (Max) Wertes beschrieben. Die Berechnungen wurden mit Hilfe des Computerprogramms SPSS<sup>®</sup> 12.0 sowie Microsoft Excel 2003 durchgeführt.

Der statistische Vergleich der Läufeintervalle vor und nach der P<sub>4</sub>-Substitution erfolgte mit dem Mann-Whitney-Test. Die Unterschiede zwischen den Progesteronkonzentrationen im Serum zu den entsprechenden Zeitpunkten p.ov. wurden mit einem t-test für unabhängige Stichproben verglichen (Kruskal-Wallis). Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  werden die Testergebnisse als signifikant bezeichnet, wenn  $p < \alpha$  ist.

Die Ergebnisse sind im explorativen Sinne zu interpretieren und nicht ohne weiteres Verallgemeinerbar.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Anamnestische Befunde

Im Rahmen der Untersuchung wurden 46 zyklische Hündinnen im Alter von 2,5 bis 10 Jahren vorgestellt. Bei allen Tieren handelt es sich um Hündinnen aus Privatbesitz. Die Tiere wurden in der Zucht eingesetzt und befanden sich in einem guten Gesundheits- und Pflegezustand. Ein Teil der Tiere lebt mit mehreren Hunden in Zwingerhaltung. Der andere Teil lebt einzeln oder zu zweit in der Wohnung mit täglichem Auslauf. Die mehrheitliche Anzahl der Tiere ist der Rasse Deutscher Schäferhund (DSH=24) zuzuordnen. Des Weiteren wurden Hunde der Rassen Rottweiler (4), Entlebucher Sennenhund (1), Irischer Wolfshund (1), Neufundländer (2), Yorkshire Terrier (3), Dalmatiner (1), Berner Sennenhund (4), Hannoveraner Schweißhund (1), Pittbull (2) und Rhodesian Ridgeback (3) in die Studie aufgenommen. Die Hündinnen wurden in einem Zeitraum von März 2005 bis Dezember 2006 in der Tierklinik für Fortpflanzung der FU-Berlin vorgestellt.

Das Intervall zwischen der letzten Läufigkeit und der im Rahmen der vorliegenden Studie genutzten Läufigkeit der Hündinnen bewegt sich in einem Zeitraum zwischen dreieinhalb und sieben Monaten. Die Kontrolltiere (n=6) wiesen Läufigkeitsintervalle von durchschnittlich sechseinhalb Monaten auf. Die Hündinnen der Gruppen 1 bis 3 wiesen Läufigkeitsintervalle von fünf (n=16), viereinhalb (n=8), vier (n=11) und dreieinhalb (n=5) Monaten auf.

Um die erste Belegung bei Teilnahme an der Studie handelte es sich bei drei Tieren, d.h. sie wurden bei der Erhebung der Fruchtbarkeit nicht beachtet. Bei den restlichen Hündinnen (n=37) hat bei insgesamt 70,3% der Hündinnen eine Bedeckung im vorausgehenden Zyklus nicht zur Geburt geführt. Davon wurden bei 18,9% (n=7) eine Resorption und bei 5,4% (n=2) ein Abort nachgewiesen. Bei den restlichen 46,0% handelt es sich um Hündinnen, die zwar gedeckt wurden, jedoch nicht ausgetragen haben. In diesen Fällen waren den Besitzern die Ursachen hierfür nicht bekannt, da keine weiterführenden Untersuchungen unternommen wurden. In 24,3% der Fälle trat dieser Umstand zweimal hintereinander ein. Bei elf Hündinnen (29,7%) führte die Bedeckung zu einer erfolgreichen Geburt. Davon wurden jedoch fünf Hündinnen schon einmal mit Progesteron substituiert und sechs Hündinnen hatten trotz einer wurfstarken Linie nur eine vergleichsweise geringe Anzahl an Welpen. Aufnahmekriterium der Kontrolltiere waren zwei vorausgegangene erfolgreiche Deckakte

hintereinander mit einer der Linie angepassten Wurfgröße. Sie zeigten einen physiologischen Verlauf der Trächtigkeit.

Tabelle 5: Reproduktionsanamnestische Daten aller 46 Hündinnen (inkl. Kontrolltiere) und Anteil der Hündinnen, die während der Gravidität mit exogenem Progesteron substituiert wurden.

Reproduktionsanamnese	—Hündinnen gesamt—		—Hündinnen substituiert—	
	n	%	n	% <sup>a</sup>
normaler Verlauf <sup>1</sup>	6	13	0	0,0
Resorption	7	15,2	4	23,5
Abort	2	4,3	0	0,0
leer geblieben	8	17,4	2	11,8
kleiner Wurf	6	13	2	11,8
zweimal leer geblieben	9	19,6	5	29,4
Progesteronsubstitution	5	10,9	4	23,5
erste Trächtigkeit	3	6,5	0	0,0
$\Sigma^*$	46	99,9	17	100,0

\*durch Rundung ergibt die Summe nicht exakt 100%, <sup>1</sup> Kontrollhündinnen, a Anteil in Prozent aller an der Studie teilnehmenden Hündinnen

## 4.2 Progesteronsubstitution und Fruchtbarkeit

### 4.2.1 Deckterminbestimmung

Hormonost<sup>®</sup> ist ein semiquantitatives Testverfahren, welches nach dem ELISA-Prinzip arbeitet und dient als alleinige Grundlage der Bestimmung der vermuteten Ovulation. Die Bestimmung des Ovulationsbeginnes ergab sich aus den Befunden der Vaginoskopie, Zytologie und der Bestimmung der Progesteronkonzentration im Serum mit dem Hormonost<sup>®</sup>. Daraus ergaben sich die in Abb. 1 dargestellten Ovulationszeitpunkte.

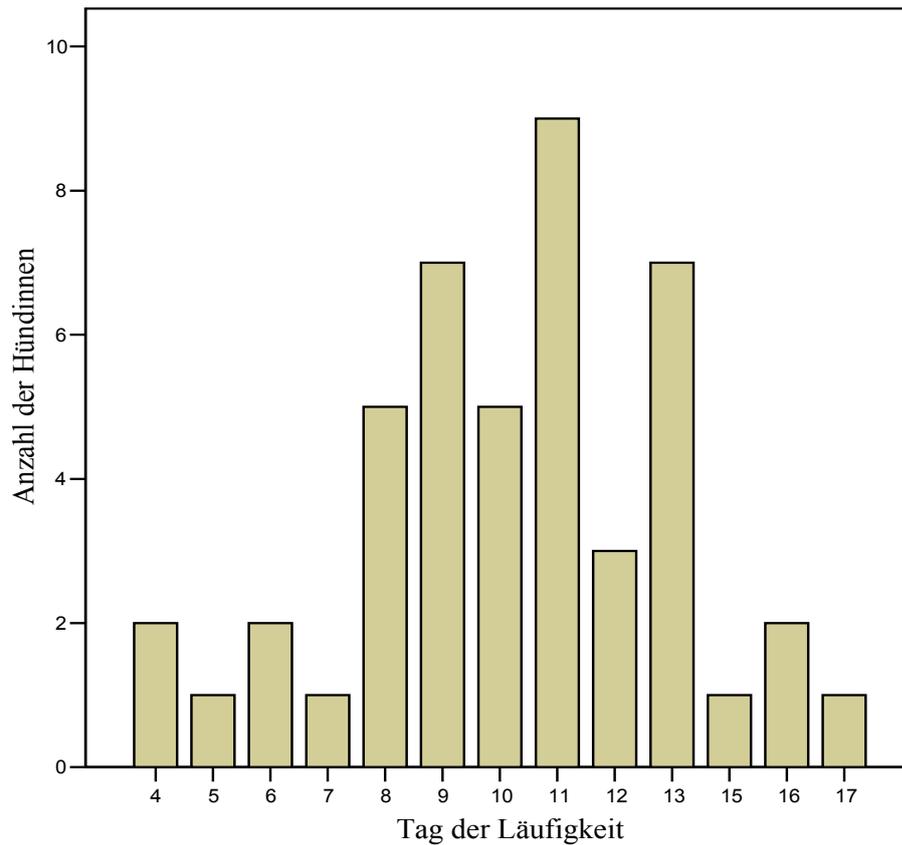


Abbildung 1: Ovulationszeitpunkte der Hündinnen (n=46)

Der ermittelte Ovulationszeitpunkt lag bei den untersuchten Hündinnen zwischen Tag 4 und 17 der Läufigkeit. Im Mittel lag der geschätzte Ovulationstermin bei den 46 Hündinnen bei Tag 10,3 der Läufigkeit mit einer Standardabweichung von 2,9.

#### 4.2.2 Substituierte Hündinnen

Insgesamt wurden 17 Hündinnen (Gruppe 3) mit exogenem Progesteron substituiert. Die Substitution wurde begonnen, wenn der Hormonost<sup>®</sup> einen kritischen Progesteronwert anzeigte ( $\leq 5$  ng/ml). Die Tage der beginnenden Substitution variierten stark.

Tabelle 11: Häufigkeiten und Zeitpunkte der P<sub>4</sub>-Substitution aller Hündinnen mit verkürzten Läufigkeitsintervallen und eingeschränkter Fruchtbarkeit in der Lutealphase

	Häufigkeit	
	n	%
kein exogenes Progesteron	23	57,5
P4-Substitution		
Tag p.ov.		
19	4	10
20	2	5
21	1	2,5
23	2	5
24	3	7,5
26	1	2,5
28	1	2,5
31	1	2,5
32	1	2,5
34	1	2,5
Σ	40	100,0

Der prozentuale Anteil an tragenden Tieren (n=31), die mit exogenem Progesteron substituiert wurden beträgt 54,8%. Von diesen substituierten Hündinnen warfen 70,6% zum physiologischen Geburtstermin (im Mittel Tag 63,1).

Von den 5 Hündinnen mit einem Interöstrus-Intervall von 3,5 Monaten wurden alle Hündinnen während der Trächtigkeit mit exogenem Progesteron substituiert. Bei den Hündinnen mit Läufigkeitsintervallen von 4 Monaten betrug dieser Anteil 54,5%. Von den Hündinnen, die ein Läufigkeitsintervall von 4,5 Monaten aufwiesen wurden 50,0% substituiert und bei Hündinnen mit einem Läufigkeitsintervall von 5 Monaten betrug dieser Anteil nur noch 12,5%. Die Tiere, die während der Trächtigkeit mit exogenem Progesteron substituiert wurden, wiesen in dem darauf folgenden Zyklus längere Läufigkeitsintervalle auf als in dem vorausgegangenen Zyklus. Die Hündinnen der Gruppen 1-3 wiesen nach der Progesteronsubstitution ein mittleres Läufigkeitsintervall von 4,7 Monaten auf. Der Mittelwert der vorhergehenden Läufigkeitsintervalle betrug 4,1 Monate. Die Differenz der

Läufigkeitsintervalle der substituierten Hündinnen vor und nach der Substitution war nach dem Mann-Whitney-Test signifikant ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.3 Tragende Hündinnen

Von allen Hündinnen mit eingeschränkter Fertilität und verkürzten Läufigkeitsintervallen ( $n=40$ ) wurden 36 Hündinnen von einem Deckrüden gedeckt. Von den übrigen vier waren drei Hündinnen Geschwistertiere, die ebenso wie ihre Geschwister eine eingeschränkte Fruchtbarkeit aufwiesen, jedoch auf Wunsch der Besitzer nicht belegt werden sollten. Eine weitere Hündin war schon zu alt, um noch einmal einen Wurf zur Welt zu bringen. Sie wurde während zwei vorherigen Trächtigkeiten erfolgreich mit exogenem Progesteron unterstützt. Sonographisch für tragend befunden wurden 31 der 36 gedeckten Tiere (86,1%), d.h. 5 Tiere wurden nicht tragend. Von den tragenden Hündinnen warfen 24 (77,4% der tragenden Tiere) zum physiologischen Geburtstermin. Zum Vergleich der Progesteronkonzentrationen wurden 3 der Kontrolltiere ( $n=6$ ) gedeckt. Alle drei wurden sonographisch für tragend befunden. Die mittlere Anzahl der Welpen lag bei 5,6 in der Kontrollgruppe und 5,8 bei den tragenden Tieren, die keiner  $P_4$ -Substitution unterworfen wurden. Hündinnen, die mit exogenem Progesteron substituiert wurden, wiesen eine mittlere Wurfgröße von 4,2 Welpen auf.

Tabelle 6: Anzahl der Tiere, die gedeckt bzw. tragend (TU+) wurden sowie Anzahl der tragenden Tiere, die mit exogenem Progesteron substituiert wurden.

TU	P4-Substitution in %		$\Sigma$ n (%)
	ja	Nein	
positiv	54,8	45,2	31 (100,0)
negativ	0	100	5 (100,0)
$\Sigma$ (n)			36

#### 4.2.4 Laktation

Die Gesäuge der Tiere entwickelten sich physiologisch zur Geburt hin. Alle Hündinnen, die im Laufe der Gravidität mit exogenem Progesteron substituiert worden waren, sind direkt post partum in die Milchproduktion übergegangen und konnten ihre Welpen ausreichend säugen. Eine Zugabe von Milchpulver war demzufolge nicht notwendig.

## **4.3 Endokrinologische Befunde**

### **4.3.1 Durch den Radioimmunoassay ermittelte periphere Progesteronkonzentrationen**

Zum Vergleich der peripheren Progesteronkonzentrationen im Blutserum wurden die Tiere in vier Gruppen unterteilt. Die Kontrolltiere sind zusammengefasst in Gruppe 0. In Gruppe 1 befinden sich Tiere, die nicht tragend waren und somit auch keiner Substitution unterzogen wurden. Gruppe 2 beinhaltet Tiere, die tragend waren, jedoch aufgrund ausreichend hohen P<sub>4</sub>-Werten sowie dem sonographischen Nachweis vitaler Früchte nicht substituiert werden mussten. In Gruppe 3 befinden sich schließlich die Hündinnen, die um einen Verlust der Trächtigkeit zu vermeiden, mit exogenem Progesteron substituiert wurden. Die Progesteronwerte im Blutplasma zeigen bei allen Hündinnen trotz der Unterschiede im späteren Verlauf der Trächtigkeit, bzw. im Metöstrus einen postovulatorischen Anstieg. Tabelle 9 zeigt einen Überblick über die mittleren Progesteronkonzentrationen aller Gruppen.

Tabelle 9: Mittlere Progesteronkonzentrationen ( $\bar{x}$ ) in ng/ml, Standardabweichungen ( $\pm$ SD), Minimum (min) und Maximum (max) aller 46 Hündinnen getrennt nach Gruppen

	Gruppe 0	n	min	max	$\bar{x}$	$\pm$ SD
C.1. Anbildung, vor Implantation (5-15)		6	31,4	68,3	45	15,6
C.1. Anbildung, Implantation (15-20)		6	26,7	60,1	39	12,6
Gelbkörperblüte 1 (20-25)		6	24,6	56,9	37	12,9
Gelbkörperblüte 2 (25-30)		6	17,4	52,4	32,5	13,7
Gelbkörperblüte 3 (30-40)		6	13,6	39	24,3	10
frühe Gelbkörperpergression (40-50)		6	7,3	18,1	13,4	4,3
späte Gelbkörperpergression (50-60)		6	4,5	11,2	7,7	2,9
<b>Gruppe 1</b>						
C.1. Anbildung, vor Implantation (5-15)		9	13,6	36,5	20,8	6,7
C.1. Anbildung, Implantation (15-20)		9	12,6	34,8	19,1	8,7
Gelbkörperblüte 1 (20-25)		9	7,1	27,4	13	6
Gelbkörperblüte 2 (25-30)		9	4,6	15,4	9,5	3,8
Gelbkörperblüte 3 (30-40)		9	2,4	12,8	5,8	3,1
frühe Gelbkörperpergression (40-50)		9	1	10	3,2	2,7
späte Gelbkörperpergression (50-60)		9	0,2	5,3	1,1	1,6
<b>Gruppe 2</b>						
C.1. Anbildung, vor Implantation (5-15)		14	21,9	58,4	35	13,6
C.1. Anbildung, Implantation (15-20)		14	6,3	56,8	32,8	17,5
Gelbkörperblüte 1 (20-25)		14	11,4	58,4	26,9	15,2
Gelbkörperblüte 2 (25-30)		14	10,2	42,1	19,3	9,9
Gelbkörperblüte 3 (30-40)		14	3,2	26,1	12	5,9
frühe Gelbkörperpergression (40-50)		14	1,1	11,2	7,2	3
späte Gelbkörperpergression (50-60)		14	0	12	4,5	3,1
<b>Gruppe 3</b>						
C.1. Anbildung, vor Implantation (5-15)		17	10,5	45	23,8	10,3
C.1. Anbildung, Implantation (15-20)		17	6	32,9	15,1	8,1
Gelbkörperblüte 1 (20-25)		17	2,8	25,6	12,6	7,3
Gelbkörperblüte 2 (25-30)		17	4,3	55	15,5	12,1
Gelbkörperblüte 3 (30-40)		17	2,1	50,7	15,3	13,5
frühe Gelbkörperpergression (40-50)		17	1,2	65	14	15,9
späte Gelbkörperpergression (50-60)		17	0,1	11,8	4,7	3,7

In der Gruppe 0 befanden sich sechs Hündinnen, die als Kontrolltiere in die Studie eingingen. Davon waren drei Hündinnen nicht tragend und drei Tiere tragend. Die peripheren Progesteronkonzentrationen der tragenden Kontrolltiere zeigen den typischen Verlauf bei einer physiologischen Gravidität. In Tabelle 9 wurden die tragenden und die nicht tragenden Tiere zusammengefasst. Bis zur Mitte der Gravidität lagen bei den drei tragenden Tieren hohe Werte vor (Tag 25-30 p.ov: 42,8, 36,8 und 52,4 ng/ml). Anschließend fielen diese, bedingt durch die Gelbkörperregression, auf durchschnittlich 13,6 ng/ml im letzten Trächtigkeitsdrittel (Tag 40-60 p.ov.) ab. Bei den nicht tragenden Hündinnen (n=3) wurden bis zur Mitte der Gravidität ebenfalls hohe P<sub>4</sub>-Werte verzeichnet (Tag 23-30 p.ov: 24,5, 21,4 und 17,4 ng/ml), die im letzten Trächtigkeitsdrittel auf durchschnittlich 7,5 ng/ml fielen. Die drei tragenden Hündinnen warfen nach Erreichen basaler Progesteronkonzentrationen.

Hündinnen der Gruppe 1 (n=9) wiesen niedrigere Mittelwerte in den verschiedenen Stadien der Lutealphase auf, als Tiere der Gruppen 2 und 3 sowie in der Kontrollgruppe. Des Weiteren wurden hier die kleinsten Standardabweichungen verzeichnet. Die mittleren Progesteronkonzentrationen im Blutserum liegen in den Lutealphasen, beginnend mit der Gelbkörperanbildung bei 20,8, 19,1, 13,0, 9,5, 5,8, 3,2 und 1,1 ng/ml. In dieser Gruppe erreichten zwei Hündinnen erstmals P<sub>4</sub>-Werte unter 5 ng/ml zwischen Tag 25-30 p.ov. Eine weitere Hündin erreichte P<sub>4</sub>-Werte unter 5 ng/ml zwischen Tag 30-40 und fünf weitere zwischen Tag 40-50 p.ov. Nur eine Hündin konnte bis zur Phase der späten Gelbkörperregression (Tag 50-60 p.ov.) P<sub>4</sub>-Werte von über 5 ng/ml aufweisen. Das Absinken des P<sub>4</sub>-Spiegels auf < 2 ng/ml, war in dieser Gruppe bei vier Hündinnen zwischen Tag 40-50 p.ov. und bei weiteren vier zwischen Tag 50-60 p.ov. zu verzeichnen.

Hündinnen aus Gruppe 2 (n=14) wiesen im Vergleich zu den Tieren der Gruppen 1 höhere Mittelwerte auf. Bis zum Stadium der Gelbkörperblüte (Tag 25-30 p.ov.), sind auch gegenüber der Gruppe 3 höhere Mittelwerte zu verzeichnen. Die mittleren Progesteronwerte in dieser Gruppe liegen in den Lutealphasen bei 35,0, 32,8, 26,9, 19,3, 12,0, 7,2 und 4,5 ng/ml. Eine Progesteronkonzentration von über 5ng/ml in allen Lutealphasen wurde bei vier Hündinnen nachgewiesen. In dieser Gruppe erreichten neun Hündinnen erstmals zwischen Tag 50-60 p.ov. Progesteronwerte von unter 5 ng/ml, davon erreichten drei Tiere P<sub>4</sub>-Werte unter 2 ng/ml. In der Mitte der Trächtigkeit kam es bei zwei Hündinnen zu einer spontanen Resorption von zwei bzw. drei ihrer Früchte bei konstanten Progesteronkonzentrationen.

