

Aus der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Untersuchungen zur Eignung einer neuen GnRH-Variante zur Brunstinduktion bei pluriparen Sauen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Silke Engl, geb. Heß
aus Schwalmstadt

Leipzig, 2006

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Karsten Fehlhaber

Betreuer: Prof. Dr. Axel Sobiraj

Gutachter: Prof. Dr. Axel Sobiraj

Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. Martin Wähner

Fachbereich Landwirtschaft, Ökotropologie und Landschaftsentwicklung
der Hochschule Anhalt (FH) Bernburg

Prof. Dr. Karl-Heinz Waldmann

Klinik für kleine Klauentiere und forensische Medizin und Ambulatorische
Klinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 12. September 2006

Meinem Engel

Die eigentliche Entdeckung besteht nicht darin,
Neuland zu betreten,
sondern mit neuen Augen zu sehen.

Marcel Proust
(franz. Schriftsteller 1871 - 1922)

Die Arbeit wurde gefördert aus Mitteln des
PROgramms „INNOvationskompetenz mittelständischer Unternehmen“
des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie

Inhaltsverzeichnis

<u>Kapitel</u>	<u>Überschrift</u>	<u>Seite</u>
1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	3
2.1	Physiologie der Fortpflanzung beim Schwein	3
2.1.1	Laktation	3
2.1.2	Absetzen der Ferkel	6
2.1.3	Sexualzyklus und Ovulation	8
2.1.3.1	Proöstrus	9
2.1.3.2	Östrus	10
2.1.3.3	Metöstrus	13
2.1.3.4	Diöstrus	13
2.1.3.5	Steuerung der Follikelentwicklung und der Steroidbiosynthese	17
2.2	Steuerung der Sexualfunktion bei Altsauen: Biotechnische Brunststimulation	21
2.3	Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH)	25
2.3.1	Struktur und Vorkommen von GnRH	26
2.3.2	GnRH-Rezeptor	32
2.3.3	Wirkung und Regulation von GnRH	38
2.3.4	Einsatz von GnRH zur Steuerung von Fortpflanzungsvorgängen bei landwirtschaftlichen Nutztieren	42
2.3.5	Hinweise auf eine m-GnRH-unabhängige Regulation der FSH-Sekretion	42
3	TIERE, MATERIAL UND METHODE	47
3.1	Zielstellung	47
3.2	Versuchsabschnitte	47
3.2.1	Untersuchungen zur Dosisfindung	47
3.2.2	Untersuchungen zur klinischen Wirksamkeit	48
3.3	Versuchstiere	49
3.4	Versuchszeitraum, Angaben zum Versuchsbetrieb	49
3.5	Haltung	50
3.6	Besamungsmanagement	50
3.7	Impfregime	51
3.8	Fütterung und Tränkung	52
3.9	Sonographische Untersuchungen	54
3.10	Erfasste Parameter	57
3.10.1	Brunstgeschehen	58
3.10.2	Follikelwachstum und Ovulationsverlauf	58
3.10.3	Umrauscher- und Trächtigkeitsergebnis	59
3.10.4	Abferkelergbnis	59
3.10.5	Zusammenhang zwischen Ergebnissen	59
3.10.6	Zusammenhang zwischen Ergebnissen und anamnestischen Daten	59
3.11	Klinische Untersuchungen	60
3.12	Statistische Auswertung	61

4	ERGEBNISSE	63
4.1	Ergebnisse der Untersuchungen zur Dosisfindung	63
4.2	Ergebnisse der Untersuchungen zur klinischen Wirksamkeit	64
4.2.1	Brunstgeschehen	64
4.2.2	Follikelwachstum und Ovulationsverlauf	66
4.2.3	Umrauscher- und Trächtigkeitsergebnis	70
4.2.4	Abferkelerggebnis	71
4.2.5	Zusammenhang zwischen Ergebnissen	71
4.2.6	Zusammenhang zwischen Ergebnissen und anamnestischen Daten	75
4.3	Ergebnisse der klinischen Untersuchung beider Versuchsabschnitte	78
5	DISKUSSION	79
5.1	Dosisfindung	80
5.2	Klinische Wirksamkeit	81
5.2.1	Brunstgeschehen	82
5.2.2	Follikelwachstum und Ovulationsverlauf	83
5.2.3	Umrauscher- und Trächtigkeitsergebnis	85
5.2.4	Abferkelerggebnis	85
5.2.5	Zusammenhang zwischen Ergebnissen sowie zwischen Ergebnissen und anamnestischen Daten	86
5.2.6	Schlussbetrachtung, Schlussfolgerungen	87
6	ZUSAMMENFASSUNG	89
7	SUMMARY	91
8	LITERATURVERZEICHNIS	93

Tabellenverzeichnis

<u>Kapitel</u>	<u>Überschrift</u>	<u>Seite</u>
Tabelle 1:	Dauer des Absetz-Östrus-Intervalls in Abhängigkeit von der Säugezeit (Literaturübersicht)	8
Tabelle 2:	Dauer der ersten Brunst bei Altsauen nach dem Absetzen der Ferkel (Literaturübersicht)	11
Tabelle 3:	Intervall Östrusbeginn bis Ovulation (Literaturübersicht)	11
Tabelle 4:	Intervalle im ovulationsnahen Zeitraum, in denen Besamungen hohe Befruchtungserfolge erzielten (Literaturübersicht)	13
Tabelle 5:	Einfluss unterschiedlicher eCG-Dosierungen und Säugezeiten auf die Östrusrate sowie das Absetz-Östrus-Intervall (Literaturübersicht)	24
Tabelle 6:	Nomenklatur und Aminosäuresequenz verschiedener GnRH unterschiedlicher Tierarten (in Anlehnung an SOMOZA et al. 2002)	27
Tabelle 7:	Verbreitung bekannter GnRH-Varianten bei unterschiedlichen Tierarten und deren Nachweisorte (Auswahl)	33
Tabelle 8:	Vorkommen von GnRH-Rezeptoren und -Varianten bei ausgewählten Tierarten	38
Tabelle 9:	Behandlungen der Tiere der Gruppen 1 bis 6 zur Dosisfindung	47
Tabelle 10:	Behandlungen der Tiere der Gruppen I bis III zur Prüfung der klinischen Wirksamkeit	48
Tabelle 11:	Angaben zur Wurfnummer, Wurfleistung und Dauer der Säugezeit der Tiere der Gruppen I bis III im vorangegangenen Wurf	49
Tabelle 12:	Rationszusammensetzung für abgesetzte und tragende bzw. abferkelnde und laktierende Sauen (Futtermittel)	53
Tabelle 13:	Rationszusammensetzung für abgesetzte und tragende bzw. abferkelnde und laktierende Sauen (Inhaltsstoffanalyse) (pro kg)	53
Tabelle 14:	Inhalts- und Zusatzstoffe der in den Rationen eingesetzten Mineralstoffvormischungen Sau-Min 16 und Sauen M (pro kg)	54
Tabelle 15:	Seitenspeckdicke der Sauen der Gruppen I bis III	57
Tabelle 16:	Ausgewählte Fruchtbarkeitsleistungen in Abhängigkeit der verschiedenen Dosierungen von Peforelin zu den unterschiedlichen Injektionszeitpunkten nach dem Absetzen	63
Tabelle 17:	Östrusrate und Absetz-Östrus-Intervall in Abhängigkeit von der Behandlung	64
Tabelle 18:	Brunstdauer in Abhängigkeit von der Behandlung	64
Tabelle 19:	Intervall Östrusbeginn bis Ovulation in Abhängigkeit von der Behandlung	65
Tabelle 20:	Intervall Ovulation bis Östrusende in Abhängigkeit von der Behandlung	65
Tabelle 21:	Östrusrate, Absetz-Östrus-Intervall, Brunstdauer sowie Intervall Östrusbeginn bis Ovulation in Abhängigkeit von der Behandlung (Zusammenfassung)	66
Tabelle 22:	Follikelgrößen nach dem Absetzen in Abhängigkeit von der Behandlung	67
Tabelle 23:	Follikelgrößen zum Zeitpunkt der ersten Duldung in Abhängigkeit von der Behandlung	67
Tabelle 24:	Trächtigkeitsergebnis in Abhängigkeit von der Behandlung	71
Tabelle 25:	Abferkelrate und Wurfgröße in Abhängigkeit von der Behandlung	71

Tabelle 26:	Intervall Östrusbeginn bis Ovulation in Abhängigkeit von der Länge des Absetz-Östrus-Intervalls und Verteilung dieses Zeitabschnittes in Klassen (Anteil der Sauen einer Absetz-Östrus-Intervall-Klasse in %)	72
Tabelle 27:	Follikelgröße (mm) nach dem Absetzen in Abhängigkeit von der Dauer der Säugezeit	74
Tabelle 28:	Absetz-Östrus-Intervall (h) in Abhängigkeit von der Wurfnummer	75
Tabelle 29:	Zusammenhang zwischen der Anzahl der insgesamt geborenen Ferkel im erzeugten Wurf und im vorangegangenen Wurf	75
Tabelle 30:	Absetz-Östrus-Intervall in Abhängigkeit von der Dauer der Säugezeit im vorangegangenen Wurf	76
Tabelle 31:	Verteilung der Besamungszeitpunkte im Verhältnis zur Ovulation	77
Tabelle 32:	Wurfgröße in Abhängigkeit vom Besamungsmanagement	77
Tabelle 33:	Wurfgröße in Abhängigkeit von der Haltungsform in der Trächtigkeit	78

Abbildungsverzeichnis

<u>Kapitel</u>	<u>Überschrift</u>	<u>Seite</u>
Abbildung 1:	Schema zur östrogeninduzierten Desensibilisierung des negativen Östrogen-Feedback (DÖCKE 1994)	6
Abbildung 2:	Prostaglandin F _{2α} -induzierte Kaskade der Luteolyse (nach PATE u. KEYES 2001)	16
Abbildung 3:	Schema der zellulären und hormonellen Interaktionen bei der Steroidsynthese während des Follikelwachstums (nach AINSWORTH et al. 1990, modifiziert nach CONLEY et al. 1994)	19
Abbildung 4:	Phylogenetischer Stammbaum einiger GnRH-Formen von verschiedenen Tieren bzw. Tierarten (nach WHITE et al. 1998, modifiziert nach FERNALD u. WHITE 1999)	28
Abbildung 5:	Phylogenetischer Stammbaum einiger GnRH-Vorläufer (aus denen die jeweiligen GnRH-Varianten entstehen) von verschiedenen Tieren bzw. Tierarten (MILLAR et al. 2004)	29
Abbildung 6:	Struktur verschiedener GnRH-Rezeptoren (NEILL et al. 2004)	34
Abbildung 7:	Schematische Darstellung von m-GnRH in gebogener Formation	35
Abbildung 8:	GnRH (links und rechts rot) sowie LH (links blau) bzw. FSH (rechts blau) in Hypophysenportalgefäßen eines ovariectomierten weiblichen Schafes während des Anöstrus (aus PADMANABHAN u. McNEILLY 2001)	43
Abbildung 9:	Modell der FSH-Regulation (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001)	45
Abbildung 10:	Zur sonographischen Untersuchung verwendetes Ultraschallgerät und Geräte zur Datenerfassung	54
Abbildung 11:	Sonographische Untersuchung einer Sau im Kastenstand	55
Abbildung 12:	Messpunkte (rot) für die Erhebung der Seitenspeckdicke	56
Abbildung 13:	Prozentuale Verteilung der Zeitpunkte der Ovulationen in den verschiedenen Gruppen (Sauen, die bis zum siebten Tag nach dem Absetzen östrisch wurden)	68
Abbildung 14:	Prozentuale Verteilung der Zeitpunkte der Ovulationen in den verschiedenen Gruppen (alle Sauen, auch die ohne Brunsterscheinungen bis zum siebten Tag nach dem Absetzen, gekennzeichnet mit „danach“)	69
Abbildung 15:	Ovarbefunde einer Sau	69
Abbildung 16:	Ovarbefund am Dienstag nach dem Absetzen	70
Abbildung 17:	Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation sowie dem Absetz-Östrus-Intervall in der Gruppe I	73
Abbildung 18:	Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation sowie dem Absetz-Östrus-Intervall in der Gruppe II	73
Abbildung 19:	Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation sowie dem Absetz-Östrus-Intervall in der Gruppe III	74

Abkürzungsverzeichnis

3 β HSD	3 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase
17 α OH	17 α -Hydroxylase
%	Prozent
&	und
€	Euro
®	eingetragenes Warenzeichen
a. m.	ante meridiem
Ala	Alanin
Asn	Asparagin
Arg	Arginin
Arom	Aromatase
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
C.	<i>Chelyosoma</i>
ca.	circa
Ca ²⁺	Calcium ²⁺
cAMP	Cycloadenosinmonophosphat
cGMP	Cycloguanosinmonophosphat
Chol	Cholesterol
Ci.	<i>Ciona</i>
Co.	Compagnie
Cys	Cystein
Cyt P ₄₅₀	Cytochrom P ₄₅₀ Side Chain Cleavage Enzyme
D	Dalton
DE	Deutsches Edelschwein
d. h.	das heißt
Desmo	C ₁₇₋₂₀ Desmolase
eCG	equines Choriongonadotropin
et al.	et alii
etc.	et cetera
FSH	follikelstimulierendes Hormon
FSH-RF	FSH-Releasing-Faktor
ET-1	Endothelin-1
ET-A	Endothelin-1-Rezeptor
GABA	γ -Aminobuttersäure
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
h	Stunde
hCG	humanes Choriongonadotropin

HDL	Lipoproteine hoher Dichte
His	Histidin
IGF	Anzahl insgesamt geborener Ferkel je Wurf
IGF-I	insulinähnlicher Wachstumsfaktor Typ I
IGF-II	insulinähnlicher Wachstumsfaktor Typ II
IGF-Rezeptor	Rezeptor für insulinähnlichen Wachstumsfaktor
IE	internationale Einheit
i.m.	intramuskulär
k. A.	keine Angaben
kg	Kilogramm
KG	Kommanditgesellschaft
LC	Leicoma
LDL	Lipoproteine niedriger Dichte
Leu	Leucin
LGF	Anzahl lebend geborener Ferkel je Wurf
LH	luteinisierendes Hormon
LLC	große Lutealzellen
Ltd.	Limited
Lys	Lysin
m ²	Quadratmeter
Met	Methionin
µg	Mikrogramm
MJ	Megajoule
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
n	Stichprobenumfang, Anzahl
NH ₂	Amin
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p. m.	post meridiem
p. p.	post partum
P450 _{Arom}	P450 Aromatase
P450 _{scc}	P450 side-chain cleavage
PG	Prostaglandin
pGlu	Pyroglutaminsäure
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
PGS	Prostaglandin Endoperoxidsynthase
Phe	Phenylalanin
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PMSG	pregnant mare's serum gonadotropin
Preg	Pregnenolon
Pro	Prolin
Prog	Progesteron

R	membranständiger Rezeptor
s	Standardabweichung
s.c.	subkutan
SCC	Cholesterol side-chain cleavage Enzyme
SCP ₂	Sterol Carrier-Protein 2
Ser	Serin
SLC	kleine Lutealzellen
StAR	Steroidogenic Acute Regulatory Protein
TGF	Anzahl tot geborener Ferkel je Wurf
TGFβ	transformierender Wachstumsfaktor β
Thr	Threonin
TNF	Tumornekrosefaktor
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosin
u.	und
u. a.	unter anderem
Val	Valin
\bar{x}	arithmetischer Mittelwert
z. B.	zum Beispiel

1 EINLEITUNG

In der Sauenhaltung schmälern verzögerte, unterschwellige oder gar ausbleibende sowie ungenutzt verstrichene Brunsteintritte bei Zuchtsauen die Wirtschaftlichkeit der Ferkelerzeugung. Deshalb bildet die Sicherung des Brunsteintritts bei den Tieren, insbesondere des rechtzeitigen und möglichst gleichzeitigen Auftretens der Östren, einen Schwerpunkt des fortpflanzungsbiologischen Herdenmanagements. Immer mehr Schweinezüchter und Ferkelerzeugerbetriebe nutzen periodenweise Abferkelsysteme. Die Bildung gut kontrollierbarer Tiergruppen, die die wichtigsten Haltungsabschnitte geschlossen durchlaufen, erlaubt die Räumung und Neubelegung der Stallabteile nach dem hygienisch vorteilhaften Alles-rein-alles-raus-Prinzip und garantiert die phasengerechte Fütterung sowie Haltung der Tiere und dient der Tiergesundheit.

Oberstes Ziel eines jeden Ferkelerzeugerbetriebes muss sein, die Anzahl Würfe pro Sau und Jahr sowie die Anzahl aufgezogener Ferkel pro Sau und Jahr zu maximieren, um eine rentable Ferkelproduktion zu sichern. Herzstück dabei ist das Reproduktionsmanagement; verschiedenste Verfahren stehen zur Anwendung bei gruppenweise abgesetzten Sauen zur Verfügung, um über kurze Absetz-Östrus-Intervalle und Gützeiten, hohe Östrusraten sowie maximale Befruchtungserfolge dem Ziel einer rentablen Ferkelproduktion näher zu kommen.

Derartige Verfahren basieren zum einen auf zootecnischen Prinzipien wie etwa Stimulationsmaßnahmen durch wiederholte Umstellungen, Eberkontakt, Lichtprogramme etc. Zum anderen finden biotechnische Verfahren Anwendung, die in der Regel mit oben genannten zootecnischen Maßnahmen sinnvoll verknüpft werden können. Seit Jahren finden hormonell wirksame Substanzen zur Fortpflanzungssteuerung bei Sauen Anwendung. Eine ist Stutenserumgonadotropin (frühere Bezeichnung: pregnant mare's serum gonadotropin, PMSG, heutige Bezeichnung: equines Choriongonadotropin, eCG; LONGENECKER u. DAY 1968, KÖNIG et al. 1977, BERGFELD et al. 1990a, b), das aus dem Blutserum tragender Stuten isoliert werden muss, beim Schwein überwiegend follikelstimulierend wirkt und im Rahmen des Verfahrens „Brunststimulation“ genutzt wird. Ein anderes Hormon ist das synthetisch hergestellte Gonadotropin-Releasing-Hormon-(GnRH)-Analogon Gonadorelin[6-D-Phe], das beim Schwein zur Stimulation der Ausschüttung von luteinisierendem Hormon (LH) und Induktion der Ovulation Anwendung findet. Seit längerem sind neben der ursprünglichen, bei Säugetieren vorkommenden GnRH-Variante zahlreiche andere GnRH-Isoformen bekannt (LOVEJOY et al. 1992, POWELL et al. 1994, WHITE et al. 1995, FERNALD u. WHITE 1999, CAROLSFELD et al. 2000, PATI u. HABIBI 2000, NEILL 2002, SOMOZA et al. 2002). Parallel zur Entdeckung dieser Isoformen wurde untersucht, ob sie die Gonadotropinsekretion, insbesondere die des follikelstimulierenden Hormons (FSH) stimulieren, da für das FSH schon seit langem ein spezifischer Releasing-Faktor angenommen wurde. In der Tat gelang es, mit dem aus dem Hypothalamus vom Seeneunauge (*Petromyzon marinus*, englisch: lamprey) isolierten GnRH die FSH-Ausschüttung bei verschiedenen Spezies in vitro und in vivo selektiv zu stimulieren. Da diese GnRH-Variante beim Seeneunauge entdeckt wurde, bezeichnete man sie als lamprey-GnRH-III (I-GnRH-III; YU et al. 1997, 2000, McCANN et al. 1998, SOMOZA et al. 2002). In Versuchen mit Ratten und Rindern stimulierte synthetisches I-GnRH-III vor allem die FSH-Sekretion, während LH nur bei höchsten Dosierungen sezerniert wurde (YU et al. 1997, LOVAS et al. 1998, DEES et al. 2001). Wurde synthetisch her-

gestelltes I-GnRH-III an kastrierte männliche Schweine verabreicht, reagierten diese mit einer deutlichen FSH-Freisetzung, während die Sekretion von LH davon unbeeinflusst blieb (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005).

Basierend auf diesen Erkenntnissen war Ziel dieser Arbeit, die Wirksamkeit eines synthetisch hergestellten, chemisch als Gonadorelin[5-His, 6-Asp, 7-Trp, 8-Lys] bezeichneten I-GnRH-III unter Praxisbedingungen auf seine Eignung für die Zyklusinduktion bei pluriparen abgesetzten Sauen zu prüfen. Dabei kam Maprelin[®] XP10 (Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn) zum Einsatz, in dem die Prüfsubstanz Gonadorelin[5-His, 6-Asp, 7-Trp, 8-Lys] (International Nonproprietary Name: Peforelin) enthalten ist.

In einem ersten Schritt sollten sowohl optimale Dosierung als auch optimales Zeitregime für die Anwendung der Prüfsubstanz eruiert werden, um in einem zweiten Schritt an größerer Tierzahl im Vergleich zu Tieren Anwendung zu finden, die eCG erhielten oder als Kontrolle dienten (Behandlung mit physiologischer Kochsalzlösung).

Vor allem der zweite Versuchsschritt sollte Auskunft über die Wirksamkeit des Prüfpräparates geben. Zur Beurteilung wurden zahlreiche anerkannte klinische Verfahren bemüht, zu denen kontinuierlich Brunstbeobachtung und sonographische Untersuchung der Ovarien gehörten. Fruchtbarkeitsrelevante Parameter, wie die des Brunstgeschehens, und Trächtigkeits- sowie Abferkelerggebnisses wurden bewertet und Interaktionen dieser mit verschiedenen Faktoren der Umwelt geprüft.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 PHYSIOLOGIE DER FORTPFLANZUNG BEIM SCHWEIN

Das Schwein ist ein polyöstrisches Tier, d. h. sein Sexualzyklus kehrt in regelmäßigen Abständen wieder. Nach Erlangen der Geschlechtsreife im Alter von fünf bis sechs bzw. acht Monaten (u. a. TRIEBLER u. THIEDE 1966, SCHNORR 1989) tritt die Brunst das ganze Jahr hindurch in Intervallen von etwa 21 Tagen auf. Geringfügige Variationen sind möglich (KÖNIG 1978, SCHNORR 1989, DALIN et al. 1995). Nach der Geburt setzt der Sexualzyklus der Sau erst im Anschluss an die Laktation wieder ein (SCHNORR 1989). Der Zyklus tritt in der Regel fünf bis 11 Tage nach dem Absetzen der Ferkel auf. Verzögerungen, zum Teil bis zu 21 Tagen, sind in seltenen Fällen möglich (TRIEBLER u. THIEDE 1966).

