

Aus der
Tierklinik für Fortpflanzung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Untersuchungen zum Effekt der Aminosäure L-Tyrosin
auf die Fruchtbarkeit der Hündin**

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

vorgelegt von
Sonja Spankowsky
Tierärztin
aus Buchholz in der Nordheide

Berlin 2013

Journal-Nr.: 3676

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Heuwieser
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Klaus Männer
Dritter Gutachter: PD Dr. Iris Reichler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

tyrosine, amino acids, reproduction, fertility, reproductive behaviour, reproductive disorders, mating behaviour, oestrus, breeding efficiency, dogs, Evidence-Based Medicine (MeSH)

Tag der Promotion: 20.02.2014

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: 978-3-86387-448-3

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2013

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 2014

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	S. 2-4
1.1. Die Rolle von Tyrosin im Körper	
1.2. Beeinflussung der Neurotransmittersynthese durch Tyrosin	
1.3. Tyrosin in der veterinärmedizinischen Fachpraxis	
2. VERÖFFENTLICHUNGEN	S. 5-44
2.1. Validität des Einsatzes von L-Tyrosin zur Steigerung der Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere. Eine Studie zur Evidenz der Literatur	
[Validity of the use of L-Tyrosine to enhance fertility of female domestic animals. A study on evidence of the literature]	
2.2. Does oral administration of the amino acid tyrosine affect oestradiol-17 β concentration and sexual behaviour in the bitch?	
3. DISKUSSION	S. 45-48
4. ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	S.49-54
5. LITERATURVERZEICHNIS EINLEITUNG UND DISKUSSION	S. 55-57
6. PUBLIKATIONEN	S. 58
7. DANKSAGUNG	S.59
8. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	S.60

EINLEITUNG

1. EINLEITUNG

1.1. Die Rolle von Tyrosin im Körper

Tyrosin gehört zu den Aminosäuren und ist somit Proteinbaustein. Es wird unter anderem zur Synthese von Thyroidhormonen und Katecholaminen benötigt. Für Hunde und Katzen zählen Arginin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin zu den essentiellen Aminosäuren, die aus Nahrungsprotein gewonnen werden müssen. Tyrosin gilt als semiessentielle Aminosäure, da es vom Körper aus Phenylalanin synthetisiert werden kann. Bedarfswerte sind daher meist für eine Kombination aus Phenylalanin plus Tyrosin aufgeführt (Committee on Animal Nutrition, Subcommittee on Dog and Cat Nutrition, National Research Council 2006). Besonders hohe Gehalte an Tyrosin finden sich beispielsweise in Geflügelfleisch, Fisch, Nüssen und Käse. Überschüssige Aminosäuren werden allerdings im Körper umgewandelt und können zur Energiegewinnung genutzt werden (Agharanya et al. 1981; Committee on Animal Nutrition, Subcommittee on Dog and Cat Nutrition, National Research Council 2006).

1.2. Beeinflussung der Neurotransmittersynthese durch Tyrosin

Die Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin werden über L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) aus der Aminosäure L-Tyrosin als Vorstufe synthetisiert (Agharanya et al. 1981, Gibson et al. 1982; Wurtman 1982). Katecholamine wiederum regulieren als Neurotransmitter die pulsatile Ausschüttung des Gonadotropin Releasing Hormons (GnRH) und beeinflussen somit auch das Zusammenspiel von Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden (Tani et al. 1996). Aufgrund dieser Zusammenhänge wurden eine Reihe klinischer Untersuchungen zum Einfluss der oralen Gabe von Tyrosin auf die Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere durchgeführt. Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen (siehe Kapitel 2.1 Tabelle 1) wurden Empfehlungen abgeleitet. So wird seit einigen Jahren zur Normalisierung der Läufigkeit und zur Verbesserung der Paarungsbereitschaft von Hündinnen die orale Verabreichung von 100 mg/kg KM Tyrosin während der Follikelreifungsphase empfohlen (Aumann 1987; Bergmann-Eisen 1988; Wehrend 2010).

EINLEITUNG

Auch für andere weibliche Haussäugetierarten wurde von positiven Effekten auf die Fruchtbarkeit berichtet und eine Verabreichung beispielsweise an Ratten (Scheuermann 1984; Münz 1986), Rinder (Münsterer 1987) und Schweine (Hammerl und Rüsse 1987; Able 1988; Gelhart 1991) befürwortet.

1.3. Tyrosin in der veterinärmedizinischen Fachpraxis

Hundezüchter stellen in veterinärgynäkologischen Fachpraxen immer wieder Hündinnen mit endokrinologischen Störungen, undeutlicher Standhitze und Problemen bei der Belegung vor. Für den Züchter stellt dies ein besonderes Problem dar. Zum Einen sind Haushunde asaisonal monoöstrisch, d.h. die Hündinnen werden in der Regel nur ein- bis zweimal pro Jahr läufig und durchlaufen dann einen Östrus. Gibt es Probleme bei der Belegung, können für den Züchter lange Wartezeiten bis zum nächsten Zuchteinsatz entstehen. Zum Anderen nehmen Züchter heutzutage oft weite Wege zu den gewünschten Deckrüden auf sich und vereinbarte Decktaxen werden oft auch ohne erfolgreiche Belegung fällig. Verweigert die Hündin die Belegung, kann nach Bestimmung des optimalen Decktermins eine künstliche Besamung vom Tierarzt durchgeführt werden (Arlt 2012). Diese Methode wird allerdings von vielen Besitzern abgelehnt. Nach einer Richtlinie der Fédération Cynologique Internationale (FCI) ist die künstliche Besamung zudem nicht in Fällen gestattet, in denen der Rüde und/oder die Hündin zum ersten Mal im Zuchteinsatz ist. In Fachkreisen und entsprechenden Lehrbüchern wird daher die Gabe von Tyrosin als schonende Alternative empfohlen (Aumann 1987; Bergmann-Eisen 1988; Münnich 2000; Wehrend 2010).

In der vorliegenden Arbeit sollte zunächst eine Analyse der verfügbaren Literatur klären, inwieweit der Einsatz von Tyrosin zur Verbesserung von Fruchtbarkeitsparametern nach heutigem Stand der Wissenschaft tatsächlich gerechtfertigt ist. Unter Berücksichtigung gängiger Evidenzkriterien wurde zu diesem Zweck eine umfangreiche, systematische Aufarbeitung und vergleichende Analyse der bisherigen Studien und weiter verfügbaren Literatur vorgenommen (Artikel 1).

EINLEITUNG

Darauffolgend wurde eine eigene Studie zur Applikation von Tyrosin bei der Hündin durchgeführt, welche dem heutigen wissenschaftlichen Standard entspricht (Artikel 2). Es handelt sich um eine mittels Placebo kontrollierte Doppelblindstudie.

2. VERÖFFENTLICHUNGEN

2.1. Validität des Einsatzes von L-Tyrosin zur Steigerung der Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere

Eine Studie zur Evidenz der Literatur

S. Spankowsky¹, S. Arlt¹, G. Arndt², W. Heuwieser¹

¹ Tierklinik für Fortpflanzung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin;

²Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Tierärztliche Praxis Großtiere 2011; 39 (G): 135-142

2.2. Does oral administration of the amino acid tyrosine affect oestradiol-17 β concentration and sexual behaviour in the bitch?

S. Spankowsky, S. W. Heuwieser, S. Arlt

Tierklinik für Fortpflanzung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Veterinary Record, 2013 Feb 23; 172 (8): 212.

doi: 10.1136/vr.101240. Epub 2013 Jan 12

Originalpublikation:

Spankowsky S, Arlt S, Arndt G, Heuwieser W Validität des Einsatzes von L-Tyrosin zur Steigerung der Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere Tierärztl Prax 2011; 39 (G): 135-42.

Validität des Einsatzes von L-Tyrosin zur Steigerung der Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere

Eine Studie zur Evidenz der Literatur

S. Spankowsky¹; S. Arlt¹; G. Arndt²; W. Heuwieser¹

¹Tierklinik für Fortpflanzung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin;

²Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Schlüsselwörter

Reproduktion, Aminosäure, L-Tyrosin, Evidenz, Follikelreifung

Zusammenfassung

Gegenstand und Ziel: Zur Verbesserung der Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere empfehlen einige Autoren die orale Gabe der Aminosäure L-Tyrosin während der Follikelreifungsphase. Ziel dieses Artikels war eine systematische und statistische Auswertung der verfügbaren Literatur. **Material und Methode:** Literaturrecherche in den einschlägigen Literaturdatenbanken und anschließende statistische Auswertung. **Ergebnisse:** Fünfzehn deutschsprachige und zwei englischsprachige Studien zum Einfluss von L-Tyrosin auf die Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere wurden gefunden. Eine Zusammenfassung der wesentlichen Studienergebnisse und die Einteilung in Evidenztypen zeigen, dass die meisten Studien deutliche methodische Mängel aufweisen und in Hinblick auf die Datenlage eine Anwendung von L-Tyrosin zurzeit nicht empfohlen werden kann.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Schlussfolgerung und klinische Relevanz: Um die Empfehlung der Anwendung von L-Tyrosin in der Praxis aufrechterhalten zu können, besteht erheblicher Forschungsbedarf hinsichtlich Wirksamkeit und Dosierung.

Key words

Reproduction, amino acid, L-Tyrosine, evidence, follicular maturation

Summary

Objective: In order to improve fertility in female domestic animals, especially in bitches several authors recommend the feeding of the amino acid L-Tyrosine during the follicular phase of the oestrous cycle. The aim of this article was a systematic and statistical analysis of current literature in terms of evidence based medicine.