Tiere, die der Gruppe 3 zugeordnet wurden (n=17), erreichten von Tag 25-50 p.ov. die höchsten Maximalwerte sowie die höchste Standardabweichung. Die Mittelwerte der Progesteronkonzentrationen in den jeweiligen Lutealphasen betragen 23,8, 15,1, 12,6, 15,5, 15,3, 14,0 und 4,7 ng/ml. In dieser Gruppe haben fünf Hündinnen den P<sub>4</sub>-Wert von 5 ng/ml nicht unterschritten. Im frühen Stadium der Gelbkörperblüte (Tag 20-25 p.ov.) erreichten vier Hündinnen erstmals eine Progesteronkonzentration von unter 5 ng/ml. Zwischen Tag 25-30 p.ov. wurde dieser Wert von zwei weiteren Tieren unterschritten. Im späten Stadium der Gelbkörperblüte (Tag 30-40 p.ov.) wurden erstmals P<sub>4</sub>-Werte unter 5 ng/ml von vier Hündinnen erreicht und bei einem Tier zwischen Tag 40 und 50 p.ov. Eine P<sub>4</sub>-Konzentration von < 2 ng/ml wurde bei zwei Hündinnen erstmals zwischen Tag 40-50 p.ov. ermittelt. Bei beiden Hündinnen kam es zu einer Resorption aller Früchte. Bei vier weiteren wurden P<sub>4</sub>-Werte von < 2 ng/ml zwischen Tag 50-60 p.ov. verzeichnet. Von diesen vier Hündinnen kam es nur bei einer Hündin zu einer Geburt.

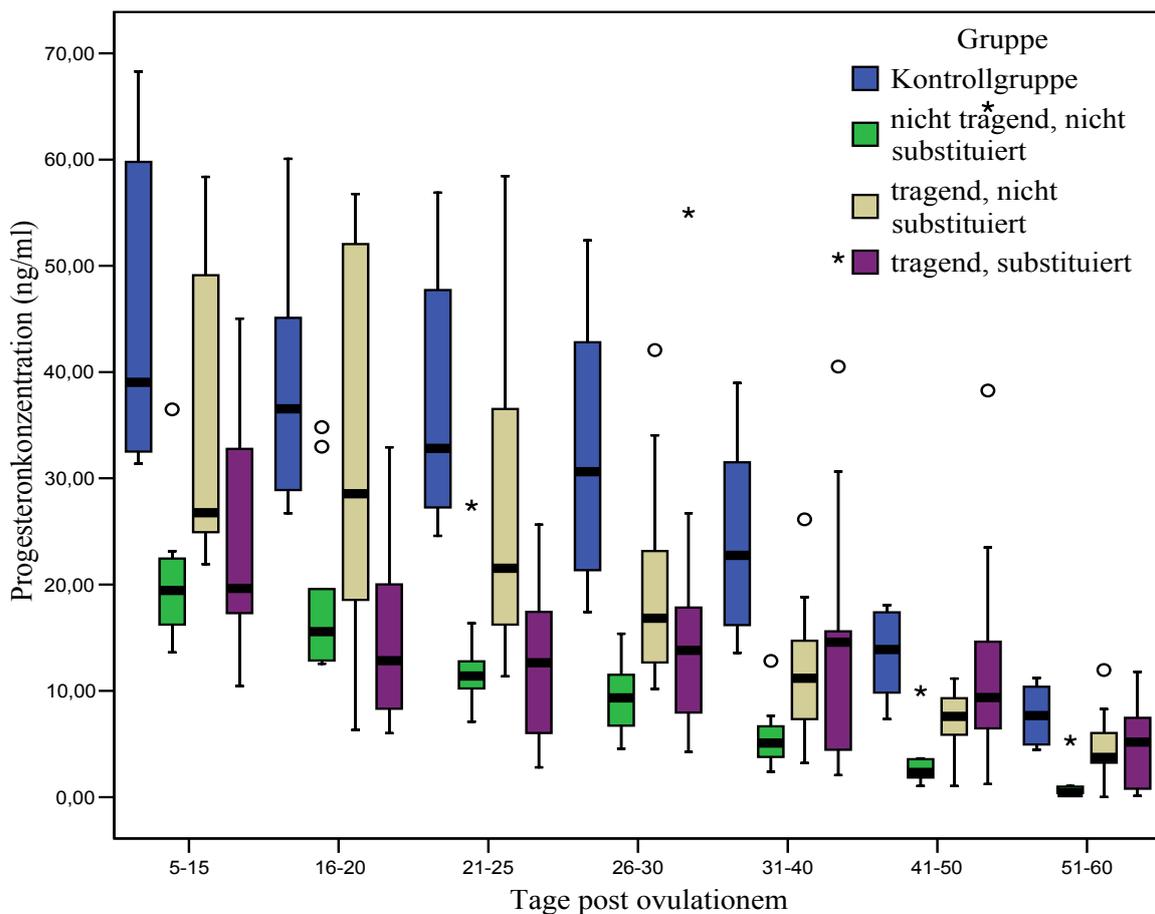


Abbildung 2: Progesteronkonzentrationen der Gruppen 0, 1, 2 und 3 während der Lutealphase.

#### 4.3.2 Durch Hormonost<sup>®</sup> ermittelte periphere Progesteronwerte

Die Bestimmung der Progesteronkonzentration im Blutserum mittels des semiquantitativen Testverfahrens Hormonost<sup>®</sup> erfolgte direkt nach der Untersuchung der Hündinnen. Dieses Testverfahren erlaubt die Erfassung von Progesteronkonzentrationen, die das bei der Ovulation bestehende Niveau übersteigen und daher für das Vorhandensein aktiver Gelbkörper sprechen.

Die Kontrollhündinnen der Gruppe 0 wiesen auch bei den Messungen durch den Hormonost<sup>®</sup>-Test zu jeder Zeit einen physiologisch hohen Progesteronwert von über 12 ng/ml bei den tragenden Tieren auf. Bei den nicht tragenden Tieren fielen zwischen Tag 40 und 50 die peripheren Progesteronwerte bei zwei Hündinnen auf Werte zwischen 8-12 ng/ml. Bei der dritten Hündin war dieser Abfall erst zwischen Tag 50 und 60 zu verzeichnen.

Bei den nicht tragenden Hündinnen der Gruppe 1 wurden auch mit dem Hormonost<sup>®</sup>-Test deutlich früher abfallende P<sub>4</sub>-Werte gemessen als bei den nicht-tragenden Kontrollhündinnen. Eine Hündin fiel bereits zwischen Tag 20 und 25 p.ov. auf Werte unter 12 ng/ml. Um Tag 45 p.ov. sind bereits zwei Hündinnen auf P<sub>4</sub>-Werte von 2-3 ng/ml abgefallen. Basale Progesteronkonzentrationen von unter 1 ng/ml um Tag 55 p.ov. wiesen bereits zwei Drittel der Hündinnen auf. Bei den Tieren der Kontrollgruppe wurden diese niedrigen P<sub>4</sub>-Konzentrationen zu keinem Zeitpunkt der Untersuchungen festgestellt.

In Gruppe 2 verhielten sich die Progesteronkonzentrationen während der Trächtigkeit annähernd analog zu denen der Kontrollgruppe. Eine der neun Hündinnen fiel in dem Zeitraum von Tag 15-20 p.ov. kurzfristig auf eine periphere Progesteronkonzentration von 5-8 ng/ml ab. Bei der nächsten Messung wies die Hündin allerdings wieder Werte von über 12 ng/ml auf. Um Tag 25-30 p.ov. wies die erste Hündin konstante Werte von 8-12 ng/ml auf. Gegen Ende der Gelbkörperblüte (Tag 30-40 p.ov.) fiel eine zweite Hündin auf P<sub>4</sub>-Werte von 8-12 ng/ml, eine Dritte sogar auf P<sub>4</sub>-Werte von 2-3 ng/ml. Die kritische Konzentration von  $\leq 2$  ng/ml wurden von einer Hündin zwischen Tag 40 und 50 p.ov. erreicht. Bei der letzten Messung um Tag 55 p.ov, waren basale Progesteronkonzentrationen von unter 1 ng/ml bei insgesamt zwei Hündinnen zu verzeichnen.

Die 17 Hündinnen der Gruppe 3 wiesen bei den durch den Hormonost<sup>®</sup>-Test ermittelten Progesteronkonzentrationen die größten individuellen Schwankungen auf. Zwischen Tag 5-15

p.ov. konnte noch bei allen Tieren eine Progesteronkonzentration von über 12 ng/ml verzeichnet werden. Jedoch schon bei der zweiten Bestimmung um Tag 20-25 p.ov. sind die P<sub>4</sub>-Werte bei zwei Hündinnen auf 8-12 ng/ml, bei drei Hündinnen auf 5-8 ng/ml und bei einer Hündin in den kritischen Bereich von 1-2 ng/ml gefallen. Mit der Substitution von exogenem Progesteron wurde in dieser Phase der Gelbkörperanbildung bei vier Hündinnen begonnen. Diese Hündinnen zeigten bei der darauf folgenden Bestimmung der Progesteronwerte einen Anstieg auf über 12 ng/ml. Zu Beginn der Gelbkörperblüte (Tag 20-25 p.ov.) wiesen weitere sieben Hündinnen Progesteronkonzentrationen unter 12 ng/ml auf. In diesem Stadium der Gelbkörperphase wurden sechs der o.g. Hündinnen aufgrund niedriger Progesteronkonzentrationen mit exogenem Progesteron substituiert. Bei diesen Hündinnen wurden eine Woche später ebenfalls wieder P<sub>4</sub>-Werte über 12 ng/ml mit dem Hormonost<sup>®</sup> nachgewiesen. In der Mitte der Gelbkörperblüte wurde ein Abfall der Progesteronkonzentration bei zwei Hündinnen trotz der Substitution exogenen Progesterons verzeichnet. Die Progesteronsubstitution beider Hündinnen wurde darauf hin unterlassen, um die Gefahr einer Gebärmuttervereiterung zu minimieren. Bei vier weiteren Tieren wurde in diesem Zeitraum ein Abfall der peripheren Progesteronkonzentration verzeichnet. Dieser Abfall war jedoch nicht so gravierend, dass diese Tiere substituiert werden mussten. In der frühen Gelbkörperregression wiesen noch zehn Hündinnen P<sub>4</sub>-Werte von über 12 ng/ml auf. Diese zehn Tiere wurden bereits mit exogenem Progesteron substituiert. Allerdings war zu diesem Zeitpunkt auch bei vier Hündinnen, trotz Progesteronsubstitution ein wiederholter Abfall der P<sub>4</sub>-Werte zu verzeichnen. Bei diesen Hündinnen wurde die Zufuhr von exogenem Progesteron nicht mehr weiter fortgesetzt. Es wurde ein weiterer Abfall auf basale P<sub>4</sub>-Werte von unter 1 ng/ml bis um Tag 55 p.ov. festgestellt. Im Stadium der frühen Gelbkörperregression wurden keine neuen Tiere mehr substituiert.

#### **4.3.3 Vergleich der beiden Meßmethoden in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen**

Wie aus Tabelle 10 zu entnehmen ist, zeigte der RIA den Abfall der P<sub>4</sub>-Konzentration unter Werte von 2 bzw. 5 ng/ml früher an. Insgesamt wurden Progesteronkonzentrationen von unter 2 bzw. unter 5 ng/ml in den Gruppen 1 und 3 früher und häufiger erreicht, als Gruppe 2 und der Gruppe der Kontrolltiere (Tabelle 10).

Tabelle 10: Anteil der Hündinnen (n=46), bei denen P<sub>4</sub>-Konzentrationen unter den für beide Methoden festgelegten Schwellenwert (RIA: 2 ng/ml; ELISA: 5 ng/ml) gemessen wurde.

Tage p.ov.*	RIA	ELISA	RIA	ELISA
	<2 ng/ml (%)	<2 ng/ml (%)	<5 ng/ml (%)	<5 ng/ml (%)
Gruppe 0 (n=6)				
51-60	0	0	33,3	0
Gruppe 1 (n=9)				
26-30	0	0	22,2	0
31-40	0	0	33,3	11,1
41-50	44,4	0	88,9	22,2
51-60	88,9	66,7	88,9	77,8
Gruppe 2 (n=14)				
31-40	0	0	7,1	0
41-50	7,1	0	21,4	7,1
51-60	21,4	14,3	71,4	14,3
Gruppe 3 (n=17)				
16-20	0	0	0	5,9
21-25	0	0	23,5	11,8
26-30	0	0	11,8	11,8
31-40	0	0	29,4	17,6
41-50	11,8	0	23,5	11,8
51-60	35,3	23,5	47,1	35,3

\*in den nicht aufgelisteten Zeitfenstern betragen die ermittelten P<sub>4</sub>-Werte  $\geq 12$  ng/ml mit beiden Meßmethoden.

## **4.4 Klinische und sonographische Anzeichen für den Fruchttod**

### **4.4.1 Vaginalausfluß in Zusammenhang mit einem Trächtigkeitsverlust**

Insgesamt wurde bei acht Hündinnen innerhalb der ersten 63 Tage p.ov. Vaginalausfluss verzeichnet. Dieser trat frühestens am 28. Tag p.ov. und spätestens am Tag 50 p.ov. erstmalig auf. Der Ausfluss war von blutig-serös (n=5), über blutig-schleimig (n=1) bis zu blutig-eitrig (n=2) im Falle einer Endometritis. Innerhalb der Trächtigkeit wurde bei allen Hündinnen, bei denen ein vollständiger Verlust der Trächtigkeit verzeichnet wurde (n=7), ein bräunlicher Ausfluss beobachtet. Bei zwei Hündinnen kam es zu einem Verlust der Trächtigkeit aufgrund einer Endometritis. Sie zeigten blutig-eitrigen Ausfluss am jeweils 30. und 41. Tag p.ov. Bei beiden Hündinnen trat der Vaginalausfluss in Koinzidenz mit dem embryonalen Tod der letzten Frucht auf. Bei weiteren fünf Hündinnen war im Zusammenhang mit einem vollständigen Verlust der Trächtigkeit blutig-seröser Ausfluss zu verzeichnen. Bei einer Hündin wurde am 36 p.ov. blutig-schleimiger Ausfluss bemerkt. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Hündin trotz Progesteronwerten von 10,0 ng/ml bereits zwei von zehn Früchten resorbiert. Mit Ausnahme der beiden Hündinnen, die während der Trächtigkeit eine Endometritis aufwiesen, konnten keine Veränderungen des Endometriums oder intrauterine Flüssigkeitsansammlungen sonographisch nachgewiesen werden.

### **4.4.2 Spontane Fruchtresorption**

Bei zwei Hündinnen der Gruppe 2 kam es während der Gravidität zu einem spontanen Fruchttod und Resorption. Bei Hündin Gina (18) wurde in dem Zeitraum 25-30 p.ov. der Verlust von drei Früchten und im Zeitraum 30-40 p.ov. der Verlust einer weiteren Frucht beobachtet. Der Radioimmunoassay ermittelte zur Zeit der detektierten Fruchtresorptionen periphere Progesteronkonzentrationen von 26,2 bzw. 18,8 ng/ml. Bei der Hündin Amber (21) wurde in den Zeiträumen 25-30 und 30-40 p.ov. der Tod jeweils einer Frucht verzeichnet. Die P<sub>4</sub>-Werte lagen zu dieser Zeit bei 17,3 bzw. 10,1 ng/ml. Beide Hündinnen warfen am Tag 62 p.ov. und brachten sieben bzw. acht gesunde, voll entwickelte Welpen zur Welt.

#### 4.4.3 Embryonale bzw. fetale Herzfrequenzen

Die Herzfrequenz konnte bei einzelnen Früchten frühestens am Tag 22 p.ov. und bei allen Früchten ab Tag 29 p.ov. detektiert werden. Die durchschnittliche Herzrate der Früchte in den verschiedenen Gruppen betrug bei der sonographischen Untersuchung zwischen Tag 20-25 p.ov. 202 Herzschläge pro Minute. Bis zur Mitte der Gravidität war bei allen Hündinnen mit einem physiologischen Graviditätsverlauf ein moderater Anstieg der embryonalen bzw. fetalen Herzraten zu verzeichnen. Bis zum 58. Tag p.ov. konnte bei Hündinnen ohne Verlust der Trächtigkeit kein Absinken der Herzfrequenz ante partum beobachtet werden. Während der sonographischen Untersuchung konnte bei zwei Hündinnen eine deutlich herabgesetzte Herzfrequenz bei jeweils einer Frucht beobachtet werden. Bei Bea (31) wies eine Frucht an Tag 34 p.ov eine Herzfrequenz von 119 auf. Zwei Tage später wurde der Fruchttod festgestellt. Eine Frucht mit einer Herzfrequenz von 112 an Tag 30 p.ov. wurde bei der Hündin Paddy (10) sonographisch detektiert. Der Fruchttod trat 30 Minuten später ein.

#### 4.4.4 Fruchttod im Zusammenhang mit niedrigen Progesteronkonzentrationen

Ein kompletter Verlust der Trächtigkeit wurde insgesamt bei zwei Hündinnen der Gruppe 2 sowie bei fünf Hündinnen der Gruppe 3 beobachtet.

Hier wurden die verschiedenen Lutealphasen ab Tag 21 o.ov. (sicherer Trächtigkeitsnachweis möglich) gemäß Kapitel 3.2 in LP1-LP5 eingeteilt:

LP1: Tag 21-25 p.ov.

LP2: Tag 26-30 p.ov.

LP3: Tag 31-40 p.ov.

LP4: Tag 41-50 p.ov.

LP5: Tag 51-60 p.ov.

Die Auswertung des Hormonost® erfolgt gemäß Kapitel 3.1.5.2.

Hierbei steht die eins für Werte unter Standard 1 (<1 ng/ml), zwei für Werte zwischen 1,0-1,9 ng/ml, drei für Werte zwischen 2,0-4,9 ng/ml, vier für Werte zwischen 5,0-7,9 ng/ml, fünf für Werte zwischen 8,0-11,9 ng/ml und sechs für Werte von  $\leq 12$  ng/ml.

Hündin Gypsi (33) der Gruppe 2 zeigte am 28. Tag p.ov. blutig-serösen Ausfluss. Am Tag 34 p.ov. war der Tod der beiden Embryos sonographisch feststellbar. Der Hormonost®-Test gab an diesem Tag einen P<sub>4</sub>-Wert von 2-3 ng/ml an (RIA: 3,2 ng/ml). Bei den Untersuchungen zuvor waren zwei vitale Embryonen sonographisch erkennbar und die durch den Hormonost® ermittelten P<sub>4</sub>-Werte lagen konstant bei über 12 ng/ml.

Zwischen Tag 25-30 p.ov. ergab die Analyse anhand des RIA retrospektiv eine Progesteronkonzentration von 10,7 ng/ml. Dieser Abfall wurde von dem Hormonost® nicht erfasst.