GnRH ist hypothalamischen Ursprungs und kommt dort vor allem im lateralen und mediobasalen Abschnitt sowie in den Nuclei paraventricularis und suprachiasmaticus, in der Area praeoptica sowie Eminentia mediana vor (siehe Kapitel 2.3.1). Es ist eines der kardinalen Hormone zur Regulation der Fortpflanzungsfunktion beim Schwein und wird pulsatil ausgeschüttet. Frequenz sowie Amplitude der Pulse variieren in Abhängigkeit vom Sexualstadium und der Zyklusphase. Die Steuerung von Synthese und Sekretion erfolgt u. a. durch übergeordnete zentralnervöse Zentren, die exogene Reize aufnehmen und verarbeiten können und das Signal über Neurotransmitter sowie extragonadale Substanzen vermitteln (BLECH 1977, DÖCKE 1994). Die pulsatile GnRH-Ausschüttung des Hypothalamus ist neben anderen Faktoren die wichtigste Voraussetzung für den Ablauf des Sexualzyklus und ist sowohl durch Neurotransmitter als auch extraneuronale Substanzen sowie exogene Reize beeinflussbar (DÖCKE 1994, PLONAIT 2001a).

Die frühe postpartale Phase stellt aus reproduktionshistologischer Sicht eine unproduktive Phase dar (VARLEY u. FOXCROFT 1990): In den ersten 21 bis 28 Tagen findet die Uterusinvolution einschließlich Regeneration des Endometriums statt (u. a. PALMER et al. 1965, ELZE et al. 1975). Durch den Säugereiz und neuroendokrine Hemmung wird die Ovaritätätigkeit während der Laktation gehemmt; Zyklen bleiben aus (Laktationsanöstrie). Bei der Mehrzahl der Sauen ist frühestens drei Wochen post partum (p. p.) und nach Absetzen der Ferkel eine erste Brunst möglich (VARLEY u. FOXCROFT 1990). Nur bei unphysiologisch kleinen Würfen kann ausnahmsweise schon während der Laktation eine fertile Brunst auftreten (PLONAIT 2001a).

2.1.1 LAKTATION

In den ersten Tagen p. p. treten an den Ovarien noch die in Rückbildung befindlichen Trächtigkeitsgelbkörper auf (PALMER et al. 1965, KUNAVONGKRIT et al. 1982, BAGNELL et al. 1987). Innerhalb der ersten Woche p. p. regredieren diese, um anschließend nur noch als rudimentäre weißliche Gebilde, als Corpora albicantia bezeichnet, fortzubestehen (KUNAVONGKRIT et al. 1982, BAGNELL et al. 1987).

An den Ovarien geschlachteter Tiere wurden am Tag nach der Geburt Follikel mittlerer Größe (4 bis 6 mm), zum Teil auch größere (über 6 mm), gefunden. Ihre Anzahl korreliert mit dem LH-Gehalt des Blutes (PALMER et al. 1965, SESTI u. BRITT 1994). Bis zum siebten

Tag p. p. nimmt die mittlere Follikelgröße ab ($2,7 \pm 0,2$ mm; PALMER et al. 1965). Nach dem siebten Tag p. p. kann die Anzahl an Follikeln mit mehr als 5 mm Durchmesser zunehmen (PALMER et al. 1965), bleibt bis zur dritten Laktationswoche aber offensichtlich limitiert (BRITT et al. 1985, LUCY et al. 2001) und steigt erst im Anschluss nachweislich an (KUNAVONGKRIT et al. 1982, LUCY et al. 2001). In der ersten Laktationswoche sind neben den in Regression befindlichen Gelbkörpern vor allem atretische Follikel zu finden. In der Laktationsmitte ist der Anteil atretischer und nichtatretischer Follikel etwa gleich groß (KUNAVONGKRIT et al. 1982, BRITT et al. 1985).

Neuere Ergebnisse lassen vermuten (LUCY et al. 2001), dass das postpartale Follikelwachstum beim Schwein in Wellen erfolgt. Zu einer Follikelwelle zählt eine Kohorte von ca. 20 bis 30 Follikeln von etwa 2 mm Durchmesser, die zeitgleich heranwachsen. Eine solche Follikeldynamik setzt bereits unmittelbar p. p. ein. Sofern die Sau ferkelführend ist und säugt, verhindern durch das Saugen provozierte inhibitorische Reize das Ausreifen dieser Follikel (über eine Inhibition der Gonadotropin-, vor allem der LH-Sekretion). Die Follikel einer Kohorte erreichen maximal 4 bis 6 mm und atresieren anschließend. Sollte die Sau nach wie vor säugen, werden unmittelbar zu Beginn der einsetzenden Atresie durch eine nunmehr fehlende endokrine Blockierung (siehe unten) wiederum Follikel einer neuen Follikelwelle aktiviert und beginnen zu wachsen. Erst nach dem Absetzen der Ferkel ist es Follikeln einer Kohorte möglich, eine präovulatorische Größe zu erreichen und auch zu ovulieren. Bereits drei Tage nach dem Absetzen der Ferkel ist entschieden, welche der Follikel einer Kohorte präovulatorische Größe erreichen und vermutlich ovulieren (LUCY et al. 2001).

Postpartal unterliegt das Endokrinium der Sau zahlreichen Veränderungen. Die Konzentrationen von Progesteron (ab 46 Stunden p. p.), FSH (ab 36 Stunden p. p.), LH (ab 24 Stunden p. p.) und Östradiol-17 β (24 Stunden vor bis unmittelbar p. p.) sinken im Blutplasma (VARLEY u. FOXCROFT 1990, SESTI u. BRITT 1994, ÖSTERLUNDH et al. 1998). Gelegentlich wurden während der Laktation erhöhte Östradiol-17 β -Konzentrationen im Blutplasma gemessen. Sie sind möglicherweise das Resultat einer Mobilisation dieses Steroids aus dem Fettgewebe, das vermutlich als Speicherort fungiert und im Rahmen der β -Oxidation als Energiequelle für die Milchbildung sukzessive verbraucht wird (Literaturübersicht siehe VARLEY u. FOXCROFT 1990).

Prolaktin wird bereits ante partum sezerniert. Seine Konzentration steigt während der Laktation stetig an (SCHAMS et al. 1994). Die Regulation erfolgt über die Gesäugemassage durch die Ferkel während des Saugaktes. Dreißig bis 40 Minuten nach Beginn des Saugens fallen die Konzentrationen des Prolaktins auf basale Werte. Bei hoher Frequenz der Säugeintervalle steigt dessen Sekretion (VARLEY u. FOXCROFT 1990). Trennt man Ferkel und Sau für kurze Zeit, sinkt der Prolaktinspiegel im Blutplasma und steigt erst bei der nächsten Gesäugemassage wieder an (BEVERS et al. 1978, ARMSTRONG et al. 1988). Während der Laktation wirkt Prolaktin vor allem laktogen (DÖCKE 1994).

Durch den Saugakt werden auch Oxytocin und Relaxin beeinflusst. Werden diese Hormone sezerniert, setzt bei der Sau die Milchejektion ein. Mit fortschreitender Laktation tritt offen-

sichtlich eine Desensibilisierung der Oxytocinrezeptoren der Milchdrüse gegenüber Oxytocin auf (VARLEY u. FOXCROFT 1990).

Relaxin, das in den Corpora lutea der Sau gebildet wird und von dort unmittelbar p. p. in den peripheren Kreislauf gelangt, nimmt vor allem in dieser Phase Einfluss auf die Milchsekretion. Bis Tag vier p. p. kommt es in großen Mengen vor. Im Verlauf der Laktation nimmt seine Konzentration ab (BAGNELL et al. 1987, HUNTER et al. 1992).

Ein von endogenen Opioiden, so genannten Neurotransmittern, gesteuerter Mechanismus ist essentieller Bestandteil der Regulierung der Sekretion hypophysärer Hormone wie der von Prolaktin und LH. Ab dem dritten Tag p. p. (de RENSIS et al. 1998) ist er wirksam. Die Verabreichung von Morphin, einem Opioidagonisten, an Sauen p. p. hemmt die LH-Sekretion (ARMSTRONG et al. 1988, KRAELING u. BARB 1990), während die Gabe von Naloxon, einem Opioidantagonisten, die LH-Ausschüttung stimuliert (MATTIOLI et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990, de RENSIS et al. 1993). Da GnRH-haltige Neurone Opioidrezeptoren besitzen, dürften sie an der beschriebenen LH-Regulation beteiligt sein (PIMPINELLI et al. 2006). Nach dem Absetzen der Ferkel nehmen weder Opioidantagonisten noch -agonisten Einfluss auf die LH-Freisetzung (KRAELING u. BARB 1990).

Die Sekretion von Prolaktin wird offenbar durch endogene Opioide stimuliert (VARLEY u. FOXCROFT 1990), da nach Applikation von Naloxon ab Tag 10/11 der Laktation verminderte Konzentrationen im Blut zu beobachten sind (VARLEY u. FOXCROFT 1990, de RENSIS et al. 1998). Offensichtlich sind auch Follikelzellen, d. h. Zellen der Theca folliculi, befähigt, das endogene Opioid Endorphin zu synthetisieren (KAMIŃSKI et al. 2001), so dass endogenen Opioiden vermutlich auch eine endokrine, regulative Bedeutung zukommt. Als Gegenspieler zu Letzteren ist Dopamin anzusehen, das allgemein als Inhibitor des Prolaktins angesehen wird (KRAELING u. BARB 1990, DÖCKE 1994).

Auf Grund oben erwähnter Mechanismen sind während der Laktation niedrige LH-Konzentrationen (vor allem als Resultat einer verminderten Frequenz; MATTIOLI et al. 1985) zu beobachten, die aus einer verminderten Stimulation durch das übergeordnete Hormon GnRH resultieren (EDWARDS u. FOXCROFT 1983, BRITT et al. 1985, MATTIOLI et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990). Da LH für die Endausreifung von Follikel und Eizelle (siehe unten) und für die Ovulation essentiell ist, bleiben beide während der Laktation aus. Erst unmittelbar vor dem Absetzen steigen Frequenz und damit Konzentration merklich an (MATTIOLI et al. 1985, EDWARDS u. FOXCROFT 1983), so dass die Follikelentwicklung fortschreiten kann. Gleiches war zu beobachten, wenn die Ferkel während der Laktation wiederholt für kurze Zeit vom Muttertier getrennt wurden (BEVERS et al. 1978, ARMSTRONG et al. 1988, VARLEY u. FOXCROFT 1990). Dies ist auch der Mechanismus, auf dem die Vorverlegung der Östren im Rahmen eines als "intermittent suckling" (kurzzeitiges Absetzen der Ferkel während der Laktation) bezeichneten Verfahrens basiert (KULLER et al. 2004).

Neben LH ist auch FSH vermutlich in Synthese und Sekretion während der Laktation inhibiert (KRAELING u. BARB 1990). GnRH reguliert die FSH-Sekretion nur zum Teil (BRITT et al. 1985). Auch Inhibin und Follistatin sind involviert; sie hemmen die GnRH-Ausschüttung

(STEVENSON et al. 1981, BRITT et al. 1985).

Offensichtlich werden während der Laktation auch Rückkopplungsmechanismen modelliert (ELSAESSER u. PARVIZI 1980), die während des Sexualzyklus aktiv sind. So wird beispielsweise während der Laktation die Hemmung eines steigenden Östrogenspiegels auf die GnRH-Sekretion des Hypothalamus nicht unterdrückt, so dass immer weniger GnRH ausgeschüttet wird (Hemmung des stimulierenden Östrogen-Rückkopplungs-Mechanismus; Abbildung 1).

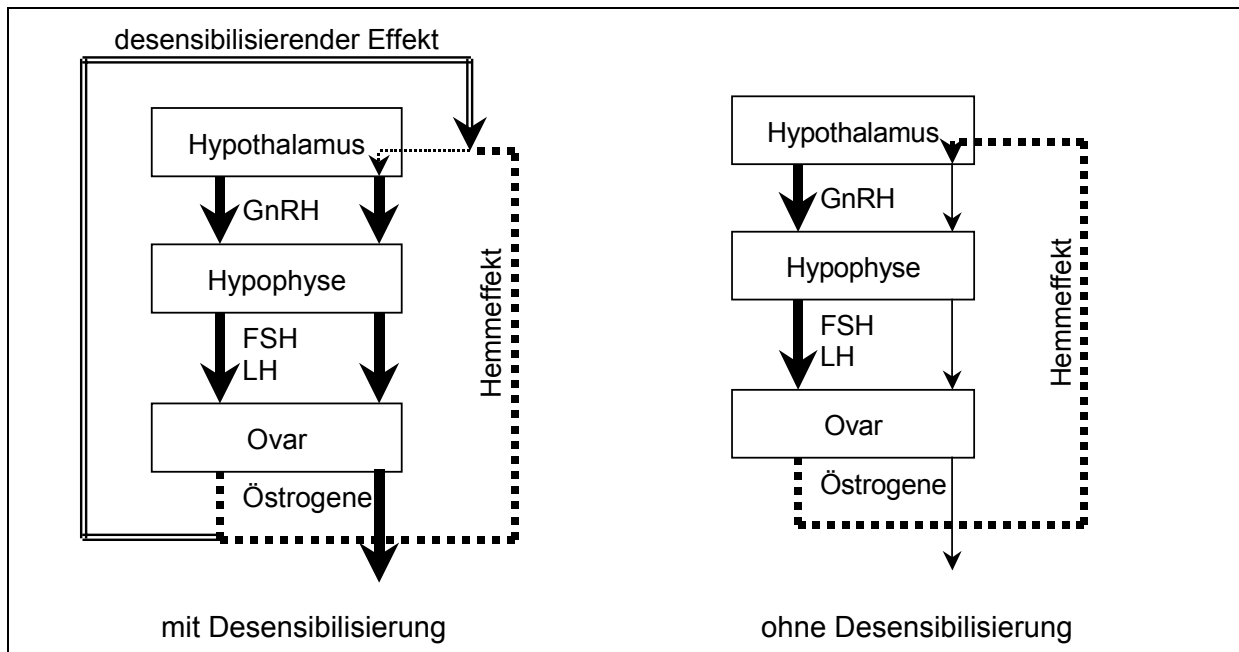


Abbildung 1: Schema zur östrogeninduzierten Desensibilisierung des negativen Östrogen-Feedback (DÖCKE 1994)

2.1.2 ABSETZEN DER FERKEL

Das Trennen von ihren Ferkeln bringt für die Sauen umfassende endokrinologische Veränderungen mit sich, die vor allem die Hormone Prolaktin, GnRH, FSH und LH sowie die Östrogene betreffen. Unmittelbar nach dem Absetzen sinkt z. B. der Prolaktin Gehalt im Blut (STEVENSON et al. 1981, EDWARDS u. FOXCROFT 1983, SHAW u. FOXCROFT 1985, FOXCROFT et al. 1987, LUCY et al. 2001). Zeitgleich wird GnRH verstärkt synthetisiert und in entsprechenden Gehirnarealen (Hypothalamus, Eminentia mediana, Hypophysenportalregion) gespeichert (COX u. BRITT 1982, BRITT et al. 1985). Offensichtlich besteht ein Zusammenhang zwischen Follikelgröße zurzeit des Absetzens und GnRH-Synthese, da abgesetzte Sauen mit kleinen Follikeln weniger GnRH als solche mit größeren Follikeln aufweisen (COX u. BRITT 1982). Adäquat dazu verhält sich FSH (BRITT et al. 1985), das im Blutplasma ansteigt und Konzentrationen erreicht, die deutlich die während der Laktation überschreiten (EDWARDS u. FOXCROFT 1983, SHAW u. FOXCROFT 1985). Die Werte sinken, wenn Follikel gebildet und Östrogene synthetisiert werden; Letztere inhibieren die FSH-Sekretion über negative Rückkopplungsmechanismen (EDWARDS u. FOXCROFT 1983). Die hier skizzierten Zusammenhänge sind genereller Natur. Individuelle Unterschiede sind mög-

lich (FOXCROFT et al. 1987).

Ähnliches trifft für LH zu, dessen Konzentration nach dem Absetzen der Ferkel stark ansteigt (KRAELING u. BARB 1990, LUCY et al. 2001). Einige Autoren berichten, dass dies bereits innerhalb der ersten acht bis 12 Stunden geschieht (SHAW u. FOXCROFT 1985, FOXCROFT et al. 1987). Andere ermittelten in den ersten 36 Stunden nach der Trennung von den Ferkeln steigende LH-Werte, die anschließend allmählich wieder abnehmen, minimale Konzentrationen 60 bis 84 Stunden nach dem Absetzen erreichen und dann erneut ansteigen (COX u. BRITT 1982, EDWARDS u. FOXCROFT 1983). In anderen Studien wird von konstanten LH-Konzentrationen während der ersten drei Tage nach dem Absetzen berichtet (STEVENSON et al. 1981). Erhöhte Konzentrationen wurden erst mit dem Brunsteintritt gemessen. Eine höhere LH-Basiskonzentration ist Resultat einer frequenteren episodischen LH-Sekretion (BRITT et al. 1985, SHAW u. FOXCROFT 1985, FOXCROFT et al. 1987, LUCY et al. 2001).

Durch Gonadotropine induziert wachsen und reifen Follikel nach dem Absetzen und produzieren Östrogene (STEVENSON et al. 1981). Die Konzentrationen des Östradiol-17 β sind innerhalb der ersten 48 Stunden nach dem Absetzen noch relativ niedrig und unverändert. Sie sinken anschließend auf basale Werte, um dann innerhalb von 24 Stunden bis zum Östrusbeginn stark anzusteigen (STEVENSON et al. 1981). Ob immer derartige Fluktuationen auftreten, mag angezweifelt werden, da auch innerhalb der ersten zwei bis sechs Tage nach dem Absetzen von kontinuierlicher Zunahme der Konzentration berichtet wird (EDWARDS u. FOXCROFT 1983). Interessant ist, dass die Konzentrationen des Östradiol-17 β bei Sauen mit kurzer Säugezeit schneller höhere Konzentrationen erreichen als bei Tieren, die länger ferkelführend waren (VARLEY u. FOXCROFT 1990).

Wie bereits angedeutet, gehen mit den hormonellen morphologische Veränderungen einher. Beide können sowohl als Ursache als auch als Wirkung definiert werden. In diesem Zusammenhang sind in erster Linie die wachsenden Follikel zu nennen, die z. B. umso mehr Östradiol synthetisieren, je größer sie werden. Die Follikelgröße zum Zeitpunkt des Absetzens und die Geschwindigkeit (Dynamik) ihres Wachstums werden maßgeblich von der Dauer der Säugezeit beeinflusst. Zwei Tage nach einer 21-tägigen Säugezeit ermittelten SOEDE et al. (1998) Follikel von 3,3 mm im Durchmesser. In der Übersichtsarbeit von BRITT et al. (1985) wird berichtet, dass die Follikel innerhalb von vier Tagen nach vorangegangener 35-tägiger Laktation auf 5 bis 10 mm Durchmesser wachsen. Bei 42-tägiger Säugezeit wurden null bis vier Tage nach dem Absetzen Follikel von 4 bis 6 mm Durchmesser ermittelt. Betrug die Säugezeit 62 Tage, waren die Follikel bereits zwei bis drei Tage nach dem Absetzen größer als 5 mm.

Das vorzeitige Trennen der Ferkel vom Muttertier unmittelbar nach der Geburt kann Zysten, verlängerte Östren oder eine Anöstrie provozieren. Als Ursache wird eine Interruption der ansonsten geordneten hormonellen Regulation vermutet (BRITT et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990).

Der Zeitpunkt des Brunsteintritts nach dem Absetzen der Ferkel wird unterschiedlich ange-

geben. PLONAIT (2001a) beziffert den Anteil der Sauen, die am vierten oder fünften Tag nach dem Absetzen östrisch wurden, mit 75 %. Als Voraussetzung hierfür nannte er „gute Bedingungen“, ließ aber offen, was konkret damit gemeint ist. Nach seinen Angaben werden 5 % der Sauen eher, 20 % dagegen später brünstig. CORRÊA et al. (2002) beobachteten, dass nur 29 % der Sauen vier bis fünf Tage nach dem Absetzen östrisch wurden; 46 % der Tiere kamen eher, 25 % später in die Brunst. Weniger detaillierte Angaben machen KRAELING und BARB (1990). Sie beschreiben, dass Sauen vier bis sieben Tage nach dem Absetzen östrisch werden. SCHLEGEL und HÜHN (1973) sowie KNOX und RODRIGUEZ-ZAS (2001) beobachteten, dass durchschnittlich 91 % (SCHLEGEL u. HÜHN 1973) bzw. 86,2 % (KNOX u. RODRIGUEZ-ZAS 2001) der Sauen bis zum achten Tag nach dem Absetzen brünstig werden. Generell kann offenbar davon ausgegangen werden, dass Tiere mit längerer Laktationsdauer nach kürzerem Absetz-Östrus-Intervall in die Brunst kommen als Tiere mit kürzerer Säugezeit (SCHLEGEL u. SKLENAR 1972, COLE et al. 1975, ALLRICH et al. 1979, CORRÊA et al. 2002, KNOX et al. 2002b). Beträgt die Säugezeit weniger als drei Wochen, verlängert sich allerdings das Absetz-Östrus-Intervall deutlich (ALLRICH et al. 1979, VARLEY u. FOXCROFT 1990, BELSTRA et al. 2004). Ausgewählte Angaben hierzu sind in Tabelle 1 dokumentiert.