Materials and methods: Literature research, statistical analysis and classification in levels of evidence. **Results:** Fifteen German and two English studies on the effect of L-Tyrosine on the fertility in domestic animals were found. The statistical analysis and evaluation of evidence showed that most studies feature methodical deficits and often findings were inconsistent with one another. **Conclusion and clinical relevance:** Heterogeneous results indicate a considerable need for further research on the effectiveness and dose of L-Tyrosine to legitimate its appliance in practice.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Wolfgang Heuwieser
Tierklinik für Fortpflanzung
Freie Universität Berlin
Königsweg 65, Haus 27
14163 Berlin
E-Mail: heuwieser.wolfgang@vetmed.fu-berlin.de

Validity of the use of L-Tyrosine to enhance fertility of female domestic animals

Tierärztl Prax 2010; 38 (G):

Eingegangen: 7. September 2010

Akzeptiert nach Revision: 7. Januar 2011

Einleitung

Die endokrine Steuerung des Sexualzyklus erfolgt über das Zusammenspiel von Hypothalamus, Hypophyse und Gonaden. Das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) wird von Neuronen im Hypothalamus produziert (36). Die Synthese des follikelstimulierenden Hormons (FSH) und des luteinisierenden Hormons (LH) im Hypophysenvorderlappen unterliegt wiederum der Steuerung durch GnRH (8, 28, 36). LH und FSH regen zyklusabhängig die Produktion von Östradiol und Progesteron in den weiblichen Gonaden an. Einflüsse auf die Produktion von GnRH sind vielfältig. Eine wichtige Rolle im weiblichen Organismus scheinen hier neben Östrogenen (10) auch Oxytozin und Noradrenalin (33) zu spielen. Die pulsatile Ausschüttung von GnRH wird durch Neurotransmitter an den erregenden Synapsen reguliert (36). In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben darüber, ob Adrenalin, Dopamin oder Noradrenalin als Neurotransmitter für die Ausschüttung von GnRH fungieren. Während Kalra (21) bei Ratten nur durch Adrenalin einen LH-Anstieg provozieren konnte, weisen Untersuchungen von Clarke et al. (7) sowie von Hammerl und Müller (19) auf eine Beziehung zwischen Noradrenalin und der LH- sowie GnRH- Ausschüttung hin. Ergebnisse von Gallo und Drouva (13) lassen wiederum auf eine Beteiligung von Adrenalin und Noradrenalin schließen.

Alle drei Katecholamine werden über L-3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) aus der Aminosäure L-Tyrosin als Vorstufe synthetisiert (15, 39). Es wird angenommen, dass eine zusätzliche Versorgung des Gehirns mit L-Tyrosin die Synthese der Neurotransmitter beeinflussen kann. Nach Wurtman (39) kann das zusätzlich verabreichte L-Tyrosin die Blut-Hirn-Schranke passieren. Da die Affinität des L-Tyrosins zu Transportmolekülen im Gehirn gering ist, kann eine Sättigung erst durch ein Überangebot erfolgen. Diese Eigenschaften wurden durch In-vivo-Studien zur oralen Aufnahme von L-Tyrosin beim Menschen sowie bei Ratten und durch In-vitro-Versuche an isolierten Neuronen bestätigt (2, 39). Pardrige (29) stellte fest, dass es für die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke einen gemeinsamen Transportmechanismus für alle großen neutralen Aminosäuren (L-Tyrosin, L-Tryptophan, L-Threonin, L-Leucin, L-Isoleucin und L-Valin) gibt. Hall et al. (18) untersuchten den Einfluss einer oralen L-Tyrosin-Verabreichung auf die LH-Sekretion

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

von wachstumsreduzierten Lämmern. Die Autoren konnten zwar eine Erhöhung der L-Tyrosin-Konzentration im Plasma sowie im Hypothalamus, jedoch keinen signifikanten Anstieg der LH-Konzentration nachweisen.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Tabelle 1 Studien zum Einfluss von L-Tyrosin auf die Fruchtbarkeit von Haussäugetieren

Table 1 Trials concerning the effect of L-tyrosine on fertility of female domestic animals

Autor(en)	Tierart	n _v	n _k	R	V	Effekte nach Autorenangaben	Evidenz- klasse
Aumann 1987	Hund	36	–	–	–	verstärkte Läufigkeitsblutung bei 29,4% der Hündinnen; verbesserte Deckbereitschaft bei 44,2% der Hündinnen	II b
Bergmann- Eisen 1988	Hund	51	–	–	–	verstärkte Läufigkeitsblutung bei 43% der Hündinnen; verbesserte Deckbereitschaft bei 31% der Hündinnen	II b
Scheuermann 1984	Ratte	14	14	–	–	früher einsetzende Pubertät; im Mittel 2,8 Junge mehr bei 13 Geburten in den Tyrosingruppen	Ila
Münz 1986	Ratte	20	5	–	–	früher einsetzende Pubertät; 20 Tiere der Tyrosingruppen hatten im Mittel 11,2 Welpen, 4 Kontrolltiere im Mittel 5,3 Welpen	Ila
Müller 1987	Ratte	65	65	–	–	erhöhte Wurfzahlen bei Gabe im späten Diöstrus und Proöstrus	Ila
Hammerl und Rüsse 1987	Schwein	118	92	–	–	Steigerung der Ferkelzahlen um durchschnittlich 2,7 Ferkel	Ila
Gindele und Köppen 1989	Schwein	387	388	–	–	Güstzeit im Mittel 2 Tage kürzer, keine Unterschiede in der Wurfgröße	Ila
Able 1989	Schwein	100	100	+	+	Jung- und Altsauen: höhere Östrus- und Konzeptionsraten, höhere Wurfgrößen; Erstlingssauen: nur früher einsetzender Rauschebeginn	Ib
Gelhart 1991	Schwein	175	141	+	+	Jung- und Erstlingssauen: signifikant erhöhter Ferkelindex, erhöhte Trächtigkeitsrate, früher einsetzende Rausche Altsauen: keine signifikante Veränderungen	Ib

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Tabelle 1 Fortsetzung

Table 1 Continued

Autor(en)	Tierart	nv	nk	R	V	Effekte nach Autorenangaben	Evidenz- klasse
Rettmer 1993	Schwein	117	117	+	+	kein Einfluss auf Günstzeit, Östrusrate und Ferkelzahl	Ib
Erken 1990	Schwein	39	–	–	–	kein Einfluss auf Günstzeit, Umrauschen und Wurfgröße	IIb
Stevenson 1997	Rind	68	68	+	+	früherer Östrus post partum, Trächtigkeitsrate signifikant vermindert	Ib
Wetzel 1985	Rind	25	–	–	–	17 von 19 azyklischen Rindern kamen in einen Zyklus, 11 Tiere wurden trächtig	IIb
Münsterer 1987	Rind	69	59	+	+	Verbesserung des Zyklusgeschehens und des Erstbesamungsergebnisses bei azyklischen Rindern	Ib
Knobloch 1988	Rind	50	50	+	+	keine Verbesserung der Trächtigkeitsraten; bis 81 Tage post partum regelmäßige Zyklen bei 78% der Kühe der Verumgruppe und 51% in der Plazebogruppe	Ib
Gimmi-Klein 1988	Rind	123	79	+	+	kein Einfluss auf die Trächtigkeit durch Injektionen direkt vor der Besamung	Ib
Schwayer 2005	Rind	151	167	+	+	erhöhte Anzahl Tiere mit rektal palpablem Corpus luteum nach 15 Tagen	Ib
<p>n_v = Anzahl weiblicher Tiere in der Verumgruppe, n_k = Anzahl weiblicher Tiere in der Kontrollgruppe; – = keine Kontrolle vorhanden; R = Randomisierung; V = Verblindung</p>							

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Diese Forschungsergebnisse initiierten eine Reihe klinischer Untersuchungen darüber, ob die Fruchtbarkeit weiblicher Haussäugetiere durch die orale Gabe der Aminosäure L-Tyrosin schonend positiv beeinflusst werden kann. Seit einigen Jahren wird vor allem zur Normalisierung der Läufigkeit und zur Verbesserung der Paarungsbereitschaft von Hündinnen die orale Verabreichung von 100 mg/kg KM L-Tyrosin während der Follikelreifungsphase empfohlen (5, 6, 37). Da es keine kontrollierte veröffentlichte Studie zu dieser Empfehlung gibt, sollte eine Analyse der vorhandenen Literatur klären, wie die Wahrscheinlichkeit eines solchen Effekts eingeschätzt werden kann.

Material und Methode

Im Zeitraum von Juli 2008 bis Januar 2009 fand eine Literaturrecherche über die Literaturdatenbank Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) sowie die Online-Datenbank der veterinärmedizinischen Bibliothek (anonymisiert) statt. Angepasst an die jeweiligen Literaturdatenbanken wurden für die Suche nach deutsch- und englischsprachiger Literatur englische und deutsche Schlagworte verwendet: Tyrosin, L-Tyrosin, tyrosine, l-tyrosine, Fruchtbarkeit, fertility, Reproduktion und reproduction. Zusätzlich wurden die Literaturverzeichnisse der gefundenen Publikationen durchgesehen. Damit sollte gewährleistet werden, möglichst alle verfügbaren relevanten Artikel und Dissertationen einzubeziehen.

Insgesamt konnten 15 deutsch- und eine englischsprachige Studie ermittelt werden, die sich mit dem Einfluss von L-Tyrosin auf weibliche Haussäugetiere befassen. Aufgrund der begrenzten Anzahl der Veröffentlichungen erfolgte eine systematische Untersuchung aller ermittelten Publikationen. Zu Beginn stand die Ermittlung von Tierart, Applikationsmodus und Dosierung von L-Tyrosin. Anschließend wurden wesentliche Aspekte des Studiendesigns wie Vorhandensein einer Kontrollgruppe, Randomisierung und Verblindung sowie Tierzahl und Statistik erfasst. Die erhobenen Informationen bildeten die Grundlage für eine Einteilung in Evidenzstufen (Tab.1) gemäß der Klassifizierung nach Antes und Bassler (3) (Tab. 2).