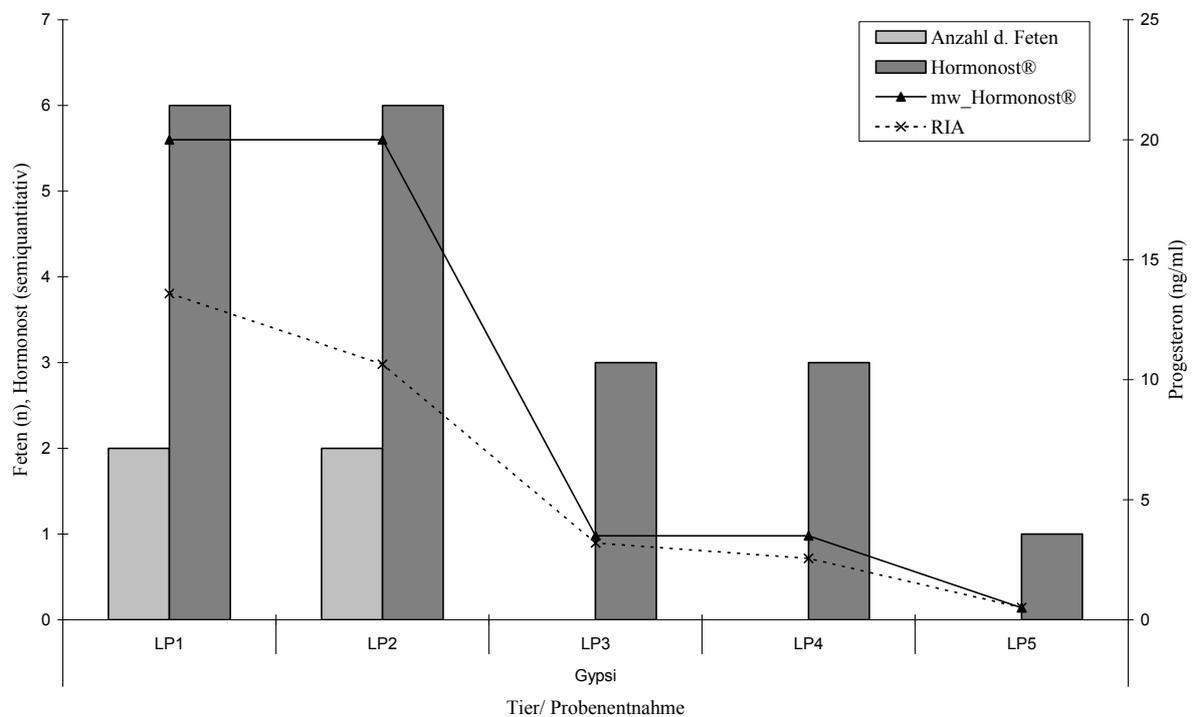


Abbildung 3: Verlauf der Lutealphase der Hündin Gypsi (Gruppe 2)

Sowohl eine Resorption als auch ein Abort war bei Hündin Frieda (29) der Gruppe 2 in der Mitte der Gravidität nachvollziehbar. Am Tag 27 p.ov. waren sonographisch vier vitale Früchte darstellbar. An diesem Untersuchungstag zeigte der Hormonost® einen P<sub>4</sub>-Wert von über 12 ng/ml. Der RIA ermittelte retrospektiv eine Progesteronkonzentration von 12,7 ng/ml. Am Tag 32 p.ov. waren nur noch zwei vitale Embryonen sichtbar. Der Hormonost® zeigte eine P<sub>4</sub>-Konzentration von 8-12 ng/ml an. Die Analyse des Serums mittels Radioimmunoassay von diesem Tag ergab eine Progesteronkonzentration von 6,6 ng/ml. Am 41. Tag p.ov. wurde die Hündin mit blutig-eitrigem Ausfluss in der Tierklinik für Fortpflanzung vorgestellt. Die Hündin präsentierte sich mit einem getrübbten Allgemeinbefinden und Fieber. Sie hat, laut Besitzer die übrigen zwei Feten abortiert und wurde auf Grund einer offenen, eitrigen Endometritis therapiert.

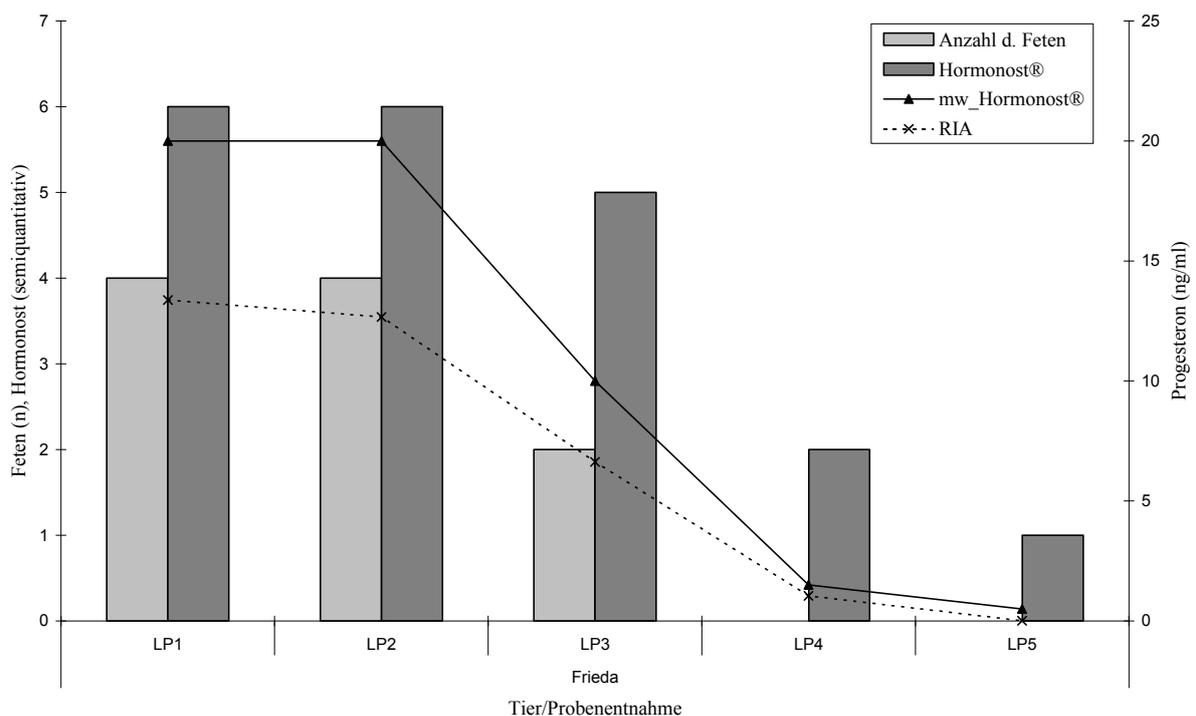


Abbildung 4: Verlauf der Lutealphase der Hündin Frieda (Gruppe 2)

Bei den fünf Hündinnen der Gruppe 3 wurde bei Verlust der ersten Frucht ein durchschnittlicher Progesteronwert von 17,9 ng/ml im Serum ermittelt. Zu dem Zeitpunkt an dem keine Frucht mehr detektierbar war sank die mittlere  $P_4$ -Konzentration bei den Hündinnen auf einen Wert von 4,5 ng/ml und blieb auf niedrigem Niveau. Von den 17 Tieren, die während der Gravidität mit exogenem Progesteron substituiert wurden, konnte bei fünf von ihnen ein vollständiger Verlust aller Fruchtanlagen dokumentiert werden.

Bei der Hündin Wonda (9) der Gruppe 3 konnten am 20. Tag p.ov. vier vitale Fruchtanlagen beschrieben werden. Eine Beurteilung der peripheren Progesteronkonzentration durch den Hormonost<sup>®</sup> ergab einen Wert zwischen 2-5 ng/ml. Daraufhin wurde die Hündin nach dem oben erläuterten Therapieplan alle zwei Tage von Ihren Besitzern mit exogenem Progesteron substituiert. Die retrospektive Auswertung anhand des RIA beschrieb einen  $P_4$ -Wert von 4,1 ng/ml. Am 25. Tag p.ov. ist die  $P_4$ -Konzentration auf 10,9 ng/ml gestiegen, sonographisch waren jedoch nur noch zwei Früchte intakt. Bei der dritten sonographischen Untersuchung am 32. Tag p.ov. war eine Resorption aller Früchte zu verzeichnen. Zu diesem Zeitpunkt wurde durch den Elisa eine  $P_4$ -Konzentration von 8-12 ng/ml festgestellt. Anhand des RIA wurde eine Progesteronkonzentration von 9,5 ng/ml ermittelt, d.h. die Progesteronkonzentration blieb während des Auftretens der Resorption weitgehend konstant. Die Substitution dieser Hündin durch die Besitzer wurde eingestellt. Am 38. Tag p.ov. wurde von den Besitzern blutig-seröser Ausfluss wahrgenommen.

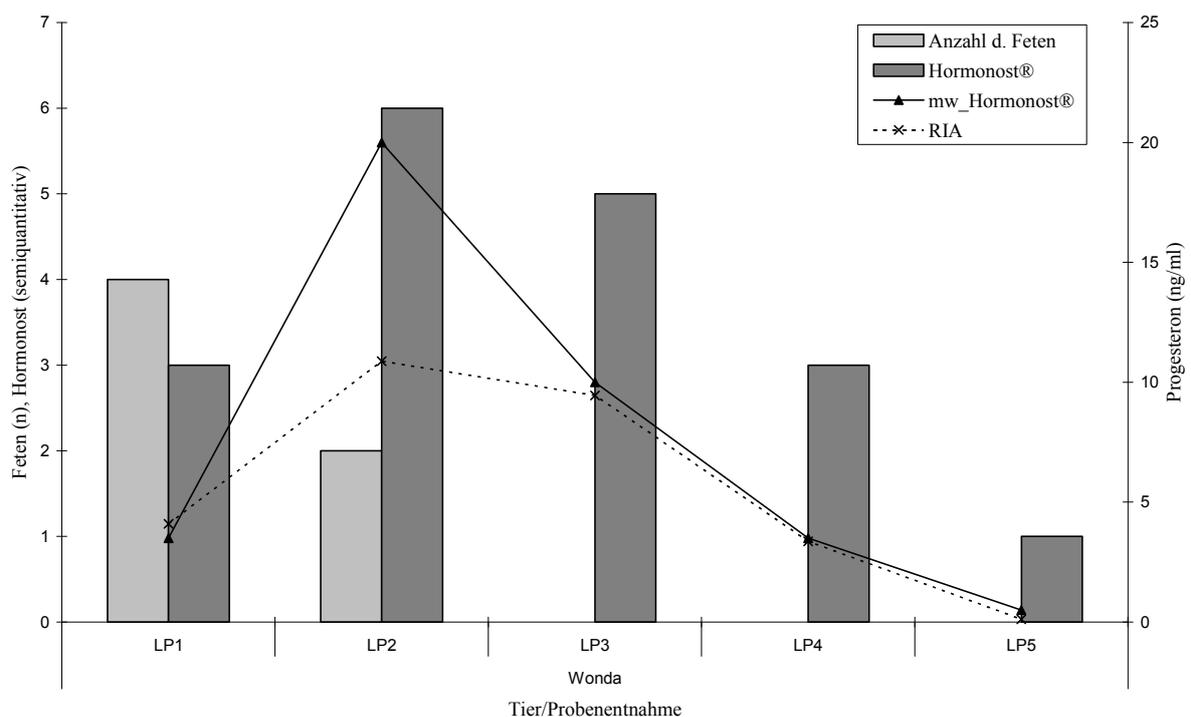


Abbildung 5: Verlauf der Lutealphase der Hündin Wonda (Gruppe 3)

Hündin Paddy (10) wurde auf Wunsch der Besitzer schon direkt nach der ersten sonographischen Trächtigkeitsuntersuchung mit exogenem P<sub>4</sub> substituiert, da der Elisa am 21. Tag p.ov. einen P<sub>4</sub>-Spiegel von unter 2 ng/ml anzeigte. Am 23. Tag p.ov. konnten dann sonographisch zwei vitale Embryonen dargestellt werden. Der Hündin wurden morgens 2 mg/kg KGW exogenes Progesteron in den Muskel injiziert. Nachmittags wurde eine Progesteronkonzentration von 15,7 ng/ml mittels RIA gemessen. Mittels Hormonost<sup>®</sup> wurde ein P<sub>4</sub>-Wert von über 12 ng/ml gemessen. Bei der zweiten Ultraschalluntersuchung an Tag 28 p.ov. war nur noch ein Embryo mit einer Herzfrequenz von 127 Herzschlägen pro Minute detektierbar. Die Progesteronkonzentration fiel auf 4,3 ng/ml ab. Der Hormonost<sup>®</sup> ermittelte einen P<sub>4</sub>-Spiegel von 2-3 ng/ml. Die Zufuhr von exogenem Progesteron wurde abgebrochen. Am 30. Tag p.ov. wurde die Hündin mit blutig-eitrigem Ausfluss vorgestellt. Der Fötus hatte eine Herzfrequenz von 112 Schlägen pro Minute. Der Fruchttod wurde 30 Minuten später dokumentiert. Einen Tag später zeigte die Hündin ein getrübtetes Allgemeinbefinden und eine Temperatur von 40,8°C und wurde einer Endometritistherapie unterzogen.

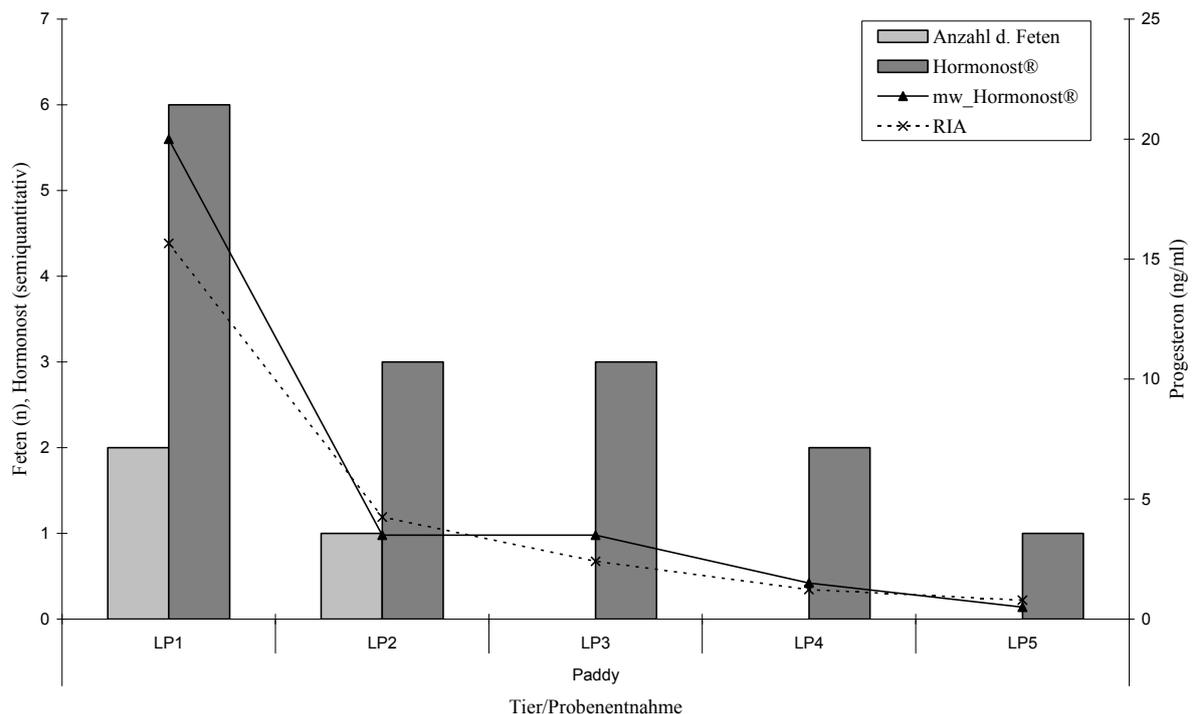


Abbildung 6: Verlauf der Lutealphase der Hündin Paddy (Gruppe 3)

Am 18. Tag p.ov. wurde bei Jessy (30) mittels RIA eine Progesteronkonzentration von 8,3 ng/ml angezeigt. Der Elisa ermittelte einen P<sub>4</sub>-Wert von über 12 ng/ml. Einen Tag später waren zwei Fruchtanlagen sonographisch erkennbar. Am 24. Tag p.ov. begannen die Besitzer mit der intramuskulären Zufuhr von Progesteron. Eine am Tag darauf entnommenem Serumprobe ergab retrospektiv mittels RIA eine Progesteronkonzentration von 25,6 ng/ml. Der Elisa zeigte einen P<sub>4</sub>-Spiegel von über 12 ng/ml an. Bei der zweiten Ultraschalluntersuchung am 29. Tag p.ov. war im Uterus nur noch ein vitaler Embryo mit einer Herzfrequenz von 131 Schlägen pro Minute darstellbar. Die retrospektive Auswertung der Progesteronkonzentration mittels RIA ergab einen Wert von 6,7 ng/ml. Der Hormonost<sup>®</sup>-Test zeigte einen Konzentrationsbereich von 5-8 ng/ml an. Am 31. Tag wurde die Substitution von exogenem Progesteron durch den Besitzer abgebrochen. Die periphere P<sub>4</sub>-Konzentration lag zwei Tage später bei 2,1 ng/ml. Der Elisa ergab einen P<sub>4</sub>-Wert von 2-3 ng/ml. Es war keine vitale Frucht sonographisch darstellbar. Am 35. Tag p.ov. war blutig-seröser Ausfluss zu verzeichnen. Das Allgemeinbefinden der Hündin war ungetrübt.

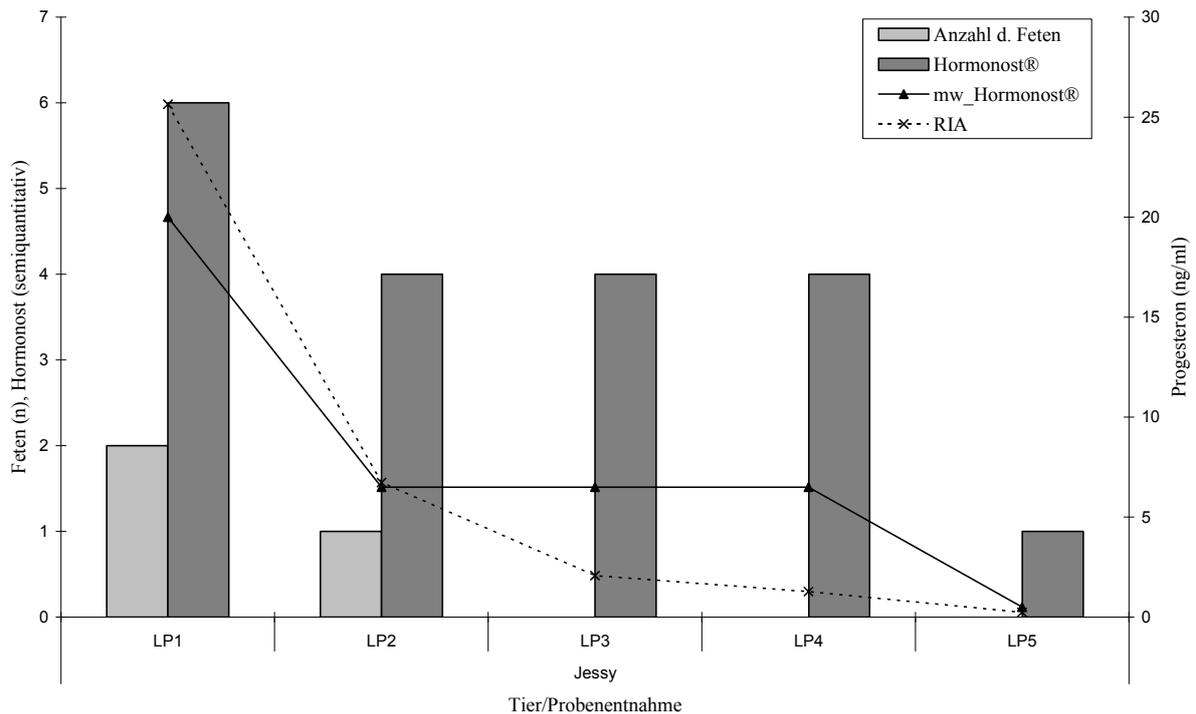


Abbildung 7: Verlauf der Lutealphase der Hündin Jessy (Gruppe 3)

Bei der Hündin Bea (31) wurden bei der ersten sonographische Trächtigkeitsuntersuchung am 20. Tag p.ov. drei vitale Embryonen gezählt. Eine Serumprobe vom 24. Tag p.ov. ergab einen mittels Elisa getesteten P<sub>4</sub>-Wert von 5-8 ng/ml. Mit dem RIA wurde eine Progesteronkonzentration von 6,0 ng/ml ermittelt. Die Besitzer substituierten ihre Hündin am 24. Tag p.ov. Am 27. Tag p.ov. konnte eine Progesteronkonzentration von 15,0 ng/ml ermittelt werden. Der Hormonost<sup>®</sup> zeigte einen P<sub>4</sub>-Wert von über 12 ng/ml an. An diesem Tag waren alle drei Embryonen gut darstellbar mit Herzfrequenzen von 224, 225 und 227 Schlägen pro Minute. Am 34. Tag p.ov. war nur noch eine Frucht mit einer Herzfrequenz von 119 Schlägen pro Minute detektierbar. Die periphere Progesteronkonzentration lag bei 10,3 ng/ml. Die mittels Hormonost<sup>®</sup> gemessene P<sub>4</sub>-Konzentration zeigte einen Wert von 8-12 ng/ml an. Bei der sonographischen Untersuchung an Tag 40 p.ov. wurde der Fruchttod festgestellt und sonographischen Anzeichen einer stattgefundenen Resorption waren deutlich darstellbar. Die Progesteronsubstitution wurde sofort eingestellt. Am Tag darauf wurde durch den Radioimmunoassay eine Progesteronkonzentration von 2,1 ermittelt. Der Elisa zeigte an diesem Tag einen P<sub>4</sub>-Spiegel von 5-8 ng/ml an. Am 50. Tag p.ov. zeigte die Hündin blutig-serösen Ausfluss.