Tabelle 1: Dauer des Absetz-Östrus-Intervalls in Abhängigkeit von der Säugezeit (Literaturübersicht)

Säugezeit (Tage)	Absetz-Östrus-Intervall	Autoren
10	9,4 Tage	TRIEBLER u. THIEDE 1966
14	5,2 Tage	CORRÊA et al. 2002
13 – 20	4,6 ± 0,1 Tage	BELSTRA et al. 2004
21	8,2 Tage	ALLRICH et al. 1979
21	6,3 Tage	TRIEBLER u. THIEDE 1966
21 – 28	5,4 ± 3,5 Tage	STEVERINK et al. 1999
21	4,9 Tage (= 118 ± 24 Stunden)	SOEDE et al. 1994
24	3,8 Tage (= 92 ± 1 Stunden)	KEMP u. SOEDE 1996
32 – 43	5,2 ± 0,1 Tage	DALIN et al. 1995
35	4,0 ± 0,8 Tage	KAEOKET et al. 2002
42	5,0 Tage	KÖNIG 1978
56	4,0 Tage	TRIEBLER u. THIEDE 1966

2.1.3 SEXUALZYKLUS UND OVULATION

Die Follikel der Schweineovarien lassen sich in vier follikulogenetische Gruppen einteilen (DÖCKE 1994, HSUEH et al. 1994). Primordialfollikel enthalten kleine Oozyten, die von einer dünnen Lage flacher Granulosazellen umgeben und von einer Basalmembran umhüllt sind. Primärfollikel enthalten wachsende Oozyten; die sie umgebenden Granulosazellen sind kubisch. Sekundärfollikel sind präantral, ihre Granulosazellschicht ist mehrlagig. Theca folliculi und Zona pellucida der Oozyten bilden sich aus. Graafsche Follikel sind präovulatorisch, haben die maximale Größe von ca. 7 bis 10 mm erreicht (HSUEH et al. 1994, LUCY et al. 2001) und enthalten eine mature Oozyte (DÖCKE 1994).

Zyklische bzw. phasenspezifische Veränderungen sind an beiden Ovarien synchron zu beobachten (HUNTER 1988, PLONAIT 2001a). Sie sind wie u. a. auch die Veränderungen am Uterus für die vier beim Schwein zu unterscheidenden Zyklusphasen Proöstrus (Vorbrunst), Östrus (Brunst), Metöstrus (Nachbrunst) und Diöstrus (Zwischenbrunst) spezifisch. Diese zyklisch verlaufenden Veränderungen erlauben die Einteilung in verschiedene Zyklusstadien. Angaben zu deren Länge bzw. zur Unterteilung des 21-tägigen Sexualzyklus in die jeweiligen Zyklusphasen variieren jedoch. PLONAIT (2001a) bezifferte die Länge von Proöstrus und Östrus mit vier bzw. zwei Tagen. Diese Stadien sollen sich über die Zyklustage 17 bis 20 bzw. null bis eins erstrecken, wobei Tag null derjenige ist, an dem die Sau erstmalig Duldung zeigt. Daran schließen sich der Metöstrus (Tag zwei bis fünf) und der Diöstrus (Tag sechs bis 16) an (PLONAIT 2001a). Nach LEISER et al. (1988) dauert der Metöstrus nur bis zum Zyklustag vier. Den Diöstrus unterteilen die Genannten zudem in ein frühes (fünfter bis achter Tag), mittleres (neunter bis 12. Tag) und spätes Stadium (13. bis 17. Tag), so dass auch der Proöstrus erst einen Tag später, am 18. Zyklustag beginnt. Davon abweichende Angaben sind anderen Publikationen zu entnehmen, die hier nur erwähnt, aber nicht im Einzelnen dargelegt werden (TSCHINKEL 1966, KÖNIG 1978, HENZE u. KRETZSCHMAR 1980). Bemerkenswert ist, dass die Arbeitsgruppe um DALIN gänzlich auf den Begriff „Metöstrus“ verzichtet und diese Phase – vermutlich auf Grund endokrinologischer Gesichtspunkte, da Progesteron dominiert – als frühen Diöstrus bezeichnet (KAEOKET et al. 2002). Zur Beschreibung der Zykluslänge sind zwei Nomenklaturen gebräuchlich, die sich darin unterscheiden, dass der erste Zyklustag entweder mit „null“ oder „eins“ beginnt und sich der Zyklus demzufolge bis zum Tag „20“ bzw. „21“ erstreckt. Nachfolgend sollen typische, für die Zyklusphasen spezifische Veränderungen an Ovarien und Uterus resümiert werden.

2.1.3.1 PROÖSTRUS

Im Proöstrus ist das Endometrium blass und geringgradig (MEHLHORN et al. 1975, LEISER et al. 1988) bis stark (KAEOKET et al. 2002) ödematisiert. Es weist Primär- und Sekundärfalten auf. Eine Gefäßzeichnung ist kaum erkennbar. Uterindrüsen sind vorhanden, in ihrer Anzahl gering und ohne bemerkenswerte Schlangelung. Lymphozyten werden im Stroma endometrii vor allem subepithelial beobachtet. Andere, vor allem polymorphkernige Zellen wie Granulozyten sind im gesunden Endometrium selten (LEISER et al. 1988, KAEOKET et al. 2002). Der Proöstrus dient der morphologischen und endokrinologischen Vorbereitung der Fortpflanzungsorgane auf bevorstehende Aufgaben wie verlustlose Passage der Spermien zum Eileiter sowie Aufnahme und Ernährung von Embryonen (KÖNIG 1978).

Die Gelbkörper des vorangegangenen Zyklus bilden sich während des Proöstrus sukzessive zurück, so dass an dessen Ende funktionslose Rudimente, Corpora albicantia, zurückbleiben (LEISER et al. 1988). Zu Beginn des Proöstrus sind die Tertiärfollikel ca. 4 mm groß (DALIN et al. 1995). Sie wachsen pro Tag ca. 1 mm und erreichen am Ende des Proöstrus ihre prä-ovulatorische Größe (KAUFFOLD et al. 1997, 2004a). Zumeist wachsen acht bis 10 Follikel je Ovar heran (KVASNICKIJ et al. 1963). Graafsche Follikel ovulieren mit einer Größe von ca. 6 mm (DALIN et al. 1995), 8 mm (KVASNICKIJ et al. 1963), mehr als 8 mm (KNOX u. RODRIGUEZ-ZAS 2001) oder 10 mm (LEISER et al. 1988), so dass solche mit einer Größe zwischen 6 und 10 mm offensichtlich als ovulationskompetent angesehen werden können.

Mit zunehmender Follikelgröße steigt ihre Kapazität zur Östrogensynthese, indem sich die Aktivität ihrer Enzymsysteme, vor allem der Aromatase, erhöht (HYLKA u. diZEREGA 1990, LIU et al. 2000). Korrelat ist eine steigende Konzentration im Blutplasma (LIU et al. 2000). Äußerlich ist die Vorbrunst an beginnender Rötung und Schwellung der Vulva zu erkennen (SOEDE u. KEMP 1997), die Tiere werden unruhig, und ihre Futteraufnahme ist verringert (SIGNORET 1970).

2.1.3.2 ÖSTRUS

Der Östrus ist durch das Vorhandensein des Duldungsreflexes, der die Paarungsbereitschaft signalisiert, gekennzeichnet (KVASNICKIJ et al. 1963, SIGNORET 1970, KÖNIG 1978, HENZE u. KRETZSCHMAR 1980, SOEDE u. KEMP 1997). Das Endometrium wird dicker, d. h. mehrschichtig (MEHLHORN et al. 1975, KAEOKET et al. 2002), ist wie im Proöstrus mäßig bis stark ödematisiert und faserarm (KAEOKET et al. 2002). Es liegt in Falten, ohne dass Sekundär- und Tertiärfalten vorkommen. Das Endometrium befindet sich in der Proliferationsphase, Anzahl und Schlingelung der Drüsen sind vermindert. Lymphozyten, aber auch wenige neutrophile Granulozyten und Monozyten sind im Stroma endometrii, vor allem subepithelial zu erkennen (MEHLHORN et al. 1975, LEISER et al. 1988, KAEOKET et al. 2002). Diese Zellen symbolisieren eine erhöhte Abwehrbereitschaft des Endometriums gegenüber potenziell durch die geöffnete Zervix eindringende Antigene (Bakterien, aber auch Spermien; KAEOKET et al. 2002).

Während des Östrus erreichen die Follikel ihre präovulatorische Größe (LIU et al. 2000, KNOX u. RODRIGUEZ-ZAS 2001, DALIN et al. 1995, LEISER et al. 1988). Sie erscheinen transparent und deutlich vaskularisiert. Bis zur Ovulation wachsen sie geringfügig um ca. 0,3 mm (SOEDE et al. 1998, LUCY et al. 2001) und werden kurz vor der Ovulation zunehmend oval oder polygonal und kleiner (KAUFFOLD et al. 1997, SOEDE et al. 1998, KAUFFOLD 2004a). Die anteovulatorischen Formveränderungen sind Ausdruck der durch den LH-Peak ausgelösten enzymatischen Kaskade, die den Ab- bzw. Umbau der Follikelwand einschließt und zu deren Aufweichung beiträgt (KAUFFOLD et al. 1997, SOEDE et al. 1998).

Je länger das Absetz-Östrus-Intervall dauert, desto kürzer ist die Brunst (WEITZE et al. 1994, KEMP u. SOEDE 1996, STEVERINK et al. 1999, CORRÊA et al. 2002, SOEDE et al. 2002, BELSTRA et al. 2004). Die Brunst von Altsauen nach dem Absetzen der Ferkel dauert durchschnittlich zwei Tage (ELZE 1989, BILKEI 1996, SOEDE et al. 2002). Geringfügig längere Intervalle wurden beobachtet (Literaturübersicht in Tabelle 2).

Wie erwähnt, besteht ein Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation, das umso länger ist, je länger die Brunst dauert (SOEDE et al. 1994, MBURU et al. 1995). Die Ovulation findet im letzten Drittel der Brunst, etwa 35 bis 45 Stunden nach Brunstbeginn statt (KÖNIG 1978, MBURU et al. 1995, SOEDE u. KEMP 1997, KNOX u. RODRIGUEZ-ZAS 2001, SOEDE et al. 2002; Tabelle 3). Individuelle Unterschiede sind möglich und zum Teil erheblich, da einzelne Sauen offensichtlich schon 10, andere erst 58 Stunden (SOEDE et al. 1995), gelegentlich sogar erst 96 Stunden nach Brunstbeginn ovulieren (WEITZE et al. 1994).

Tabelle 2: Dauer der ersten Brunst bei Altsauen nach dem Absetzen der Ferkel (Literaturübersicht)

Brunstdauer (Stunden)	Autoren
47 ± 9,2	DALIN et al. 1995
50,1 ± 1,1	STEVERINK et al. 1999
53 ± 1	KEMP u. SOEDE 1996
54 ± 15	SOEDE et al. 1994
55,2 ± 0,5	BELSTRA et al. 2004
56 ± 7,9	MBURU et al. 1995

Tabelle 3: Intervall Östrusbeginn bis Ovulation (Literaturübersicht)

Intervall Östrusbeginn bis Ovulation (Stunden)	Autoren
35,3 ± 6,4	KAEOKET et al. 2002
36	GUTHRIE et al. 1995
37 ± 1	KEMP u. SOEDE 1996
38 ± 11	SOEDE et al. 1994
39 ± 12,4	DALIN et al. 1995
41,8 ± 0,5	BELSTRA et al. 2004
43,8 ± 15,4	KNOX u. RODRIGUEZ-ZAS 2001
44,6 ± 12,8	WEITZE et al. 1994

Im Rahmen des als Ovulation bezeichneten Vorganges entlässt der präovulatorische Graafsche Follikel die reife Eizelle, die zusammen mit der Follikelflüssigkeit vom Eileitertrichter (Infundibulum) aufgenommen wird (FLÉCHON u. HUNTER 1981, HUNTER 1984, SOEDE et al. 1998). Dieser Prozess erfolgt initial rasch, anschließend protrahiert (LUCK et al. 2000) und dauert pro Follikel zwei bis 13 Minuten (LUCK et al. 2000). Da Schweine multipare Tiere sind, kommen gewöhnlich 15 bis 18 Follikel zur Ovulation (KVASNICKIJ et al. 1963). Sie ovulieren nicht zeitgleich, so dass der Prozess der Ovulation in Abhängigkeit von der Anzahl der Follikel (SOEDE et al. 1998) 1,5 bis drei Stunden, nach anderen Angaben bis zu acht Stunden dauert (BERGFELD et al. 1984, ELZE 1989, SOEDE et al. 1998). Spontan östrische Sauen ovulieren offensichtlich zeitlich konzentrierter als solche, deren Ovulation hormonell induziert wurde (BRÜSSOW et al. 1990, BRÜSSOW et al. 1996, WABERSKI et al. 1998).

Der Prozess der Ovulation ist mit dem einer entzündlichen Reaktion vergleichbar, an deren Ende die enzymatische Auflösung der Follikelwand steht (AINSWORTH et al. 1990, ESPEY 1980). Auslösendes Signal ist der präovulatorische LH-Peak, der u. a. die Synthese verschiedener Entzündungsmediatoren wie Serotonin und Histamin initiiert. Prostaglandine (PG) verstärken die „Entzündungsreaktion“ (ESPEY 1980); PGE₂ und PGF_{2α} sind kurz vor der Ovulation im peripheren Blut in erhöhten Konzentrationen nachweisbar. Diese erhöhen vermutlich die Kontraktilität von Myofibroblasten in der Theca externa folliculi bzw. modellieren deren Mikrozirkulation (AINSWORTH et al. 1990).

Serinproteasen aktivieren proteolytische Enzyme wie lokale Kollagenasen, welche die Gewe-

beverbindungen der Follikelwand auflösen (ESPEY 1980). Mit bzw. unmittelbar nach dem LH-Peak ändert sich das follikuläre Sekretionsmuster für steroidale Hormone. Enzymsysteme, verantwortlich für die Konversion von Progesteron über Androgene zu Östrogenen, werden blockiert, so dass das nachfolgend synthetisierte Hormon Progesteron ist (KÖNIG 1978, EVANS et al. 1981, HANEY u. SCHOMBERG 1981, AINSWORTH et al. 1990, CONLEY et al. 1994, PLONAIT 2001a). Theka- und Granulosazellen der Follikelwand wandeln sich innerhalb von ein bis zwei Tagen in kleine bzw. große Gelbkörperzellen um (MURPHY et al. 2001). Erst dann sind auch im peripheren Blut erhöhte Progesteronkonzentrationen zu messen (KÖNIG 1978, PLONAIT 2001a). Die sich aus den ovulierten Follikeln entwickelnden Gelbkörper (Corpora lutea) stellen kleine, feste, knotenartige Gebilde dar, die den bei chronischen lokalen Entzündungen vorkommenden Granulomen ähneln (ESPEY 1980).

Die Lebensdauer von Ei- und Spermienzellen ist entscheidend für den optimalen Besamungszeitpunkt (SOEDE et al. 2002). Eizellen sind mindestens vier bis sechs (KÖNIG 1978), möglicherweise auch 12 bis 24 Stunden post ovulationem noch befruchtungsfähig (TRIEBLER u. THIEDE 1966). Spermien sind mindestens 18 (KÖNIG 1978), vermutlich jedoch bis zu 36 Stunden, in Ausnahmefällen sogar bis zu 48 Stunden post inseminationem im weiblichen Genitaltrakt vital (FLÉCHON u. HUNTER 1981, HUNTER 1984, SOEDE et al. 1995). Bei der Wahl des optimalen Besamungszeitpunktes ist zu bedenken, dass die Spermien fünf Stunden für die Kapazitation benötigen, in deren Folge sie ihre Befruchtungsfähigkeit erlangen (SCHNORR 1989). Nach der Insemination, aber auch nach dem natürlichen Deckakt, wandern die Spermien durch den Uterus und die uterotubale Verbindung in den Eileiter und verbleiben dort im kaudalen Teil des Isthmus, der Ort der Spermienaufbewahrung ist und so ein Reservoir darstellt (FLÉCHON u. HUNTER 1981, HUNTER 1984, SCHNORR 1989, RODRIGUEZ-MARTINEZ et al. 2005). Bereits zwei bis drei Stunden nach der Belegung sind dort erste Spermien zu finden (KVASNICKIJ et al. 1963). Sie gehen über spezifische Kopplungsmechanismen mit dem Eileiterepithel Verbindungen ein (BRÜSSOW 2001, RODRIGUES-MARTINEZ et al. 2005). Von dort werden sie schwarmartig entlassen (BRÜSSOW 2001, RODRIGUES-MARTINEZ et al. 2005) und bewegen sich entgegen der Eileiterperistaltik in proximalere Abschnitte des Eileiters (BRÜSSOW 2001, RODRIGUES-MARTINEZ et al. 2005). Die Ampulla-Isthmus-Verbindung ist der Ort der Befruchtung (KVASNICKIJ et al. 1963). Basierend auf der Kenntnis dieser physiologischen Grundlagen besteht generell Einigkeit darüber, dass die besten Konzeptionsraten erzielt werden, wenn die Besamung ante ovulationem stattfindet (KÖNIG 1978, WÄHNER et al. 1988, SOEDE et al. 2002; Tabelle 4).

In gewissem Widerspruch dazu stehen neuere Untersuchungen, wonach optimale Befruchtungserfolge auch dann zu erreichen sind, wenn die Belegung im ovulationsnahen Zeitraum stattfindet (0 bis 24 Stunden vor der Ovulation; SOEDE et al. 1995). Selbst postovulatorische Besamungen (bis vier Stunden nach der Ovulation) können zu Trächtigkeiten führen (NISSEN et al. 1997). Dass für hohe Befruchtungsraten qualitativ hochwertiges Sperma erforderlich ist, sei hier nur erwähnt (SOEDE et al. 2002).

Tabelle 4: Intervalle im ovulationsnahen Zeitraum, in denen Besamungen hohe Befruchtungserfolge erzielten (Literaturübersicht)

Zeitspanne (Stunden)	Autoren
12 ante bis 10 ante ovulationem	KÖNIG 1978
16 ante bis 6 ante ovulationem	BILKEI 1996
24 ante bis 12 ante ovulationem	SOEDE et al. 2002
28 ante bis 12 ante ovulationem	STEVERINK et al. 1999
24 ante bis 0 ante ovulationem	SOEDE et al. 1995
28 ante bis 4 post ovulationem	NISSEN et al. 1997

2.1.3.3 METÖSTRUS

Im Metöstrus präsentiert sich das Endometrium leicht rötlich und weist wenige makroskopisch sichtbare Gefäße auf. Es erreicht seine maximale Schichtdicke (LEISER et al. 1988). Ob die endometriale Ödematisierung stark oder weniger stark ausgeprägt ist, wird unterschiedlich beurteilt (LEISER et al. 1988, KAEOKET et al. 2002). Endometriale Sekundär- oder Tertiärfalten fehlen, obwohl die Faltenhöhe im Metöstrus maximal ausgeprägt ist (LEISER et al. 1988). Die Schlängelung der Uterindrüsen nimmt zu. Ob im Metöstrus Leukozyten, vor allem Lymphozyten, Makrophagen und neutrophile Granulozyten im Vergleich zu anderen Zyklusphasen häufiger (LEISER et al. 1988) oder seltener als in anderen Zyklusphasen (MEHLHORN et al. 1975, KAEOKET et al. 2002) vorkommen, wird unterschiedlich beurteilt.

Die Follikelhöhlen haben sich post ovulationem mit Blut gefüllt, so dass die nun entstandenen ovariellen Funktionsgebilde als Corpora haemorrhagica bezeichnet werden. Sie sind 4 bis 7 mm groß (LEISER et al. 1988) und wie das Corpus luteum als temporäre Hormondrüse anzusehen, da ihre Zellen Progesteron sezernieren (SCHNURRBUSCH et al. 1981). Die Ovulationsstellen sind während des Metöstrus deutlich zu erkennen (LEISER et al. 1988).

2.1.3.4 DIÖSTRUS

Im frühen Diöstrus (fünfter bis achter Zyklustag) ist das Endometrium stark ödematisiert und dunkelrot (LEISER et al. 1988). Die Gefäße sind deutlich erkennbar. Die Schleimhaut ist in Sekundär- und Tertiärfalten gelegt, die Schichtdicke nimmt bereits wieder ab. Die Sekretionsrate der Uterindrüsen ist zu dieser Zeit hoch. Die Schlängelung der Drüsengänge hat im Vergleich zur vorherigen Zyklusphase zugenommen. Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten geht stark zurück, Lymphozyten und Makrophagen sind dagegen weiterhin vorhanden (LEISER et al. 1988). Davon abweichende Befunde beschreiben KAEOKET et al. (2002), die während des frühen Diöstrus nur eine geringe Ödematisierung, vor allem aber eine Armut an Abwehrzellen beobachteten. Lediglich eosinophile Granulozyten treten im Endometrium in ihrer Anzahl vermehrt auf. Aufgabe der endometrialen Abwehrzellen soll es sein, abgestorbene Zellen und Fremdmaterialien zu phagozytieren (KAEOKET et al. 2002). Die Gelbkörper sind jetzt annähernd 1 cm groß, rosa, von weicher Konsistenz, enthalten noch einige Blutkoagula und sind nahezu komplett luteinisiert (LEISER et al. 1988).

Während des mittleren Diöstrus (neunter bis 12. Zyklustag) sind die endometrialen Falten nur noch schwach ausgeprägt und die endometriale Schichtdicke auf ihrem Minimum. Ein endometriales Ödem fehlt histologisch (LEISER et al. 1988, KAEOKET et al. 2002). Die Uterindrüsen sind zu diesem Zeitpunkt maximal ausgebildet (LEISER et al. 1988). Abwehrzellen sind vermindert; Lymphozyten, einige Makrophagen, wenige Plasmazellen und subepithelial vereinzelt eosinophile Granulozyten sind zu finden (LEISER et al. 1988, KAEOKET et al. 2002).