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Zudem wurden die einzelnen Untersuchungsparameter der Studien eruiert. Letztlich wurde ermittelt, welche Studien aus klinischer und statistischer Sicht vergleichbar sind. Dabei fand neben den Zielparametern auch das Studiendesign Berücksichtigung.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Tabelle 2 Evidenztypen nach Antes und Bassler (3)

Table 2 Types of evidence according to Antes and Bassler (3)

Stufe	Evidenztyp
Ia	Metaanalyse randomisierter, kontrollierter Studien
Ib	Randomisierte, kontrollierte Studie
IIa	Kontrollierte Studie ohne Randomisierung
IIb	Quasi-experimentelle Studie
III	Nicht experimentelle deskriptive Studie (u. a. Vergleichsstudie)
IV	Berichte und Meinungen von Experten

Um studienübergreifend potenzielle Wirkungen von L-Tyrosin darzustellen, wurde mithilfe der Online-Kalkulatoren Quick Calcs (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm> und <http://www.graphpad.com/quickcalcs/contingency1.cfm>) für mehrfach untersuchte Parameter der p-Wert berechnet. Anhand des p-Werts wird die Stärke der Evidenz gegen die aufgestellte Null-Hypothese gemessen. Je kleiner der p-Wert ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit gegen die Null-Hypothese (34). Mithilfe dieser Maßnahme sollten die von den Autoren meist nur deskriptiv dargestellten Datensätze objektiviert werden. Für den Vergleich zweier unabhängiger Gruppen wurde ein t-Test unter Angabe der in der jeweiligen Publikation genannten Stichprobenzahl durchgeführt. Die Berechnung des p-Werts für absolute Häufigkeiten wurde mithilfe einer 2x2-Kontingenztafel unter Verwendung des exakten Fisher-Tests durchgeführt. Tabelle 3 zeigt häufig gemessene Parameter unter Einbeziehung der Evidenzstufe, der Probandenzahl und des p-Werts für den jeweiligen Effekt des Tyrosins. Die Beschreibung und Diskussion der Publikationen erfolgt getrennt nach Tierart.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Ergebnisse

Im Rahmen der Literaturrecherche wurden 15 deutschsprachige und zwei englischsprachige Artikel gefunden, die sich direkt mit dem Einfluss von L-Tyrosin auf weibliche Haussäugetiere befassten. Die in den Artikeln beschriebenen Untersuchungen fanden vorrangig in der Zeit von 1984 bis 1993 statt. Bei 13 der 15 deutschsprachigen Untersuchungen handelt es sich um Dissertationen, die mit einer Ausnahme aus einer Arbeitsgruppe der veterinärmedizinischen Fakultät in München stammen und nicht weiter publiziert wurden. Nur vier der insgesamt 17 Studien wurden in Fachzeitschriften veröffentlicht (17, 19, 30, 35). Bei der Studie von Hammerl und Müller (19) handelt es sich um eine Teilveröffentlichung der Dissertationsschrift von Müller (23). Neben zwei Untersuchungen zum Einsatz von L-Tyrosin bei Hunden fanden Studien an Rindern, Schweinen und Ratten statt. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die berücksichtigten Studien zum Einfluss von L-Tyrosin auf die Fruchtbarkeit.

Die Ergebnisse der Studien von Aumann (5) und Bergmann-Eisen (6) zeigten nach Auffassung dieser Autoren bei Hündinnen eine verstärkte Läufigkeitsblutung sowie verbesserte Deckbereitschaft nach oraler Gabe von L-Tyrosin. In beiden Studien handelte es sich um Beobachtungen der Besitzer. Es fand lediglich ein Vergleich zu vorherigen Läufigkeiten statt, eine Kontrollgruppe gab es nicht. Bei vergleichbarem Studiendesign stellte Bergmann-Eisen (6) bei den **Hündinnen** eine Zunahme der Läufigkeitsblutung um 43% sowie der Deckbereitschaft um 31% fest, während Aumann (5) in der Zusammenfassung eine Steigerung der Läufigkeitsblutung um 91,6% und der Deckbereitschaft um 97,2% beschrieb. Jedoch handelt es sich hier um einen Fehler in der Statistik. Aus den Rohdaten geht hervor, dass lediglich eine Zunahme der Läufigkeitsblutung im Vergleich zur vergangenen Läufigkeit um 29,4% und der Deckbereitschaft um 44,2% stattgefunden hatte. Beide Autoren geben einschränkend an, dass die Patientenzahl (Aumann: n=36; Bergmann-Eisen: n=51) recht gering war.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Tabelle 3 Auswahl mehrfach untersuchter, vergleichbarer Parameter aus Studien zum Effekt von L-Tyrosin auf die Fruchtbarkeit von Haussäugetieren

Table 3 Overview of some determined parameters of trials concerning the effect of L-tyrosine on fertility of female domestic animals

Tierart	Studie	Parameter	Anzahl ¹		Ergebnis in Prozent oder Mittelwert \pm SD ²		p-Wert ³	Effekt laut Autor(en)	Signifikanz ⁴	
			Kontrolle	Verum	Kontrolle	Verum				
Rind	Stevenson 1997	Erstbesamungserfolg	35	46	77,1	56,5	0,063	ja	nein	
		Östrus	68	68	51,5	67,6	0,08	ja	nein	
		Besamungserfolg 60 Tage	68	68	89,7	87,0	0,791	nein	nein	
	Wetzel 1985	Zyklusinduktion	0	25	keine Kontrolle	89,5	–	ja	nicht möglich ⁵	
	Münsterer 1987	Brunst nach 3-4 Tagen bei:								
		•Ovarialzysten	9	8	56,0	75,0	0,62	kaum	nein ⁶	
		•Follikel in Ausbildung	10	5	40,0	60,0	0,608	kaum	nein ⁶	
		•Corpus luteum	15	8	80,0	37,0	0,071	kaum	nein ⁶	
		•Ovar ohne Funktionsgebilde	7	18	100,0	89,0	1	kaum	nein ⁶	
		Azyklie am 77. Tag	18	30	16,0	90,0	< 0,0001	ja	ja ⁶	
Knobloch 1988	regelmäßigere Zyklen	49	45	0,51	78,0	0,01	ja	ja		
Schwein	Gindele und Köppen 1989	Güstzeit	388	387	7,69 keine SD ⁷	5,68 keine SD ⁷	–	ja	nein laut Autoren ⁷	
		Ferkelzahl	388	387	10,94 keine SD ⁷	10,81 keine SD ⁷	–	nein	nein laut Autoren ⁷	
	Hammerl und Rüsse 1987	Ferkelzahl	92	118	8,8 (\pm 2,3)	11,5 (\pm 1,7)	< 0,0001	ja	ja	
		Güstzeit ohne Angabe von Daten						ja		

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Tabelle 3 Fortsetzung

Table 3 Continued

Tierart	Studie	Parameter	Anzahl ¹		Ergebnis in Prozent oder Mittelwert \pm SD ²		p-Wert ³	Effekt laut Autor(en)	Signifikanz ⁴
			Kontrolle	Verum	Kontrolle	Verum			
Schwein	Able 1988	Ferkelzahl Jungsaunen	6	10	8,7 (\pm 1,2)	9,5 (\pm 1,3)	0,241	ja ⁸	nein ⁸
		Ferkelzahl Erstlingssaunen	15	12	11,1 (\pm 2,4)	10,1 (\pm 2,3)	0,284	nein ⁸	nein ⁸
		Ferkelzahl Altsaunen	38	45	10,6 (\pm 2,5)	11,2 (\pm 2,4)	0,269	ja	nein
		Rausche Jungsaunen	20	20	40,0	70,0	0,111	ja ⁸	nein ⁸
		Rausche Erstlingssaunen	20	19	95,0	73,0	0,092	nein ⁸	nein ⁸
		Rausche Altsaunen	60	60	77,0	92,0	0,043	ja	ja
		Rauscheeintritt Jungsaunen	20	20	4,1 (\pm 1,7)	4,3 (\pm 2,2)	0,473	ja ⁸	nein ⁸
		Rauscheeintritt Erstlingssaunen	20	19	6,5 (\pm 2,4)	6,1 (\pm 1,8)	0,561	ja ⁸	nein ⁸
		Rauscheeintritt Altsaunen	60	60	6,4 (\pm 1,9)	5,9 (\pm 1,2)	0,087	ja	nein
		Konzeptionsrate Jungsaunen	20	20	30,0	50,0	0,333	ja ⁸	nein ⁸
		Konzeptionsrate Erstlingssaunen	20	19	75,0	63,0	0,501	nein ⁸	nein ⁸
	Konzeptionsrate Altsaunen	60	60	63,3	75,0	0,235	ja	nein	
	Gelhart 1991	Rausche Jungsaunen	5	9	8,6 (\pm 2,4)	7,3 (\pm 2,1)	0,311	ja	nein
		Rausche Erstlingssaunen	8	17	5,1 (\pm 1,8)	4,8 (\pm 1,5)	0,665	ja	nein
		Rausche Altsaunen	57	66	5,2 (\pm 2,4)	4,6 (\pm 2,1)	0,142	ja	nein
		Trächtigkeitsrate Jungsaunen	7	13	42,9	69,0	0,356	ja	nein
		Trächtigkeitsrate Erstlingssaunen	12	19	66,7	90,0	0,175	ja	nein
		Trächtigkeitsrate Altsaunen	66	75	78,8	83,0	1	ja	nein
		Ferkelzahl Erstlingssaunen	8	17	8,3 (\pm 2,9)	10,8 (\pm 2,3)	0,029	ja	ja
		Ferkelzahl Jungsaunen	5	9	6,7 (\pm 2,3)	10,9 (\pm 2,7)	0,013	ja	ja
	Rettmer 1993	Ferkelzahl	64	62	10,2 (\pm 0,4) ¹⁰	10,0 (\pm 0,4) ¹⁰	0,724	nein	nein
Güstzeit		21	24	5,5 (\pm 0,3) ¹⁰	5,3 (\pm 0,3) ¹⁰	0,641	nein	nein	
Erken 1990	Ferkelzahl	0	39	keine Kontrolle	10,98 (\pm 3,3)		nein	nicht möglich ⁵	
	Güstzeit	0	39	keine Kontrolle	6,4 (\pm 2,2)		nein	nicht möglich ⁵	

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Tabelle 3 Fortsetzung

Table 3 Continued

Tierart	Studie	Parameter	Anzahl ¹		Ergebnis in Prozent oder Mittelwert \pm SD ²		p-Wert ³	Effekt laut Autor(en)	Signifikanz ⁴
			Kontrolle	Verum	Kontrolle	Verum			
Ratte	Müller 1987 ⁹	Wurfgröße (Tyrosin im Diöstrus)	15	5	9,9 (\pm 2,9)	13,25 (\pm 1,3)	0,041	ja	ja ⁶
		Wurfgröße (Tyrosin im Proöstrus)			9,9 (\pm 2,9)	11,2 (\pm 2,3)	0,247	ja	nein ⁶
	Scheuermann 1984	Zahl der Jungen	13	14	9,1 (\pm 2,6)	11,9 (\pm 1,8)	0,037	ja	ja ⁶
		frühere Pubertät	7	7	16 (\pm 6,5)	11,0 (\pm 1,8)	0,074	ja	nein ⁶
	Münz 1986	Zahl der Jungen	5	10	5,3 (\pm 2,3)	10,8 (\pm 3,3)	0,011	ja	ja ⁶
		frühere Pubertät	5	20	31,6 (\pm 2,7)	34,9 (\pm 3,3)	0,056	ja	nein ⁶
Hund	Aumann 1987	stärkere Läufigkeitsblutung	0	34	keine Kontrolle	29,4	–	ja	nicht möglich ⁵
		bessere Deckbereitschaft	0	34	keine Kontrolle	44,2	–	ja	nicht möglich ⁵
	Bergmann-Eisen 1988	stärkere Läufigkeitsblutung	0	51	keine Kontrolle	43,0	–	ja	nicht möglich ⁵
		bessere Deckbereitschaft	0	51	keine Kontrolle	31,0	–	ja	nicht möglich ⁵

¹ n = Anzahl tatsächlich ausgewerteter Tiere (variiert durch Abgänge von Tieren zum Teil vom Ausgangsmaterial der Studie)

² SD = Standardabweichung

³ Berechnung des p-Werts nach Fischer-Test bzw. t-Test

⁴ Berechnung bei einem Signifikanzniveau von 0,05

⁵ Aufgrund der fehlenden Kontrollgruppe ist eine Berechnung nicht möglich.