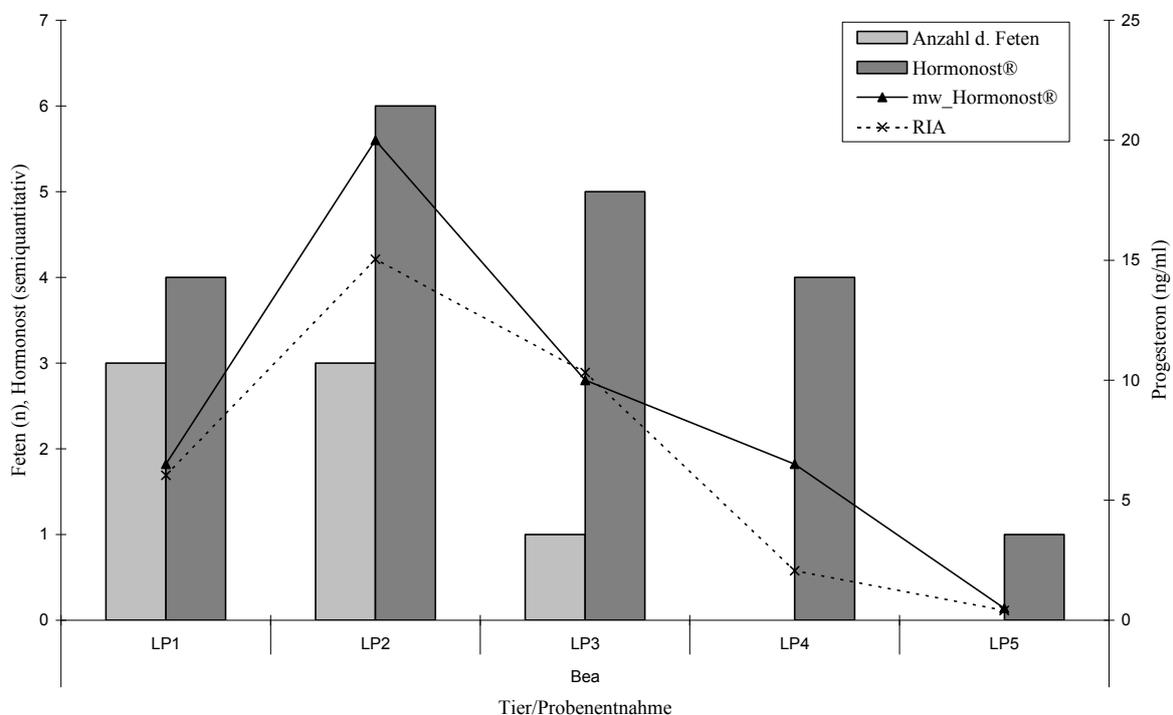


Abbildung 8: Verlauf der Lutealphase der Hündin Bea (Gruppe 3)

Da die Hündin Hella (39) bei der letzten Trächtigkeit um Tag 20 p.ov. alle ihre Embryonen laut Anamnese in Koinzidenz mit einer basalen Progesteronkonzentration resorbiert hat, wünschten die Besitzer trotz aller Risiken eine Substitution ihrer Hündin beginnend am 19. Tag p.ov. Einen Tag später konnten drei vitale Früchte sonographisch nachgewiesen werden. Der Hormonost<sup>®</sup> ermittelte an diesem Tag einen P<sub>4</sub>-Wert von über 12 ng/ml. Mittels RIA wurde retrospektiv eine P<sub>4</sub>-Konzentration von 22,0 ng/ml nachgewiesen. Am 27. Tag p.ov. wurde der Fruchttod eines Embryos festgestellt. Mit Herzfrequenzen von 222 und 226 waren die beiden verbleibenden Embryonen darstellbar. Sonographische Anzeichen für eine stattfindende Resorption waren nicht erkennbar. Der mittels ELISA bestimmte P<sub>4</sub>-Spiegel betrug über 12 ng/ml. Der RIA ermittelte eine Progesteronkonzentration von 24,0 ng/ml. Bei der dritten sonographischen Untersuchung am 33. Tag p.ov. waren beide Embryonen mit einer Herzfrequenz von 232 und 238 darstellbar. Der Elisa zeigte zu diesem Zeitpunkt wiederholt einen P<sub>4</sub>-Wert von über 12 ng/ml an. Dieses Ergebnis wurde später mittels RIA bestätigt, der eine Progesteronkonzentration von 14,6 ermittelte. Am 41. Tag abortierte die Hündin laut Besitzer die beiden Feten. An diesem Tag ergab die Serumprobe eine mittels RIA detektierte Progesteronkonzentration von 6,5 ng/ml. Der Elisa zeigte einen P<sub>4</sub>-Wert von 5-8 ng/ml an. Im Ultraschall waren keine Früchte mehr darstellbar. Die Substitution durch die Besitzer wurde unvermittelt abgebrochen. Von den Besitzern wurde an Tag 50 p.ov. blutig-seröser Ausfluss beschrieben.

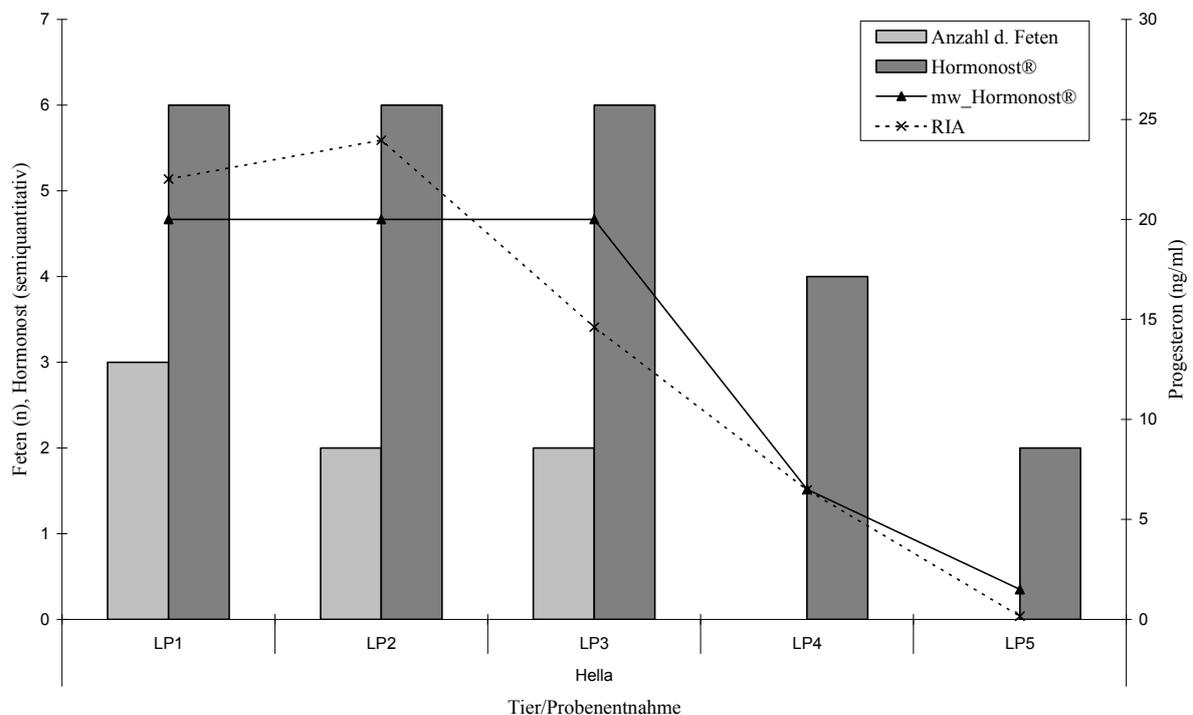


Abbildung 9: Verlauf der Lutealphase der Hündin Hella (Gruppe 3)

Am Tag 40 p.ov. waren alle Graviditäten dieser sieben Hündinnen beendet, d.h. es war keine vitale Frucht sonographisch darstellbar. Zu diesem Zeitpunkt lag die mittlere Progesteronkonzentration bei 2,6 ng/ml. Zwischen Tag 50-60 p.ov. ist die periphere Progesteronkonzentration bei allen Hündinnen auf basale Werte von unter 1 ng/ml gefallen. Der Tod einzelner Früchte trat häufig asynchron ein. Die Anzahl gestorbener Früchte pro Untersuchungseinheit variierte zwischen eins und drei.

#### 4.5 Mikrobiologische Befunde der Vaginaltupferproben

Bei 30,4% der Hündinnen (n=14) konnten im Rahmen der Eingangsuntersuchung keine spezifisch pathogenen Keime nachgewiesen werden. Fakultativ pathogene Keime konnten bei 21,7% der Hündinnen (n=10) nachgewiesen werden, wurden jedoch aufgrund der Keimdichte als nicht therapiewürdig eingestuft. Bei 47,8% der Hündinnen (n=22) ergab die bakteriologische Untersuchung der Vaginaltupferproben ein Vorhandensein spezifisch pathogener Keime. Diese für therapiewürdig befundenen Hündinnen wurden nach Erstellung eines AntibioGRAMMS über sieben Tage mit einem spezifischen Antibiotikum behandelt.

Tabelle 7: Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung von 46 Hündinnen im Östrus

Bakteriologische Untersuchung	n	%
keine spezifisch pathogenen Keime nachgewiesen	14	30,4
fakultativ pathogene Keime isoliert, nicht therapiewürdig	10	21,7
spezifisch pathogene Keime nachgewiesen, therapiewürdig	22	47,8
Gesamt	46	100,0

Sowohl zu Beginn der Läufigkeit als auch bei vaginalem Ausfluss, der im Rahmen der Resorptionsvorgänge auftrat, war diese Keimsituation zu beobachten. Es kamen  $\beta$ -hämolyisierende *Escherichia coli* (19,6%), Enterokokken (4,3%), *Pasteurella* sp. (17,4%),  $\beta$ -häm. Staphylokokken (17,4%),  $\alpha$ -häm. Streptokokken (15,2%), *Streptococcus canis* (10,9%) sowie *Staphylococcus aureus* (8,7%) und *intermedius* (17,4%) in wechselnden Keimgehalten in Mischkulturen mit anderen, unbedenklichen Keimen (23,9%) vor. Die Keimsituation entsprach damit den nach Siesenop et al. (1996) bei der klinisch geschlechts gesunden Hündin beschriebenen Verhältnissen. Ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die

Häufigkeitsverteilung positiver bzw. negativer mikrobiologischer Untersuchungsbefunde im Zusammenhang mit dem späteren Trächtigkeitsverlauf der Hündinnen lässt sich nicht nachweisen.

Tabelle 8: Verteilung der Keime und Keimdichte bei der Aufnahmeuntersuchung im Proöstrus

Keim	Negativ %	Geringgradig %	Mittelgradig %	Hochgradig %	$\Sigma$ n (%)
<i>E. coli</i>	80,4	0,0	2,2	17,4	46 (100,0)
Enterokokken	95,7	0,0	0,0	4,3	46 (100,0)
Pasteurella sp.	82,6	2,2	6,5	8,7	46 (100,0)
$\beta$ -häm. Staphylokokken	82,6	4,3	4,3	8,7	46 (99,9*)
$\alpha$ -häm. Streptokokken	84,8	2,2	36,5	6,5	46 (100,0)
<i>Sc. canis</i>	89,1	6,5	0,0	4,3	46 (99,9*)
<i>S. aureus</i>	91,3	0,0	4,3	4,3	46 (99,9*)
<i>S. intermedius</i>	82,6	6,5	4,3	6,5	46 (99,9*)
weitere Keime	76,1	15,2	8,7	0,0	46 (100,0)

\*durch Rundung ergibt die Summe nicht exakt 100%

## 5 Diskussion

### 5.1 Ziel der Arbeit

Bei dem klinisch relevanten Phänomen der Gelbkörperinsuffizienz ist die luteale Aktivität aus bislang ungeklärten Gründen vermindert, so dass es zu einem unphysiologischen Absinken der Progesteronkonzentration kommt. Im Falle einer Gravidität kann es zur Resorption oder zum Abort einzelner oder aller Früchte kommen (Günzel-Apel, 2003).

Ziel dieser Orientierungsstudie war es, reproduktionsanamnestische sowie endokrinologische und sonographische Daten in der Lutealphase tragender und nicht tragender Hündinnen zu erfassen. Mit Hilfe der für Progesteron bewährten endokrinologischen Analyseverfahren zur Überwachung der Lutealphase (Kustritz, 2001) war es möglich, Veränderungen der Ovarfunktion zu charakterisieren und darauf zu reagieren. Fruchtverluste wurden begleitend dokumentiert. Das Vorkommen und die Zusammenhänge von Zuchthündinnen mit verkürzten Läufigkeitsintervallen und eingeschränkter Fruchtbarkeit sollten durch oben genannte Methoden genauer untersucht werden. Dafür wurden die Hündinnen eingehend klinisch für gesund befunden und während einer kompletten Trächtigkeit bzw. während des Diöstrus betreut.

### 5.2 Klinische Befunde

#### 5.2.1 Mikrobiologische Befunde der Vaginaltupferproben

Bezüglich der mikrobiellen Besiedelung der Vaginalschleimhaut sind die Angaben in der Literatur unterschiedlich. Aus dem Vaginalsekret gesunder sowie auch klinisch erkrankter Hündinnen wurden primär *Escherichia coli*, Streptokokken, Staphylokokken und Pasteurellen isoliert (Kustritz, 2006). Böhm et al. (1993) messen *Staphylococcus intermedius* und hämolysierenden *Escherichia coli* eine pathogene Bedeutung bei. Diese Beurteilung kann durch die eigenen Untersuchungen zu Anfang der Studie nicht bestätigt werden. So konnten bei 15 der 46 Hündinnen *Staphylococcus intermedius* und/oder *Escherichia coli* isoliert werden, ohne dass zu irgendeinem Zeitpunkt eine vaginale Erkrankung klinisch sichtbar war. Trotz der Endometritisprophylaxe, die bei Hündinnen mit einer hohen Keimdichte fakultativ pathogener Keime durchgeführt wurde, entwickelte eine Hündin an Tag 30 p.ov. eine Endometritis. Eine weitere Hündin, bei der keine spezifisch pathogenen Keime isoliert werden konnten entwickelte am Tag 41 p.ov. eine mittelgradige Endometritis. Es ist nicht

auszuschließen, dass die Endometritis durch die Substitution von exogenem Progesteron hervorgerufen wurde. Der künstlich hochgehaltene Progesteronspiegel könnte Uteruskontraktionen verhindert und somit die Austreibung der toten Frucht unterbunden haben (Eilts, 1992).

### **5.2.2 Deckterminbestimmung mittels Vaginoskopie, Vaginalzytologie und Hormonost<sup>®</sup>**

Die fertile Periode der Eizelle der Hündin beginnt zwei bis drei Tage nach der Ovulation und ist dann für etwa den gleichen Zeitraum befruchtungsfähig (Holst, 1975; Hoppen 1990). Für die erfolgreiche Zucht ist es daher wichtig, den Ovulationszeitraum als Anhaltspunkt für die Bestimmung des optimalen Decktermins zu ermitteln. Die Dauer des Östrus beträgt durchschnittlich 8-11 Tage und der optimale Decktermin liegt bei den meisten Hündinnen zwischen dem 12. und 16. Tag der Läufigkeit (Arbeiter, 1990; 1991). Die Zeitspanne für den ermittelten optimalen Decktermin lag bei diesen Untersuchungen zwischen dem 6. und dem 19. Tag der Läufigkeit, was die individuelle Varianz der Ovarfunktion der Hündinnen wiedergibt. Zusammen mit der Vaginoskopie und der Vaginalzytologie kann mit der Bestimmung von Progesteron im Serum mit hoher diagnostischer Sicherheit der Decktermin festgelegt werden. Des Weiteren ist eine Bestimmung des Progesterongehalts im Blut auch aus dem Grund wertvoll, da z.B. bei einer starken Verkeimung der Vagina die Verhornung der Superficialzellen um zwei bis vier Tage verzögert sein kann (Arbeiter, 1990; Goodman, 1992). Auch Laiblin (1991) hält die Progesteronbestimmung mittels eines semiquantitativen test-kits für eine sinnvolle Ergänzung in der Zyklusdiagnostik. Arbeiter et al. (1991) und Hoppen (1990) konnten bei Progesteronwerten von über 5 ng/ml eine erfolgte Ovulation und eine beginnende Fertilisation der Eizelle feststellen. Als Richtwert für den optimalen Decktermin geben sie einen Progesterongehalt im Blut von über 10 ng/ml an. Der vom Hersteller definierte Messbereich, der die Ovulation bei der Auswertung des Testverfahrens anzeigt liegt beim Hormonost<sup>®</sup>-Test bei 5-8 ng/ml. Ein präovulatorischer Progesteronanstieg hat bis zu dem detektierten Ovulationszeitpunkt bei allen Tieren stattgefunden.

### **5.2.3 Einfluss des exogenen Progesterons auf die Zyklusdauer und Fruchtbarkeit**

Goodman (1992) und Arnold (1995) beschreiben eine durchschnittliche Zykluslänge von sieben Monaten, wobei Goodman (1992) Schwankungen von 3,5 und 13 Monaten dokumentiert und Arnold (1995) einen Streuungszeitraum von 4 bis 12 Monaten angibt. Ein variierender Interöstrus von 22 bis 47 Wochen, mit im Mittel 31 Wochen, wird in einer Studie

von Christiansen (1984) geschildert. Eine signifikante Verkürzung des Läufigkeitsintervalls resultiert nach Ramagnoli (1993) aus einer geringeren Dauer der Lutealphase mit einhergehenden niedrigen  $P_4$ -Werten bzw. einem frühzeitigen Abfall der Progesteronkonzentration auf Basalwerte.

Nach kompetitiver Blockade der  $P_4$ -Rezeptoren konnte regelmäßig eine Verkürzung des Läufigkeitsintervalls um einen bis vier Monate beobachtet werden (Fieni, 1996; 2001). Diese Verkürzung wird laut Hubler (2001) durch den vorzeitigen Abfall der peripheren Progesteronkonzentration und dem damit einhergehenden Wegfall der negativen Rückkopplung des Progesterons auf die Hypothalamus-Hypophysenachse hervorgerufen. Diesen Mechanismus könnte man auch bei den Hündinnen vermuten, die auf Grund verkürzter Läufigkeiten und Subfertilität in diese Studie eingegangen sind. Im Umkehrschluss kann vermutet werden, dass durch eine Zufuhr von exogenem Progesteron die Lutealphase bei der Hündin verlängert werden kann. Tsutsui (1983) konnte mit der Anwendung von Depot-Progesteron durch eine artifizielle Aufrechterhaltung der Progesteronkonzentration gegen Ende der Lutealphase eine Verlängerung dieser in der Gravidität aufzeigen. Irons (1997) beschrieb ebenfalls eine durch Ausbleiben der Luteolyse verlängerte Gravidität.

Im Einklang damit wiesen die Hündinnen in dieser Studie, die im Laufe der Gravidität nach oben genanntem Therapieschema mit exogenem Progesteron substituiert worden waren ein signifikant längeres Läufigkeitsintervall auf als in dem vorausgehenden Zyklus. Somit unterliegen die Läufigkeitsintervalle einem medikamentellen Einfluss.

Eine Relation zwischen der Dauer des Interöstrus und der Wahrscheinlichkeit einer  $P_4$ -Substitution scheint in dieser Studie zu bestehen, da die Länge der Läufigkeitsintervalle negativ mit dem Anteil der mit  $P_4$  substituierten Hündinnen korreliert.