Im späten Diöstrus (13. bis 17. Zyklustag), vor allem im Übergang zum Proöstrus, nehmen die Ödematisierung des Endometriums und die Gefäßzeichnung wieder zu. Anzahl und Ausdehnung der Drüsen verringern sich. Abwehrzellen beginnen ins Endometrium einzuwandern. Die Gelbkörper sind 8 bis 10 mm (DUNCAN et al. 1960), nach anderen Angaben 9 bis 12 mm groß (LEISER et al. 1988), homogen luteinisiert, orange und weich. Blutkoagula im Zentrum der Corpora lutea sind verschwunden (LEISER et al. 1988).

Wenn keine Konzeption erfolgt, regredieren die Corpora lutea. Es ist unstrittig, dass die Corpora lutea des Schweines bis zum 12. Zyklustag sowohl gegenüber endogenem $\text{PGF}_{2\alpha}$ als auch exogenen $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Analog-Gaben refraktär sind (McCRACKEN et al. 1999, NISSWENDER et al. 2000, PATE u. KEYES 2001, PLONAIT 2001a), so dass auch medikamentelle Interventionen vor dem 12. Zyklustag, z. B. zur Beeinflussung der Zykluslänge oder zur Östrusinduktion, erfolglos bleiben (McCRACKEN et al. 1999, BOONYAPRAKOB et al. 2003). Wenn auch nicht in diesem Sinn praktikabel, ist dennoch interessant, dass wiederholte $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Gaben in 12-stündigen Abständen zwischen den Zyklustagen fünf und 10 eine prä-mature Luteolyse induzierten (ESTILL et al. 1993). Die Mechanismen, die zu dieser vergleichsweise langen Refraktärphase der Corpora lutea gegenüber $\text{PGF}_{2\alpha}$ beitragen, sind nach wie vor weitgehend ungeklärt. Eine erst während der fortgeschrittenen Lutealphase einsetzende Ausbildung spezifischer Rezeptoren für $\text{PGF}_{2\alpha}$ als maßgebliche Ursache für dieses Phänomen ist jedoch unbestritten (McCRACKEN et al. 1999, MURPHY et al. 2001, BOONYAPRAKOB et al. 2003).

$\text{PGF}_{2\alpha}$ wird ab Zyklustag 11/12 (PUSATERI et al. 1996) von endometrialen Zellen synthetisiert, sofern das Endometrium intakt ist (McCRACKEN et al. 1999, NISSWENDER et al. 2000, PLONAIT 2001a). Schon das Fehlen eines Gebärmutterhornes verhindert die Gelbkörperückbildung am ipsilateralen Ovar (McCRACKEN et al. 1999). Da $\text{PGF}_{2\alpha}$ den Lungenkreislauf umgeht, wird es nicht enzymatisch inaktiviert und gelangt auf direktem Weg von den Uterusvenen in die Ovararterien (NISSWENDER et al. 2000). Dass $\text{PGF}_{2\alpha}$ auch über eine venöse Verbindung zwischen beiden Uterushörnern auf das kontralaterale Ovar wirken kann (McCRACKEN et al. 1999, NISSWENDER et al. 2000) und von den Lutealzellen selbst synthetisiert parakrin die Luteolyse unterstützt (NISSWENDER et al. 2000), wurde berichtet.

Mit einsetzender Luteolyse verlieren die Corpora lutea ihre strukturelle und funktionelle Integrität (NISSWENDER et al. 2000). Erstes Signal ist der Verlust der Fähigkeit zur Synthese und Sekretion von Progesteron, dem degenerative Prozesse folgen. Kleinste Mengen von $\text{PGF}_{2\alpha}$ hemmen deren Blutversorgung, so dass den Funktionsgebilden die für die Progester-

ronsynthese notwendigen Substrate fehlen (NISSWENDER et al. 2000). Ab Zyklustag 15 sinkt die Progesteronkonzentration im Blutplasma (McCRACKEN et al. 1999, NISSWENDER et al. 2000, PLONAIT 2001a), um bis zum 18. Zyklustag nahezu undetektierbar zu sein (DUNCAN et al. 1960).

Dass auch FSH luteolytisch wirkt, indem es in Abbauvorgänge des Corpus luteum involviert ist, wurde berichtet (YUAN et al. 1993). So soll es die Progesteronsynthese hemmen, um dadurch die Entwicklung neuer Follikel für den nachfolgenden Zyklus zu stimulieren (YUAN et al. 1993). Oxytocin wirkt indirekt luteolytisch, indem es Uteruskontraktionen provoziert und somit die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Synthese fördert (NISSWENDER et al. 2000). Die luteale Oxytocinsekretion wird durch Östradiol gesteuert, das am Ende der Lutealphase von den sich anbildenden Follikeln vermehrt synthetisiert wird (YUAN et al. 1993, McCRACKEN et al. 1999). Direkte und indirekte luteolytische Wirkungen verstärken einander, indem die Sekretion der einen durch die andere Substanz stimuliert wird wie z. B. für Östradiol und $\text{PGF}_{2\alpha}$ nachgewiesen wurde (McCRACKEN et al. 1999).

Während der Gelbkörperphase wandern Makrophagen und andere Abwehrzellen in das Lutealgewebe ein (HEHNKE et al. 1994, WUTTKE et al. 1998, McCRACKEN et al. 1999, NISSWENDER et al. 2000, PATE u. KEYES 2001). Je näher der Zeitpunkt des Beginns der Luteolyse rückt, umso größer wird ihre Anzahl (PATE u. KEYES 2001). Ob Derartiges Voraussetzung für die Luteolyse (d. h. essentiell für deren Initiierung) oder Resultat der durch andere Faktoren initiierten Luteolyse ist, bleibt strittig (siehe auch unten; HEHNKE et al. 1994).

Vor allem Makrophagen und T-Lymphozyten sezernieren Zytokine, die als Immunmodulatoren eine Immunantwort verstärken und damit möglicherweise direkt die $\text{PGF}_{2\alpha}$ -Freisetzung stimulieren (PATE u. KEYES 2001). Ein derartiges Zytokin ist der Tumornekrosefaktor (TNF), der ein wesentliches Kompartiment der Luteolyse darstellt. Er hemmt die Synthese von Östradiol-17 β , das bis zur Luteolyse luteotrop wirkt (WUTTKE et al. 1998, NISSWENDER et al. 2000, PATE u. KEYES 2001). Ab Zyklustag 11/12 wird die bis dato gleichfalls luteotrope Wirkung von $\text{PGF}_{2\alpha}$ durch Vermittlung des TNF in eine nunmehr luteolytische umgekehrt (WUTTKE et al. 1998). Zudem initiiert TNF in den Lutealzellen die Apoptose (PATE u. KEYES 2001). Unter Apoptose wird ein physiologischer programmierter Zelltod verstanden, dieser tritt genetisch determiniert und unabhängig von Enzym- oder Energiedefiziten auf. Als erste Anzeichen dieses programmierten Zelltodes degeneriert der Zellkern, schrumpft die Zelle und kondensieren Zellfragmente. Letztere werden anschließend von Abwehrzellen phagozytiert (NISSWENDER et al. 2000). Reaktive Sauerstoffradikale wie Superoxidanion- und Hydroxylradikale sowie Wasserstoffperoxid, die von Makrophagen gebildet und in ihrer Synthese durch $\text{PGF}_{2\alpha}$ stimuliert werden, haben zusätzlich luteolytisches Potenzial (NISSWENDER et al. 2000, PATE u. KEYES 2001). Die Abwehrzellen tragen somit direkt und indirekt zur Luteolyse bei (PATE u. KEYES 2001).

Abwehrzellen haben offensichtlich aber auch zellprotektive Eigenschaften (PATE u. KEYES 2001), indem sie das Ausmaß lokaler inflammatorischer Prozesse kontrollieren und ein

„Übergreifen“ auf gesunde Zellen verhindern.

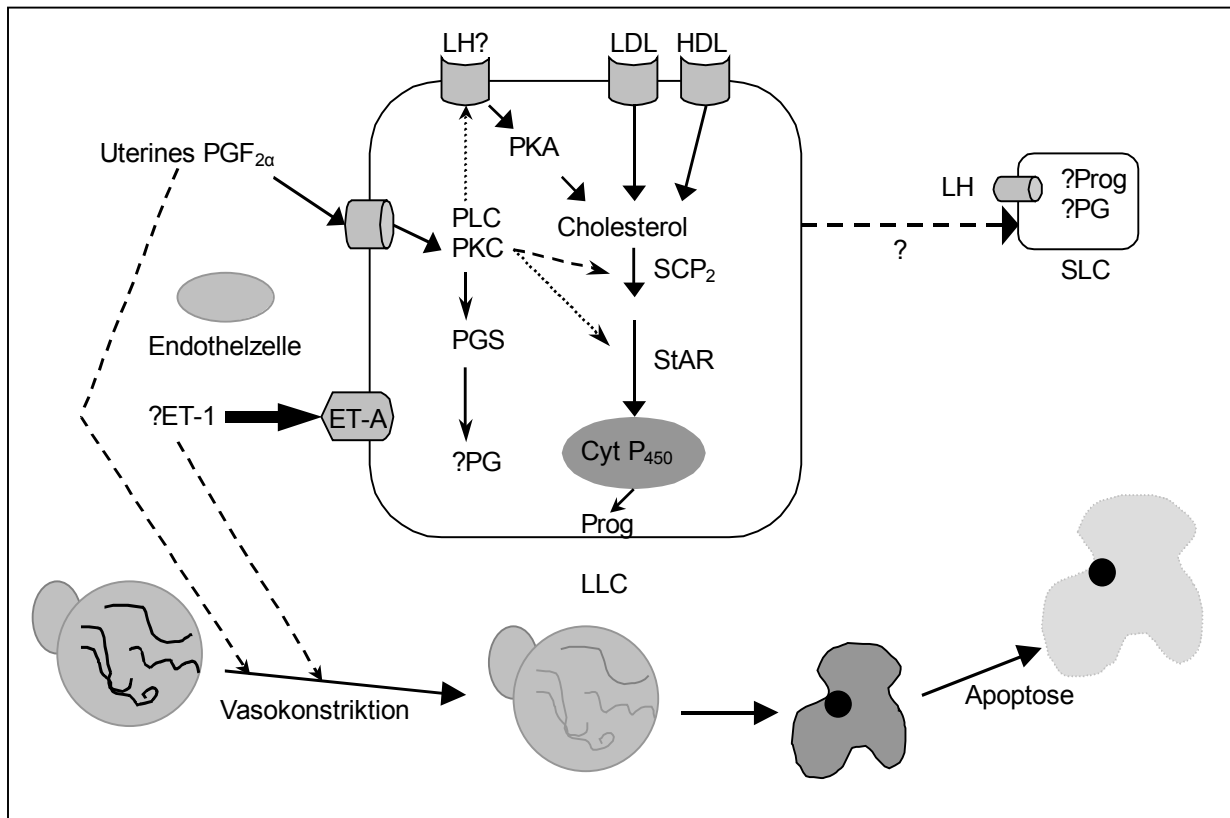


Abbildung 2: Prostaglandin F_{2α}-induzierte Kaskade der Luteolyse (nach PATE u. KEYES 2001)

Cyt P₄₅₀ = Cytochrom P₄₅₀ Side Chain Cleavage Enzyme, ET-1 = Endothelin-1, ET-A = Endothelin-1-Rezeptor, HDL = Lipoproteine hoher Dichte, LDL = Lipoproteine niedriger Dichte, LLC = große Lutealzellen, PG = Prostaglandin, PGS = Prostaglandin Endoperoxidsynthase, PKC = Proteinkinase C, PLC = Phospholipase C, Prog = Progesteron, SCP₂ = Sterol Carrier-Protein 2, SLC = kleine Lutealzellen, StAR = Steroidogenic Acute Regulatory Protein.

Neben der Verringerung der Anzahl kompetenter Lutealzellen wird die Progesteronsynthese zusätzlich durch ein so genanntes Steroidogenic Acute Regulatory Protein (StAR) gehemmt, indem es die Aufnahme von Cholesterin in die Mitochondrien hemmt. Cholesterin ist essentielles Ausgangssubstrat für die Progesteronsynthese (PATE u. KEYES 2001). Andere luteolytische Mechanismen seien gleichfalls erwähnt. So stimuliert PGF_{2α} in Endothelzellen der Corpora lutea die Bildung von Endothelin-1 (McCRACKEN et al. 1999, PATE u. KEYES 2001), um zusammen mit dieser Substanz die luteale Blutversorgung zu minimieren (PATE u. KEYES 2001). Betroffen sind anfänglich große Lutealzellen, die zuerst regredieren und kleinen Lutealzellen möglicherweise über bestehende Kommunikationskanäle das Eintreten der Luteolyse signalisieren. Wie ein derartiger Mechanismus funktioniert, ist unklar, eine Kommunikation zwischen beiden Zelltypen aber belegt (PATE u. KEYES 2001). Daneben scheinen Gewebismetalloproteinasen I in die Vorgänge der Gelbkörperrückbildung involviert zu sein (McCRACKEN et al. 1999, PITZEL et al. 2000). Abweichend von den bisher beschriebenen, in großen Lutealzellen dominierenden Luteolysemechanismen, weisen kleine

Lutealzellen offensichtlich alternative oder zusätzliche auf, wie aus Abbildung 2 hervorgeht (YUAN et al. 1993). Unabhängig davon ist nach Abschluss der Rückbildungsprozesse aus einem Corpus luteum ein Corpus albicans entstanden (McCRACKEN et al. 1999, PITZEL et al. 2000), das weißlich und narbenähnlich aussieht (DUNCAN et al. 1960).

Am Ovar erscheinen bereits im späten Diöstrus heranwachsende Follikel. Solche von 1 bis 2 mm Größe werden in großer Zahl gefunden und sind prall mit Follikelflüssigkeit gefüllt (LEISER et al. 1988). Im Allgemeinen sind die Follikel des Diöstrus im Durchmesser nie größer als 5 mm (DALIN et al. 1995).

2.1.3.5 STEUERUNG DER FOLLIKELENTWICKLUNG UND DER STEROIDBIOSYNTHESE

Im Rahmen der bisherigen Ausführungen wurde auf die Bedeutung der Gonadotropine für die Follikelentwicklung beim Schwein nur partiell eingegangen. Nachfolgend soll u. a. deren Rolle genauer definiert werden.

Einigkeit besteht im Schrifttum, dass das frühe Follikelwachstum beim Schwein gonadotropinunabhängig ist (DRIANCOURT 2001, DIELEMAN et al. 2002). Diese Spezies unterscheidet sich darin nicht von anderen Tierarten wie Rind oder Schaf (DRIANCOURT 2001, DIELEMAN et al. 2002). Erst bei einem Follikeldurchmesser von ca. 2 mm werden die Follikel des Schweines gonadotropinabhängig, d. h. weiteres Follikelwachstum findet nur durch gonadotrope Stimulation statt (BRITT et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990, HUNTER et al. 2004). Die Gonadotropine FSH und LH sind für die Follikelentwicklung gleichermaßen essentiell, wirken jedoch zu unterschiedlichen Zeitpunkten bzw. Entwicklungsstadien. FSH stimuliert die Entwicklung der Follikel bis zu mittlerer Größe (4 mm: LUCY et al. 2001; 5 mm: HUNTER et al. 2004; 6 mm: BRITT et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990), ist danach aber von untergeordneter Bedeutung. Granulosazellen kleinerer Follikel exprimieren den FSH-Rezeptor. In Follikeln mit einer Größe von 4 mm ist entsprechende messenger Ribonukleinsäure (mRNA) kaum, in größeren Follikeln nicht mehr nachweisbar (FOXCROFT u. HUNTER 1985, AINSWORTH et al. 1990, LIU et al. 2000, LUCY et al. 2001). Da die Eizelle selbst in präovulatorischen Follikeln FSH-Rezeptoren aufweist, ist anzunehmen, dass FSH während des späteren Follikelwachstums für die Entwicklung des weiblichen Gameten benötigt wird (MÉDURI et al. 2002).

Parallel zum Verlust von Rezeptoren für FSH werden die für LH sowohl von Theka- als auch von Granulosazellen exprimiert. Während entsprechende Zelltypen von Follikeln mit einer Größe von 2 mm noch wenige Rezeptoren aufweisen, nimmt deren Anzahl sukzessive zu und erreicht in Follikeln mit einem Durchmesser von ca. 6 mm ihr Maximum, um anschließend wieder abzunehmen (LIU et al. 2000, LUCY et al. 2001). Entsprechende Veränderungen erfolgen unabhängig vom Reproduktionsstadium und sind sowohl bei abgesetzten Sauen (LUCY et al. 2001) als auch zyklierenden Tieren zu beobachten (FOXCROFT u. HUNTER 1985, HUNTER et al. 2004). Parallel zur Vergrößerung der Rezeptorenzahl ist eine Zunahme der LH-Sekretion zu beobachten, die sich vor allem in einem Anstieg der Pulsatilitätsfrequenz manifestiert und sowohl für die Endreifung des Follikels als auch der Eizelle verantwortlich ist (BRITT et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990, LUCY et al. 2001). Darin un-

terscheidet sich das Schwein nicht von anderen Spezies (DRIANCOURT 2001, DIELEMAN et al. 2002). Die Eizelle weist Rezeptoren für FSH, aber nicht für LH auf (MÉDURI et al. 2002), so dass ein direkter LH-Einfluss auf die Eizellreifung begrenzt sein dürfte.

Nach Bindung der Gonadotropine an ihre Rezeptoren wird durch eine Cycloadenosinmonophosphat-(cAMP)-abhängige Adenylatzyklase eine Proteinkinase aktiviert, welche die Phosphorylierung verschiedener Proteine in Granulosazellen katalysiert (IRELAND 1987). Wird FSH gebunden, steigt die Steroidbiosynthese, insbesondere die von Östradiol, an (IRELAND 1987). Östradiol wirkt inhibitorisch auf die FSH-Sekretion und ist einer der Faktoren, durch die bestimmte Follikel dominant werden und diese Dominanz aufrecht erhalten (IRELAND 1987, LUCY et al. 2001). Da dominante Follikel mehr Östradiol als die übrigen untergeordneten (subdominanten) Follikel synthetisieren (Übersicht bei IRELAND 1987), weisen sie vermutlich mehr Gonadotropinrezeptoren auf. Für das Erlangen der Dominanz ist wichtig, wie schnell bzw. effektiv ein Follikel auf Veränderungen des endokrinen Milieus reagieren kann. Da während des späteren antralen Follikelwachstums LH essentiell ist (FOXCROFT u. HUNTER 1985, LIU et al. 2000, LUCY et al. 2001, HUNTER et al. 2004), während FSH an Bedeutung verliert (FOXCROFT u. HUNTER 1985, AINSWORTH et al. 1990, LIU et al. 2000, LUCY et al. 2001), sind diejenigen Follikel privilegiert, die als erste LH-Rezeptoren ausbilden. LH wird für das finale Follikelwachstum und die Eizellreifung benötigt (LUCY et al. 2001).

LH stimuliert nach Bindung an spezifische Rezeptoren der Zellen der Theca interna die Produktion von Androgenen (CONLEY et al. 1994), die dann wahrscheinlich durch den extrazellulären Raum und die Basallamina in die Granulosazellen diffundieren. Dort werden sie unter dem Einfluss des FSH zu Östrogenen aromatisiert. Obwohl die Granulosazellen den Hauptteil der ovariellen Östrogene bilden, sind auch Zellen der Theca interna zur Aromatisierung in der Lage (AINS WORTH et al. 1990, HUNTER et al. 2004), da sie die notwendigen Enzymsysteme (u. a. die P450 Aromatase) exprimieren (CONLEY et al. 1994). Das dafür erforderliche androgene Substrat erhalten sie aus der eigenen Synthese. Ob Granulosazellen tatsächlich Progesteron synthetisieren, das dann retrograd über die Basallamina in die Theca-interna-Zellen diffundiert, zu Androgenen umgewandelt und anschließend in Östrogene aromatisiert wird (BATTIN u. diZEREGA 1985, AINSWORTH et al. 1990), ist fraglich. So kamen nachfolgende Studien zu anders lautenden Ergebnissen (CONLEY et al. 1994). Vor allem wurde die Präsenz der für die Aromatisierung notwendigen Enzymsysteme P450 side-chain cleavage und 3β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Granulosazellen angezweifelt (CONLEY et al. 1994). Abbildung 3 skizziert die grundsätzlichen Mechanismen der Steroidsynthese in Follikelzellen beim Schwein. Die folliculäre Östrogenproduktion erfolgt somit auch beim Schwein wahrscheinlich nach dem Modell der Zwei-Zell/Zwei-Gonadotropin-Theorie, die von der Notwendigkeit einer doppelten gonadotropen Stimulation (FSH und LH) und der Kooperation der Theka- und Granulosazellen bei der Steroidsynthese ausgeht (ERICKSON et al. 1985, AINSWORTH et al. 1990, BLÖDOW et al. 1990, FLOWERS et al. 1991, HSUEH et al. 1994).

Neben dieser durch Gonadotropine gesteuerten Steroidproduktion existiert ein davon unabhängiger Mechanismus, der auf dem Ca^{2+} -Polyphospho-Inositol-Proteinkinase-second-mes-

senger-System (protein-kinase C-pathway) basiert (HYLKA u. diZEREGA 1990) und diametral wirkt. Steigt die intrazelluläre Calciumkonzentration, nimmt dessen Aktivität zu. Da dieses Enzymsystem in Granulosazellen kleinerer und mittelgroßer Follikel besonders aktiv ist, sinkt die gonadotropinstimulierte Steroidproduktion, während die Östradiolsynthese von Granulosazellen größerer (6 mm) Follikel zunimmt (HYLKA u. diZEREGA 1990, LIU et al. 2000). Es ist zu vermuten, dass dieser Mechanismus in die Vorgänge der Follikelreifung bzw. -atresie involviert ist (HYLKA u. diZEREGA 1990).