⁶ Ein statistischer Test auf Signifikanz der Ergebnisse wurde seitens der Autoren nicht durchgeführt, Angaben beruhen ausschließlich auf eigenen Berechnungen.

⁷ Eine eigene Durchführung eines statistischen Tests auf Signifikanz war aufgrund der nicht angegebenen Standardabweichung nicht möglich.

⁸ Laut Able (1) war eine statistische Absicherung aufgrund der geringen Tierzahl nicht möglich.

⁹ Dissertation Müller (23), Ergebnisse zusätzlich veröffentlicht von Hammerl und Müller (19)

¹⁰ Standardfehler statt Standardabweichung angegeben.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

In drei Studien wurde der Einfluss von oral verabreichtem L-Tyrosin auf den Pubertätsbeginn und die Zahl der Jungen von **Ratten** untersucht. Diese Untersuchungen beinhalteten eine Kontrollgruppe, waren jedoch nicht randomisiert oder verblindet. In der Studie von Münz (26) dienten vier tragende und eine nicht tragend gewordene Ratte als Kontrollgruppe. Scheuermann (31), Münz (26) und Müller (23) kommen einheitlich zu dem Schluss, dass durch die Gabe von L-Tyrosin der Pubertätsbeginn früher einsetzte und sich die Zahl der Jungen erhöhte. Müller (23) verglich zusätzlich die Verabreichung in unterschiedlichen Dosierungen in verschiedenen Zyklusphasen. Diese Studie deutet auf eine fruchtbarkeitsfördernde Wirkung bei Aufnahme im späten Diöstrus und frühen Proöstrus hin. Eine einmalige Gabe von 1,5 g/kg KM im Proöstrus zeigte den größten Effekt auf den Pubertätsbeginn und die Wurfgrößen. Insgesamt weisen diese Studien auf einen positiven Effekt von L-Tyrosin auf die Fruchtbarkeit von Ratten hin.

Mit der Steigerung der Reproduktionsleistung von **Sauen** durch L-Tyrosin beschäftigen sich zwei weitere kontrollierte, aber ebenfalls nicht randomisierte und nicht verblindete Studien (17, 20). In beiden Studien wurde Muttersauen 24 Stunden nach dem Absetzen einmalig 100 mg/kg KM L-Tyrosin verabreicht. Die Ergebnisse stimmen darin überein, dass sich bei Tieren der Verumgruppe die Gützeit im Mittel verkürzte. Hammerl und Rüsse (20) präsentierten jedoch zu dieser Aussage keinerlei Daten. Bei der Wurfgröße stellten sie eine Erhöhung um durchschnittlich 2,7 Ferkel fest. Gindele und Köppen (17) hingegen konnten keinen Einfluss auf die Wurfgröße nachweisen. Ebenso zeigte sich in einer kontrollierten, randomisierten und verblindeten Studie von Rettmer et al. (30) kein Einfluss einer einmaligen L-Tyrosin-Gabe auf Gützeit, Östrusrate und Ferkelzahl. Erken (11) fand keinen Einfluss des L-Tyrosins auf Gützeit, Umrauschen und Ferkelzahl. Able (1) stellte nach oraler L-Tyrosin-Gabe einen um durchschnittlich 0,5 Tage schnelleren Rauscheeintritt, vermindertes Umrauschen und einen erhöhten Ferkelindex fest. Keines dieser Ergebnisse war signifikant. In einer Untersuchung von Gelhart (14) ließ sich die Ferkelzahl nur bei Jung- und Erstlingssauen steigern, während sich bei Altsauen keine signifikanten Veränderungen ergaben. Die Studien von Gelhart (14) und Able (1) waren verblindet und randomisiert. In der Studie von Erken (11) dienten die Daten

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

des Vorjahres als Kontrolle für die insgesamt recht geringe Probandenzahl. Die Dosierung betrug in allen Untersuchungen einmalig rund 100 mg/kg KM L-Tyrosin. Beim Schwein wurden methodisch ähnliche Untersuchungen mit recht hohen Tierzahlen (von n=39 bis n=775) durchgeführt. Dennoch stehen drei Untersuchungen, in denen ein Einfluss des L-Tyrosins auf die Fruchtbarkeit feststellbar war, zwei Studien gegenüber, in denen keine Unterschiede auftraten. Der Einfluss von L-Tyrosin auf die Fruchtbarkeit des **Rindes** wurde ebenfalls in mehreren Studien untersucht. Stevenson et al. (35) prüften unter anderem die Wirkung auf einige Fruchtbarkeitsparameter sowie die LH-Ausschüttung beim Rind. In einer randomisierten, kontrollierten Studie an 28 Kühen erhielten die Tiere der Verumgruppe an drei aufeinander folgenden Tagen 40g L-Tyrosin oral. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass die so behandelten Kühe nach PGF_{2α}-Einsatz zu einem signifikant höheren Prozentsatz brünstig wurden. Allerdings sank auch die Trächtigkeitsrate in dieser Gruppe signifikant. Eine erwartete Erhöhung der LH-Ausschüttung konnte nicht bestätigt werden.

Wetzel (38) behandelte insgesamt 25 Kühe, bei denen 60-150 Tage post partum eine Azyklie diagnostiziert worden war, mit L-Tyrosin. Die Definition und die verwendete Methode zur Diagnostik der Azyklie wurde nicht beschrieben. Bei 17 von 19 einmalig mit 40g L-Tyrosin therapierten Kühen setzte nach 3-4 Tagen ein Zyklus ein, 11 Tiere wurden trächtig. Münsterer (25) untersuchte in einer Folgestudie den Einfluss einer einmaligen oralen Gabe von 40g L-Tyrosin auf verschiedene Fruchtbarkeitsprobleme. Es zeigte sich, dass eine zuverlässige Brunstinduktion innerhalb von 3-4Tagen nicht möglich war. Das Besamungsergebnis der gesamten Verumgruppe (n=69) lag mit insgesamt 46,4% unter dem Herdendurchschnitt. Rinder, die sich in zwei Untersuchungen im Abstand von 10 Tagen azyklisch zeigten, rinderten jedoch nach Behandlung mit L-Tyrosin zu 90% innerhalb von 3-4 Tagen. In der Plazebogruppe waren nach dieser Zeit nur 16% der Kühe brünstig. Rechnerisch ist dieses Ergebnis signifikant. Die Autoren führten hierzu keine statistischen Tests durch, kamen jedoch zu dem Schluss, dass die einmalige orale Gabe von L-Tyrosin bei azyklischen Rindern das Zyklusgeschehen positiv beeinflussen kann.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

In einer kontrollierten Studie verabreichte Knobloch (22) L-Tyrosin am 28. Tag post partum als Sterilitätsprophylaxe. Eine Erhöhung der Trächtigkeitsrate konnte nicht bestätigt werden. Allerdings zeigten mehr Kühe der Verumgruppe im weiteren Beobachtungszeitraum einen regelmäßigen Zyklus. Schwayer (32) untersuchte in einer kontrollierten, verblindeten Studie die Wirkung einer einmaligen oralen Gabe von 50g und 100g L-Tyrosin auf verschiedene Reproduktionsparameter der Milchkuh. Der Autor konnte bei einer erhöhten, jedoch nicht signifikant gesteigerten Tierzahl 15 Tage nach der Applikation bei der rektalen Untersuchung ein Corpus luteum palpieren. Andere Parameter wie das Auftreten von Ovarialzysten, palpatorisch festgestellte Brunstfollikel, Zwischentragezeit, Erstbesamungsindex und Trächtigkeitsrate blieben unverändert. Ein positiver Einfluss von Tyrosin-Ethylester auf die Konzeptionsrate ließ sich in einer Untersuchung an 123 Kühen nicht bestätigen (16). Den Tieren wurde das Präparat einige Minuten vor der Besamung injiziert. Es handelte sich um einen Blindversuch mit steriler Kochsalzlösung als Plazebo.

In vielen Studien wurden die Daten deskriptiv angegeben, ohne dass weiterführende statistische Berechnungen erfolgten. Daher wurde die Berechnung der Signifikanzwerte (p-Werte) für in mehreren Studien untersuchte, vergleichbare Parameter durchgeführt (Tab. 3) um festzustellen, inwieweit Effekte von L-Tyrosin auch studienübergreifend bestätigt werden können. Soweit anhand der angegebenen Daten möglich, wurden die p-Werte nachträglich berechnet. Die Ergebnisse für die Parameter Trächtigkeitsrate bzw. Besamungserfolg, Ferkelzahl bei Sauen sowie Zyklusinduktion zeigten eine große Heterogenität. Einzig bei der Wurfgröße von Ratten ergaben sich durchweg signifikante Effekte. Allerdings wurde in keiner der drei Studien (23, 26, 31) ein statistischer Test auf Signifikanz der Ergebnisse durchgeführt und somit wird lediglich beschreibend auf einen Effekt des L-Tyrosins hingewiesen. Anhand der Zahlen lässt sich jedoch ein signifikanter Effekt des L-Tyrosins berechnen.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Diskussion

In der einschlägigen Literatur finden sich zahlreiche Hinweise, dass L-Tyrosin einen positiven Einfluss auf die Fruchtbarkeit verschiedener Tierarten hat. Vorteile eines Einsatzes der Aminosäure wären, dass diese den gesetzlichen Bestimmungen von Futterzusatzstoffen unterliegt und somit kein Arzneimittel darstellt. Möglicherweise ließe sich durch die Gabe von L-Tyrosin auch die Verabreichung von Hormonen zur Verbesserung der Fruchtbarkeit reduzieren. Dies könnte aus wirtschaftlichen Gründen und im Sinne des vorbeugenden Verbraucherschutzes Vorteile bieten. Zudem könnte es eine kostengünstige und nebenwirkungsarme Alternative oder Ergänzung im Rahmen von Zuchtprogrammen darstellen. Einige Studienergebnisse deuten auf einen früheren Östruseintritt post partum und verbesserte Trächtigkeitsraten bei Rind und Schwein hin. Diese Resultate waren jedoch in anderen Studien nicht zu verifizieren. Weitere Untersuchungen weisen auf eine mögliche Erhöhung der Wurfzahlen bei Schweinen und Ratten hin. Während in den drei Untersuchungen an Ratten durchweg signifikant höhere Wurfgrößen gefunden wurden, scheinen bei Schweinen einige Studien diese Hypothese zu widerlegen. Methodische Mängel und teilweise geringe Tierzahlen lassen jedoch keine gesicherten Schlussfolgerungen zu.