Die Fertilität der Hündinnen wird nach Graviditätsabbruch mittels kompetitiver  $P_4$ -Rezeptorblockade jedoch nicht negativ beeinflusst (Galac, 2000; Hubler 2000). Dagegen beobachteten Hori et al. (2002) nach Trächtigkeitsabbruch durch die Gabe eines synthetischen  $PGF2\alpha$ -Analogons ab Tag 25 p.ov. die Reduktion der Konzeptionsrate um die Hälfte und vermuten darin eine unvollständige uterine Regeneration. In der kombinierten Therapie von  $PGF2\alpha$  und Antiprolaktinen konnte wiederum kein negativer Effekt auf die Fertilität beobachtet werden (Onclin, 1996; 1999). In dieser Studie wurden 33 Hündinnen mit verkürztem Interöstrus gedeckt. Bei 84,8%, d.h. 28 Hündinnen konnte sonographisch eine Trächtigkeit nachgewiesen werden. Eine erfolgreiche Geburt konnten von den 33 gedeckten

Hündinnen jedoch nur 21 Hündinnen aufweisen (63,6%). Bei zwei Hündinnen der Gruppe 3 kam es zu einem Verlust der Trächtigkeit in Koinzidenz mit einer Endometritis. Ob die Endometritis durch die Substitution des exogenen Progesterons induziert wurde und damit sekundär zu einem Verlust der Trächtigkeit führte, oder ob der Verlust der Trächtigkeit primärer Genese war ist nicht nachzuvollziehen.

### **5.3 Endokrinologische Befunde**

#### **5.3.1 Endokrinologische Befunde der Gruppe 0 (n=6)**

Im Zuge der Gelbkörperanbildung stiegen die peripheren Progesteronkonzentrationen der sechs Kontrollhündinnen und blieben während der Gelbkörperblüte auf hohem Niveau. So verhält sich nach Concannon (1984) das für die Spezies Hund typische Sekretionsmuster, das auf eine physiologische Funktion von Ovar und Plazenta während des Trächtigkeitsverlaufs schließen lässt. Nach Arbeiter et al. (1990) liegen die Serumprogesteronwerte zum Ende des Östrus bei 24,3 ng/ml und im frühen Diöstrus bei 32,3 ng/ml. Laut Weilenmann (1993) liegen die Progesteronwerte im Diöstrus zwischen 12,6 und 70,1 ng/ml. Die bei den Kontrollhündinnen in der Lutealphase mittels RIA ermittelten peripheren P<sub>4</sub>-Werte stimmen mit den Angaben von Arbeiter (1990) und Weilemann (1993) überein.

#### **5.3.2 Endokrinologische Befunde der Gruppe 1 (n=9)**

Es zeigte sich in dieser Studie, dass die Gelbkörper der tragenden Hündin aktiver sind als die der nicht tragenden Hündin. Dies konnte anhand der Progesteronkonzentrationen der tragenden Tiere im Vergleich zu den nicht tragenden Tieren unterlegt werden. Smith (1974) und Concannon (1977) beschreiben ebenfalls eine erhöhte Gelbkörperaktivität tragender Hündinnen und vermuten daher, dass vom graviden Uterus eine trächtigkeitspezifische luteotrope Wirkung hervorgeht. Diese, von intaktem fetoplazentärem Gewebe ausgehende Wirkung fällt bei einem Abbruch der Gravidität weg. Onclin et al. (1997) beschrieben dahingegen bis zum 60. Tag nach dem LH-Peak keinen signifikanten Unterschied der Progesteronkonzentrationen tragender bzw. nicht tragender Hündinnen. Auch Luz et al. (2006) beschrieben bei tragenden und nicht tragenden Hündinnen identische Maximalwerte der Progesteronkonzentrationen in der Lutealphase. Günzel-Apel et al. (2006) konnten in der Lutealphase nicht tragender Schäferhündinnen mit verkürztem Interöstrus signifikant geringere Progesteronkonzentrationen als bei Hündinnen mit physiologischem Interöstrus

nachweisen. Die Hündinnen der Gruppe 1 wiesen im Vergleich mit den nicht tragenden Kontrolltieren übereinstimmend mit diesen Ergebnissen zu jedem Messzeitpunkt bis zum 60. Tag p.ov. eine im Mittel geringere Progesteronkonzentration auf. Progesteronkonzentrationen unter 2 ng/ml wurden bei den Hündinnen in der Gruppe 1 früher erreicht als bei den nicht tragenden Tieren in der Kontrollgruppe.

### 5.3.3 Endokrinologische Befunde der Gruppe 2 (n=14)

Bis zum 60. Tag nach dem LH-Gipfel verläuft die Konzentration des Progesterons gravider und nicht gravider Hündinnen physiologischerweise annähernd identisch. Bei der tragenden Hündin erfolgt jedoch kurz vor dem Partus ein drastischer Abfall der Progesteronkonzentration auf weniger als 2 ng/ml. Dahingegen kann sich bei der nicht tragenden Hündin das Absinken der Progesteronwerte auf Basalwerte bis zum 90. Tag (Jeffcoate, 1989) bzw. 120.-150. Tag (Concannon, 1986) nach dem LH-Gipfel hinziehen. Bei der tragenden Hündin wird kurz vor der Geburt  $PGF2\alpha$  aus dem fetoplazentären Uterus ausgeschüttet. Dadurch kommt es zur Luteolyse und einem damit einhergehenden abrupten Abfall der Progesteronkonzentration auf Basalwerte (Concannon, 1989). Die Hündinnen wiesen bei der letzten Bestimmung der  $P_4$ -Konzentration im Serum zwischen Tag 50-60 p.ov. einen mittleren Wert von 4,5 ng/ml auf. Eine Konzentration von unter 2 ng/ml konnte nur bei drei Hündinnen verzeichnet werden. Im Vergleich dazu wiesen die nicht tragenden Hündinnen zu diesem Zeitpunkt eine mittlere Progesteronkonzentration von 1,1 ng/ml auf. Nur bei einer einzigen Hündin der Gruppe 1 konnte noch ein Wert von über 2 ng/ml bestimmt werden. Alle Tiere wiesen signifikant niedrigere  $P_4$ -Werte auf, als die tragenden Tiere in der Kontrollgruppe. Onclin et al. (1997) beschrieben die wichtige luteotrope Wirkung des Prolaktins bei der graviden Hündin ab Tag 28-35 nach dem LH-Peak. Daher unterteilen sie die Gelbkörperphase der graviden Hündin in eine autonome und eine Prolaktinabhängige Phase beginnend ab der Mitte der Trächtigkeit. Da die Differenzen der  $P_4$ -Werte, ebenso wie bei den nicht tragenden Tieren, zu allen oben genannten sieben Zeitphasen (Tag 5-60 p.ov.) beschrieben werden können, kann vermutet werden, dass hier auch eine Insuffizienz der Progesteronsekretion sowohl in der autonomen als auch in der Prolaktinabhängigen Gelbkörperphase vorliegt.

### **5.3.4 Endokrinologische Befunde der Gruppe 3 (n=17)**

Um einen möglichen Verlust der Trächtigkeit zu verhindern, wurden diese Hündinnen zu verschiedenen Zeitpunkten der Trächtigkeit mit exogenem Progesteron substituiert (siehe 4.7). In dem Zeitraum zwischen Tag 16-20 p.ov. lag die mittlere Progesteronkonzentration dieser Hündinnen bei ca. 50% der  $P_4$ -Werte der Hündinnen, die nicht substituiert wurden. Die signifikant höheren Progesteronkonzentrationen in der zweiten Trächtigkeitshälfte, sind vermutlich auf die Zufuhr von exogenem Progesteron zurück zu führen. Da die Zufuhr exogenen Progesterons mittels RIA im Serum erfasst wird, können zumindest ab dem Zeitpunkt der Substitution in dieser Gruppe keine Aussagen über die Gelbkörperfunktion der Hündinnen getroffen werden. Interessant wäre in diesem Zusammenhang eine engmaschigere Kontrolle der  $P_4$ - und Prolaktinkonzentration. Da die Rolle des Prolaktins als Hauptluteotropin postuliert wurde (Okkens, 1990; Onklin, 1997) sollten diese beiden Hormonprofile in ihrem zeitlichen Zusammenhang untersucht werden.

### **5.4 Fruchttod im Zusammenhang mit niedrigen $P_4$ -Konzentrationen**

Bei fünf Hündinnen in der Gruppe 3 kam es zu einem Verlust der Trächtigkeit. Eine höhere Inzidenz von Fruchtresorptionen von 33,3% bei Schäferhündinnen mit verkürzten Läufigkeitsintervallen konnten auch Günzel-Apel et al. (2006) verzeichnen. In dieser Studie war die Inzidenz mit 29,4% etwas geringer, jedoch wurden in dieser Studie jeweils vollständige Verluste der Trächtigkeit verzeichnet, d.h. bei diesen Hündinnen wurden alle Fruchtanlagen resorbiert. Der Fruchttod trat stets asynchron ein. Dieser Unterschied könnte durch die unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung des peripheren  $P_4$ -Wertes und des damit zusammenhängenden Zeitpunkts der Substitution hervorgegangen sein. Des Weiteren wurde in dieser Studie die Injektion des Progesterons aus logistischen Gründen von den Besitzern der Tiere durchgeführt. Daher ist die korrekte Durchführung der Substitution nicht vollständig nachvollziehbar.

Verschiedene Autoren beschreiben das Abfallen der peripheren Progesteronkonzentrationen nach einem induzierten vollständigen Trächtigkeitsabbruch mittels kompetitiver Rezeptorblockade in der Mitte der Gravidität (Concannon, 1990; Galac, 2000). Übereinstimmend damit kam es auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit bei allen Tieren, bei denen ein vollständiger Trächtigkeitsverlust zu verzeichnen war, nach Absterben der letzten Frucht bzw. Früchte zu einem deutlichen Abfall der peripheren  $P_4$ -Werte. Bei diesen

fünf Tieren lag zu dem Zeitpunkt an dem keine Früchte mehr sonographisch nachweisbar waren der Mittelwert bei 4,5 ng/ml, mit Minimalwerten von 2,1 ng/ml und Maximalwerten von 6,5 ng/ml. Diese Werte liegen deutlich über dem von Concannon (1990) genannten Wert von  $< 1$  ng/ml, bei dem es zu einem Abbruch der Gravidität kommt. Verglichen mit den kurzzyklischen nicht tragenden Hündinnen in dieser Studie waren die  $P_4$ -Werte zwischen Tag 40-50 p.ov. und 50-60 p.ov. bei den Hündinnen mit vollständigen Trächtigkeitsverlust im Mittel niedriger (2,6 vs. 3,2 ng/ml und 0,3 vs. 1,1 ng/ml).

Nach Concannon (1990) und Fieni (2001) kommt es nach einer Resorption bzw. einem Abort zu einer frühzeitigen Luteolyse, die möglicherweise durch einen Wegfall luteotroper Substanzen ausgelöst wird. Da die Luteotropine LH und Prolaktin in dieser Studie nicht ermittelt wurden, können diesbezüglich keine Angaben gemacht werden. Bei einem mit Aglepristone herbeigeführten Trächtigkeitsabbruch in der fortgeschrittenen Gravidität wird die Austreibung der Feten von einem Anstieg an  $PGF2\alpha$ -Metaboliten (PGFM) begleitet (Fieni, 2001). Ob dem in der Studie beobachteten vorzeitigen Abfall der Progesteronkonzentration ein entsprechender Zusammenhang zugrunde liegt, kann nicht belegt werden, da begleitende Messungen von  $PGF2\alpha$ -Metaboliten fehlen.

Bei der Zufuhr von exogenem  $PGF2\alpha$ , konnten schon zwei Tage nach Beginn der Behandlung basale  $P_4$ -Werte gemessen werden (Hori, 2002). Daher müssten die Hündinnen täglichen Blutentnahmen unterzogen werden, um eine Kausalität zwischen einer frühzeitigen Gelbkörperregression und erhöhten Konzentrationen an  $PGF2\alpha$ -Metaboliten zu belegen. Durch eine kompetitive Blockade der Progesteronrezeptoren mittels Mifepristone konnten bei der Frau und der Ratte Uteruskontraktionen bei zeitgleicher Zunahme an uterinem  $PGE_2$  und  $PGF2\alpha$  ausgelöst werden. Diese Beobachtung war offensichtlich eine Folge und nicht ursächlich für die uterine Aktivität (Hill, 1990; Arkaravichien, 1992). Ein Zusammenhang zwischen Gelbkörperregression und uteriner Freisetzung von  $PGF2\alpha$ , der den physiologischen Vorgängen der prepartalen Luteolyse ähnelt (Concannon, 1989), wird vermutet (Concannon, 1990).

Bei der Verabreichung eines Antiprolaktins und einem damit einhergehenden Abfall der  $P_4$ -Konzentration vermuten Nöthling et al. (2003) ursächlich für den daraus resultierenden Fruchttod eher das Auftreten uteriner Kontraktionen als den direkten Effekt auf die Plazenta oder die Früchte selbst. Ob bei der Hündin die Aktivität des graviden Uterus durch die Balance zwischen dem intrinsischen Suppressor, Progesteron, und dem Stimulator,  $PGF2\alpha$ , reguliert wird, müsste durch Bestimmung von endogenem  $PGF2\alpha$  und Progesteron bei Verkürzung der Blutprobenentnahmeintervalle nachgegangen werden. Auf diese Weise wäre

auch zu klären, ob der intrauterine Fruchttod bzw. Resorption oder Abort mit einer Ausschüttung von  $\text{PGF2}\alpha$  einhergeht und wie die der Gelbkörper bezüglich der Progesteronsekretion darauf reagiert oder umgekehrt.

Es wird vermutet, dass bei der trächtigen Hündin vom intakten feto-plazentären Gewebe eine luteotrope Wirkung ausgeht, da die Gelbkörperaktivität bei der tragenden Hündin stärker ist, als bei der nicht tragenden Hündin (Smith, 1974, Concannon, 1977). Durch den Wegfall der luteotropen Wirkung des graviden Uterus, kommt es nach Concannon (1990) zum Sistieren der lutealen Funktion. Bei der Hündin wird in diesem Zusammenhang dem Relaxin eine bedeutenden Rolle zugeschrieben (Concannon, 2001), da z.B. beim Weißbüschelaffen die luteotrope Wirkung des Relaxins als belegt gilt (Beindorff, 2001, Verhagen, 2002). Auch bei mit Antiprogestin behandelten Hündinnen sind diesbezüglich Hinweise abzuleiten, da der Abfall der Progesteronkonzentration und der jeweilige Grad der Luteolyse mit einem Absinken der peripheren Konzentration des Relaxins einherzugehen scheint (Steinetz, 1989, Klonisch, 1999).

Relaxin kann bei der Hündin ab Tag 21 p.ov. mittels eines kommerziellen Relaxinassays gemessen werden (Bunck, 2002) und unterstützt ab diesem Zeitpunkt vermutlich die Prolaktinausschüttung (Concannon, 2001). Da Prolaktin als wichtigster luteotroper Faktor bei der Hündin beschrieben wurde, ist es möglich, dass Relaxin indirekt luteotrop wirkt. So ist nicht auszuschließen, dass eine verminderte  $\text{P}_4$ -Synthese durch den Wegfall einer möglicherweise auch bei der Hündin bestehenden luteotropen Unterstützung des Relaxins hervorgerufen wird. Neuere Studien unterstützen die Hypothese eines zeitlichen Zusammenhangs zwischen der initialen plazentären Relaxinproduktion und hypophysärer Prolaktinsekretion (Günzel-Apel, 2006). Eine mögliche Erklärung wäre eine durch Relaxin induzierte Stimulation der Prolaktinfreisetzung bei der tragenden Hündin (Concannon, 2001), ähnlich wie dies bereits beim Schwein gezeigt wurde (Li, 1993). Dagegen spricht der bei einigen Hündinnen dieser Studie relativ frühe Abfall der Progesteronkonzentration zu Zeitpunkten an denen die Relaxinkonzentration bei der tragenden Hündin noch nicht signifikant ansteigt. Um dieser Frage weiter nachzugehen, wäre die engmaschige Bestimmung von  $\text{P}_4$ -, Prolaktin- und Relaxinprofilen bei tragenden und nicht tragenden Hündinnen, bei denen ein Verdacht auf eine Gelbkörperinsuffizienz besteht, sinnvoll.

## **5.5 Semiquantitatives Testverfahren zur Bestimmung der Progesteronsekretion während der Lutealphase (Hormonost<sup>®</sup>)**

Zur Überwachung der Gelbkörperphase wurde ein handelsüblicher semiquantitativer ELISA-Test verwendet (Hormonost<sup>®</sup>) um nach einem von Kustritz et al. (2001) empfohlenen Kontrollschema zu verfahren (s. 2.6). Studien über die Korrelation zwischen semiquantitativen Testverfahren nach dem ELISA Prinzip und dem RIA in Zusammenhang mit der Vaginalzytologie wurden in der Phase des Östrus schon durchgeführt (England, 1989; Manothaiudom, 1995). England et al. (1989) beschrieben die Korrelation als hoch signifikant. Die durch den ELISA ermittelten Werte waren jedoch einheitlich höher als die durch den RIA ermittelten Werte. Manothaiudom et al. (1995) stellten eine Übereinstimmung von 85% zwischen einem semiquantitativen ELISA und einem RIA fest, in der fertilen Periode lag die Übereinstimmung der gemessenen Werte sogar bei 96%. Auch Günzel-Apel et al. (1990) bestätigen die Brauchbarkeit eines semiquantitativen „schnellen“ Progesterontests, besonders in Kombination mit der Vaginalzytologie, um den Ovulationszeitraum herum. Die in Deutschland kommerziell erhältlichen Enzymimmunoassays, Hormonost<sup>®</sup> und Target<sup>®</sup>, wurden von Hospes et al. (2004) in einer klinischen Studie getestet. Der Hormonost<sup>®</sup>-Test war mit insgesamt 84% richtigen Zuordnungen der semiquantitativen Ergebnisse zu den Resultaten der Chemilumineszenz mehr als doppelt so genau wie der Target<sup>®</sup>-Test mit 40%. Des Weiteren sieht der Target<sup>®</sup>-Test keine Differenzierung von „Ovulationszeitraum“ und „Lutealphase“ vor. Darüber hinaus liefert der Hormonost<sup>®</sup> durch Ablesen der fortschreitenden Enzymreaktion nach weiteren 10 Minuten Angaben zum Progesteronwert bei Blutproben, die nach erfolgter Ovulation gewonnen wurden (Hospes, 2004).

## **5.6 Sonographische Befunde im B-Mode**

Verschiedene Autoren beschrieben den Zeitraum zwischen Tag 17 und 20 nach dem LH-Peak (das entspricht etwa Tag 19-22 p.ov.) als frühestmöglichen Termin des sonographischen Trächtigkeitssnachweises. Dabei kam bei den Untersuchungen von Günzel-Apel et al. (2001), Yeager (1990; 1992) sowie England (1993) jeweils ein 7,5-MHz-Schallkopf zum Einsatz. Die Gravidität konnte bei allen Tieren der vorliegenden Studie mit einem 7,5-MHz-Linearschallkopf an Tag 23 p.ov. im Real-Time-Verfahren nachgewiesen werden. Wie in der Studie von Yeager (1990) wurde die embryonale bzw. fetale Herzaktion als Hauptindikator der Vitalität der Früchte angesehen. Der embryonale Herzschlag konnte bei den Hündinnen dieser Studie frühestens am Tag 21 p.ov. (Yeager, 1990; 1992, England,

1993) und bei allen Embryonen spätestens am Tag 29 p.ov. bestimmt werden. Verstegen et al. (1993) konnte mit einem 7,5-MHz-Schallkopf spätestens am Tag 27 p.ov. alle Herzschläge ermitteln. Da die Hündinnen in dieser Studie aufgrund des logistischen Aufwands nicht täglich sonographisch untersucht wurden, kann keine Aussage darüber getroffen werden, zu welchem genauen Zeitpunkt die Herzschläge tatsächlich detektierbar waren. Die Herzschläge wurden jedoch später erfasst als in anderen Studien. Daraus sind eventuelle Rückschlüsse auf die Unversehrtheit der Feten bis zu diesem Zeitpunkt zu ziehen. Die Veränderungen der embryonalen bzw. fetalen Herzfrequenz während der caninen Gravidität wurde von Verstegen et al. (1993) dokumentiert. Sie konnten eine deutliche Zunahme der Herzfrequenzen im Trächtigkeitsverlauf verzeichnen, die auch in dieser Studie beobachtet werden konnte. Die mittlere Herzfrequenz stieg von 202 (Tag 21-25 p.ov.) auf 235 in der Mitte der Gravidität (Tag 26-30 p.ov.). Zwischen Tag 32-40 lag die mittlere Herzfrequenz bei 241 Herzschlägen pro Minute. Als Anzeichen für fetalen Stress bzw. hormonelle Veränderungen interpretieren Verstegen et al. (1993) eine Reduktion der fetalen Herzfrequenz, die sie auch prepartal nachweisen konnten. Es wird vermutet, dass embryonale bzw. fetale Herzraten von weniger als dem Doppelten der maternalen Herzrate als Anzeigers eines Fruchtleidens gewertet werden können (England, 1998). Eine premortale Reduktion der caninen embryonalen bzw. fetalen Herzaktion konnte sowohl bei spontan eintretendem (England, 1998) als auch bei medikamentös induziertem Fruchttod (Onklin, 1993) nachgewiesen werden. Aufgrund der Herzfrequenzen kann in dieser Studie keine prognostische Aussage über die Integrität der Früchte gemacht werden, da es erst einige Stunden vor Eintritt des Fruchttodes zu einem dramatischen Abfall der Herzaktion kommt. Diese Überwachung war aus logistischen Gründen nicht möglich.