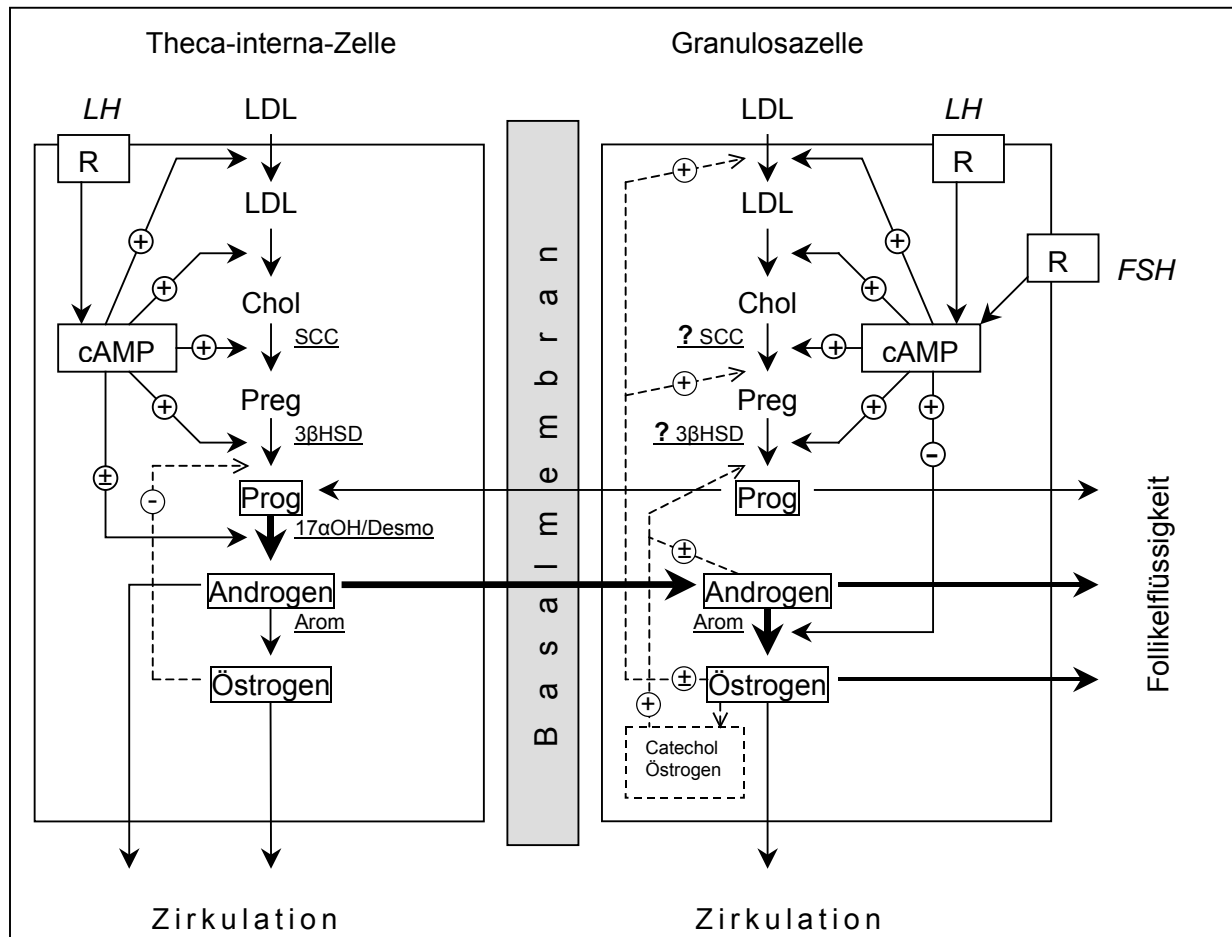


Abbildung 3: Schema der zellulären und hormonellen Interaktionen bei der Steroidsynthese während des Follikelwachstums (nach AINSWORTH et al. 1990, modifiziert nach CONLEY et al. 1994)

3βHSD = 3β-Hydroxysteroid-Dehydrogenase, 17αOH = 17α-Hydroxylase, Arom = Aromatase, cAMP = Cycloadenosinmonophosphat, Chol = Cholesterin, Desmo = C₁₇₋₂₀Desmolase, LDL = Lipoproteine niedriger Dichte, Preg = Pregnenolon, Prog = Progesteron, R = membranständiger Rezeptor, SCC = Cholesterin side-chain cleavage Enzyme, + = stimulierender, bzw. - = hemmender Einfluss von LH oder FSH auf das jeweilige Enzym, ? = fraglich; die Pfeildicke symbolisiert jeweils die Ausprägung des Weges, gestrichelte Linien verdeutlichen die auto- und parakrine Regulation durch Steroidhormone (+/- = stimulierender/hemmender Einfluss).

Im Rahmen der positiven Rückkopplung (positiver Feedback) wird durch Östradiol, das zu Beginn des Östrus oder geringfügig früher (ein bis zwei Tage vor Östrusbeginn: HENRICKS et al. 1972) maximale Konzentrationen erreicht (STEVENSON et al. 1981, EDWARDS u. FOXCROFT 1983), was den präovulatorischen, ovulationsauslösenden LH-Peak induziert (AINSWORTH et al. 1990, KRAELING u. BARB 1990, SOEDE u. KEMP 1997, PLONAIT 2001a). Obwohl der präovulatorische LH-Peak zeitlich mit dem Östrusbeginn zusammen fallen soll (STEVENSON et al. 1981), sind individuelle Unterschiede möglich. So trat der LH-Peak bei einigen Tieren lange vor (durchschnittlich 13 Stunden vorher: DALIN et al. 1995), bei anderen hingegen erst nach dem Östrusbeginn auf (acht bis 32 Stunden post ovulationem: ZIECIK et al. 1982).

Spezifische endokrine Veränderungen spiegeln sich in klinisch fassbaren Phänomenen und reproduktionsphysiologisch relevanten Parametern, z. B. dem Absetz-Östrus-Intervall und der Brunstdauer, wider, wenn auch widersprüchliche Angaben hierzu vorliegen. Ob der Anstieg der LH-Konzentration im Östrus bei Sauen mit kurzem Absetz-Östrus-Intervall (\leq vier Tage) steiler ist als bei solchen mit längerem Intervall (SHAW u. FOXCROFT 1985), ist strittig, da in einer anderen Studie kein derartiger Zusammenhang nachgewiesen werden konnte (LUCY et al. 2001). Je niedriger die basale LH-Konzentration ist, desto länger dauert die Brunst, umso später kommt es zur Ovulation, dies war eines der Resultate der Studie von SOEDE et al. (1994). Unklar ist, ob hieraus klinische Relevanz erwächst. Gleiches gilt für das Resultat der Studie von DALIN et al. (1995), in der kein Zusammenhang zwischen der Höhe des LH-Peaks und der Dauer des Intervalls Östrusbeginn bis Ovulation beobachtet wurde.

Neben den oben genannten Substanzen beeinflussen zahlreiche andere die Follikelentwicklung beim Schwein. Genannt seien die Nachfolgenden:

1. Die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (IGF-) ähneln sich in ihrer Aminosäuresequenz. IGF-II ist weniger potent als IGF-I (TONETTA u. diZEREGA 1990, HSUEH et al. 1994, LUCY et al. 2001). Beide werden von Zellen antraler Follikel produziert (HAMMOND et al. 1993, HSUEH et al. 1994, GUTHRIE u. GARRETT 2001). IGF-I und IGF-Rezeptoren finden sich in Follikeln jeder Größe. IGF-II ist vermehrt in wachsenden Follikeln zu finden und nimmt ab einem Follikeldurchmesser von ≥ 8 mm leicht ab (LIU et al. 2000). Sowohl Theka- als auch Granulosazellen exprimieren Insulin- und IGF-Rezeptoren. Insulin und IGF-I fördern Wachstum, Differenzierung und Lebensdauer der Follikelzellen (TONETTA u. diZEREGA 1990, LUCY et al. 2001); sie wirken antiatretisch (GUTHRIE u. GARRETT 2001) und antiapoptotisch (HSUEH et al. 1994). Sie unterstützen die Funktion der durch Gonadotropine angeregten Second-messenger-Systeme, erhöhen die Anzahl der Gonadotropinrezeptoren (HAMMOND et al. 1993, LUCY et al. 2001) und vermitteln zahlreiche FSH-spezifische Wirkungen (TONETTA u. diZEREGA 1990).
2. Der transformierende Wachstumsfaktor β (TGF β) verstärkt die vom FSH stimulierte Differenzierung von Granulosazellen bei der Ratte und kommt ebenfalls beim Schwein vor (TONETTA u. diZEREGA 1990). Der transformierende Wachstumsfaktor wirkt ähnlich wie die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren antiatretisch (GUTHRIE u. GARRETT 2001) und inhibiert die Synthese von Progesteron sowie Androstendion in großen Follikeln.

3. Das Follikel-Regulatorische-Protein hemmt die Aromataseaktivität in den Granulosazellen (TONETTA u. diZEREGA 1990) und fördert damit die Follikelatresie (DÖCKE 1994).
4. An Glykosaminoglykanen kommen in der Follikelflüssigkeit vor allem Chondroitinsulfat, Heparansulfat und Dermatansulfat vor. Ihre Konzentration verhält sich umgekehrt proportional zur Östrogenkonzentration in den Follikeln, die mit Zunahme deren Größe ansteigt. Es wird vermutet, dass die Glykosaminoglykane für die Follikelreifung von Bedeutung sind. Die Präsenz von zwei Plasminogenaktivator-Subtypen in der Follikelflüssigkeit lässt deren Beteiligung an der Differenzierung der Granulosazellen vermuten (TONETTA u. diZEREGA 1990). Darüber hinaus nachzuweisende Katecholamine sind vermutlich an der Regulierung der LH-Sekretion beteiligt (KRAELING u. BARB 1990).
5. Die Follikelflüssigkeit enthält Inhibin, das endokrin wirkt und selektiv die FSH-Sekretion inhibiert, während die LH-Freisetzung unbeeinträchtigt bleibt (DANFORTH et al. 1987, TONETTA u. diZEREGA 1990, McCANN et al. 1993, KITA et al. 1994). Inhibin, unter anderem auch von Tubuli seminiferi der Hoden gebildet, wird beim weiblichen Tier von Follikeln, aber auch von Corpora lutea synthetisiert (DÖCKE 1994). Granulosazellen kleinerer Follikel sind der Hauptsyntheseort für Inhibin (FOXCROFT u. HUNTER 1985). Es wird angenommen, dass es in die Regulation der Follikelatresie involviert ist (GUTHRIE u. GARRETT 2001). Eine Beteiligung am Prozess der Follikelselektion und -dominanz, ähnlich wie bei Wiederkäuern, ist wahrscheinlich (KNOX 2005). Inhibin wird als Determinante für die Ovulationsrate diskutiert (GUTHRIE u. GARRETT 2001). Während der Gelbkörperphase sind hohe Inhibinkonzentrationen zu messen (TONETTA u. diZEREGA 1990, CHILDS u. UNABIA 1997).
6. Aktivin ist ein Regulatorpeptid, das zur TGF β -Superfamilie gehört und aus zwei Inhibin- β -Untereinheiten besteht (im Unterschied zum Inhibin, das sowohl eine α - als auch eine β -Untereinheit aufweist). Aktivin beeinflusst Wachstum und Entwicklung von Follikeln und stimuliert selektiv und dies dosisabhängig die FSH-Ausschüttung (TONETTA u. diZEREGA 1990, CHILDS u. UNABIA 1997), indem es vermutlich undifferenzierte gonadotrope Zellen zur FSH-Produktion anregt sowie möglicherweise die Mitose von FSH-Zellen stimuliert (CHILDS u. UNABIA 1997). Im Gegensatz zum Aktivin inhibiert Follistatin, das nur aus einer Kette besteht und gleichfalls von Follikeln gebildet wird sowie in Follikelflüssigkeit vorkommt, selektiv die FSH-Freisetzung (TONETTA u. diZEREGA 1990) sowie die Aromataseaktivität und damit die Progesteronsynthese (DÖCKE 1994).
7. Der Gonadotropin-Surge-Inhibiting-Factor hemmt dosisabhängig die GnRH-stimulierte LH- und FSH-Produktion. In niedriger Dosis hemmt dieser ausschließlich FSH (DANFORTH et al. 1987). Seine intrafollikuläre Konzentration weist eine größenabhängige Dynamik auf. Sie ist moderat in 3 bis 5 mm großen Follikeln, erreicht Maxima in 6 bis 8 mm großen Follikeln, um anschließend wieder abzunehmen und letztlich kaum noch detektierbar zu sein (Follikeldurchmesser von 9 bis 10 mm; KITA et al. 1994).

2.2 STEUERUNG DER SEXUALFUNKTION BEI ALTSAUEN: BIOTECHNISCHE BRUNSTSTIMULATION

Durch die biotechnische Steuerung der Sexualfunktion werden Reproduktionsvorgänge planbar. Daraus ergeben sich produktionstechnische, hygienische und arbeitswirtschaftliche Vorteile (Gruppenhaltung im Alles-rein-alles-raus-Prinzip, gebündelter Einkauf, Erzeugung

gleichmäßiger Ferkelpartien für den Verkauf), aber auch eine Steigerung der Reproduktionsleistung der Sauen (FRITZSCH et al. 1973, WÄHNER et al. 1988, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994, HÜHN 1995). Eine der Prämissen bei Altsauen ist es, sie schnellstens nach dem Absetzen der Ferkel zu belegen und tragend zu bekommen, um unnötige und kostenintensive „Leertage“ zu vermeiden. Von entscheidender Bedeutung ist hierbei das Absetz-Östrus-Intervall (HÜHN 1996).

Als biotechnische Maßnahme zur Brunststimulation werden hormonelle Methoden bezeichnet, durch die der Eintritt der Brunst bei Gruppen von Sauen innerhalb eines möglichst kurzen Zeitraums ausgelöst werden kann. Dazu werden vor allem Präparate angewendet, die eCG oder Kombinationen aus diesem mit humanem Choriongonadotropin (hCG) enthalten (BERGFELD u. HÜHN 1983, BATES et al. 1991, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994).

Das eCG ist ein Glykoprotein, dessen Molekulargewicht 45.000 bis 64.030 D beträgt (GOSPODAROWICZ 1972, TIEMANN 1983, COMBARNOUS et al. 1984), wird in den Cupulae endometriales (englisch: endometrial cups) von trächtigen Stuten synthetisiert (ALLEN u. MOOR 1972). Diese entwickeln sich ab dem 37. Tag post conceptionem aus Trophoblastzellen, die aus dem fetalen Allantochochon in das Endometrium einwandern (ALLEN u. MOOR 1972, BERGFELD et al. 1978, SCHÜTZLER 1983, TIEMANN 1983) und dabei endometriale Zellen phagozytieren (SCHÜTZLER 1983). Das eCG wird aus dem Serum gravider Stuten gewonnen, wo es ab dem 42. bis 45. Trächtigkeitstag nachzuweisen ist. Höchste Konzentrationen werden zwischen den Trächtigkeitstagen 60 und 75 gemessen, die bis zum 110. bis 112. Trächtigkeitstag allmählich sinken (BERGFELD et al. 1978, SCHÜTZLER 1983). Das eCG weist einen Kohlenhydratanteil von 36 bis 46,7 % auf, der höher als der anderer Glykoprotein hormone ist (GOSPODAROWICZ 1972, BERGFELD et al. 1978, TIEMANN 1983). Es besteht zu 46 % aus Aminosäuren, ist reich an Sialinsäure (GOSPODAROWICZ 1972) und bildet eine α - sowie eine β -Untereinheit. Die α -Untereinheit ähnelt der anderer Gonadotropine (LH, FSH, hCG), während die β -Untereinheit die Spezifität des Glykoproteins eCG ausmacht. Wegen dieser komplexen Struktur ist eine synthetische Herstellung bislang nicht möglich (RICHTER 1982).

Während eCG bei der Stute selbst vor allem LH-Wirkung besitzt, hat es bei anderen Spezies FSH-Wirkung (TIEMANN 1983, COMBARNOUS et al. 1984). Die Bedeutung des eCG als luteotroper Faktor ist umstritten. In einschlägigen Fachbüchern wird ihm die Verantwortlichkeit im Rahmen einer „Second Response to Pregnancy“ zugeschrieben (YOUNGQUIST 1997). Darunter versteht man, dass durch eCG sowohl der primäre Gelbkörper erhalten bleibt (Corpus luteum graviditatis) als auch neue – sei es durch Luteinisierung von Follikeln ohne oder nach vorangegangener Ovulation – gebildet werden. Trifft dies zu, hat eCG eine dominant luteotrope Wirkung (YOUNGQUIST 1997).

Beim Rind wird eCG zur Superovulationsstimulation genutzt (BERGFELD u. GUIARD 1983, OESTERREICH et al. 1986, LANGE et al. 1989). Es findet darüber hinaus als Therapeutikum von Anöstrien und Azyklen bei Schafen, Kaninchen sowie Fischen Anwendung (BERGFELD u. GUIARD 1983, BANKOV et al. 1984). Beim Schwein stimuliert es das Follikelwachstum, erhöht die Anzahl ovulatorischer Follikel (SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994)

und wirkt zudem utero- sowie luteotrop (BERGFELD et al. 1978). Seine Wirksamkeit zur Brunststimulation beim Schwein wird wesentlich durch den Anteil FSH-wirksamer Bestandteile bestimmt (KÖNIG et al. 1977), da diese für das Follikelwachstum und damit den Brunsteintritt entscheidend sind. Chargen- und rassebedingt sowie abhängig vom Trächtigkeitsstadium der Spenderstuten kann der Anteil FSH-wirksamer Bestandteile im eCG variieren (BERGFELD et al. 1978). Für das FSH/LH-Wirkverhältnis sind daher Angaben von 4 : 1 bis 7 : 10 zu finden (TIEMANN 1983).

Die in Deutschland zugelassenen eCG-Präparate enthalten gereinigtes Serum von trächtigen Stuten oder Lyophilisat, das mit Wasser für Injektionszwecke zu mischen ist. Wann und in welcher Dosierung eCG zur Brunststimulation bei Sauen zu applizieren sei, wird kontrovers diskutiert. Vor allem in älteren Untersuchungen wird die Injektion am Tag des Absetzens befürwortet (NOACK 1972, LONGENECKER u. DAY 1968). Die dabei empfohlene Dosis beträgt nach vier- bis achtwöchiger Säugezeit 1.200 IE parenteral. Durch eine derartige Behandlung lässt sich das Absetz-Östrus-Intervall verkürzen (LONGENECKER u. DAY 1968). Beträgt die Säugezeit drei bis vier Wochen, werden 1.000 IE eCG empfohlen. Es kamen 90 % der so behandelten Sauen am vierten bis siebten Tag nach dem Absetzen in Brunst (PLONAIT 2001a).

Im neueren Schrifttum wird empfohlen, eCG erst 24 Stunden nach dem Absetzen zu applizieren. Obwohl in Bezug auf den Applikationszeitpunkt heutzutage Konsens besteht, existieren unterschiedliche Angaben zur Dosierung und den damit zu erreichenden Ergebnissen (Tabelle 5). Die Brunst tritt vier bis sieben Tage nach dem Absetzen ein und dauert 45 bis 55 Stunden (HÜHN 1995). Je länger die Säugezeit ist, umso niedriger kann die Dosierung von eCG bemessen werden (SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994). Bei niedriger Dosierung von beispielsweise 600 IE eCG i.m. wurden anschließend bei Altsauen durchschnittlich 17 Follikel an den Ovarien festgestellt. Dies entspricht einer physiologischen Ovulationspotenz beim Schwein. Höhere Dosierungen von 750 IE oder 800 IE bewirkten eine stärkere Stimulation, so dass die Anzahl ovulationsbereiter Follikel stieg (BERGFELD et al. 1990a, b). Im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren erhöhte eCG die Östrusrate, d. h. die Brunsteintritte wurden vorverlegt und zeitlich komprimiert. Es erfolgte somit eine Verkürzung des Absetz-Östrus-Intervalls (FRITZSCH et al. 1973, ROOST et al. 1982, HÜHN 1995). Bei letztgenannter Dosierung wurden Trächtigkeitsraten von 82,2 % erreicht (HÜHN et al. 1996). Eine nochmalige Dosiserhöhung auf 1.000 IE bewirkte eine markante ovariotrope Stimulation (FRITZSCH et al. 1973, GEORGE et al. 1988, BERGFELD et al. 1990b): Es wurden mehr als 20 Follikel nachgewiesen, so dass die Wurfgröße um 0,5 lebend geborene Ferkel je Wurf (Trächtigkeitsrate 79,8 bis 82,2 %) im Vergleich zu Würfen aus spontanen Östren stieg (HÜHN 1995, HÜHN et al. 1996). Dieser ovariotrope Effekt ist, wie auch am Rattenmodell deutlich wird, auf eine Verminderung der Atresierate der Follikel zurückzuführen (BRAW u. TSAFRIRI 1980). Bei Verwendung von eCG in einer Dosierung von 1.250 IE wurden ebenso gute Ergebnisse wie mit 1.000 IE erzielt (FRITZSCH et al. 1973, HEINZE u. STAHL 1989) und Trächtigkeitsraten über 80 % registriert (LONGENECKER u. DAY 1968, FRITZSCH et al. 1973, KÖNIG et al. 1977).

Zur Brunststimulation wurde eCG auch zusammen mit hCG verwendet (BATES et al. 1991, de RENSIS et al. 2003). Das hCG wird in den Synzytiotrophoblastzellen der menschlichen Plazenta gebildet, ist erstmals zur Zeit der Implantation im Blut (SHI et al. 1993), kurz danach auch im Harn nachweisbar (BUTLER et al. 2001). Obwohl früher angenommen wurde, dass hCG aus drei Untereinheiten besteht (BROSSMER et al. 1971), konnten in späteren Arbeiten nur zwei (α und β) nachgewiesen werden. Dabei ist die β -Untereinheit hormonspezifisch, weist große strukturelle Ähnlichkeit zur β -Untereinheit des LH auf, unterscheidet sich jedoch von der anderer Glykoproteinhormone (CARLSEN et al. 1973). Die α -Untereinheit hingegen ist identisch mit der des LH, des FSH und des Thyreotropins (BELLISARIO et al. 1973, CORLESS et al. 1987). Das hCG hat LH-ähnliche Wirkung. Es ist bei der schwangeren Frau für die Funktionserhaltung des Corpus luteum graviditatis verantwortlich (SCHUBERT 1993). Nach neueren Untersuchungen stimuliert es vermutlich außerdem die Angiogenese in der maternalen und fetalen Plazenta während der Frühschwangerschaft (ZYGMUNT et al. 2002).