Beim Hund deuten die Untersuchungen von Bergmann-Eisen (6) und Aumann (5) auf eine Verstärkung der Läufigkeitsblutung sowie eine Verbesserung der Deckbereitschaft hin. Beide Studien wurden aber ohne Kontrollgruppe, Verblindung oder Randomisierung durchgeführt. Die Datenerhebung erfolgte jeweils durch eine Befragung der Besitzer mittels postalisch übermitteltem Fragebogen ohne klinische Untersuchungen der Tiere. Ein weiterer kritischer Punkt ist das Ausmaß der Supplementierung von L-Tyrosin. Angaben zum tierartspezifischen Bedarf und zur Verdaulichkeit finden sich in der Literatur kaum. Der Bedarf wird beim Schwein mit 17,1 mg/kg KM angegeben (12). Allerdings handelt es sich bei L-Tyrosin um eine semiessentielle Aminosäure, die von den Haussäugetieren aus L-Phenylalanin synthetisiert werden kann. Somit müssen Bedarfsempfehlungen in Kombination mit

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

L-Phenylalanin betrachtet werden (27). Es wird vermutet, dass die Verdaulichkeit etwa 95-96% beträgt (9). Weiterhin ist zu beachten, dass nur ein kleiner Teil des L-Tyrosins im Körper zur Synthese von Katecholaminen verwendet wird (2). Dosisempfehlungen, über welche die orale Aufnahme von Tyrosin zur Sättigung der genannten Transportmoleküle im Gehirn führen soll (39), erscheinen daher schwierig. Die Autoren der systematisch ausgewerteten Literatur begründen die gewählten Dosierungen nicht. Nur einige Autoren geben Informationen zur Versorgung der Tiere mit L-Phenylalanin an. In den meisten Versuchen wurden 100 mg L-Tyrosin je Kilogramm Körpermasse angeboten. Lediglich in der Studie von Münz (26) kam mit 1-2 g/kg KM eine deutlich abweichende Dosierung zum Einsatz. Es ist davon auszugehen, dass bei allen berücksichtigten Tierarten somit ein Vielfaches des tatsächlichen Bedarfs aufgenommen wurde. Möglicherweise ist diese Herangehensweise gerechtfertigt, da bisher keine Nebenwirkungen durch eine deutlich erhöhte Aufnahme beobachtet wurden (27).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die meisten Untersuchungen schwerwiegende methodische Mängel aufweisen und daher keine gesicherten Aussagen zulassen. In vier Fällen fehlen Kontrollgruppen oder es wurden Daten der Vorjahre als Kontrolle herangezogen. Nur sieben Studien sind randomisiert und verblindet. Andere Studien besitzen einen methodisch guten Aufbau, erlauben aber aufgrund geringer Tierzahlen kaum valide Schlussfolgerungen. Zudem kommen Untersuchungen zu ähnlichen Fragestellungen häufig zu widersprüchlichen Aussagen.

Interessant ist die Tatsache, dass die Studien überwiegend im Zeitraum 1984–1991 durchgeführt wurden. In den Folgejahren wurden nur zwei weitere Studien publiziert. Die methodischen Mängel der Studien sind vermutlich darin begründet, dass in den 1980er Jahren randomisierte kontrollierte Studien wenig verbreitet waren. Zudem erfolgten vielfach noch keine statistischen Tests nach heutigen Maßstäben. In einigen Studien waren die für die Berechnung der Signifikanzwerte nötigen Daten

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

angegeben, sodass sich mittels einfacher Rechenschritte eine nachträgliche Berechnung vornehmen ließ. Anhand des p-Werts wird die Wahrscheinlichkeit angegeben, mit der eine Hypothese angenommen oder verworfen werden muss (34). Diese Angaben objektivieren und ergänzen die von den Autoren meist gewählten deskriptiven Datensätze. Weitere statistische Berechnungen waren aufgrund der mangelhaften Datenangaben in den Publikationen nicht möglich. Dennoch kann folglich eine nachträgliche Berechnung von statistischen Kennzahlen die Aussagekraft auch älterer Publikationen gegebenenfalls erhöhen. International wurden die Studienkonzepte zur Wirksamkeit von L-Tyrosin kaum aufgegriffen. Die gefundenen Studien wurden im Wesentlichen in Deutschland durchgeführt und auf Deutsch publiziert.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass ein Sprachen-Bias die ermittelten Ergebnisse verfälscht. Möglicherweise wurden Studien in einer anderen Sprache als Deutsch oder Englisch veröffentlicht und blieben daher bei der Suche in den Datenbanken unentdeckt.

Fazit für die Praxis

Die analysierten Daten lassen keine abschließende Beurteilung zur Validität des Einsatzes von L-Tyrosin zu. Es ist festzustellen, dass die verfügbaren Studien zu unterschiedlichen Aussagen kommen. Da die Studien mit geringen Tierzahlen durchgeführt wurden, eine Kontrollgruppe fehlte und keine Verblindung und Randomisierung erfolgte, rechtfertigen die erhobenen Daten im Sinne der Evidenzbasierten Medizin (4) keine wissenschaftlich gesicherten Schlussfolgerungen. Dennoch finden sich in der Literatur Empfehlungen für die Behandlung mit L-Tyrosin zur Fruchtbarkeitsförderung (24, 37). Um die Frage zu klären, ob L-Tyrosin einen Einfluss auf die Fruchtbarkeit ausüben kann und ob Tierärzte weiterhin den Einsatz

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

empfehlen sollten, sind weitere hochwertige Studien nötig. Ebenso besteht Forschungsbedarf in der Grundlagenforschung zu einem möglichen Einfluss des L-Tyrosins auf die hormonelle Steuerung des Sexualzyklus.

Interessenskonflikt

Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenskonflikt besteht.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

Literatur

1. Able F. Beeinflussung der Fruchtbarkeit bei Sauen während der Sommermonate durch die Aminosäure L-Tyrosin. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1989.
2. Agharanya JC, Alonso R, Wurtman RJ. Changes in catecholamine excretion after short-term tyrosine ingestion in normally fed human subjects. *Am J Clin Nutr* 1981; 34 (1): 82-87.
3. Antes G, Bassler D. Evidence-based medicine, dissemination of research information and the role of the medical journal. *Dtsch Med Wochenschr* 2000; 125 (38): 1119-1121.
4. Arlt S, Dicty V, Heuwieser W. Evidence-based medicine in canine reproduction: Quality of current available literature. *Reprod Dom Anim* 2010; 45: 1052-1058.
5. Aumann J. Beitrag zur Behandlung von Fertilitätsstörungen der Deutschen Schäferhündin. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1987.
6. Bergmann-Eisen K. Hormonell bedingte Fruchtbarkeitsstörungen bei der Hündin und deren mögliche Beeinflussung durch die Aminosäure Tyrosin. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1988.
7. Clarke IJ, Scott CJ, Pereira A, Pompolo S. The role of noradrenaline in the generation of preovulatory LH surge in the ewe. *Domest Anim Endocrinol* 2006; 30 (4): 260-275.
8. De Gier J, Kooistra HS, Djajadiningrat-Laanen SC, Dieleman SJ, Okkens AC. Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17beta, progesterone, prolactin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology* 2006; 65: 1346-1359.
9. Deglaire A, Bos C, Tomé D, Moughan PJ. Ileal digestibility of dietary protein in the growing pig and adult human. *Br J Nutr* 2009; 102: 1752-1759.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

10. Dudas B, Merchenthaler I. Three-dimensional representation of the neurotransmitter systems of the human hypothalamus: inputs of the gonadotrophin hormone-releasing hormone neuronal system. *J Neuroendocrinol* 2006; 18 (2): 79-95.
11. Erken K. Untersuchungen zur Steigerung der Produktivität in einem extensiv geführten Ferkelerzeugerbetrieb durch kombinierten Einsatz von Tyrosin, beta-Blocker und Litter-Maker[®]. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1990.
12. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Empfehlungen zur Energie und Nährstoffversorgung bei Schweinen. Frankfurt: DLG-Verlag 2006.
13. Gallo RV, Drouva SV. Effect of intraventricular infusion of catecholamines on luteinizing hormone release in ovariectomized and ovariectomized, steroid-primed rats. *Neuroendocrinology* 1979; 29: 149-162.
14. Gelhart I. Der Einfluss der Aminosäure L-Tyrosin auf verschiedene Fruchtbarkeitsparameter beim Schwein. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1991.
15. Gibson CJ, Deikel SM, Young SN, Binik YM. Behavioural and biochemical effects of tryptophan, tyrosine and phenylalanine in mice. *Psychopharmacology* 1982; 76: 118-121.
16. Gimmi-Klein C. Zur Wirkung von Tyrosin-Ethylester auf die Trächtigkeit beim Rind. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1988.
17. Gindele H, Köppen W. Kann durch orale Verabreichung von L-Tyrosin die Reproduktionsleistung bei Sauen gesteigert werden? *Tierärztl Umsch* 1989; 44: 528-534.
18. Hall JB, Schillo KK, Hileman SM, Boling JA. Does tyrosine act as a nutritional signal mediating the effects of increased feed intake on luteinizing hormone patterns in growth-restricted lambs? *Bio Reprod* 1992; 46: 573-579.
19. Hammerl J, Müller P. Untersuchungen über den Effekt von Dosis und Applikationszeitpunkt von L-Tyrosin auf das Reproduktionsgeschehen der Ratte. *Tierärztl Umsch* 1988; 43: 450-453.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

20. Hammerl J, Rüsse M. Reproduktionssteigerung bei Sauen durch perorale Verabreichung von L-Tyrosin. Tierärztl Umsch 1987; 42: 551-554.
21. Kalra SP. Catecholamine involvement in preovulatory LH release: reassessment of the role of epinephrine. Neuroendocrinology 1985; 40 (2): 139-144.
22. Knobloch S. Die Gabe von L-Tyrosin am 28. postpartalen Tag als Sterilitätsprophylaxe beim Rind. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1988.
23. Müller P. Zur Wirkung der Aminosäure Tyrosin und Tryptophan auf das Reproduktionsgeschehen der Ratte. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1987.
24. Münnich A, Hrsg. Fortpflanzung der Hündin – Ein Leitfaden in Gynäkologie und Geburtshilfe. Apolda: Liebeskind 2000.
25. Münsterer P. Zur Anwendung der Aminosäure L-Tyrosin in der Sterilitätsbehandlung des Milchrindes. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1987.
26. Münz G. Untersuchungen zur Wirkung von Tyrosin und Glucose auf das Reproduktionsgeschehen der Ratte. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1986.
27. Committee on Animal Nutrition Subcommittee on Dog and Cat Nutrition, National Research Council Nutrient requirement of dogs and cats. Washington D.C.: The National Academy Press 2006.
28. Okkens AC, Kooistra HS. Anoestrus in the dog: a fascinating story. Reprod Dom Anim 2006: 291-296.
29. Pardrige WM. The role of blood-brain barrier transport of tryptophan and other neutral amino acids in the regulation of substrate limited pathways of brain amino acid metabolism. J Neural Trnsm 1979; 15 (Suppl): 43-54.