Jedoch konnten die von Günzel-Apel (2001) als Merkmale des Fruchttodes beschriebene Erscheinungen, wie das Fehlen von Fruchtbewegungen, eine unphysiologische Körperhaltung, das Kollabieren des Rippenbogens und das Verschwimmen und die Auflösung der Organstrukturen beobachtet werden. Diese Früchte waren aufgrund des kollabierten Zustandes häufig schwer detektierbar. Die von England (1998) beschriebene Verteilung von Flüssigkeit im Uteruslumen resultierend aus rupturierten Fruchthüllen konnten in dieser Studie jedoch nicht beobachtet werden. Da diese beschriebenen Flüssigkeitsmengen innerhalb von zwei bis drei Tagen nicht mehr darstellbar sind (England, 1998), lagen hier die Zeitabstände der sonographischen Untersuchungen möglicherweise einfach nicht nah genug. Hinweise auf den Verbleib der Früchte waren nicht auszumachen (Concannon, 1990).

Wie in den Studien von England (1998) und Onclin (1999), sowie Günzel-Apel (2001) wurden benachbarte Fruchtkammer durch die stattfindende Resorption nicht beeinträchtigt.

## 5.7 Spontane Fruchtresorption

Die Inzidenz spontaner Fruchtresorptionen variiert stark und liegt nach England (2006) bei 10,6%, nach Müller und Arbeiter (1993) bei 12,9% der untersuchten tragenden Hündinnen. Bei Hündinnen mit vorausgegangenen Fruchtbarkeitsstörungen war die Inzidenz spontaner Fruchtresorptionen nicht höher (England, 1992). In dieser Studie kam es bei 7,1% der Trächtigkeiten zu spontanen Resorptionen. Im Vergleich zu England (2006) wurden also weniger spontane Fruchtresorptionen beobachtet. Dies kommt eventuell dadurch zustande, dass in dieser Studie die Tiere nur alle fünf Tage zu einer sonographischen Verlaufskontrolle vorgestellt wurden, wohingegen England (2006) die Fruchtkammern täglich von Tag 15-35 (Tag 0 = LH-Surge) sonographisch untersuchte und somit wahrscheinlich präzisere Befunde erhoben werden konnten. Die Ursache der zwei Resorptionen von insgesamt sechs Früchten bleibt unklar. Eine generelle Subfertilität bleibt auszuschließen, da beide Hündinnen nach klinisch inapparenter Resorption zum physiologischen Geburtstermin sieben bzw. acht voll entwickelte, gesunde Welpen geworfen haben. Es wird vermutet, dass embryonale Resorptionen vermehrt bei großen Würfen auftreten (Allen, 1994; England, 1998). Ursächlich dafür wird eine Überfüllung des Uterus sowie eine ungleiche Verteilung der Fruchtkammern im Uterus diskutiert. Diese gleichmäßige Verteilung scheint für die optimale Bindung einer plazentaren Einheit bedeutsam zu sein. Das von England (1998) als „overcrowded“ bezeichnete Phänomen könnte bei den beiden Hündinnen in dieser Studie mit anfänglich zehn bzw. elf Früchten eine Rolle gespielt haben. Eine ungleichmäßige intrauterine Verteilung kann für diese Graviditäten nicht ausgeschlossen werden, da dies sonographisch nicht mit ausreichender Genauigkeit feststellbar ist. Bei der Stute wird eine ungleichmäßige Rezeptorausstattung bei Differenzierungsstörungen des Endometriums beschrieben. Eine daraus resultierende Beeinflussung der lokalen Hormonwirkung wird vermutet (Häfner, 2001). Solche Aussagen können jedoch nur beim exenterierten Uterus getroffen werden. Die Progesteronwerte der Hündinnen in dieser Studie entsprachen zu jedem Zeitpunkt den in der Literatur beschriebenen physiologischen Referenzwerten (Concannon, 1975; 1989).

## 5.8 Einfluss des exogenen Progesterons auf die Laktation

Ein physiologischer Abfall des Progesterons geht mit einem Anstieg der Prolaktinsekretion einher (Kooistra, 2002). Bei Hündinnen, die während der Gravidität mit exogenem Progesteron substituiert wurden, konnte eine unzureichende Milchproduktion in den ersten zwei Tagen post partum von einigen Autoren beschrieben werden (Eilts, 1992, 1994; Görlinger, 2004). Sie vermuten eine Unterdrückung der Prolaktinsekretion in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit aufgrund des durch die Substitution veränderten Progesteronverlaufs. Bei Tsutsui (1983) hingegen wurde keine insuffiziente Milchproduktion beschrieben. Günzel-Apel et al. (2006) fanden bei Hündinnen, die mit exogenem Progesteron substituiert wurden, signifikant niedrigere Prolaktinkonzentrationen als bei den Kontrolltieren. Über eine verminderte Prolaktinsekretion der Hündinnen in dieser Studie kann keine Aussage getroffen werden, da sie nicht dokumentiert sind. Da jedoch die Milchsekretion post partum bei keiner der Hündinnen unzureichend war bzw. verzögert verlief, kann eine ausreichende Prolaktinsekretion vermutet werden. Diese Möglichkeit wird durch Beijerink et al. (2003) bestätigt, der mit einem Dopaminantagonist eine Verkürzung des Anöstrus ohne einen signifikanten Abfall der Prolaktinkonzentration beobachten. Der Zeitpunkt der Substitution hatte in dieser Studie keinen Einfluss auf die Gesäugeanbildung bzw. die Laktation, da die Hündinnen sowohl in der Prolaktinunabhängigen Phase als auch in der Prolaktinabhängigen Phase substituiert wurden. Des Weiteren mag ein Unterschied bestehen, ob zur Substitution in der Gravidität ein natürliches oder ein synthetisches Progestagen verwendet wird (siehe 6.7).

## 5.9 Substitution von natürlichem exogenem Progesteron

Eine primäre Gelbkörperinsuffizienz kann mit einem synthetischen oder einem natürlichen Progestagen (Purswell, 1991; Scott-Moncrieff, 1990) behandelt werden. Ein natürliches Progesteron bringt jedoch den Nachteil mit sich, dass es durch den Radioimmunoassay erfasst wird, und somit keine Aussage über die endogene Progesteronsekretion der Hündin zulässt.

Eilts (1992, 1994) und Görlinger (2004) verwendeten zur Aufrechterhaltung der Trächtigkeit jeweils ein synthetisches Progestagen, da diese anhand des RIA nicht erfasst werden. Somit konnte ein unphysiologisch frühes Absinken der endogenen Progesteronkonzentration gezeigt werden. Rothchild (1981) vermutet jedoch einen autoregulatorischen positiven feedback Effekt exogenen Progesterons auf die eigene Sekretion. Diese Vermutung wird durch die Beobachtung bestätigt, dass die Verabreichung von P<sub>4</sub>-Rezeptorblockern eine Verminderung der endogenen P<sub>4</sub>-Synthese zu verursachen scheint (Galac, 2004). Aus diesem Grund ist

fraglich, inwiefern die von Eilts (1992, 1994) und Görlinger (2004) gemessenen endogenen Progesteronkonzentrationen von der Substitution exogenen Progesterons beeinträchtigt wurden. Um dieser Frage nachzugehen, wäre es sinnvoll, zusätzlich zu den in der Gravidität substituierten Tieren eine Kontrollgruppe tragender Hündinnen mit dem Verdacht einer Gelbkörperinsuffizienz hinsichtlich ihrer Hormonprofile während der Lutealphase zu betrachten. Eine solche Studie ist mit Hundezüchtern in der Regel jedoch nicht vereinbar, da ein Verlust der Trächtigkeit besteht (Concannon, 1977).

Ein weiterer Grund ein natürliches Progesteron zu verwenden, war der von Curtis (1964) beschriebene Verdacht einer Maskulinisierung der weiblichen Feten durch Derivate des 19-Nortestosterons aufgrund ihrer androgenen Effekte.

### **5.10 Zusammenfassende Schlussbetrachtung**

Die Ergebnisse bestätigen die klinische Beobachtung des Auftretens von kurzzyklischen Hündinnen (hier vorwiegend der Deutsche Schäferhund) in Assoziation mit einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit. Die Hormonverläufe der kurzzyklischen, nicht tragenden (Gruppe 1) und besonders der tragenden Hündinnen (Gruppe 2 und 3) geben Hinweise auf die Kausalität zwischen verkürzter Zykluslänge und einer eingeschränkten Fruchtbarkeit. Die signifikant niedrigeren  $P_4$ -Werte während der Lutealphase der nicht tragenden Hündinnen im Vergleich zu den nicht tragenden Hündinnen der Kontrollgruppe kann eine unzureichende Progesteronsekretion der Corpora lutea sowohl in der autonomen (Okkens, 1986) als auch in der Prolaktinabhängigen Lutealphase (Okkens, 1990; Onclin, 1993) andeuten.

Die signifikant höheren  $P_4$ -Konzentrationen der Gruppe 3 gegen Ende der Lutealphase sind vermutlich durch die Substitution des exogenen Progesterons zu erklären.

Eine unzureichende Prolaktinsekretion als primäre Ursache der unzureichenden Gelbkörperfunktion kann aufgrund fehlender Verlaufskontrollen nicht ausgeschlossen werden. Die bedeutende Rolle des Prolaktins ist in diesem Zusammenhang unzweifelhaft demonstriert worden (Okkens, 1990; Onclin, 1997).

Eine Analyse der Relaxinkonzentrationen während der Trächtigkeit könnte Aufschlüsse über eine unzureichende plazentäre Integrität im Zusammenhang mit embryonalen bzw. fetalen Fruchttoden bzw. Resorptionen geben.

In dieser Studie sanken die  $P_4$ -Konzentrationen bei den Hündinnen bei denen ein vollständiger Verlust der Trächtigkeit zu verzeichnen war zeitgleich mit den ersten resorbierten Früchten deutlich ab. Zum Erreichen basaler Konzentrationen jedoch kam es erst

nachdem keine vitalen Früchte mehr detektierbar waren. Da das natürliche Progesteron bei richtiger Applikation die  $P_4$ -Konzentration für zwei bis drei Tage aufrechterhält, ist ein Einfluss des exogenen Progesterons noch möglich.

Dieser Frage muss durch frequentere Probengewinnung und Bestimmung der Progesteron-, Prolaktin- und Relaxinkonzentrationen nachgegangen werden, um Hinweise auf eine auch bei der Hündin diskutierte luteotrope Wirkung von Relaxin zu erhalten. Die zeitgleiche sonographische Dokumentation der Entwicklung der Früchte wäre sinnvoll.

Durch die Befunde ist ein Zusammenhang zwischen verkürzten Läufigkeitsintervallen, Subfertilität und verminderten  $P_4$ -Konzentrationen eindeutig nachvollziehbar. Sie liefern eine Grundlage für künftige Untersuchungen hinsichtlich der Funktionsmechanismen des Ovars in der Gravidität und der Pathogenese der Gelbkörperinsuffizienz.

## 6 Zusammenfassung

### **Untersuchung zum Zusammenhang zwischen verkürztem Läufigkeitsintervall und dem Hypoluteinismus der Zuchthündin und zur Effektivität von Progesteronsubstitutionen**

Charakteristisch für die Lutealphase tragender sowie nicht tragender Hündinnen sind periphere Progesteronkonzentrationen von über 2 ng/ml. Bei der Gelbkörperinsuffizienz kommt es zu einem verfrühten Absinken der Progesteronkonzentration und einer daraus resultierenden verkürzten Gelbkörperphase, bzw. verkürzten Läufigkeitsintervallen von  $4\pm 1$  Monaten. Während der Trächtigkeit führt ein frühzeitiges Abfallen der Progesteronkonzentration von unter 2 ng/ml für einen Zeitraum von über 48 Stunden höchstwahrscheinlich zu einer Resorption oder dem Abort der Früchte. Ein frühzeitiger Abfall der Progesteronkonzentration während der Gravidität kann jedoch auch eine physiologische Antwort auf fetales Leiden sein. Das Phänomen des primär ursächlichen Progesteronmangels ist der Hypoluteinismus.

Ziel dieser Orientierungsstudie war es, reproduktionsanamnestische Daten von Hündinnen, die einen verkürzten Interöstrus und eine eingeschränkte Fertilität aufwiesen, zu dokumentieren und aktuelle P<sub>4</sub>-Profile während der Gelbkörperphase zu erstellen.

Dazu wurden 40 tragende und nicht tragende Zuchthündinnen aus Privatbesitz in die Studie aufgenommen. Voraussetzungen dafür waren vorangegangene Läufigkeitsintervalle von  $\pm 4$  Monaten und verminderte Erfolge in der Zucht. Diese anamnestischen Daten wurden dokumentiert. Zusätzlich wurden sechs Kontrollhündinnen mit vorangegangenen Läufigkeitsintervallen von  $\pm 6$  Monaten aufgenommen. Vom Beginn des Östrus bis zum 58. Tag p.ov. wurden Serumproben in Intervallen von 5 bis 7 Tagen gewonnen und die jeweiligen P<sub>4</sub>-Konzentrationen bestimmt. Bei tragenden Hündinnen wurde ab Tag 21 p.ov. zeitgleich mit den Blutprobengewinnungen sonographische Untersuchungen durchgeführt, um die fetale bzw. embryonale Entwicklung zu beurteilen. Der Anteil der tragenden Tiere, die im Laufe der Trächtigkeit mit exogenem Progesteron substituiert werden musste, lag bei 54,8%. Die meisten Hündinnen wurden zwischen Tag 10 und 30 p.ov. substituiert (n=10). Zum physiologischen Geburtstermin warfen 70,6% der mit P<sub>4</sub> substituierten Hündinnen. Im Vergleich dazu betrug der Anteil 78,6% bei den Hündinnen, die keiner Substitution unterzogen wurden. Somit war die Anzahl der Hündinnen, die einen Wurf zu verzeichnen hatten in den Gruppen 2 (tragend, nicht substituiert) und 3 (tragend, substituiert) annähernd

gleich. Hinweise auf eine unzureichende Progesteronkonzentration sowohl in der autonomen als auch in der Prolaktinabhängigen Lutealphase geben die signifikant niedrigeren  $P_4$ -Werte der nicht tragenden Hündinnen mit verkürzten Läufigkeitsintervallen im Vergleich zu den nicht tragenden Tieren der Kontrollgruppe. Zwischen Tag 5 und 25 p.ov. wurden in der Gruppe 3 signifikant niedrigere  $P_4$ -Werte nachgewiesen als in den Gruppen 0 (Kontrollgruppe) und 2. In der Kontrollgruppe wurde keine Resorption beobachtet. Bei den tragenden Tieren, die mit exogenem  $P_4$  substituiert wurden, kam es bei 29,4% der Hündinnen zu einem kompletten asynchronen Verlust der Trächtigkeit bei einer mittleren  $P_4$ -Konzentration von 4,5 ng/ml. Die mittlere Anzahl der Welpen lag bei 5,6 in der Kontrollgruppe und 5,8 bei den tragenden Tieren, die keiner  $P_4$ -Substitution unterworfen wurden. Hündinnen, die mit exogenem Progesteron substituiert wurden wiesen eine mittlere Wurfgröße von 4,2 Welpen auf.

Diese Ergebnisse bekräftigen die Vermutung, dass ein Zusammenhang zwischen verkürzten Läufigkeitsintervallen und niedrigen Progesteronkonzentrationen in der Lutealphase der Hündin besteht.

## 7 Summary

### **Studies on the interrelation between shortened interestrous interval and hypoluteinism in bitches and on the efficiency of progesterone supplementation.**

Endocrine activity of the canine Corpus luteum (C.l.) during the luteal phase or pregnancy is characterised by peripheral blood serum concentrations of progesterone (P<sub>4</sub>) greater than 2ng/ml. Insufficiency of the C.l. due to premature luteal regression results in shortening of the luteal phase i.e. shortening of the interestrous interval of 4±1 month. During pregnancy a premature drop of P<sub>4</sub> below 2 ng/ml for more than 48 hours is likely to result in embryonic resorption or fetal abortion. A decrease of P<sub>4</sub> may result as a physiological response to fetal distress rather than being the primary cause (Hypoluteoidism).

The objective of this study was to compare anamnestic data with current P<sub>4</sub>-Profiles in bitches with short interestrous intervals and a history of impaired fertility.

Fourty pregnant and nonpregnant privately owned bitches with a history of interestrous intervals of ±4 month were included in the study. Anamnestic data about previous breeding history were collected. Blood serum concentrations of P<sub>4</sub> were determined at 5 to 7 days intervals from the onset of oestrus to day 58 after assumed ovulation. In pregnant bitches real-time ultrasound was performed every 5 to 7 days, beginning day 21, with a 5 MHz linear transducer to assess embryonic/fetal development. A total of 54.8% of the diagnosed pregnant bitches were supplemented with P<sub>4</sub> to prevent pregnancy loss. Most bitches were supplemented between days 10 and 30 (n=10). Of supplemented bitches, 70.6% took a litter to term. Proportion of bitches not supplemented that did whelp was 78.6%. The nonpregnant bitches had significantly lower P<sub>4</sub>-values than the controls, indicating decreased luteal activity. From day 5 to 25, P<sub>4</sub>-values were significantly lower in supplemented pregnant bitches compared with the control bitches and those bitches not supplemented. Emryonic resorption was observed in none of the control bitches. In pregnant supplemented bitches 29.4% lost all embryos at mean P<sub>4</sub> of 4.5 ng/ml. The number of puppies born was 5.6 in the control group compared to 5.8 in bitches not supplemented. The mean number of pups born in supplemented bitches was 4.2.

These results indicate decreased progesterone secretion by the corpora lutea in the autonomous (until midpregnancy) as well as in the Prolactin-dependent period (from midpregnany to birth).

In conclusion, a history of short interestrus intervals was associated with lower P<sub>4</sub>-values in the luteal phase in the bitch.

## 8 Literaturverzeichnis

Andersen, A. C., Simpson, M. I. (1973):

Corpus luteum Development and regression.

In: The ovary and the reproductive cycle in the dog (beagle). / (Hrsg.).

Los Altos, California: Geron-X, Inc. ISBN: 0-87676-007-6. 128-164.

Arbeiter, K. (1994):

Anwendung von Hormonen in der Reproduktionsmedizin von Hund und Katze.

In: Veterinärmedizinische Endokrinologie. / F. Döcke (Hrsg.).

Jena-Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 823-841.

Aurich, J. E. (2002):

Endokrinpharmakologie.

In: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. / W. L. H. H.

Frey (Hrsg.).

Stuttgart: Enke Verlag. ISBN: 3-7773-1797-7. 280-317.

Beindorff, W.; Verhagen, S. und Einspanier, A. (2001):

Luteotrophic support by relaxin: a dose- and time-related process.

34th annual meeting of physiology and pathology of reproduction and 26th veterinary and human medicine meeting. Gießen, 22.02-23.02.2001.

Böhm, K. H.; Ruffler, A.; Siesenop, A. und Beckmann, G. (1993):

Mikrobiologische Untersuchungen zur Zusammensetzung der Vaginalflora der Hündin.

WSAVA Weltkongress und FKDVG 1993, Berlin, S. 275 ff.

Bouchard, G. F.; Solorzano, N.; Concannon, P. W.; Joungquist, R. S. und Bierschwall, C. J. (1991):

Determination of ovulation time in bitches on teasing, vaginal cytology and ELISA for progesterone.

Theriogenology 35. 603-611.