Tabelle 5: Einfluss unterschiedlicher eCG-Dosierungen und Säugezeiten auf die Östrusrate sowie das Absetz-Östrus-Intervall (Literaturübersicht)

eCG je Sau (IE)	Säugezeit (Wochen)	Östrusrate (%)	Absetz-Östrus-Intervall (Tage)	Autoren
500	3	91,3 – 98	7	HURTGEN u. LEMAN 1979
700 – 800	4 – 5	95	4 – 5	SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994
750	6 – 7	91,9 – 95,3	4	ROOST et al. 1982
750 – 800	≥ 3	83,2 – 89,3	4 – 5	HÜHN 1995
750 – 800	≥ 3	k. A.	4 – 5	HÜHN 1996
750 – 800	4 – 5	> 95	4 – 5	HÜHN et al. 1996
750 – 1000	3 – 4	k. A.	k. A.	HÜHN 2000
800	7	k. A.	k. A.	MAKOWEI 1988
1.000	6	> 90	4 – 5	HÜHN u. SCHLEGEL 1977
1.000	≥ 5	k. A.	k. A.	HENZE u. HÜHN 1987
1.250	k. A.	k. A.	k. A.	SCHREMMER 1975
1.250	4	89,1	k. A.	SCHLEGEL u. SKLENAR 1972
1.250	4 – 5	> 90	3 – 7	KÖNIG et al. 1977
1.250	4 – 5	> 90	4 – 5	HÜHN u. SCHLEGEL 1977

k. A. = keine Angaben, Östrusrate = Anteil östrischer Sauen bis zum siebten Tag nach dem Absetzen an den zur Besamung aufgestellten Sauen

Die Applikation einer Kombination aus eCG mit hCG an gerade abgesetzte Sauen verkürzt das Absetz-Östrus-Intervall (BATES et al. 1991, de RENSIS et al. 2003). Inwieweit damit jedoch terminierbare Brunsteintritte zu erzielen sind, wird konträr diskutiert (Pro: BATES et al. 1991, GARDIN et al. 1992, de RENSIS et al. 2003; kontra: HÜHN et al. 1996). eCG/hCG-Gemische kamen in unterschiedlichen Dosierungen und Zeitpunkten (bezogen auf den Absetzzeitpunkt) zur parenteralen Anwendung. Generell enthalten derartige Gemische zwei Teile eCG und einen Teil hCG (BATES et al. 1991, HÜHN et al. 1996, de RENSIS et al. 2003). Am gebräuchlichsten ist mittlerweile die Kombination aus 400 IE eCG und 200 IE

hCG i.m. (BATES et al. 1991, SAOULIDIS et al. 1995, ESTIENNE u. HARTSOCK 1998, KNOX et al. 2001, de RENSIS et al. 2003). Gemische mit davon abweichenden Dosierungen werden dagegen in anderen Studien empfohlen (400 bis 800 IE eCG und 200 bis 400 IE hCG: PLONAIT 2001a; 600 IE eCG und 300 IE hCG: HEINZE 1982; 500 IE eCG und 250 IE hCG: HEINZE et al. 1982).

Die mit eCG/hCG-Kombinationen erreichten Reproduktionsleistungen sind zum Teil zufriedenstellend zum Teil aber auch nicht. So wurden Sauen, die nach achtwöchiger Säugezeit am Tag des Absetzens 600 IE eCG mit 300 IE hCG erhielten, zu 93,8 % innerhalb der ersten acht Tage post injectionem östrisch und zu 82,5 % tragend. Die Wurfgröße war durchschnittlich um 0,5 höher als bei Tieren, die nur eCG erhalten hatten (HEINZE et al. 1982). Bei Anwendung von 400 IE eCG mit 200 IE hCG zum Absetzzeitpunkt wurden überwiegend gute Resultate erzielt. SAOULIDIS et al. (1995), ESTIENNE und HARTSOCK (1998) sowie KNOX et al. (2001) ermittelten hierbei Östrusraten von 92,1 bis 97 %, Trächtigkeitsraten von 82,3 bis 88,3 % und 8,46 lebende Ferkel je Wurf bzw. 1,3 Ferkel mehr als in Würfen unbehandelter Tiere. KNOX et al. (2001) ermittelten ähnliche Brunstverläufe wie bei Tieren mit spontanen Östren. Im Gegensatz dazu blieben in der Studie von BATES et al. (1991, 2000) positive Effekte einer Anwendung von 400 IE eCG und 200 IE hCG zum Absetzzeitpunkt auf den Brunsteintritt und die Wurfleistungen gänzlich aus.

de RENSIS et al. (2003) erprobten die Variante, Altsauen bereits zwei Tage vor dem Absetzen mit 400 IE eCG und 200 IE hCG zu behandeln. Dadurch stieg der Anteil östrischer Sauen innerhalb der ersten sieben Tage nach dem Absetzen um 12,5 % gegenüber Kontrolltieren ohne Stimulation. Das Absetz-Östrus-Intervall wurde um 1,6 Tage verkürzt. Abferkelrate und Wurfgröße blieben unbeeinflusst. Wurden eCG und hCG jedoch vier Tage vor dem Absetzen verabreicht und zum Absetzzeitpunkt erneut hCG oder GnRH appliziert, stieg auch die Abferkelrate um 16,3 % gegenüber den nicht stimulierten Kontrolltieren.

Wesentlich weiter verbreitet ist der Einsatz solcher eCG/hCG-Gemische zur Pubertätsinduktion von Jungsaugen (SCHLEGEL et al. 1977, 1979, SCHLEGEL u. WÄHNER 1980, WÄHNER et al. 1981, 1982, DALIN 1984, BRITT et al. 1989, KAUFFOLD 1995, WÄHNER 2002).

2.3 GONADOTROPIN-RELEASING-HORMON (GNRH)

Gonadotropin-Releasing-Hormone (GnRH) sind hormonell wirksame Substanzen, die auf den Hypophysenvorderlappen einwirken und in den dortigen gonadotropen Zellen die LH- und FSH-Freisetzung stimulieren (CONN u. CROWLEY 1994, McCANN et al. 2001). GnRH stellt damit das Verbindungsglied zwischen neuralem und endokrinem System dar (CONN 1994) und ist die entscheidende Signalsubstanz für das Reproduktionsgeschehen (FERNALD u. WHITE 1999). GnRH stimuliert die Freisetzung der Gonadotropine FSH und LH (SCHALLY et al. 1971, BLECH 1977), die heterodimere Glykoproteine sind und aus einer α - sowie einer β -Untereinheit bestehen (CONN u. CROWLEY 1994, McCANN et al. 2001).

2.3.1 STRUKTUR UND VORKOMMEN VON GNRH

Bei GnRH handelt es sich um Neuropeptidhormone, die aus nur 10 Aminosäuren bestehen und daher zu den Oligopeptiden zählen. Die ersten vier Aminosäuren sind zumeist Pyroglutaminsäure, Histidin, Tyrosin und Serin (pGlu-His-Tyr-Ser); in dieser Sequenz werden sie als N-terminale Domäne bezeichnet. Die letzten beiden Aminosäuren sind Prolin und Glycin (Pro-Gly-NH₂); sie stellen die C-terminale Domäne dar (SEALFON et al. 1997). GnRH wurde erstmals 1960 bei der Ratte entdeckt (McCANN et al. 1960) und galt lange Zeit als einziges GnRH (DÖCKE 1994, McCANN et al. 1993). Mittlerweile sind 23 Varianten bei verschiedensten Tierarten bekannt. Sie variieren in ihrer Struktur nur geringfügig (Tabelle 6). Zahlreiche Tierarten weisen zwei oder mehr GnRH-Varianten auf (LOVEJOY et al. 1992, POWELL et al. 1994, WHITE et al. 1995, FERNALD u. WHITE 1999, CAROLSFELD et al. 2000, PATI u. HABIBI 2000, NEILL 2002, SOMOZA et al. 2002).

Um eine einheitliche Nomenklatur zu nutzen, werden in der vorliegenden Arbeit die von SOMOZA et al. (2002) empfohlenen Bezeichnungen der GnRH-Formen verwendet. Sie orientieren sich an der Spezies, bei der das jeweilige GnRH zuerst entdeckt wurde. Das beim Säugetier vorkommende GnRH gilt nach dieser Nomenklatur als Standard. Es wird in den nachfolgenden Kapiteln als mammalian-GnRH (m-GnRH) bezeichnet. Bei Verwendung von GnRH ohne eine Speziesbezeichnung ist jedoch Gonadotropin-Releasing-Hormon im Allgemeinen gemeint.

Vom Knochenfisch aus der Urzeit bis hin zum heutigen Menschen hat sich die Aminosäuresequenz der GnRH kaum verändert (PAWSON et al. 2003). Unterschiede treten meist nur an den Positionen fünf bis acht auf (SEALFON et al. 1997, MILLAR et al. 2001, SHACHAM et al. 2001, SOMOZA et al. 2002). Diese Tatsache führte zu der Annahme, dass es ein gemeinsames „Urahn-GnRH“ gegeben haben muss (WHITE et al. 1998, FERNALD u. WHITE 1999, CAROLSFELD et al. 2000). Da die heute bekannten GnRH-Varianten in ähnlichen Regulationskreisen bei allen Wirbeltieren bis hin zu niederen Vertebraten auftreten, lassen sich Verwandtschaftsbeziehungen erkennen und ein phylogenetischer Stammbaum entwickeln (Abbildung 4). Bislang konnte die Wurzel, d. h. der gemeinsame Vorfahr, aus dem alle anderen Varianten hervorgingen, nicht gefunden werden. Vermutlich entstanden die Varianten durch Duplikation dieses Vorfahrs, bevor sich die Spezies evolutionär trennten, möglicherweise noch vor dem Übergang von Chordaten zu Vertebraten (SEALFON et al. 1997, WHITE et al. 1998, FERNALD u. WHITE 1999, MILLAR 2003). Vermutlich ist das so genannte chicken-GnRH-II (c-GnRH-II) evolutionär als erstes entstanden (MILLAR 2003, PAWSON et al. 2003), zumindest wurde diese GnRH-Variante als erste entdeckt und kommt außerdem ubiquitär im Tierreich sowie beim Menschen vor (LOVEJOY et al. 1992, SEALFON et al. 1997, SHACHAM et al. 2001, MILLAR 2003). Eine zweite Duplikation fand dann in der frühen Entwicklungsphase der Wirbeltiere statt (SOMOZA et al. 2002).

Da jedes GnRH vermutlich einen separaten Genlocus hat (SOMOZA et al. 2002), lassen sich die GnRH-Gene auf drei Ästen eines solchen Stammbaums anordnen. Auf dem ersten liegen die GnRH-Strukturen, die im Hypothalamus vorkommen. Der zweite Ast trägt Formen, die in Nuclei des Mittelhirns zu finden sind. Auf dem dritten Ast ist eine GnRH-Form angeordnet, die im Terminalnerv und im Riechzentrum des Telencephalons vorkommt. Da die GnRH-

Tabelle 6: Nomenklatur und Aminosäuresequenz verschiedener GnRH unterschiedlicher Tierarten (in Anlehnung an SOMOZA et al. 2002)

Nomenklatur international	Bezeichnung international	Entdeckt bei Tier/Tierart	Aminosäuresequenz										Autoren
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
l-GnRH-I	lamprey-GnRH-I	Seeneunauge	pGlu	-His	-Tyr	-Ser	-Leu	-Glu	-Trp	-Lys	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8
l-GnRH-III	lamprey-GnRH-III	Seeneunauge	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-His	-Asp	-Trp	-Lys	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 3, 4, 6, 7, 8
t-GnRH-I	tunicate-GnRH-I	<i>C. productum</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Asp	-Tyr	-Phe	-Lys	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8, 10
t-GnRH-II (-III ⁷)	tunicate-GnRH-II	<i>C. productum</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Leu	-Cys	-His	-Ala	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8, 10
t-GnRH-III	tunicate-GnRH-III	<i>Ci. intestinalis</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Glu	-Phe	-Met	-Pro	-Gly-NH ₂	2, 10
t-GnRH-IV	tunicate-GnRH-IV	<i>Ci. intestinalis</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Asn	-Gln	-Leu	-Thr	-Pro	-Gly-NH ₂	10
t-GnRH-V	tunicate-GnRH-V	<i>C. productum</i> , <i>Ci. intestinalis</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Glu	-Tyr	-Met	-Pro	-Gly-NH ₂	10
t-GnRH-VII	tunicate-GnRH-VII	<i>C. productum</i> , <i>Ci. intestinalis</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Ala	-Leu	-Ser	-Pro	-Gly-NH ₂	10
t-GnRH-VIII	tunicate-GnRH-VIII	<i>C. productum</i> , <i>Ci. intestinalis</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Leu	-Ala	-Leu	-Ser	-Pro	-Gly-NH ₂	10
t-GnRH-IX	tunicate-GnRH-IX	<i>Ci. savignyi</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Asn	-Lys	-Leu	-Ala	-Pro	-Gly-NH ₂	10
t-GnRH-VI	tunicate-GnRH-VI	<i>C. productum</i> , <i>Ci. intestinalis</i>	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Lys	-Gly	-Tyr	-Ser	-Pro	-Gly-NH ₂	10
pj-GnRH	pejerrey-GnRH	Medakafisch, Pejerreyfisch	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Phe	-Gly	-Leu	-Ser	-Pro	-Gly-NH ₂	7, 8
hr-GnRH	herring-GnRH	Hering	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-His	-Gly	-Leu	-Ser	-Pro	-Gly-NH ₂	6, 7, 8
cf-GnRH	catfish-GnRH	Wels	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-His	-Gly	-Leu	-Asn	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 9
df-GnRH	dogfish-GnRH	Dornhai	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-His	-Gly	-Trp	-Leu	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8
c-GnRH-II	chicken-GnRH-II	Huhn	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-His	-Gly	-Trp	-Tyr	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8
wf-GnRH	whitefish-GnRH	Wandermaräne	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Met	-Asn	-Pro	-Gly-NH ₂	8
s-GnRH	salmon-GnRH	Lachs	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Trp	-Leu	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8
r-GnRH	rana-GnRH	Frosch, Amphibien	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Leu	-Trp	-Pro	-Gly-NH ₂	7, 8
sb-GnRH	teleoste-GnRH	Meerbrasse	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Leu	-Ser	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8
c-GnRH-I	chicken-GnRH-I	Huhn	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Leu	-Gln	-Pro	-Gly-NH ₂	1, 2, 4, 6, 7, 8
m-GnRH	mammalia-GnRH	Säugetier	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Leu	-Arg	-Pro	-Gly-NH ₂	1-8
gp-GnRH	guinea pig-GnRH	Meerschweinchen	pGlu	-Tyr	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Val	-Arg	-Pro	-Gly-NH ₂	2, 6, 7, 8,

Grau unterlegt sind die konservierten Bereiche der N- und C-terminalen Domänen. Glycin an sechster Stelle ist unter den höheren Wirbeltieren in der zentralen Domäne konserviert; ¹POWELL et al. 1996, ²JIMENEZ-LIÑAN et al. 1997, ³MEZŐ et al. 1997, ⁴SEALFON et al. 1997, ⁵FERNALD u. WHITE 1999, ⁶CAROLSFELD et al. 2000, ⁷GROVE-STRAWSER et al. 2002, ⁸SOMOZA et al. 2002, ⁹Persönliche Mitteilung: Gustavo Somoza, 22.10.2003, ¹⁰ADAMS et al. 2003; C. = *Chelyosoma*; Ci. = *Ciona*.

Varianten der ersten beiden Äste sowohl bei Säugetieren als auch bei Fischen zu finden sind, müssen sie entstanden sein, bevor sich der Entwicklungsweg der späteren Säuger von dem der Fische separierte (FERNALD u. WHITE 1999).

Da sowohl WHITE et al. (1998) als auch FERNALD und WHITE (1999) eine dritte GnRH-Form nur bei Fischen fanden, war diese nicht eindeutig in den Stammbaum einzuordnen. Die Autoren vermuten, dass auch beim Säugetier eine dritte GnRH-Variante existiert, die bisher aber unerkannt ist. PAWSON et al. (2003) vermuten hingegen, dass eine Art umso weniger GnRH-Subtypen (Ligand und Rezeptor) besitzt, je höher sie evolutionär gestellt ist. Nach MILLAR et al. (2004) soll GnRH-III nur bei Knochenfischen vorkommen. So kreierten sie einen erweiterten und modifizierten Stammbaum (Abbildung 5), bei dem mit GnRH-I die Formen bezeichnet werden, die im Hypothalamus vorkommen, während GnRH-II die c-GnRH-II-Variante repräsentiert und GnRH-III als dritte Form nur dem Knochenfisch zugeordnet wird. SOMOZA et al. (2002) unterscheiden abweichend davon nur zwei GnRH-Systeme. Demnach stellen die im posterioren Diencephalon und im rostralen Teil des Mesencephalon angesiedelten Formen das so genannte Mittelhirnsystem, die im Hypothalamus und im Telencephalon ansässigen Varianten hingegen das Terminalnerv-septopräoptische GnRH-System dar.

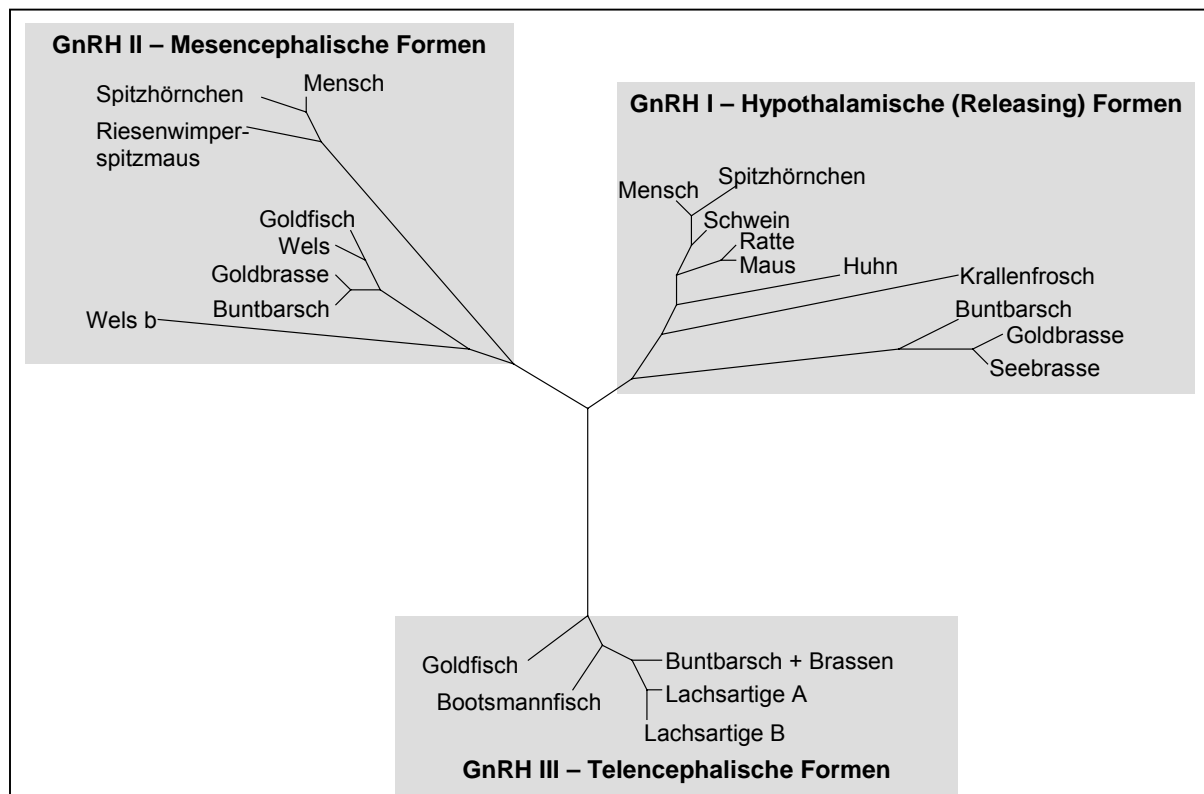


Abbildung 4: Phylogenetischer Stammbaum einiger GnRH-Formen von verschiedenen Tieren bzw. Tierarten (nach WHITE et al. 1998, modifiziert nach FERNALD u. WHITE 1999)

Je kürzer die Äste zwischen den GnRH-Varianten desto enger ist der Verwandtschaftsgrad der Varianten untereinander. Der Winkel zwischen den Ästen ist für den Verwandtschaftsgrad bedeutungslos.