VERÖFFENTLICHUNGEN – EVIDENZ DER LITERATUR

30. Rettmer I, Goodband RD, Stevenson JS, Davis DL, Tockach MD, Rozeboom DW, Pettigrew JE, Johnston LJ, Rust JW, Chester-Jones H. Failure of dietary amino acid supplementation at weaning to influence reproductive traits of sows. *J Anim Sci* 1993; 71: 2511-2515.
31. Scheuermann R. Zur Bedeutung der Aminosäure L-Tyrosin im Reproduktionsgeschehen der Ratte. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1984.
32. Schwayer A. Untersuchungen zur Wirkung oraler Tyrosingaben nach der Geburt auf die Reproduktionsleistung bei Milchkühen. Diss med vet, Freie Universität Berlin 2005.
33. Selvage DJ, Johnston CA. Interaction between norepinephrine, oxytocin, and nitric oxide in the stimulation of gonadotropin-releasing hormone release from proestrous rat basal hypothalamus explants. *J Neuroendocrinol* 2004; 16 (10): 819-824.
34. Sterne JA, Smith GD. Sifting the evidence – what’s wrong with significance tests? *Br Med J* 2001; 322 (7280): 226-231.
35. Stevenson JS, Jaeger JR, Rettmer I, Smith MW, Corah LR. Luteinizing hormone release and reproductive traits in anestrous, estrus-cycling, and ovariectomized cattle after tyrosine supplementation. *J Anim Sci* 1997; 75 (10): 2754-2761.
36. Tani H, Inaba T, Tamada H, Sawada T, Mori J, Torii R. Increasing gonadotropin-releasing hormone release by perfused hypothalamus from early to late anestrus in the beagle bitch. *Neurosci Lett* 1996; 207 (1): 1-4.
37. Wehrend A, Hrsg. Leitsymptome Gynäkologie und Geburtshilfe beim Hund. Stuttgart: Enke 2010.
38. Wetzel G. Der Einfluss der Aminosäure L-Tyrosin auf das Fruchtbarkeitsgeschehen beim Rind. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München 1985.
39. Wurtman RJ. Nutrients that modify brain function. *Sci Am* 1982; 246 (4): 50-59.

Originalartikel

Veterinary Record, 2013 Feb 23; 172(8):212. doi: 10.1136/vr.101240. Epub 2013 Jan 12

Does oral administration of the amino acid tyrosine affect oestradiol-17 β concentration and sexual behaviour in the bitch?

Sonja Spankowsky, Wolfgang Heuwieser, Sebastian P. Arlt

Clinic for Animal Reproduction, Freie Universität Berlin, Germany

Summary of research

The oral administration of the amino acid, tyrosine, has been for years recommended in order to improve fertility, especially to improve copulation behaviour in female dogs. However, evidence is comparatively poor. The objective of our study was to determine whether oral administration of tyrosine has an effect on oestradiol-17 β concentrations and the oestrous behaviour in the bitch. Fifty bitches were randomly allocated to one of two treatment groups in which each dog received 100mg/kg/day of either tyrosine or milk sugar orally between Day 3 and Day 9 of heat. Every two to three days, a gynaecological examination was performed and blood samples were taken to determine oestradiol-17 β and progesterone concentrations. The day of ovulation was estimated by clinical findings, and according to the specifications of the laboratory, once progesterone values exceeded 12.7nmol/l. The observed copulation behaviour was not different between the groups. No differences in volume and visual nature of vaginal discharge were observed. At the day of ovulation, mean oestradiol-17 β concentration in the treated group was 163.4pmol/l and 162.2pmol/l in the placebo group, respectively. In conclusion, feeding tyrosine to female dogs between Day 3 and Day 9 of heat did not alter visual signs of heat or copulation behaviour, and did not alter oestradiol-17 β concentration.

<http://dx.doi.org/10.1136/vr.101240>

DISKUSSION

3. DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss der Aminosäure Tyrosin auf verschiedene Fruchtbarkeitsparameter, die Konzentration von Östrogen im Serum, und besonders das Deckverhalten der Hündin zu untersuchen. Hinsichtlich vorangegangener Studien sollte die Empfehlung der oralen Gabe von 100 mg/kg KM am dritten bis neunten Läufigkeitstag überprüft werden.

Bereits bei der systematischen Evaluierung der verfügbaren Literatur zeigte sich ein deutlich divergierendes Bild bezüglich der Ergebnisse vorangegangener Studien. Einige Untersuchungen wiesen auf einen positiven Einfluss auf verschiedene Fruchtbarkeitsparameter, beispielsweise eine Erhöhung der Wurfzahlen bei Schweinen und Ratten, hin. Während in Untersuchungen an Ratten durchweg signifikant höhere Wurfgrößen nach Verabreichung von Tyrosin gefunden wurden, konnten diese Ergebnisse durch Studien an Schweinen nicht bestätigt werden. Die beiden am Hund durchgeführten Analysen von Aumann (1987) und Bergmann-Eisen (1988) deuteten auf eine Verstärkung der Läufigkeitsblutung sowie eine Verbesserung der Deckbereitschaft hin. Beide Studien wurden jedoch ohne Kontrollgruppe, Verblindung oder Randomisierung durchgeführt. Generell musste festgestellt werden, dass methodische Mängel und teilweise geringe Tierzahlen nach heutigen wissenschaftlichen Anforderungen keine statistisch gesicherten Schlussfolgerungen zulassen.

Gewählte Dosierungen von Tyrosin begründeten die Autoren der ausgewerteten Literatur nicht. Dennoch ist die Menge der Supplementierung von L-Tyrosin möglicherweise ein wichtiges Kriterium in der Beurteilung der Ergebnisse. Angaben zum tierartsspezifischen Bedarf und zur Verdaulichkeit finden sich in der Literatur kaum. Der Bedarf wird beim Schwein mit 17,1 mg/kg KM angegeben (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie 2006). Für den Menschen wird vom WHO ein Bedarf von Phenylalanin plus Tyrosin von 14 mg /kg KM bei einem Verhältnis von 60:40 angenommen. Für adulte Hunde gibt das Committee on Animal Nutrition einen

DISKUSSION

Bedarf von 86 mg/kg KM kombiniert aus Phenylalanin plus Tyrosin an (Committee on Animal Nutrition, Subcommittee on Dog Nutrition Committee on Animal Nutrition 1985). Bei einem Verhältnis von 60:40 von Phenylalanin zu Tyrosin entspricht das 34,4 mg /kg KM Tyrosin. Zusätzlich ist zu beachten, dass nur ein kleiner Teil des L-Tyrosins im Körper zur Synthese von Katecholaminen verwendet wird (Agharanya 1981). Empfehlungen zur Dosis, über welche die orale Aufnahme von Tyrosin zur Sättigung der genannten Transportmoleküle im Gehirn führen soll (Wurtman 1982), sind daher aufgrund der bestehenden Datenlage nicht möglich.

In den meisten Versuchen wurden 100 mg/kg KM Tyrosin angeboten. Lediglich in der Studie von Münz (1986) kam mit 1-2 g/kg KM eine deutlich abweichende Dosierung zum Einsatz. Da die gängige Empfehlung zur Verabreichung bei der Hündin bei 100 mg/kg KM lag, wurde diese Dosierung für die Durchführung der vorliegenden Arbeit übernommen. Zielsetzung war es, die Evidenz der bisher veröffentlichten Literatur und die damit verbundenen praktischen Empfehlung zur Applikation von Tyrosin zu überprüfen. Im Vergleich zum Bedarf des Hundes erschien die Dosierung von 100 mg/kg KM Tyrosin zum Erreichen einer Sättigung jedoch relativ gering. Deshalb kann nicht ausgeschlossen werden, dass Ergebnisse mit einer veränderten Dosierung abweichend gewesen wären. Die Vergleichbarkeit in Bezug auf die Dosierung zu den vorangegangenen Studien ist jedoch gegeben.

Östrogen wurde für die gegenwärtige Analyse als Messparameter gewählt, da das Hormon für sichtbare Anzeichen der Läufigkeit, wie die Fältelung der Vaginalschleimhaut, verantwortlich ist und das Östrusverhalten der Hündin maßgeblich beeinflusst (Grundy et al. 2002).

Im Verlauf der Studie gemessene Konzentrationen von Hormonen im Serum entsprachen den Angaben anderer Autoren und können somit als realistisch eingeschätzt werden (Chakraborty et al. 1980; Olson et al. 1982; Jeffcoate 1992; De Gier et al. 2006). Unterschiede der Konzentrationen von Hormonen im Serum zwischen Verum- und Placebogruppe bestanden nicht.