Bunck, C.; Froin, H. R. und Günzel-Apel, A.-R. (2002):

Erfahrungen mit einem kommerziellen Relaxin-Assay zum Trächtigenachweis beim Hund.

Kleintierpraxis 47, 5-10.

Challis, J. R.; Patel, F. A. und Pomini, F. (1999):

Prostaglandin dehydrogenase and the initiation of labor.

J Perinat Med 27 (1). 26-34.

Christiansen, I. (1984):  
Reproduction in the dog and cat. - 1  
London: Bailliere Tindall.

Christie, D. W. und Bell, E. T. (1971):  
Some observations on the seasonal incidence and frequency of oestrus in breeding bitches in  
Britain.  
J Small Anim Pract 12 (3). 159-67.

Chwalisz, K.; Stockemann, K.; Fuhrmann, U.; Fritzscheier, K. H.; Einspanier, A. und  
Garfield, R. E. (1995):  
Mechanism of action of antiprogestins in the pregnant uterus.  
Ann N Y Acad Sci 761. 202-23.

Concannon, P. (1980):  
Effects of hypophysectomy and of LH administration on luteal phase plasma progesterone  
levels in the beagle bitch.  
J Reprod Fertil 58 (2). 407-10.

Concannon, P.; Whaley, S.; Lein, D. und Wissler, R. (1983):  
Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile life of sperm.  
Am J Vet Res 44 (10). 1819-21.

Concannon, P. (1991):  
Reproduction in Domestic animals.  
San Diego: P. T. Cupps. - (Reproduction in the dog and cat)

Concannon, P.; Tsutsui, T. und Shille, V. (2001):  
Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine  
pregnancy.  
J Reprod Fertil Suppl 57. 169-79.

Concannon, P. W.; Hansel, W. und Visek, W. J. (1975):  
The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone.  
Biol Reprod 13 (1). 112-21.

Concannon, P. W.; Powers, M. E.; Holder, W. und Hansel, W. (1977):  
Pregnancy and parturition in the bitch.  
Biol Reprod 16. 517-526.

- Concannon, P. W.; Hansel, W. und McEntee, K. (1977a):  
Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch.  
Biol Reprod 17. 604-613.
- Concannon, P. W. (1986):  
Canine pregnancy and parturition.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract 16 (3). 453-75.
- Concannon, P. W.; Weinstein, P.; Whaley, S. und Frank, D. (1987):  
Suppression of luteal function in dogs by luteinizing hormone antiserum and by bromocriptine.  
J Reprod Fertil 81 (1). 175-80.
- Concannon, P. W.; Isaman, L.; Frank, D. A.; Michel, F. J. und Currie, W. B. (1988):  
Elevated concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 alpha in maternal plasma during parturition luteolysis and parturition in dogs (Canis familiaris).  
J Reprod Fertil 84 (1). 71-7.
- Concannon, P. W.; McCann, J. P. und Temple, M. (1989):  
Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog.  
J Reprod Fertil Suppl 39. 3-25.
- Concannon, P. W.; Yeager, A.; Frank, D. und Iyampillai, A. (1990):  
Termination of pregnancy and induction of premature luteolysis by the antiprogestagen, mifepristone, in dogs.  
J Reprod Fertil 88 (1). 99-104.
- Concannon, P. W. (1993):  
Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs.  
J Reprod Fertil Suppl 47. 3-27.
- Conley, A. J. und Evans, L. E. (1984):  
Bromocryptine induced abortion in the bitch.  
Proc 10<sup>th</sup> Congr Anim Reprod and Art Insem Champaign, Urbana, Illinois, USA. 504-506.
- Csapo, A. I. (1977):  
The effects of ovariectomy and stretch on the regulatory profile and activity of the uterus.  
Prostaglandins 13. 965-973.

- Di Salle, E.; Ornati, G. und Briatico, G. (1983):  
FCE 21336, a new ergoline derivate with a potent and long-acting lowering effect on prolactin secretion in rats.  
J. Endocrinol. Invest. Suppl. (5). 1,45.
- Dickson, S. E.; Bicknell, R. und Fraser, H. M. (2001):  
Mid-luteal angiogenesis and function in the primate is dependent on vascular endothelial growth factor.  
J Endocrinol 168 (3). 409-16.
- Döcke, F. (1994):  
Veterinärmedizinische Endokrinologie. - 3  
Jena: Gustav Fischer Verlag. - ISBN: 3-334-60432-2. -
- Dore, M. A. (1989):  
Structural aspects of luteal function and regression in the ovary of the domestic dog.  
J Reprod Fertil Suppl 39. 41-53.
- Edquist, L. E.; Johansson, E. D. B.; Kasström, H.; Olsson, S. E. und Richkind, M. (1975):  
Blood plasma levels of progesterone and oestradiol in the dog during the oestrus cycle and pregnancy.  
Acta Endocrinologica (78). 554-564.
- Eilts, B. E. (1992):  
Pregnancy maintenance in the bitch using Regumate.  
In: Proceedings Annu Meet Soc Theriogenology. / (Hrsg.). 144-147.
- Einspanier, A.; Muller, D.; Lubberstedt, J.; Bartsch, O.; Jurdzinski, A.; Fuhrmann, K. und Ivell, R. (2001):  
Characterization of relaxin binding in the uterus of the marmoset monkey.  
Mol Hum Reprod 7 (10). 963-70.
- Einspanier, A.; Bunck, C.; Salpigidou P.; Marten, A.; Fuhrmann, K.; Hoppen, H. O.; und Günzel-Apel, A.-R. (2002):  
Relaxin: ein wichtiger Graviditätsindikator bei der Hündin.  
Dtsch tierärztl Wschr 109. 8-12.
- Engel, E.; Klein, R.; Baumgartner, W. und Hoffmann, B. (2005):  
Investigations on the expression of cytokines in the canine corpus luteum in relation to dioestrus.  
Anim Reprod Sci 87 (1-2). 163-76.

- England, G. C. (1992):  
Ultrasound evaluation of pregnancy and spontaneous embryonic resorption in the bitch.  
J Small Anim Pract (33). 430-6.
- England, G. C. (1993):  
Ultrasonographic imaging of spontaneous embryonic resorption in the bitch  
J Reprod Fert Suppl 47 552 (Abstr.)
- England, G. C. (1998):  
Ultrasonographic assessment of abnormal pregnancy.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract 28. 849-467.
- England, G. C. und Allen, G.W. (1989):  
Real-time ultrasonic imaging of the ovary and uterus of the dog.  
J Reprod Fert Suppl 39. 91-100.
- England, G. C. und Russo, M. (2006):  
Ultrasonographic characteristics of early pregnancy failure in bitches.  
Theriogenology 66 (6-7). 1694-1698.
- England, G. C. und Yeager, A.E. (1993):  
Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation  
and early pregnancy.  
J Reprod Fert Suppl 47. 107-117.
- Evans, H. E. (1979):  
Reproduction and prenatal development.  
In: Miller's Anatomy of the dog. / H. E. Evans and G. C. Christensen (Hrsg.).  
Philadelphia: W. B. Saunders Company. 13-77.
- Fairclough, R. J.; Hunter, J. T. und Welch, R. A. (1975):  
Peripheral plasma progesterone and utero-ovarian prostaglandin F concentrations in the cow  
around parturition.  
Prostaglandins 9 (6). 901-14.
- Feldman, E. und Nelson, R. W. (1987):  
Canine female reproduction.  
In: Canine and feline endocrinology and reproduction. / E. Feldmann and R. W. Nelson  
(Hrsg.).  
Philadelphia, USA: Verlag Saunders Company. 399-480.

- Fitz, T. A.; Mayan, M. H.; Sawyer, H. R. und Niswender, G. D. (1982):  
Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum.  
Biol Reprod 27 (3). 703-11.
- Fontbonne, A.; Siliart, B. und Dadinand, F (1992):  
Hormonal findings in dogs and bitches showing reproductive disorders.  
J Reprod Fertil Suppl 47. 553-4.
- Gerber, J. G.; Hubbard, W. C.; Nies, A. S. (1979):  
Uterine vein prostaglandin levels in late pregnant dogs.  
Prostaglandins 17 (4), 623-7.
- Gerres, S.; Höveler, R. und Hoffmann, B. (1988):  
Scheingravidität-Zur Pathophysiologie der Scheingravidität der Hündin; endokrine  
Grundlagen und Einflußmöglichkeiten.  
Vet (5). 29-31.
- Gobello, C.; Castex, G.; Corrada, Y.; Klima, L.; De La Sota, R. L. und Rodriguez (2002):  
Use of prostaglandins and bromocriptine mesylate for pregnancy termination in bitches.  
J Am Vet Assoc 220. 1017-1019.
- Goede, V.; Schmidt, T.; Kimmina, S.; Kozian, D. und Augustin, H. G. (1998):  
Analysis of blood vessel maturation processes during cyclic ovarian angiogenesis.  
Lab Invest 78 (11). 1385-94.
- Görlinger, S.; Galac, S.; Kooistra, H. S. und Okkens, A. C. (2005):  
Hypoluteoidism in a bitch.  
Theriogenology 64 (1). 213-9.
- Gräf, K. J. (1978):  
Serum oestrogen, progesterone and prolactin concentrations in cyclic, pregnant and lactating  
beagle dogs.  
J Reprod Fertil 52. 9-14.
- Günzel-Apel, A. R. (1994):  
Die Zuchthündin  
In: Günzel-Apel, A. R. (Hrsg.):Fertilitätskontrolle und Samenübertragung beim Hund.  
Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, S. 49-73.

Günzel-Apel, A. R.; Zabel, S.; Bunck, C. F.; Dieleman, S. J.; Einspanier, A. und Hoppen, H. O. (2006):

Concentrations of progesterone, prolactin and relaxin in the luteal phase and pregnancy in normal and short-cycling German Shepard dogs.

Theriogenology 66 (6-7). 1431-1435.

Günzel-Apel, A.-R.; Heinze, B. und Schäfer, D. (2001):

Bestimmung des Gestationsalters.

In: Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik. / C. Poulsen Nautrup and R. Tobias (Hrsg.).

Hannover: Schlütersche Verlagsanstalt. 304-8.

Günzel-Apel, A.-R. und Heinze, B. (2001a):

Pathologische Trächtigkeit.

In: Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze. / C. Poulsen Nautrup and R. Tobias (Hrsg.).

Hannover: Schlütersche Verlagsanstalt. 304-311.

Günzel-Apel, A.-R.; Zabel, S.; Einspanier, A. und Hoppen, H. O. (2003):

Bedeutung, Diagnostik und „Handling“ der Gelbkörperinsuffizienz beim Hund:

Züchterwunsch und tierärztliche Verantwortung.

Kongressbericht 49. Jahreskonferenz der Fachgruppe Kleintierkrankheiten der DVG. S. 119-123.

Hadley, J. C. (1975):

The effect of serial uterine biopsies and hysterectomy on peripheral blood levels of total unconjugated oestrogen and progesterone in the bitch.

J Reprod Fertil 45 (2). 389-98.

Hegstad, R. L.; Johnston, S. D. und Pasternak, D. M. (1993):

Concentrations and pulse analyses of adrenocorticotrophin and luteinizing hormone in plasma from dogs in pro-oestrus, oestrus, dioestrus or anoestrus.

J Reprod Fertil Suppl 47. 77-84.

Hinney, B.; Henze, C. und Wuttke, W. (1995):

Regulation of luteal function by luteinizing hormone and prolactin at different times of the luteal phase.

Eur J Endocrinol 133 (6). 701-17.

Hoffmann, B.; Hoveler, R.; Hasan, S. H. und Failing, K. (1992):

Ovarian and pituitary function in dogs after hysterectomy.

J Reprod Fertil 96 (2). 837-45.

- Hoffmann, B. und Schneider, S. (1993):  
Secretion and release of luteinizing hormone during the luteal phase of the oestrous cycle in the dog.  
J Reprod Fertil Suppl 47. 85-91.
- Hoffmann, B.; Riesenbeck, A. und Klein, R. (1996):  
Reproductive endocrinology of bitches.  
Anim Reprod Sci (42). 275-288.
- Hoffmann, B., Riesenbeck, A.; Schams, D. und Steinetz, B. G. (1999):  
Aspects of hormonal control of normal and induced parturition in the dog.  
Reprod. Dom. Anim. 34, 219-226.
- Hoffmann, B.; Busges, F.; Engel, E.; Kowalewski, M. P. und Papa, P. (2004):  
Regulation of corpus luteum-function in the bitch.  
Reprod Domest Anim 39 (4). 232-40.
- Hoffmann, B.; Busges, F. und Baumgartner, W. (2004a):  
Immunohistochemical detection of CD4-, CD8- and MHC II-expressing immune cells and endoglin in the canine corpus luteum at different stages of dioestrus.  
Reprod Domest Anim 39 (6). 391-5.
- Hoppen, H. O. (1990):  
Endokrinologie des Sexualzyklus des Hundes.  
Kleintierpraxis 35. 565-568.
- Hori, T.; Kawakami, E. und Tsutsui, T. (2004):  
Pituitary hormone responses to luteal regression after administration of prostaglandin F2alpha-analogue.  
Reprod Domest Anim 39 (5). 298-302.
- Hwang, J. J.; Lin, S. W.; Teng, C. H.; Ke, F. C. und Lee, M. T. (1996):  
Relaxin modulates the ovulatory process and increases secretion of different gelatinases from granulosa and theca-interstitial cells in rats.  
Biol Reprod 55 (6). 1276-83.
- Jöchle, W. und Andersen, A. C. (1977):  
The estrous cycle in the dog: a review.  
Theriogenology 7. 113-140.

Jöchle, W.; Arbeiter, K.; Post, K.; Ballabio, R. und D'Ver, A. S. (1989):  
Effects on pseudopregnancy and interestrus intervals of pharmacological suppression of  
prolactin secretion in female dogs and cats.  
J Reprod Fertil Suppl (39). 199-207.

Jöchle, W. (1995):  
Zur Rolle des Prolaktins in der Fortpflanzung bei Hund und Katze.  
Kleintierpraxis (40). 381-398.

Johnson, C. A.; Grace, J. A. und Probst, M. R. (1987):  
The effect of maternal illness on perinatal health.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract 17 (3). 555-66.

Johnson, C. A. und Walker, R. D. (1992):  
Clinical signs and diagnosis of brucella canis infection.  
Compend Contin Educ Pract Vet (14). 763-773.

Johnston, S. D. (1980):  
Diagnostic and therapeutic approach to infertility in the bitch.  
J Am Vet Med Assoc 176 (12). 1335-8.

Klonisch, T.; Hombach-Klonisch, S.; Froehlich, C.; Kauffold, J.; Steger, K.; Steinetz, B. G.  
und Fischer, B. (1999):  
Canine preprorelaxin: nucleic acid sequence and localization within the canine placenta.  
Biol Reprod 60 (3). 551-7.

Kooistra, H. S. und Okkens, A. C. (2001):  
Secretion of prolactin and growth hormone in relation to ovarian activity in the dog.  
Reprod Domest Anim 36 (3-4). 115-9.

Koos, R. D. und Hansel, W. (1981):  
Dynamics of ovarian function.  
In: The large and small cells of the bovine corpus luteum: ultrastructural and functional  
differences. / N. B. Schwarz and M. Hunzicker-Dunn (Hrsg.).  
Raven, New York. 197-203.

Kowalewski, M. P.; Beceriklisoy, H. B.; Aslan, S.; Agaoglu, A. R. und Hoffmann, B. (2009):  
Time related changes in luteal prostaglandin synthesis and steroidogenic capacity during  
pregnancy, normal and antiprogesterin induced luteolysis in the bitch.  
Anim Reprod Sci doi:10.1016/j.anireprosci.2008.12.011

Kowalewski, M. P.; Mutembei, H. M. und Hoffmann, B. (2008):  
Canine prostaglandin F2 alpha receptor (FP) and prostaglandin F2 alpha synthase (PGFS):  
molecular cloning and expression in the corpus luteum.  
*Anim Reprod Sci* 107. 161-175.

Kowalewski, M. P.; Schuler, G.; Taubert, A.; Engel, E. und Hoffmann, B. (2006):  
Expression of cyclooxygenase 1 and 2 in the canine corpus luteum during diestrus.  
*Theriogenology* 66 (6-7). 1423-30.

Kustritz, M. V. (2001). Use of Supplemental Progesterone in Management of canine  
Pregnancy. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. Ithaka, New York, International  
Veterinary Information Service.

Kustritz, V. M. (2005):  
Pregnancy diagnosis and abnormalities of pregnancy in the dog.  
*Theriogenology* 64. 755-765.

Kustritz, V. M. (2006):  
Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract.  
*Theriogenology* 66, 567-574.

Lein, D.; Concannon, P.; Hornbuckle, W.; Gilbert, R. O.; Glendening, J. R. und Dunlap, H. L.  
(1989):  
Termination of pregnancy in bitches by administration of prostaglandin 2 alpha.  
*J Reprod Fertil Suppl* (39). 231-240.

Lewis, P. E. und Warren, J. E., Jr. (1977):  
Effect of indomethacin on luteal function in ewes and heifers.  
*J Anim Sci* 45 (4). 763-7.

Li, Y.; Huang C.; Klindt, J. und Anderson, L. L. (1993):  
Stimulation of prolactin secretion in the pig: central effects of relaxin and the  
antiprogesterone RU 486.  
*Endocrinology* 133. 1205-1212.

Liebich, H. G. (1998):  
Weibliche Geschlechtsorgane.  
In: *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere.* / H. G. Liebich (Hrsg.).  
3. Auflage, Schattauer, S. 284-293.

- Linde-Forsberg, C.; Ström Holst, B. und Forsberg, M. (2008):  
Daily progesterone fluctuations during the estrous cycle in the bitch.  
Proc 6<sup>th</sup> Int Symp Canine Feline Reprod, 9.-11.7.2008, Wien/Österreich.
- Luz, M. R.; Bertan, C. M.; Binelli, M. und Lopes, M. D. (2006):  
In vitro PGF2alpha production by endometrium and corpus luteum explants from pregnant  
and nonpregnant diestrus bitches and placental explants from pregnant bitches.  
Theriogenology 66. 1442-1447.
- Luz, M. R.; Bertan, C. M.; Binelli, M. und Lopes, M. D. (2006a):  
Plasma concentrations of 13, 14-dihydro-15-keto prostaglandin F2-alpha (PGFM),  
progesterone and estradiol in pregnant and nonpregnant diestrus cross-bred bitches.  
Theriogenology 66. 1436-1441.
- Mariani, T. C.; Prado, C.; Silva, L.; Paarman, F. A.; Lima, M. C. und Carvalho, I. (2004):  
Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor and its receptors in  
the corpus luteum of the bitch during diestrus and anestrus.  
In: Abstracts book, fifth international symposium on canine and feline reproduction. / (Hrsg.).  
146-148.
- McCann, J. P.; Altszuler, N.; Hampshire, J. und Concannon, P. W. (1987):  
Growth hormone, insulin, glucose, cortisol, luteinizing hormone, and diabetes in beagle  
bitches treated with medroxyprogesterone acetate.  
Acta Endocrinol (Copenh) 116 (1). 73-80.
- McCracken, J. A.; Custer, E. E. und Lamsa, J. C. (1999):  
Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event.  
Physiol Rev 79 (2). 263-323.
- Michel, G. (1995):  
Die Plazentation.  
In: Vergleichende Embryologie der Haustiere: ein Lehrbuch auf funktioneller Grundlage. / G.  
Michel (Hrsg.).  
Jena: Gustav Fischer Verlag. 106-141.
- Mickelsen, W. D. und Memon, M. A. (1995):  
Inherited and congenital disorders of the male and female reproductive system.  
In: Textbook of Veterinary Internal Medicine. / S. J. Ettinger and E. D. Feldman (Hrsg.).  
Philadelphia: WB Saunders Co. 1686-1690.
- Müller, K. und Arbeiter, K. (1993):  
Ultrasonographic and clinical signs of fetal resorption in the bitch.  
J Reprod Fertil Suppl 47. 558-559.

Nett, T. M.; Akbar, A. M.; Phemister, R. D.; Holst, P. A.; Reichert, L. E., Jr. und Niswender, G. D. (1975):

Levels of lutenizing hormone, estradiol and progesterone in serum during the estrous cycle and pregnancy in the beagle bitch (38491).

Proc Soc Exp Biol Med 148 (1). 134-9.

Nishiyama, T.; Tsumagari, S.; Ito, M.; Kimura, J.; Watanabe, G.; Taya, K. und Takeishi, M. (1999):

Immunohistochemical study of steroidogenic enzymes in the ovary and placenta during pregnancy in the dog.