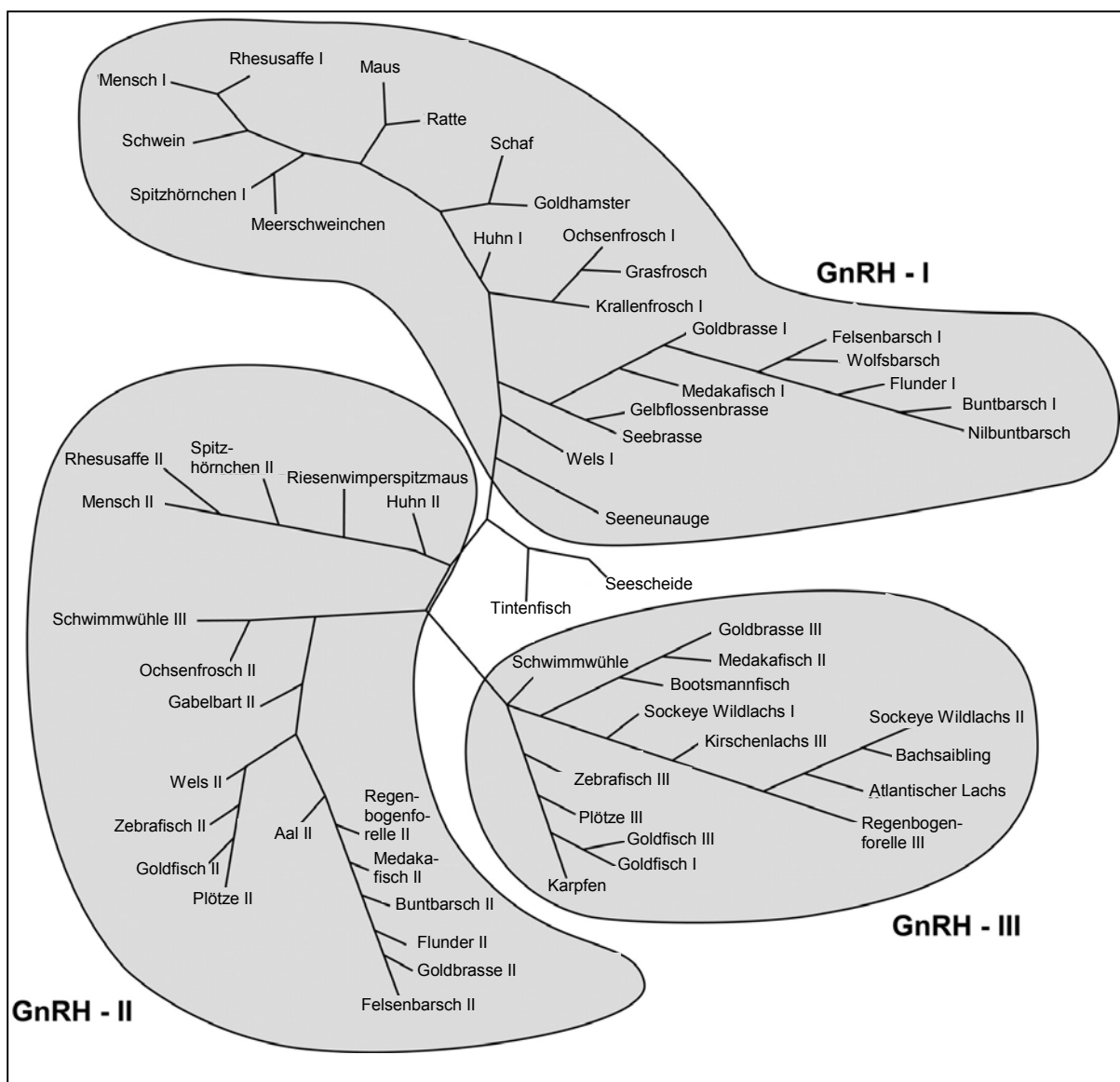


Abbildung 5: Phylogenetischer Stammbaum einiger GnRH-Vorläufer (aus denen die jeweiligen GnRH-Varianten entstehen) von verschiedenen Tieren bzw. Tierarten (MILLAR et al. 2004)

Astlängen und -winkel sind angenähert, so dass nicht auf die Stärke der Verwandtschaftsbeziehung geschlossen werden kann.

Zahlreiche Studien ergeben ein Bild über die Lokalisation GnRH-haltiger Neurone bei Labor-tieren. Die Neurone, welche m-GnRH synthetisieren, entstehen ontogenetisch aus der nasalen Plakode. Während der Embryonalentwicklung wandern sie entlang der Fasern des Terminalnervs und des Vomeronasalorgans zum Vorderhirn (CONN u. CROWLEY 1994, DAI-KOKU 1999, FERNALD u. WHITE 1999, TERASAWA 2001, SOMOZA et al. 2002). Am Ende dieser Wanderung sind sie nicht nur im Hypothalamus, sondern auch im Cortex des Telen-cephalons, im Mittelhirn, im limbischen System und im Bulbus olfactorius zu finden. Die Peri-karya der m-GnRH-Neurone liegen rostral im Brocaschen Band, lateral und mediobasal im Hypothalamus sowie im Nucleus paraventricularis, im Nucleus suprachiasmaticus und in der Ventrikelzone. Die Neurone ziehen von der medialen Area praeoptica zur Eminentia medi-ana, um dort GnRH in die Portalgefäße abzugeben (KINEMAN et al. 1988, CONN u. CROW-

LEY 1994, DAIKOKU 1999, SOMOZA et al. 2002), die Hypothalamus und Hypophyse über den Hypophysenstiel verbinden (KARCK 1996).

Jede der GnRH-Varianten entsteht über Modifikation eines Vorläufers, dem Präprohormon. Wird z. B. m-GnRH aus seinem Vorläufermolekül generiert, entsteht neben diesem ein dem m-GnRH-assoziiertes Peptid (GAP) (KARCK 1996, WEESNER et al. 1997, SHACHAM et al. 2001, SOMOZA et al. 2002), das aus den 56 C-terminalen Aminosäuren (KARCK 1996), beim Schwein aus 55 Aminosäuren (WEESNER et al. 1997) des Vorläufermoleküls besteht. Eine Wirkung dieses Hormons auf die Gonadotropinfreisetzung wird diskutiert (YU et al. 1989, 1990, KARCK 1996).

Die genetische Information für das m-GnRH ist beim Schwein an einem anderen chromosomalen Ort lokalisiert als bei Mensch oder Ratte (WEESNER et al. 1997), während das Peptid, d. h. die GnRH-Variante, identisch ist (MATSUO et al. 2002). Beim Schwein kommt GnRH ferner in der Plazenta, den Eileitern und Ovarien sowie im Endometrium vor, wie immunhistochemische Studien zeigten (LI et al. 1993).

Beim Schaf wurde neben m-GnRH auch c-GnRH-II nachgewiesen, das möglicherweise im Rückenmark vorkommt (MILLAR 2003).

Das Huhn ist die erste Spezies, bei der eine zweite GnRH-Form, das oben schon erwähnte c-GnRH-II, entdeckt wurde (SEALFON et al. 1997). Wie man heute weiß, kommt diese Variante bei fast allen Vertebraten vor (LOVEJOY et al. 1992, SEALFON et al. 1997, SHACHAM et al. 2001, MILLAR 2003). Es ist in Kernen des Mittelhirns (FERNALD u. WHITE 1999) und limbischen Systems (MILLAR 2003), in Organen des Reproduktionstraktes sowie im Immunsystem nachweisbar (PAWSON et al. 2003). Nur bei Agnathen konnte bisher kein c-GnRH-II nachgewiesen werden (MILLAR 2003).

Beim Menschen konnten zwei GnRH-Gene nachgewiesen werden. Das eine kodiert für m-GnRH, das andere für c-GnRH-II (WHITE et al. 1998, PAWSON et al. 2003). Positive Areale für c-GnRH-II wurden in Mittelhirn und Hypothalamus nachgewiesen (SOMOZA et al. 2002). mRNA für m-GnRH und den entsprechenden Rezeptor wurde auch in Leber, Herz, Skelettmuskulatur und Nieren des Menschen (KAKAR u. JENNES 1995) sowie in der Plazenta fröhschwangerer Frauen gefunden (KAKAR u. JENNES 1995, KARCK 1996). In gesunden und tumorös entarteten Mammazellen kommt neben m-GnRH auch c-GnRH-II vor (CHEN et al. 2002, NEILL et al. 2004). Im menschlichen Mittelhirn (Eminentia mediana, Area supra- und praeoptica, Nucleus oculomotorius) finden sich darüber hinaus Nervenfasern, die mit Antikörpern gegen s- und df-GnRH reagieren und damit die Existenz einer dritten GnRH-Variante beim Menschen vermuten lassen (YAHALOM et al. 1999). Bei Primaten wurde ein drittes, bisher undefiniertes GnRH in verschiedenen Gehirnregionen (dorsale Area praeoptica, Septum, Amygdala, Capsula interna, Claustrum) nachgewiesen (SOMOZA et al. 2002). Auch beim Rind soll eine weitere GnRH-Variante vorkommen, die Ähnlichkeit mit s-GnRH hat (YAHALOM et al. 1999).

Beim Wasserschwein finden sich im Vorderhirn und im Hypothalamus zwei GnRH-Formen, die immunologisch m- bzw. s-GnRH ähneln. Eine dritte Form, die c-GnRH-II entspricht, ist zu vermuten (MONTANER et al. 1998).

Das Meerschweinchen besitzt im Unterschied zu anderen Vertebraten kein m-GnRH (GROVE-STRAWSER et al. 2002). Bei dieser Spezies kommt stattdessen eine GnRH-Variante (gp-GnRH) vor, die an Position zwei der Aminosäurekette im Unterschied zu anderen Varianten Tyrosin (GROVE-STRAWSER et al. 2002) und daneben als bislang einzige Form Valin enthält (JIMENEZ-LIÑAN et al. 1997).

Viele Knochenfische weisen drei GnRH-Varianten auf. Zumeist handelt es sich dabei um s-GnRH und c-GnRH-II sowie um eine speziesspezifische Form (WHITE et al. 1995, CAROLSFELD et al. 2000, SOMOZA et al. 2002). Der Hering ist das phylogenetisch älteste Tier, bei dem drei GnRH-Formen – unter ihnen als arteigene Form hr-GnRH – vorkommen (CAROLSFELD et al. 2000). Auch Meerbrasse, Pejerrey- und Medakafisch weisen drei GnRH-Varianten auf, von denen eine jeweils spezifisch ist (sb-GnRH bzw. beide letztgenannten Fische pj-GnRH; POWELL et al. 1994, ZOHAR et al. 1995, MONTANER et al. 2001, OKUBO et al. 2001). Es wird vermutet, dass pj-GnRH phylogenetisch durch Nukleotidsubstitution aus hr- oder sb-GnRH entstanden ist (MONTANER et al. 2001). Genaue Angaben zur Lokalisation der genannten Hormone existieren beispielsweise bei der Meerbrasse: sb-GnRH befindet sich im Hypothalamus (ROBISON et al. 2001, WONG et al. 2004), Terminalnerv und Telencephalon (WONG et al. 2004), c-GnRH-II im Mittelhirn (ROBISON et al. 2001, WONG et al. 2004) und s-GnRH im Telencephalon (ROBISON et al. 2001). Die s-GnRH-Neurone nehmen ihren ontogenetischen Ursprung in der olfaktorischen Plakode, um von dort zur Area praeoptica zu ziehen (WONG et al. 2004).

Eine Schwarmfischart, *Prochilodus lineatus*, besitzt neben dem c-GnRH-II und s-GnRH eine weitere GnRH-Variante, bei der es sich entweder um eine neue Form oder aber um cf-GnRH, df-GnRH oder um das beim Seeneunauge vorkommende lamprey (I)-GnRH-III handeln könnte (SOMOZA et al. 1994).

Beim Afrikanischen Wels kommt das c-GnRH-II vor allem in Gehirn, Herz, Hypophyse, Ovarien und Kopfniere vor (BOGERD et al. 2002). Die speziesspezifische Form bei dieser Fischart ist das cf-GnRH (SCHULZ et al. 1993, BOGERD et al. 2002). Möglicherweise existiert darüber hinaus eine dritte Form, die dem I-GnRH-III ähnelt (SCHULZ et al. 1993).

Das Seeneunauge hat drei GnRH-Varianten. Schon 1985 wurde I-GnRH-I entdeckt (SHERWOOD u. SOWER 1985), das an dritter Stelle der Aminosäurekette im Gegensatz zu anderen Varianten Tyrosin aufweist. Eine zweite Form (I-GnRH-II) unterscheidet sich von der ersten in drei Aminosäuren (SHERWOOD et al. 1986). Ein drittes, I-GnRH-III, wurde erstmalig von SOWER et al. (1993) nachgewiesen und später durch die Untersuchungen von KNOX et al. (1994) bestätigt.

Bemerkenswert ist, dass I-GnRH-III auch bei anderen Spezies, so z. B. bei Ratten in Gehirnarealen nachgewiesen werden konnte (DEES et al. 1999, HINEY et al. 2002). L-GnRH-III-

positive Areale waren auch in Nervenfasern und Perikarya von Neuronen in der Lamina terminalis, dem Organum vasculosum laminae terminalis sowie ventromedial des Bereiches der Area praeoptica und in der Region des diagonalen Brocaschen Bandes zu finden (DEES et al. 1999, HINEY et al. 2002). Auch bei zwei Sperlingsarten konnte I-GnRH-III im Telencephalon, Hippocampus sowie in dem Gehirnabschnitt nachgewiesen werden, welcher den Gesang kontrolliert (BENTLEY et al. 2004).

Sogar bei dem Protochordaten *Chelyosoma productum* aus der Klasse der *Ascidaceae* und Unterstamm der Manteltiere (*Tunicata*), die zusammen mit den Unterstämmen Schädellose (*Acrania*) und Wirbeltiere (*Vertebrata*) zum Stamm der Chordatiere (*Cordata*) gehören, sind GnRH nachweisbar. Diese Spezies besitzt noch keine Hypophyse und nur ein singuläres Ganglion, das als primitives Gehirn fungiert. Im Nervengewebe des Dorsalstranges befinden sich Zellen in unmittelbarer Nähe der Gonaden, die zwei unterschiedliche Formen an GnRH vermutlich direkt in die Blutbahn abgeben (POWELL et al. 1996). Unlängst wurden bei dieser und bei einer anderen Gattung dieser Klasse, *Ciona intestinalis*, sechs verschiedene GnRH-Formen nachgewiesen (ADAMS et al. 2003). Bemerkenswert ist, dass bei *Ciona intestinalis* jeweils drei Varianten von je einem Gen als Triplet kodiert werden. Dabei kommt mRNA beider Gene bereits in den frühesten Entwicklungsstufen des Protochordaten vor und lässt deren Einfluss auf die Ontogenese vermuten (ADAMS et al. 2003).

Beim Oktopus ist ein GnRH nachweisbar, welches zusätzlich zu den 10 Aminosäuren zwei weitere aufweist. Nur die erste und die beiden letzten Aminosäuren der Kette entsprechen denen aller anderen bisher bekannten GnRH-Varianten. Dieses GnRH bewirkt ebenfalls eine LH-Ausschüttung (MILLAR et al. 2004). Auch bei einer Korallenart (*Euphyllia ancora*) konnte GnRH immunhistochemisch nachgewiesen werden (TWAN et al. 2006).

Die Verbreitung der bekannten GnRH-Varianten bei verschiedenen Tierarten und deren Nachweisorte sind in der Tabelle 7 dokumentiert.

2.3.2 GNRH-REZEPTOR

Früher wurde angenommen, dass nur ein einziger GnRH-Rezeptor existiert. Ferner wurde vermutet, dass nach Bindung von GnRH an seinen Rezeptor verschiedene Reaktionen ausgelöst werden. Letztlich unterstellte man, dass die Synthese der einzelnen Untereinheiten für die Gonadotropine von der Anzahl verfügbarer Rezeptoren abhängt (KAISER et al. 1995, KAISER 1998, LACAU-MENGIDO et al. 1998). So nahm man an, dass bei niedriger Rezeptordichte die Gene für FSH sowie LH und bei hoher Rezeptordichte nur die für LH exprimiert werden (KAISER et al. 1995, KAISER 1998). Aus anderen Untersuchungen ging hervor, dass die Rezeptordichte lediglich auf die Expression der β -Untereinheit für LH, nicht jedoch auf die der α - oder β -Untereinheit von FSH Einfluss hat (HAISENLEDER et al. 1994). KAISER et al. (1995) und KAISER (1998) vermuten, dass der selektive Gebrauch spezifischer Gen-Promotoren dazu führt, dass spezielle Untereinheiten exprimiert werden. Heute besteht Einigkeit darüber, dass diverse GnRH-Formen jeweils separate Rezeptoren haben (KLAUSEN et al. 2002, SOMOZA et al. 2002, MILLAR et al. 2004, Neill et al. 2004).

Tabelle 7: Verbreitung bekannter GnRH-Varianten bei unterschiedlichen Tierarten und deren Nachweisorte (Auswahl)

Tierart	GnRH-Variante	Nachweisorte	Autoren
<i>Chelyosoma productum</i>	t-GnRH-I, -II, -V, -VI, -VII und -VIII	Nervenzellen des Dorsalstranges, den Gonaden benachbart	13, 29
<i>Ciona intestinalis</i>	t-GnRH-III, -IV, -V, -VI, -VII und -VIII	k. A.	
<i>Ciona savignyi</i>	t-GnRH-IX	k. A.	29
<i>Prochilodus lineatus</i>	c-GnRH-II, s-GnRH, cf-GnRH?, I-GnRH-III?, df-GnRH?	k. A.	9
Seeneunauge	I-GnRH-I, -II und -III	k. A.	2, 3, 6, 7
Hering	s-GnRH, c-GnRH-II, hr-GnRH	k. A.	20
Afrikanischer Wels	c-GnRH-II	ZNS, Herz, Hypophyse, Ovar, Kopfniere	5, 24
	cf-GnRH, I-GnRH-III?	k. A.	
Brasse	s-GnRH	Olfaktorische Plakode, Area praeoptica	23, 33
	c-GnRH-II	Mittelhirn	
	sb-GnRH	Terminalnerv, Telencephalon, Hypothalamus	
Pejerreyfisch, Medakafisch	s-GnRH, c-GnRH-II, pj-GnRH	k. A.	8, 11, 21, 22
Huhn, fast alle anderen	c-GnRH-II	Mittelhirnkerne, Reproduktionsgewebe, Immunsystem	14, 18, 30
Sperling	I-GnRH-III	Telencephalon, Hippocampus, Gesangeszentrum	31
Ratte	I-GnRH-III	Lamina terminalis, Area praeoptica, Brocasches Band	17, 27
Meerschweinchen	gp-GnRH	ersetzt m-GnRH	26
Wasserschwein	c-GnRH-II	?	15
	s-GnRH?, m-GnRH?	Hypothalamus, Vorderhirn	
Rind	df-GnRH?, s-GnRH?	Eminentia mediana, Area supra- und praeoptica, Nucleus oculomotorius	17, 27
Schwein	m-GnRH	Hypothalamus	1
	ir-m-GnRH	Plazenta, Endometrium, Eileiter, Ovar	4
Mensch	m-GnRH	Hypothalamus, Leber, Herz, Skelettmuskel, Niere, Plazenta, Mammazellen	10, 12, 25, 32
	c-GnRH-II	Mittelhirn, Hypothalamus, Mammazellen	16, 25, 28, 32, 30
	df-GnRH?, s-GnRH?	Eminentia mediana, Area supra- und praeoptica, Nucleus oculomotorius	19

k. A. = keine Angaben, ? = möglicherweise, ZNS = Zentralnervensystem, Gehirn; ¹SANDOW et al. 1975, ²SHERWOOD u. SOWER 1985, ³SHERWOOD et al. 1986, ⁴LI et al. 1993, ⁵SCHULZ et al. 1993, ⁶SOWER et al. 1993, ⁷KNOX et al. 1994, ⁸POWELL et al. 1994, ⁹SOMOZA et al. 1994, ¹⁰KAKAR u. JENNES 1995, ¹¹ZOHAR et al. 1995, ¹²KARK 1996, ¹³POWELL et al. 1996, ¹⁴SEALFON et al. 1997, ¹⁵MONTANER et al. 1998, ¹⁶WHITE et al. 1998, ¹⁷DEES et al. 1999, ¹⁸FERNALD u. WHITE 1999, ¹⁹YAHALOM et al. 1999, ²⁰CAROLSFELD et al. 2000, ²¹MONTANER et al. 2001, ²²OKUBO et al. 2001, ²³ROBISON et al. 2001, ²⁴BOGERD et al. 2002, ²⁵CHEN et al. 2002, ²⁶GROVE-STRAWSER et al. 2002, ²⁷HINEY et al. 2002, ²⁸SOMOZA et al. 2002, ²⁹ADAMS et al. 2003, ³⁰PAWSON et al. 2003, ³¹BENTLEY et al. 2004, ³²NEILL et al. 2004, ³³WONG et al. 2004.

Die GnRH-Rezeptoren sind im Plasmalemm lokalisiert (CONN et al. 1987) und strukturell ähnlich. Die Rezeptoren sind mehrfach in der Zellmembran verankert. Sie besitzen entweder sieben (CONN 1994, REBERS et al. 2000, NEILL et al. 2001, ROBISON et al. 2001, SHACHAM et al. 2001, ABE u. OKA 2002, NEILL 2002, NEILL et al. 2004, MILLAR et al. 2004) oder wie bei Schwein und Mensch fünf transmembrane Domänen. Die Funktion des 5-transmembran-Rezeptors ist derzeit unklar. Vermutlich entstand er aus dem 7-transmembran-Rezeptor durch Abspaltung von zwei transmembranen Domänen (NEILL et al. 2004).

Bei den Wirbeltieren existieren drei verschiedene Rezeptortypen für GnRH, die sich parallel zu den bei ihnen vorkommenden drei unterschiedlichen GnRH-Formen entwickelt haben (TROSKE et al. 1998, OKUBO et al. 2001). Zwei Typen weisen einen zytoplasmatischen C-terminalen Anhang auf und unterscheiden sich voneinander, indem ein Typ das Intron A in dem für ihn kodierenden Gen aufweist, während dieses Intron der verbleibenden Variante fehlt (OKUBO et al. 2001). Der C-terminale Anhang wie beispielsweise beim c-GnRH-II-Rezeptor des Affen (NEILL et al. 2004) stellt die Verknüpfung mit dem Guanosin triphosphat-bindenden-Protein (G-Protein) her (ULLOA-AGUIRRE et al. 1998, ROBISON et al. 2001, MILLAR 2003) und vermittelt vermutlich eine schnelle Desensibilisierung sowie Verinnerlichung des Rezeptors (OKUBO et al. 2001, MILLAR 2003). Der dritte Subtyp kommt nur beim Säuger vor und besitzt weder einen intrazellulären C-terminalen Anhang noch in seinem Gen das Intron A (OKUBO et al. 2001). So fehlt dieser Anhang dem m-GnRH-Rezeptor (Abbildung 6; KARCK 1996, SHACHAM et al. 2001, OKUBO et al. 2001, ROBISON et al. 2001, MILLAR et al. 2004, NEILL et al. 2004), bei dem die zweite und dritte intrazelluläre Schlaufe die Verknüpfung mit dem G-Protein herstellen (ULLOA-AGUIRRE et al. 1998, SHACHAM et al. 2001, MILLAR et al. 2004).