DISKUSSION

Die in der Hypothese aufgeführte Erhöhung von Östradiol im Serum durch Verabreichung von Tyrosin konnte nicht bestätigt werden. Nach Verabreichung von GnRH hingegen, konnten verschiedene Autoren einen Anstieg der Plasma- bzw. Serumkonzentrationen von LH, FSH und Östradiol nachweisen (Jeffcoate 1992, Buijters et al. 2006, Beijerink et al. 2007; De Gieret al. 2012). Buijters et al. (2006) sowie Beijerink (2007) verzeichneten den deutlichsten Anstieg von Östradiol im Anöstrus. Während der Läufigkeit hingegen war der Anstieg der Konzentration von Östrogen nicht statistisch signifikant (Jeffcoate 1992; Buijters et al. 2006). Jeffcoate (1992) erklärt dies damit, dass die während der meisten Zeit des Anöstrus vorliegenden niedrigen Basalwerte von Östradiol eine deutlich niedrigere Standardabweichung aufweisen. Kleine Anstiege des Östradiols im Serum sind somit statistisch leichter nachweisbar. Östradiolwerte im Östrus hingegen sind bedeutend höher und weisen große Standardabweichungen auf. Ein Einfluss dieser Faktoren auf das Ergebnis der vorliegenden Messungen kann nicht ausgeschlossen werden. Allerdings deuten die Ergebnisse unserer Studie keine numerischen Unterschiede an, die hinsichtlich der hohen Standardabweichungen eine Signifikanz unter Einbeziehung einer größeren Tierzahl erwarten lassen. Weder bei den Messungen am dritten und sechsten Läufigkeitstag, noch bei den Messungen um die Ovulation herum traten Unterschiede in der Konzentration von Östradiol-17 β im Serum auf. Vier bis zwei Tage vor der Ovulation zeigten sich in der Verumgruppe numerisch niedrigere Östradiolwerte als in der Placebogruppe. Da Untersuchungen gezeigt haben, dass die erste Läufigkeit bei Hündinnen oft kürzer ist und Hormonwerte nicht die spätere Höhe erreichen (Chakraborty 1980), wurden laut Studienprotokoll nur Hündinnen aufgenommen, die bereits mindestens einmal läufig waren.

Neueren Untersuchungen zufolge weisen GnRH Neurone bei Ratten Östrogenrezeptoren auf (Dudas und Merchenthaler 2006). Demnach haben Östrogene nicht nur eine negative Feedback-Wirkung auf GnRH Neurone sondern zeitlich abhängig auch eine positive Feedback-Wirkung, die zum LH-Anstieg und zur Ovulation führt. Offen bleibt, ob Feedback-Mechanismen einen Anstieg von Östradiol im Serum nach Verabreichung von Tyrosin verhindern. Überschüssige Aminosäuren können vom Körper zur Energiegewinnung umgewandelt werden (Agharanya 1981).

DISKUSSION

Geht man davon aus, dass eine Sättigung von Tyrosin im Gehirn erreicht wird, unterliegen auch die Katecholamine sowie GnRH ihrerseits eigenen Mechanismen zur Regulation. In den analysierten Studien wurden Feedback-Wirkungen außer Acht gelassen. Ebenso können Umwelteinflüsse wie Temperatur, Stress (Schmerz, Angst) und intrinsische Faktoren die Feedback-Mechanismen überlagern (Meij et al. 2010).

Die vorliegende Studie deutet darauf hin, dass die Verabreichung von Tyrosin in der Follikelreifungsphase entgegen bisheriger Literaturempfehlungen keinen Einfluss auf die Deckbereitschaft oder Anzeichen der Läufigkeit hat. Beachtet werden muss jedoch, dass in unseren Auswahlkriterien für die Studienpatienten keine Störungen des Fortpflanzungsverhaltens oder fehlgeschlagene Belegungsversuche vorgegeben waren. Um eine Aussage über die Wirkung von Tyrosin bei Belegungsproblemen treffen zu können, wäre eine Auswahl von Hündinnen mit sehr spezifischer Anamnese nötig gewesen. Als Probanden kämen nur Tiere infrage, welche in vorangegangenen Läufigkeiten trotz erfolgter, sorgfältiger Deckterminbestimmung die Belegung verweigert haben. Eine sorgfältige Deckterminbestimmung wäre in diesen Fällen unerlässlich, um einen falschen Zeitpunkt als Ursache einer fehlgeschlagenen Bedeckung auszuschließen. Eine angemessene Anzahl solcher Hündinnen wäre in einer vertretbaren Zeit nicht zu erreichen gewesen. Daher sollte der Einfluss von Tyrosin auf eine Gruppe von Hündinnen mit Störungen im Fortpflanzungsverhalten in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

4. ZUSAMMENFASSUNG

Die Aminosäure Tyrosin dient als Substrat für die Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin. Katecholamine kontrollieren als Neurotransmitter die pulsatile GnRH-Ausschüttung und haben somit Einfluss auf die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden Achse. Diese Zusammenhänge führten zu der Durchführung einer Reihe von Studien über den Effekt von Tyrosin auf verschiedene Fruchtbarkeitsparameter bei weiblichen Haussäugetieren. Abgeleitet von Ergebnissen dieser Untersuchungen wird in der entsprechenden Fachliteratur u.a. die Verabreichung von 100 mg/kg KM Tyrosin an Hündinnen während der Läufigkeit empfohlen, um das Deckverhalten und die Fruchtbarkeit während des Östrus zu verbessern. Die Evidenz der Kenntnislage ist jedoch gering. Daher bestand das erste Ziel der vorliegenden Arbeit darin, eine systematische und statistische Analyse der vorhandenen Literatur vor dem Hintergrund der Evidenz-basierten Veterinärmedizin durchzuführen (Veröffentlichung 1).

Im Anschluss an diese erste Untersuchung stand die Durchführung einer eigenen Studie (Veröffentlichung 2). Diese mittels Placebo kontrollierte Doppelblindstudie zur Applikation von Tyrosin bei der Hündin entspricht dem heutigen wissenschaftlichen Standard (Artikel 2).

Bei der Analyse der verfügbaren Literatur wurden 17 Studien anhand von Evidenzkriterien ausgewertet und verglichen. Der Effekt von Tyrosin auf verschiedene Fruchtbarkeitsparameter wurde bei weiblichen Rindern, Schweinen, Ratten und Hunden untersucht. Der Großteil dieser Studien stammt aus den 80er bzw. frühen 90er Jahren. Vielfach fielen bei der Analyse methodische Mängel auf. Hierzu zählten unter anderem das Fehlen von Kontrollgruppen, einer Randomisierung und Verblindung der Studien oder der Berechnung der statistischen

ZUSAMMENFASSUNG

Signifikanz der Ergebnisse. Die beiden vorhandenen Untersuchungen an Hunden weisen alle genannten Mängel auf. Die Ergebnisse verschiedener Studien wichen deutlich voneinander ab und waren teilweise sogar widersprüchlich. Insgesamt musste daher festgestellt werden, dass nur wenig wissenschaftlich relevante Quellen vorliegen. Heterogene Ergebnisse der vorhandenen Studien deuten die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen über den Effekt und die Dosierung von Tyrosin an, um die Anwendung in der Praxis empfehlen zu können. Ziel der eigenen Studie war es, den Effekt einer oralen Gabe von Tyrosin auf den Serumspiegel von Östradiol-17 β und das Östrusverhalten der Hündin zu untersuchen. Die erforderliche Tierzahl wurde über ein entsprechendes Kalkulationsprogramm auf der Grundlage der folgenden Hypothese berechnet: Als Referenzwert für die mittlere Östradiol-17 β -Konzentration am Tag der Ovulation wurden $164,4 \pm 54,3$ pmol/L zugrundegelegt. Im Vergleich zur Placebogruppe wurde in der Verumgruppe ein Anstieg des mittleren Östradiolwerts um >40 pmol/L angenommen.

50 Hündinnen wurden nach einer Randomisierungsliste auf zwei Behandlungsgruppen aufgeteilt, in welcher jeweils 100 mg/kg/Tag Tyrosin oder Milchzucker als Placebo zwischen dem dritten und dem neunten Läufigkeitstag verabreicht wurden. Alle zwei bis drei Tage wurden die Tiere gynäkologisch untersucht und zur Bestimmung der Östradiol-17 β - und Progesteronwerte Blutproben entnommen. Die gynäkologische Routineuntersuchung bestand aus Adspektion, Vaginoskopie und der Zytologie eines vaginalen Abstriches. Der Ovulationstag wurde anhand der klinischen Befunde sowie entsprechend der vom Labor vorgegebenen Referenzwerte festgelegt, sobald der Progesteronspiegel 12,7 nmol/L überschritt. Zusätzlich zu den klinischen Untersuchungen wurden die Besitzer gebeten, das Deckverhalten sowie den vaginalen Ausfluss im Vergleich zu vorangegangenen Läufigkeiten zu beurteilen. Zur Protokollierung dieser Beobachtungen wurden standardisierte Fragebögen ausgeteilt. 24 bis 28 Tage nach der ersten Belegung der Hündinnen wurden Trächtigkeitsuntersuchungen per Ultraschall durchgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach Abschluss der Datenaufnahme wurde die Verblindung aufgeschlüsselt und die Befunde in vier zeitbezogene Intervalle aufgeteilt: Ovulationstag ± 1 d, 2-4 d vor Ovulation, 5-7 d vor Ovulation und 8+ d vor Ovulation. Der mittlere Ovulationstag lag $11,4 \pm 1,94$ Tage nach Beginn des Proöstrus. In der Verumgruppe (n = 25) akzeptierten bei der Belegung zwei Hündinnen den Rüden nicht und in einem Fall zeigte der Rüde kein Interesse. 17 Hündinnen (68 %) bekamen Welpen. In der Placebogruppe (n = 25) zeigten vier Hündinnen vermindertes Paarungsverhalten, jedoch konnten alle belegt werden. 20 Hündinnen bekamen Welpen (80 %). Unterschiede in Farbe und Menge des vaginalen Ausflusses gab es zwischen den Gruppen nicht. Am Ovulationstag betrug die mittlere Östradiol-17 β -Konzentration in der Verumgruppe $163,4 \pm 88,6$ pmol/L und in der Placebogruppe $162,2 \pm 89,7$ pmol/L. Keine signifikanten Unterschiede der Östradiol-17 β -Werte wurde in den Tagen vor der Ovulation gefunden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die orale Verabreichung von 100 mg /kg /Tag Tyrosin am dritten bis neunten Läufigkeitstag keinen Einfluss auf die Östradiol-17 β -Konzentration bei Hündinnen hat. Im Gegensatz zu den Annahmen der Fachliteratur konnten weder Anzeichen die Läufigkeitsblutung noch das Deckverhalten beeinflusst werden. Um zu klären ob die Anwendung in der Praxis weiterhin empfohlen werden kann, sollten weitere Untersuchungen über Dosis und Wirksamkeit durchgeführt werden.