Anat Histol Embryol 28 (2). 125-9.

Nöthling, J. O.; Gerber, D.; Gertenberg, C.; Kaiser, C.; und Dobeli, M. (2003):

Abortifacient and endocrine effects of metergoline in beagle bitches during the second half of gestation.

Theriogenology 59, 1929-1940.

Okkens, A. C.; Bevers, M. M.; Dielemann, S. J. und Willemse, A. H. (1990):

Shortening of the interestrous interval and lifespan of the corpus luteum of the cyclic dog by bromocriptine treatment.

Vet. Quart. 7, 173-176.

Okkens, A. C.; Dieleman, S. J.; Bevers, M. M.; Lubberink, A. A. und Willemse, A. H. (1986):

Influence of hypophysectomy on the lifespan of the corpus luteum in the cyclic dog.

J Reprod Fertil 77 (1). 187-92.

Okkens, A. C.; Bevers, M. M.; Dieleman, S. J. und Willemse, A. H. (1990):

Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog.

Vet Q 12 (4). 193-201.

Olson, D. M.; Mijovic, J. E. und Sadowsky, D. W. (1995):

Control of human parturition.

Semin Perinatol 19 (1). 52-63.

Olson, P. N.; Hilgren, J. D. und Brooke, R. J. (1978):

Beta-hemolytic streptococcal isolates from the canine vagina.

J Am Vet Med Assoc 173 (2). 200.

Olson, P. N.; Bowen, R. A.; Behrendt, M. D.; Olson, J. D. und Nett, T. M. (1982):

Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus.

Biol Reprod 27 (5). 1196-206.

Olson, P. N.; Bowen, R. A.; Behrendt, M. D.; Olson, J. D. und Nett, T. M. (1984):  
Concentrations of progesterone and luteinizing hormone in the serum of diestrous bitches  
before and after hysterectomy.  
Am J Vet Res 45 (1). 149-53.

Olson, P. N.; Nett, T. M.; Bowen, R. A.; Sawyer, H. R. und Niswender, G. D. (1989):  
Endocrine regulation of the corpus luteum of the bitch as a potential target for altering  
fertility.  
J Reprod Fertil Suppl 39. 27-40.

Onclin, K.; Silva, L. D. und Verstegen, J. P. (1995):  
Termination of unwanted pregnancy in dogs with the dopamine agonist, cabergoline, in  
combination with a synthetic analog of PGF 2 $\alpha$ , either cloprostenol or alphaprostol.  
Theriogenology 43. 813-822.

Onclin, K.; Silva, L. D.; Donnay, I. und Verstegen, J. P. (1993):  
Luteotrophic action of prolactin in dogs and the effects of a dopamine agonist, cabergoline.  
J Reprod Fertil Suppl 47. 403-9.

Onclin, K. und Verstegen, J. P. (1996):  
Practical use of a combination of a dopamine agonist and a synthetic prostaglanin analogue to  
terminate unwanted pregnancy in the bitch.  
J Small Anim Pract 37. 211-216.

Onclin, K. und Verstegen, J. P. (1997):  
Secretion patterns of plasma prolactin and progesterone in pregnant compared with  
nonpregnant dioestrous beagle bitches.  
J Reprod Fertil Suppl 51. 203-8.

Onclin, K. und Verstegen, J. P. (1997a):  
In vivo investigation of luteal function in dogs: effects of cabergoline, a dopamine agonist,  
and prolactin on progesterone secretion during mid-pregnancy and diestrus.  
Domest Anim Endocrinol 14. 25-38.

Onclin, K. und Verstegen, J. P. (1999):  
Comparison of different combinations of analogues of PGF 2 $\alpha$  and dopamine agonists for the  
termination of pregnancy in dogs.  
Vet. Rec. 144. 416-419.

Onclin, K.; Verstegen, J. P. und Concannon, P. W. (2000):  
Time-related changes in canine luteal regulation: in vivo effects of LH on progesterone and  
prolactin during pregnancy.  
J Reprod Fertil 118 (2). 417-24

- Onclin, K.; Murphy, B. und Verstegen, J. P. (2002):  
Comparisons of estradiol, LH and FSH patterns in pregnant and nonpregnant beagle bitches.  
*Theriogenology* 57 (8). 1957-72.
- Parandoosh, Z.; Crombie, D. L.; Tetzke, T. A.; Hayes, J. S.; Heap, R. B. und Wang, M. W. (1995):  
Progesterone and oestrogen receptors in the decidualized mouse uterus and effects of different types of anti-progesterone treatment.  
*J Reprod Fertil* 105 (2). 215-20.
- Perrot-Applanat, M.; Deng, M.; Fernandez, H.; Lelaidier, C.; Meduri, G. und Bouchard, P. (1994):  
Immunohistochemical localization of estradiol and progesterone receptors in human uterus throughout pregnancy: expression in endometrial blood vessels.  
*J Clin Endocrinol Metab* 78 (1). 216-24.
- Phemister, R. D.; Holst, P. A.; Spano, J. S. und Hopwood, M. L. (1973):  
Time of ovulation in the beagle bitch.  
*Biol Reprod* 8 (1). 74-82.
- Post, K.; Evans, L. E. und Jöchle, W. (1988):  
Effects of prolactin suppression with cabergoline on the pregnancy of the bitch.  
*Theriogenology* (29). 1233-1243.
- Post, K. (1995):  
Embryo and fetal loss in the canine: a review.  
In: *Handbook of the Society for Theriogenology.* / A. C. o. Theriogenologists (Hrsg.).  
Hastings, NE. 1-120.
- Purswell, B. J. (1991):  
Management of apparent luteal insufficiency in a bitch.  
*J Am Vet Med Assoc* 199 (7). 902-3.
- Reimers, T. J.; Phemister, R. D. und Niswender, G. D. (1978):  
Radioimmunological measurement of follicle stimulating hormone and prolactin in the dog.  
*Biol Reprod* 19 (3). 673-9.
- Reynaud, K.; Fontbonne, A.; Marseloo, N.; Viaris de Lesegno, C.; Saint-Dizier, M.; Chastant-Maillard, S. (2006):  
In vivo canine oocyte maturation, fertilization and early embryogenesis: A review.  
*Theriogenology* 66. 1685-1693.

Richter, J. und Götze, R. (1993):

Störungen der Graviditätsdauer.

In: Tiergeburtshilfe. / Eberhard Grubert and K. Arbeiter (Hrsg.).

Hamburg: Paul Parey Verlag. ISBN: 3-489-53416-6. 191-212.

Riesenbeck, A. (1997):

Untersuchungen über die Verfügbarkeit von LH bei ingraviden und graviden Hündinnen und zur Bedeutung des Regelfaktors PGF 2 $\alpha$  für die Luteolyse im peripartalen Zeitraum.

Inaugural-Dissertation am Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

Romagnoli, S. E.; Camillo, F.; Cela, M.; Johnston, S. D.; Grassi, F.; Ferdeghini, M. und Aria, G. (1993):

Clinical use of prostaglandin F2 alpha to induce early abortion in bitches: serum progesterone, treatment outcome and interval to subsequent oestrus.

J Reprod Fertil Suppl 47. 425-31.

Romagnoli, S. E.; Cela, M. und Camillo, F. (1991):

Use of Prostaglandin F2 $\alpha$  for early pregnancy termination in the mismated bitch.

Vet Clin North Am Small Anim Pract 21. 487-499.

Ronsse, V.; Verstegen, J.; Onclin, K.; Farnir, F. und Poulet, H. (2004):

Risk factors and reproductive disorders associated with canine herpesvirus-1 (CHV-1).

Theriogenology 61 (4). 619-36.

Ronsse, V.; Verstegen, J.; Thiry, E.; Onclin, K.; Aeberle, C.; Brunet, S. und Poulet, H. (2005):

Canine herpesvirus-1 (CHV-1): clinical, serological and virological patterns in breeding colonies.

Theriogenology 64 (1). 61-74.

Rosmos, D. R.; Palmer, H. J. und Muiruri, K. L. (1981):

Influence of a low carbohydrate diet on performance of pregnant and lactating dogs.

J Nutr (111). 678-89.

Rosmanith, W. G.; Laughlin, G. A.; Mortola, J. F., Johnson, M. L.; Veldhuis, J. D; Yen, S. S. (1990):

Secretory dynamics of oestradiol and progesterone during periods of relative pituitary LH quiescence in the midluteal phase of the menstrual cycle.

Clin Endocrinol (Oxf.), 32 (1), 13-23.

Sakumoto, R.; Murakami, S. und Okuda, K. (2000):  
Tumor necrosis factor-alpha stimulates prostaglandin F2alpha secretion by bovine luteal cells  
via activation of mitogen-activated protein kinase and phospholipase A2 pathways.  
Mol Reprod Dev 56 (3). 387-91.

Schäfer, D. und Poulsen Nautrup, C. (2001):  
Frühträchtigkeit.  
In: Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze. / C. P. Nautrup and R.  
Tobias (Hrsg.).  
Hannover: Schlütersche. 293-297.

Schallenberger, E. (1990):  
Charakterisierung von Sekretionsrythmen der Gonadotropine und Ovarsteroiden während des  
Brunstzyklus, der Gravidität und post partum beim Rind.  
In: Fortschritte in der Veterinärmedizin, Beiheft zum Zentralblatt für Veterinärmedizin. /  
(Hrsg.).  
Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag. 1-99.

Schallenberger, E.; Schöndorfer, A. M. und Walters, D. L. (1985):  
Gonadotropins and ovarian Steroids in cattle. Pulsatile changes of concentrations in the  
jugular vein throughout the oestrus cycle.  
Acta Endocrinol. (Kph.) 108. 312-321.

Schmollich, A. (1992):  
Geschlechtssystem.  
In: Mikroskopische Anatomie der Haustiere. / A. Schmollich und G. Michel (Hrsg.).  
2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, S. 281-299.

Schnorr, B. (1996):  
Plazentation beim Säuger und Embryonalhüllen beim Vogel.  
In: Embryologie der Haustiere. / B. Schnorr (Hrsg.).  
Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 66-96.

Scott-Moncrieff, J. C.; Nelson, R. W.; Bill, R. L.; Matlock, C. L. und Bottoms, G. D. (1990):  
Serum disposition of exogenous progesterone after intramuscular administration in bitches.  
Am J Vet Res 51 (6). 893-5.

Sinowatz, F. (1991):  
Allgemeine Prinzipien der Entwicklung und Morphogenese.  
In: Lehrbuch der Embryologie der Haustiere. / I. S. Rüsse, F. (Hrsg.).  
Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag. 29-41.

Sloan, J. M. und Oliver, I. M. (1975):  
Progestogen-induced diabetes in the dog.  
Diabetes 24 (4). 337-44.

Smith, M. S. und McDonald, L. E. (1974):  
Serum levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle,  
pseudopregnancy and pregnancy in the dog.  
Endocrinology 94 (2). 404-12.

Sokolowski, J. H. (1971):  
The effects of ovariectomy on pregnancy maintenance in the bitch.  
Lab Anim Sci 21 (5). 696-9.

Sokolowski, J. H. (1977):  
Reproductive patterns in the bitch.  
Vet Clin North Am 7 (4). 653-66.

Sonnack, M.; Leiser, R.; Meyer, W. und Hoffmann, B. (2003):  
Morphological changes in the regressing canine Corpus luteum and the occurrence of  
apoptotic events.  
Reprod Domest Anim 38. 319-364 (Abstr. p78).

Steinetz, B. G.; Goldsmith, L. T.; Harvey, H. J. und Lust, G. (1989):  
Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and  
ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: detection of relaxin as a marker of  
pregnancy.  
Am J Vet Res 50 (1). 68-71.

Stewart, D. R.; Henzel, W. J. und Vandlen, R. (1992):  
Purification and sequence determination of canine relaxin.  
J Protein Chem 11 (3). 247-53.

Thatcher, M. J.; Shille, V. M.; Buhi, W. C.; Alvarez, I. M.; Concannon, P. W. und Thibeault,  
D. (1994):  
Canine conceptus appearance and de novo protein synthesis in relation to the time of  
implantation.  
Theriogenology 41, 1679-1692.

Tsutsui, T. (1983):  
Effects of ovariectomy and progesterone treatment on the maintenance of pregnancy in  
bitches.  
Nippon Juigaku Zasshi 45 (1). 47-51.

Tsutsui, T.; Hori, T.; Kirihara, N.; Kawakami, E. und Concannon, P. W. (2006):  
Relation between mating or ovulation and the duration of gestation in dogs.  
*Theriogenology* 66. 1706-1708.

Verhagen, S. M. (2002):  
Relaxin: ein luteotropher Faktor im Corpus luteum der mittleren Lutealphase bei *Callithrix jacchus*.  
Göttingen, Med. Fak. d. Georg-August-Universität, Diss.

Verstegen, J. P.; Silve, L. D.; Onclin, K. und Donnay (1993):  
Echocardiography study of heart rate in dog and cat fetuses in utero.  
*J. Reprod. Fert., Suppl.* 47, 175-180.

Verstegen, J., Dhaliwal, G. und Verstegen-Onclin, K. (2008):  
Canine and feline pregnancy loss due to viral and non-infectious causes: a review.  
*Theriogenology* 70. 304-319.

Verstegen-Onclin, K. und Verstegen, J. (2008):  
Endocrinology of pregnancy in the dog: a review.  
*Theriogenology* 70. 291-299.

Vollmerhaus, B.; Sinowatz, F. und Amselgruber, W. (1994):  
*Anatomie von Hund und Katze.* / J. Frewein and B. Vollmerhaus (Hrsg.).  
Berlin: Parey Buchverlag bei Blackwell Wiss. Verlag.

Wichtel, J. J.; Whitacre, M. D.; Yates, D. J. und van Camp, S. D. (1990):  
Comparison of the effects of PGF and bromocryptine in pregnant beagle bitches.  
*Theriogenology* 33. 829-836.

Wildt, D. E.; Panko, W. B.; Chakraborty, P. K. und Seager, S. W. (1979):  
Relationship of serum estrone, estradiol-17beta and progesterone to LH, sexual behavior and time of ovulation in the bitch.  
*Biol Reprod* 20 (3). 648-58.

Williams, B. J.; Watts, J. R.; Wright, P. J.; Shaw, G. und Renfree, M. B. (1999):  
Effect of sodium cloprostenol and flunixin meglumine on luteolysis and the timing of birth in bitches.  
*J Reprod Fertil* (116). 103-111.

Wuttke, W.; Theiling, K.; Hinney, B. und Pitzel, L. (1998):  
Regulation of steroid production and its function within the corpus luteum.  
*Steroids* 63 (5-6). 299-305.

Yeager, A. E.; Mohammed, H. O.; Meyers-Wallen, V.; Vannerson, L. und Concannon, P. W. (1992):  
Ultrasonographic appearance of the uterus, placenta, fetus, and fetal membranes throughout accurately timed pregnancy in beagles.  
Am J Vet Res 53 (3). 342-51.

Zeleznik, A. J. und Benyo, D. F. (1994):  
Controll of follicular development, corpus luteum function and the recognition of pregnancy in higher primates.  
In: The Physiology of Reproduction. / E. Knobil and J. D. Neill (Hrsg.).  
New York: Raven. 751-782.

## 9 Anhang

Tabelle 12: Überblick der einzelnen Progesteronkonzentrationen in der Lutealphase aller 46 Hündinnen. Die P<sub>4</sub>-Konzentrationen wurden mittels Radioimmunoassay ermittelt.

Hündin	LI <sup>1</sup>	Progesteronkonzentration (ng/ml)						
		5-15 <sup>2</sup>	16-20	21-25	26-30	31-40	41-50	51-60
Montana	6,5	59,78	45,11	47,72	42,81	31,51	17,39	11,21
Kleo	6	43,75	41,38	37,31	36,76	27,38	15,72	8,97
Tessa	6,5	68,29	60,07	56,88	52,39	38,98	18,07	10,39
Abby	7	31,38	28,9	27,27	24,49	18,13	12,06	6,38
Jolanta	7	34,33	31,7	28,32	21,36	16,19	9,83	4,96
Maya	6	32,52	26,73	24,58	17,42	13,58	7,34	4,46
Morena	4	23,15	12,85	8,34	4,56	3,78	1,84	0,42
Heli	4	22,45	32,97	7,1	4,59	2,38	1,78	0,16
Ultri	4	22,06	19,58	16,36	15,38	6,67	2,32	0,39
Nancy	5	36,49	34,81	27,44	14	12,82	9,98	5,32
Undra	4	18,83	15,07	12,12	11,51	7,65	1,04	0,42
Dalida	5	19,44	15,68	12,78	10,15	5,25	3,57	0,35
Judith	5	16,24	15,57	11,37	6,72	5,08	1,93	0,98
Conny	4	15,34	12,75	10,23	9,08	3,52	2,96	1,05
Amy	4,5	13,61	12,56	11,39	9,34	5,06	3,64	0,94
Malve	5	26,19	54,17	58,44	42,07	26,14	11,16	8,28
Brenda	5	23,19	47,93	40,49	31,85	15,15	7,52	11,96
Siennah	5	21,92	15,94	11,37	10,18	14,71	7,67	3,44
Gina	5	58,37	52,05	36,52	23,16	18,81	9,31	4,02
Eyleen	5	49,73	34,78	25,95	13,42	8,98	5,87	4,09
Amber	5	33,58	25,81	21,12	17,32	10,06	8,89	6,03
Delta	5	57,75	56,48	55,76	34,05	13,83	10,99	7,31
Adele	4,5	24,94	17,57	16,24	13,15	9,27	9,81	3,42
Eona	5	43,39	31,31	17,24	10,28	7,34	6,33	3,45
Haifa	4,5	26,73	22,61	20,44	17,43	14,66	8,54	3,24
Candy	5	26,81	18,56	21,96	16,87	12,33	6,84	4,85
Frieda	5	24,94	18,71	13,37	12,67	6,63	1,05	0,01
Gypsi	4,5	23,47	6,31	13,6	10,69	3,2	2,56	0,51
Yoga	5	49,11	56,76	23,86	16,8	6,63	4,32	1,9
Conda	4	18,38	21,47	17,43	4,25	50,75	64,96	7,45
Moira	4,5	32,78	27,26	22,44	7,96	3,37	23,48	9,15
Dunja	5	19,29	12,84	12,64	9,94	4,45	8,41	1,91
Oscha	4,5	14,43	13,95	9,12	6,03	15,82	14,63	6,21
Wega	4	37,63	11,07	4,09	26,72	30,64	11,28	11,79
Yaxa	4,5	34,34	20,02	18,12	9,78	3,44	14,84	4,77
Wonda	3,5	10,45	7,01	4,1	10,88	9,45	3,37	0,12
Paddy	4	16,08	6,02	15,66	4,25	2,41	1,23	0,79
Ashley	4	40,5	32,93	2,8	55	40,52	38,26	5,18
Hella	4	45,04	25,03	22,02	23,96	14,61	6,47	0,16
Hummel	4,5	23,72	12,79	3,22	20,07	14,87	10,35	2,01
Jessy	3,5	12,84	8,32	25,64	6,73	2,07	1,28	0,24
Bea	5	17,32	15,95	6,04	15,04	10,32	2,06	0,41
Aischa	3,5	21,54	8,62	12,09	13,81	12,84	8,29	7,64

---

Emma	3,5	19,64	7,46	15,51	14,78	14,84	9,37	7,46
Dora	4	21,87	19,75	7,41	15,98	15,61	10,84	8,09
Lupa	3,5	18,03	6,02	16,05	17,84	14,59	9,16	6,84

---

1 LI=Läufigkeitsintervall

2 Tage post ovulationem

## **10 Danksagung**

Mein Dank gilt vor allem Professor Heuwieser für die Überlassung des Themas und die Unterstützung während meiner Zeit in der Klinik für Fortpflanzung.

Ebenso möchte ich mich bei Dr. Andrea Münnich sowie Dr. Sebastian Arlt für die Betreuung und Einarbeitung in die Reproduktionsmedizin der Kleintiere bedanken.

Für die Durchführung der endokrinologischen Untersuchungen danke ich Frau Birkelbach.

Weiterhin gilt der Arbeitsgruppe der Tierklinik für Fortpflanzung an der FU-Berlin ein ganz besonderer Dank. Die Arbeit wäre ohne sie weitaus nicht so lustig gewesen. Vielen Dank für die schöne Zeit.

Größtes Dankeschön an meine Familie und Herde.

## **11 Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Dersau, den

(Friederike Stricker)