SUMMARY

4. SUMMARY

Investigations concerning the effects of the amino acid tyrosine on fertility in the bitch

The amino acid tyrosine serves as substrate for the catecholamines epinephrine, norepinephrine and dopamine. As neurotransmitters catecholamines control the pulsatile GnRH release and therefore have an influence on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. This correlation led to a number of studies on the effect of tyrosine on fertility parameters in female domestic animals. As one result, the administration of 100 mg/kg/day tyrosine is recommended in technical literature in order to improve reproductive behavior and fertility during oestrus. However, the evidence of these studies is poor. Hence, the first aim of this present study was to provide a systematic and statistical analysis of current literature in terms of evidence-based veterinary medicine (article 1).

Subsequent to the first analysis an own study was performed (article 2). The study was designed as a controlled randomized clinical trial meeting current scientific standards.

The literature research comprised of 17 studies in German and English, which were evaluated and compared on the basis of evidence criteria. The effect of tyrosine on different fertility parameters had been investigated in female cattle, pigs, rats and dogs. The majority of these studies originate from the 1980ies. Repeatedly, methodical deficits such as lack of control groups, randomization, blinding or the analysis of statistical significance were apparent. The two existing investigations on dogs featured all these deficits. To some extent results from different surveys were inconsistent with one another. Therefore we concluded, that consolidated, there are

SUMMARY

few scientifically proven sources and heterogeneous results indicate a considerable need for further research on the effectiveness and dose of tyrosine to legitimate its appliance in practice.

The objective of our own study was to determine whether oral administration of tyrosine has an effect on oestradiol-17 β concentrations and the oestrus behaviour in the bitch. The required number of animals was calculated based on the following hypothesis using Sample Size/Power Calculations: reference value for mean concentration of estradiol-17 β on the day of ovulation is 164.4 \pm 54.3 pmol/l. An increase by >40 pmol/l (to 204.4 pmol/l) in the verum group at ovulation compared to the control group was hypothesized. Fifty bitches were randomly allocated to one of two treatment groups in which each dog received 100 mg/kg/day of either tyrosine or milk sugar orally between Day 3 and Day 9 of heat. Every two to three days a gynaecological examination was performed and blood samples were taken to determine estradiol-17 β and progesterone concentrations. Routine gynaecological examination consisted of adspection, vaginoscopy and cytological evaluation of a stained vaginal smear. The day of ovulation was estimated by clinical findings and according to the specifications of the laboratory once progesterone values exceeded 12.7 nmol/l.

In addition to clinical examinations owners were asked to observe copulation behaviour and vaginal discharge compared to previous heats. Standardized case report forms were handed out to document these findings. Pregnancy examination was performed 24 to 28 days after first mating using ultrasound.

After all data was collected, the study was unblinded and clinical findings and concentrations of progesterone and estradiol-17 β were allocated into four distinct, time-related intervals: day of ovulation \pm 1 day, 2-4 days before ovulation, 5-7 days before ovulation and 8+ days before ovulation. Mean day of ovulation was 11.4 \pm 1.94 days after onset of pro-oestrus (11.4 \pm 1.96 days in the verum group and 11.5 \pm 1.96 days in the placebo group). In the verum group (n=25), two bitches did not accept the

SUMMARY

male and in one case the male did not show any interest. 17 bitches (68 per cent) whelped. In the placebo group (n=25), four bitches showed poor copulation behaviour, but all were mated. 20 bitches (80 per cent) whelped. No differences in volume and visual nature of vaginal discharge were observed. At the day of ovulation mean estradiol-17 β concentration in the treated group was 163.4 pmol/l and 162.2 pmol/l in the placebo group, respectively. No significantly different levels in estradiol-17 β were found prior to ovulation.

The results of our study indicate that oral administration between Day 3 and Day 9 of heat does not elevate estradiol-17 β levels. In contrast to recommendations in technical literature, tyrosine did not improve signs of heat or copulation behaviour. Further research on the effectiveness and dose of tyrosine is desirable to evaluate if its application in practice is sustainable.

LITERATURVERZEICHNIS EINLEITUNG UND DISKUSSION

5. LITERATURVERZEICHNIS EINLEITUNG UND DISKUSSION

- Agharanya J.C., Alonso R., Wurtman R.J. (1981) Changes in catecholamine excretion after shortterm tyrosine ingestion in normally fed human subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 34; 82-87
- Arlt, S. Segen und Fluch der Samenübertragung. DVG Referate-Zusammenfassung 58. *Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin*, S. 220-226
- Aumann J. (1987) Beitrag zur Behandlung von Fertilitätsstörungen der Deutschen Schäferhündin. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Beijerink NJ, Buijtels JJ, Okkens AC, Kooistra HS, Dieleman SJ. (2007) Basal and GnRH-induced secretion of FSH and LH in anestrus versus ovariectomized bitches. *Theriogenology*, 15;67(5):1039-45. Epub 2007 Feb 1
- Bergmann-Eisen K. (1988) Hormonell bedingte Fruchtbarkeitsstörungen bei der Hündin und deren mögliche Beeinflussung durch die Aminosäure Tyrosin. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Chakraborty P.K., Panko W.B., Fletcher W.S. (1980) Serum hormone concentrations and their relationships to sexual behavior at the first and second estrous cycles of the Labrador bitch. *Biology of Reproduction* 22; 227-232
- Committee on Animal Nutrition, Subcommittee on Dog and Cat Nutrition, National Research Council, Nutrient requirement of dogs and cats. Washington D.C.: The National Academy Press 2006; Chapter: Nutrient requirements of Dogs and Cats

LITERATURVERZEICHNIS EINLEITUNG UND DISKUSSION

- Committee on Animal Nutrition Subcommittee on Dog Nutrition, National Research Council of the national academies 1985; Washington, D.C.: The National Academy Press 1985
- De Gier J., Buijtels J.J.C.W.M., Albers-Wolthers C.H.J., Oei C.H.Y., Kooistra H.S., Okkens A.C.(2012) Effects of gonadotrophin-releasing hormone administration on the pituitary-gonadal axis in male and female dogs before and after gonadectomy Theriogenology vol. 77;(5) 967-978
- Dudas B., Merchenthaler I. (2006) Three-dimensional representation of the neurotransmitter system of the human hypothalamus: inputs of the gonadotrophin hormone-releasing hormone neuronal system. J Neuroendocrinol. 18 (2); 79-95
- Gibson C.J, Deikel S.M, Young S.N, Binik Y.M. (1982) Behavioural and biochemical effects of tryptophan, tyrosine and phenylalanine in mice. Psychopharmacology; 76: 118-121.
- Grundy S. A., Feldman E., Davidson A. (2002) Evaluation of infertility in the bitch. Clin Tech Small Anim Pract. 17, 108-115
- Jeffcoate I.A. (1992) Concentrations of luteinizing hormone and oestradiol in plasma and response to injection of gonadotrophin-releasing hormone analogue at selected stages of anoestrus in domestic bitches. Journal of Reproduction and Fertility 94; 423-429
- Meij B.P., Kooistra H.S., Rijnberk A. (2010) Hypothalamus-Pituitary System. Hannover; Germany, Schlütersche
- Münnich A., (2000) Fortpflanzung der Hündin – Ein Leitfaden in Gynäkologie und Geburtshilfe. Apolda: Liebeskind

LITERATURVERZEICHNIS EINLEITUNG UND DISKUSSION

- Münz G. (1986) Untersuchungen zur Wirkung von Tyrosin und Glucose auf das Reproduktionsgeschehen der Ratte. Diss med vet, Ludwig-Maximilians-Universität München
- Tani H, Inaba T, Tamada H, Sawada T, Mori J, Torii R. (1996) Increasing gonadotropin-releasing hormone release by perfused hypothalamus from early to late anestrus in the beagle bitch. *Neurosci Lett*; 207 (1): 1-4
- Wehrend A. (2010) Hrsg. Leitsymptome Gynäkologie und Geburtshilfe beim Hund. Stuttgart: Enke Verlag
- Wurtman R.J. (1982) Nutrients that modify brain function. *Sci Am*; 246 (4): 50-59

PUBLIKATIONEN

6. PUBLIKATIONEN

Spankowsky S, Arlt S, Arndt G, Heuwieser W:

Validität des Einsatzes von L-Tyrosin zur Steigerung der Fruchtbarkeit weiblicher Haustiere

Tierärztliche Praxis : veterinary medical journal / Ausgabe G, Großtiere, Nutztiere, 39 (3), 2011, 135-42

Arlt SP, Spankowsky S, Heuwieser W:

Follicular cysts and prolonged oestrus in dogs after administration of a deslorelin implant

New Zealand Veterinary Journal, 2011 Mar; 59(2):87-91.

doi: 10.1080/00480169.2011.552858

Spankowsky S, Heuwieser W, Arlt S:

Does oral administration of the amino acid tyrosine affect oestradiol-17 β concentration and sexual behaviour in the bitch?

Vet Rec. 2013 Feb 23; 172(8) 212.

doi: 10.1136/vr.101240. Epub 2013 Jan 12.

DANKSAGUNG

7. DANKSAGUNG

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. Wolfgang Heuwieser und Herrn Dr. Sebastian Arlt für die Bereitstellung des Themas dieser Arbeit, die Unterstützung bei der Durchführung der Studie und die vielen Tipps und Hilfestellungen für meine Veröffentlichungen. Ebenso möchte ich mich für die gute Betreuung und Zusammenarbeit während meines Aufenthalts in der Tierklinik für Fortpflanzung und in der darauffolgenden Zeit bedanken.

Mein Dank gilt auch allen weiteren Mitarbeitern und Doktoranden der Tierklinik für Fortpflanzung, die mir meinen Aufenthalt so angenehm bereitet haben und mir oft mit Rat und Tat zur Seite standen. Conny danke ich für die sorgfältige Verblindung meiner Studie.

Ein besonderes Dankeschön möchte ich an alle Studienteilnehmer mit Ihren vierbeinigen Begleitern richten. Ohne die rege Teilnahme und zuverlässige Befolgung des Studienprotokolls wäre dieses Forschungsvorhaben nicht umsetzbar gewesen.

Zuletzt möchte ich meinen Freunden und meinen Eltern für die seelische und moralische Unterstützung in den letzten Jahren danken.

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

8. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

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

Mittenwalde den 25.06.2013

Sonja Spankowsky