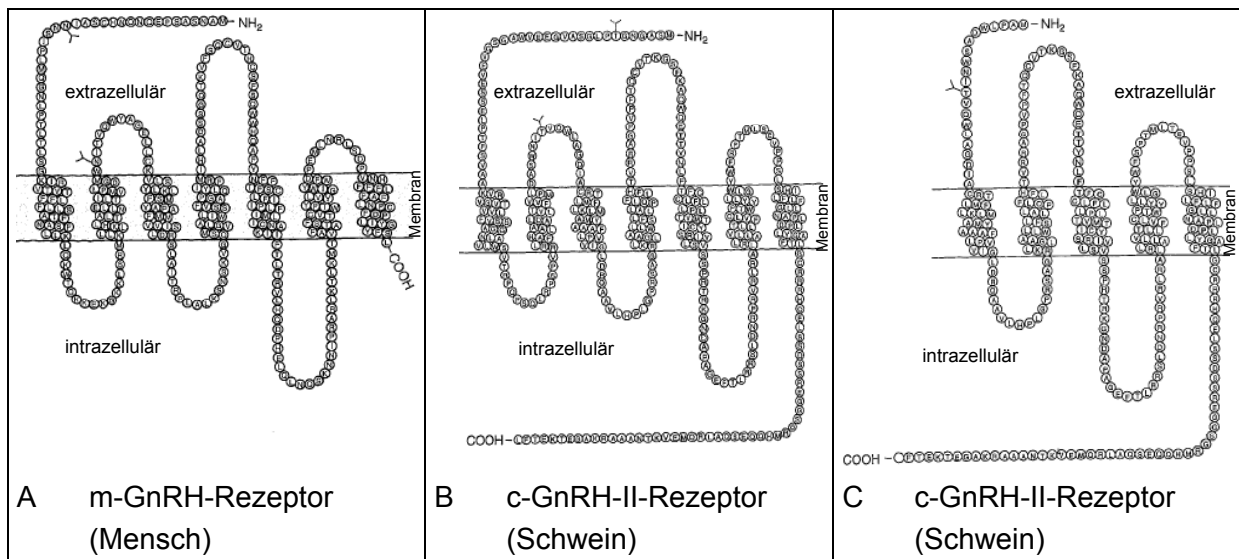


Abbildung 6: Struktur verschiedener GnRH-Rezeptoren (NEILL et al. 2004)

Sie weisen entweder sieben (A und B) oder nur fünf transmembrane Domänen auf und haben einen C-terminalen (B und C) oder keinen Anhang (A).

Die Rezeptorbindung von GnRH wird durch Pyroglutaminsäure an erster und Glycin an letzter Stelle des Dekapeptids vermittelt. Diese Aminosäuren bilden eine über eine Wasserstoff-

brückenbindung stabilisierte Formation miteinander, die dem Rezeptor als Erkennungsmerkmal dient (Abbildung 7; CONN et al. 1987, SHACHAM et al. 2001, MILLAR et al. 2004). Das N-terminale Ende von GnRH ist für die Rezeptoraktivierung zuständig (SEALFON et al. 1997, MILLAR et al. 2004). Durch die Bindung wird der Rezeptor dimerisiert und eine Kaskade intrazellulärer Reaktionen initiiert, an deren Ende die Freisetzung von Gonadotropinen steht (SHAPIRO 2003).

Arginin an der Position acht des m-GnRH ist für eine hohe Rezeptoraffinität von Bedeutung und interagiert mit Glutaminsäure an Position 301 des Rezeptormoleküls (SEALFON et al. 1997, SHACHAM et al. 2001, MILLAR et al. 2004). Nach Bindung von m-GnRH erfolgt eine G-Protein-vermittelte Aktivierung der Phospholipase C, die Phosphatidyl-Inositol-Bisphosphat in Inositol-1,4,5-Trisphosphat und Diacylglycerol spaltet. Inositol-1,4,5-Trisphosphat bewirkt eine Calciumfreisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum, während Diacylglycerol die Proteinkinase C transloziert und aktiviert. Über die Calciumfreisetzung wird schließlich die LH-Sekretion reguliert. Die Rolle der Proteinkinase C für die Gonadotropinfreisetzung ist noch ungeklärt. Bewiesen ist, dass auch andere Phospholipasen und vermutlich auch Arachidonsäure in oben genannte Kaskade eingreifen können (KARCK 1996, SHACHAM et al. 2001, MILLAR et al. 2004). Da der Rezeptor zudem eine gewisse Basisaktivität aufweist, ist die Bindung von GnRH für die Gonadotropinfreisetzung nicht generell erforderlich (SHACHAM et al. 2001). Ob ein cAMP vermittelter Mechanismus existiert, wird diskutiert (LIN u. CONN 1998). Zudem scheinen Stickoxide die GnRH-Freisetzung ebenfalls G-Protein-vermittelt, aber unabhängig von jeglicher GnRH-Stimulation, zu beeinflussen (McCANN et al. 2001).

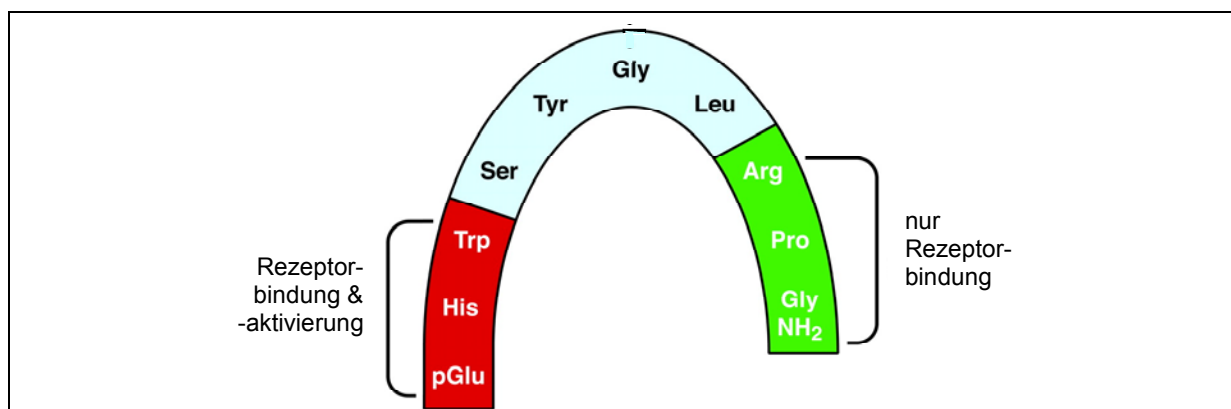


Abbildung 7: Schematische Darstellung von m-GnRH in gebogener Formation

Die Biegung erfolgt um Glycin (Gly), das sich an Stelle sechs befindet und ist notwendig, damit GnRH an den GnRH-Rezeptor der Hypophyse binden kann (MILLAR et al. 2004). Das N-terminale Ende (rot) ist für Rezeptorbindung und -aktivierung bedeutsam, das C-terminale Ende (grün) nur für die Bindung an den Rezeptor.

Wird eine D-Aminosäure in der Position sechs des m-GnRH substituiert, ist dessen Affinität zum Rezeptor erhöht und der enzymatische Abbau des Peptides verlangsamt (CONN et al. 1987, CONN 1994, CONN u. CROWLEY 1994, KARCK 1996, MILLAR et al. 2004). Generell ist die Substitution mit Stoffen, welche die Hydrophobie des m-GnRH-Moleküls steigern, ge-

eignet, seine Wirkung zu erhöhen. Darauf basieren m-GnRH-Agonisten, die sich durch eine verlängerte Wirkdauer im Vergleich zur originären Substanz auszeichnen (CONN et al. 1987, CONN 1994, CONN u. CROWLEY 1994, KARCK 1996). Sobald Agonisten an GnRH-Rezeptoren binden, werden diese dimerisiert und verstärkt verinnerlicht. Sie verbleiben intrazellulär und sind zu keiner erneuten Bindung befähigt. Gegenüber einer kontinuierlichen Applikation von Agonisten sind die Rezeptoren desensibilisiert (SHAPIRO 2003). Diese Prozesse erfolgen u. a. auch dann, wenn bei der Frau Agonisten zur Down-Regulation der Gonadotropinsekretion therapeutisch angewendet werden (KARCK 1996).

Antagonisten können synthetisiert werden, indem die ersten drei Positionen durch D-Aminosäuren substituiert werden (CONN et al. 1987, CONN 1994, CONN u. CROWLEY 1994, KARCK 1996). Sie binden an den Rezeptor, aktivieren ihn jedoch nicht (KARCK 1996). Die Dimerisation unterbleibt, es wird kein Signal in die Zelle gesandt, folglich werden auch keine Gonadotropine freigesetzt. Die Bindung der Agonisten sowie der Antagonisten ist reversibel. Der Rezeptor bleibt unverändert (SHAPIRO 2003).

Rezeptoren für m-GnRH sind in verschiedenen Organen zu finden, so in Gehirn, Hypophyse, Ovarien, Milchdrüse, Prostata aber auch in Leber und Pankreas (ANDREU-VIEYRA u. HABIBI 2002) sowie in der Plazenta der Frau (CHENG et al. 2000). Bei zahlreichen Tierarten kommen drei Rezeptortypen vor. Beim Menschen sind bislang zwei bekannt (ANDREU-VIEYRA u. HABIBI 2002, NEILL 2002).

Ovarzellen von Ratten besitzen im Gegensatz zu denen von Rind, Schaf oder Schwein m-GnRH-Rezeptoren (BROWN u. REEVES 1983). Deren Transkription ist in Granulosazellen östrogenabhängig, während Interstitialzellen unabhängig davon mRNA exprimieren (KOGO et al. 1999).

Steigen die Konzentrationen an Östradiol, nimmt die Anzahl an m-GnRH-Rezeptoren in den gonadotropen Zellen der Hypophyse zu (KARCK 1996), während sie sich unter Progesteroneinfluss verringert. Bei Ratte, Hamster, Schaf und Rind ist die Rezeptoranzahl kurz vor dem präovulatorischen LH-Peak am höchsten, um anschließend wieder rasch abzunehmen. Während der Trächtigkeit und Laktation sind nur wenige Rezeptoren in der Hypophyse nachweisbar (CONN 1994). Das m-GnRH reguliert die Bildung seiner eigenen Rezeptoren (CONN et al. 1987, CONN u. CROWLEY 1994, KARCK 1996, SHACHAM et al. 2001). Sind die m-GnRH-Konzentrationen niedrig, wird die Bildung der Rezeptoren stimuliert, während hohe Pulsamplituden oder kontinuierliches m-GnRH-Angebot hemmend wirken (CONN 1994) und zudem eine Desensibilisierung der Rezeptoren hervorrufen (SHACHAM et al. 2001). Peptide wie Aktivin und Inhibin können die Anzahl der m-GnRH-Rezeptoren beeinflussen (CONN u. CROWLEY 1994). Während Inhibin bei der Ratte vermutlich die Anzahl an m-GnRH-Rezeptoren vermindert und weniger m-GnRH gebunden werden kann, wirkt Inhibin, zumindest beim Schaf, entgegengesetzt (HAISENLEDER et al. 1994).

Beim Ochsenfrosch sind drei GnRH-Rezeptortypen nachweisbar, zu denen verschiedene GnRH-Varianten (m-GnRH, c-GnRH-II und l-GnRH-III) unterschiedliche Affinitäten haben (WANG et al. 2001).

Während GAULT et al. (2003) vermuteten, dass die Wirkung von c-GnRH-II ausschließlich über den m-GnRH-Rezeptor vermittelt wird, konnte ein funktionsfähiger Rezeptor für c-GnRH-II beim Afrikanischen Wels (NEILL et al. 2004), Schwein (MILLAR et al. 2001, 2004, NEILL et al. 2004), Krallenaffen (NEILL 2002, PAWSON et al. 2003, MILLAR et al. 2004, BARNETT et al. 2006) und beim Menschen in nahezu allen Geweben nachgewiesen werden (NEILL et al. 2001, MILLAR 2003). Rezeptoren fanden sich u. a. auch in Tumorzelllinien von Endometrium und Ovar der Frau (GRÜNDKER et al. 2002). Andere Spezies wie Maus, Schaf und Rind haben offensichtlich keinen eigenständigen c-GnRH-II-Rezeptor (NEILL et al. 2004). Beim Schaf wurde zwar ein Gen nachgewiesen, das für das c-GnRH-II kodiert, ein funktionsfähiger Rezeptor wurde bisher jedoch nicht gefunden (GAULT et al. 2004).

Beim Afrikanischen Wels wurden zwei verschiedene GnRH-Rezeptoren festgestellt. Typ I kam vor allem in der Hypophyse vor, während Typ II im Gehirn und in den Ovarien lokalisiert ist (BOGERD et al. 2002). Dabei wiesen die hier vorkommenden und auch andere GnRH-Varianten eine höhere Affinität zum Typ-I- als zum Typ-II-Rezeptor auf (BOGERD et al. 2002).

Beim Seeneunauge befinden sich die meisten Bindungsstellen für GnRH in der proximalen Pars distalis der vorderen Hypophyse. Bisher sind zwei verschiedene Rezeptoren entdeckt worden, die unterschiedliche GnRH-Varianten binden können (KNOX et al. 1994).

Als Ausnahme von allen bisher erwähnten Tierarten besitzt die Knochenfischart *Haplochromis burtoni* nur einen GnRH-Rezeptor, der im Gehirn, in der Retina und in weiteren Geweben nachgewiesen werden konnte. Es ist anzunehmen, dass alle drei bei dieser Tierart vorkommenden GnRH-Varianten gleichermaßen an diesen einen Rezeptor binden (ROBISON et al. 2001).

Beim Medakafisch kommen zwei Rezeptortypen vor (OKUBO et al. 2001), die verschiedene C-terminale Enden aufweisen und die GnRH-Varianten mit unterschiedlicher Affinität binden. Dabei weist c-GnRH-II die höchste Affinität auf, während s-, m- und pj-GnRH in dieser Reihenfolge mit verminderter Affinität binden. Da das artspezifische pj-GnRH die geringste Affinität aufweist, vermuten OKUBO et al. (2001), dass es noch einen dritten Rezeptortyp gibt, der für pj-GnRH-spezifisch ist.

Der Goldfisch besitzt zwei verschiedene GnRH-Rezeptoren. Obwohl der eine offensichtlich aus dem anderen hervorging, finden sie sich in unterschiedlichen Regionen des Gehirns. So wurde der Typ-I-Rezeptor im Bulbus olfactorius, Telencephalon, in der Area praeoptica, im Hypothalamus, Thalamus, Mittelhirn und Cerebellum nachgewiesen, während der Typ-II-Rezeptor im Telencephalon, in der Area praeoptica und im ventrobasalen Hypothalamus vorkommt (PETER et al. 2003).

Tabelle 8 fasst die Angaben zum Vorkommen der Rezeptoren in verschiedenen Organsystemen bei ausgewählten Tierarten zusammen.

Tabelle 8: Vorkommen von GnRH-Rezeptoren und -Varianten bei ausgewählten Tierarten

Tierart	Anzahl Rezeptortypen	Ligand	Ort des Nachweises	Autoren
<i>Haplochromis burtoni</i>	1	alle GnRH, die hier vorkommen	Gehirn, Retina u. a.	⁸
Seeneunauge	2	l-GnRH	vordere Hypophyse	²
Afrikanischer Wels	2	k. A.	Typ I: Hypophyse Typ II: Gehirn, Ovarien	^{4, 11, 17}
Medakafisch	2, evtl. 3	c-GnRH-II, s-GnRH, m-GnRH, pj-GnRH	k. A.	⁷
Goldfisch	2	s-GnRH, c-GnRH-II	Typ I: weite Teile des ZNS Typ II: Telencephalon, Hypothalamus	¹⁵
Ochsenfrosch	3	m-GnRH, c-GnRH-II, l-GnRH-III	k. A.	⁹
Ratte	k. A.	m-GnRH	Ovar	^{1, 3}
Schwein	2	m-GnRH, c-GnRH-II	k. A.	^{5, 16, 13, 17, 14}
Krallenaffe	k. A.	m-GnRH, c-GnRH-II	k. A.	^{5, 16, 13, 17, 14}
Mensch	2	m-GnRH	Gehirn, Hypophyse, Ovarien, Milchdrüse, Prostata, Leber, Pankreas, Plazenta	^{10, 4}
		c-GnRH-II	nahezu ubiquitär, Niere, Knochenmark, Ovar- und Endometrium-tumorzellen	^{12, 6}

k. A. = keine Angaben; ¹BROWN u. REEVES 1983, ²KNOX et al. 1994, ³KOGO et al. 1999, ⁴CHENG et al. 2000, ⁵MILLAR et al. 2001, ⁶NEILL et al. 2001, ⁷OKUBO et al. 2001, ⁸ROBISON et al. 2001, ⁹WANG et al. 2001, ¹⁰ANDREU-VIEYRA u. HABIBI 2002, ¹¹BOGERD et al. 2002, ¹²GRÜNDKER et al. 2002, ¹³NEILL 2002, ¹⁴PAWSON et al. 2003, ¹⁵PETER et al. 2003, ¹⁶MILLAR et al. 2004, ¹⁷NEILL et al. 2004.

2.3.3 WIRKUNG UND REGULATION VON GNRH

Während die Wirkungen des m-GnRH bestens bekannt sind, sind die vieler anderer GnRH-Varianten eher unklar. Das m-GnRH kontrolliert die Gonadotropinsynthese und -sekretion (HAISENLEDER et al. 1994, SHACHAM et al. 2001, SOMOZA et al. 2002). Bei Tieren mit saisonalem Zyklus wie Schaf oder Pferd nimmt daneben auch Melatonin in Abhängigkeit von der Photoperiode Einfluss auf die m-GnRH-regulierte Gonadotropinfreisetzung (PARVIZI 2000).

Das m-GnRH liegt in den Nervenzellen in einer Form vor, bei der N- und C-terminale Domäne in räumlichen Kontakt treten (KARCK 1996). Die Neurone von etwa 1.000 Nervenzellen sezernieren es in das Portalvenengeflecht, das zur Hypophyse zieht (MILLAR et al. 2004). Die Neurone sind über gap junctions miteinander verbunden, bilden ein Netzwerk und können vermutlich deshalb auf einen Reiz synchron reagieren (MARTÍNEZ de la ESCALERA et al. 1992, TERASAWA 2001). Eine der neuronalen Zellen dient als Leitzelle, reagiert auf Grund eines spontanen Aktionspotentials mit einem Calciumanstieg, leitet das Aktionspotential auf die Nachbarneurone weiter, damit auch diese mit einem Calciumanstieg reagieren. Diese Depolarisationswelle führt zu einer oszillatorischen Calciumfreisetzung (TERASAWA 2001). Die dadurch aktivierte Phospholipase A₂ katalysiert die Umwandlung von Phospholipiden der Zellwand in Arachidonsäure, die mittels einer Cyclooxygenase in PGE₂ konvertiert. PGE₂ steigert die cAMP-Freisetzung. Die dadurch aktivierte Proteinkinase A initiiert wiederum die Exozytose von m-GnRH-Granula (McCANN et al. 2001).

Stickoxid reguliert die Sekretion von m-GnRH. Es wird von m-GnRH-Neuronen benachbarten Nervenzellen abgegeben und steigert intrazelluläres freies Calcium (McCANN et al. 2001), um damit an der Synchronisierung der neuronalen pulsatile m-GnRH-Sekretion beteiligt zu sein. Die Sekretion von Stickoxid wird durch Neuropeptid Y, Glutamat und Norepinephrin stimuliert. Die γ -Aminobuttersäure (GABA) beeinflusst je nach bindendem Rezeptortyp die m-GnRH-Sekretion entweder positiv (GABA_A-Rezeptor) oder negativ (GABA_B-Rezeptor; TERASAWA 2001). ATP, cAMP, Oxytocin und Leptin sowie m-GnRH selbst (im Rahmen eines ultra-short Feedbacks) sind an der Regulation der Sekretion des m-GnRH beteiligt (McCANN et al. 2001, TERASAWA 2001). Die Sekretion von m-GnRH unterliegt negativen Feedbacks. Einer der Regler ist Testosteron (KARCK 1996). Wie bereits erwähnt, hemmen endogene Opiate die Gonadotropinausschüttung (KARCK 1996). Östrogene können die FSH- und die LH-Freisetzung hemmen, indem sie die pulsatile m-GnRH-Freisetzung unterdrücken (HAISENLEDER et al. 1994).

Versuche an Ratten zeigten, dass durch höherfrequente m-GnRH-Ausschüttung die für die Gonadotropine kodierenden Gene vermehrt abgelesen werden (KARCK 1996) und bei kontinuierlicher Verabreichung von m-GnRH vermehrt mRNA, allerdings nur für die α -Untereinheit beider Gonadotropine, transkribiert wird (HAISENLEDER et al. 1994).

Vermutlich hat m-GnRH auch immunmodulierende Wirkungen und ist in die Entwicklung des Immunsystems involviert, da z. B. bei Jungsaunen mRNA für GnRH und Rezeptor in Organen bzw. Zellen des Immunsystems wie Milz, Thymus und Lymphozyten nachgewiesen werden konnte (WEESNER et al. 1997). Bei schwangeren Frauen steigert m-GnRH die Konzentration von plazentaren Prostaglandinen, Östrogenen, Progesteron und hCG (KARCK 1996, CHENG et al. 2000). Vermutlich ist das m-GnRH an der Regulierung der Proliferation tumorös entarteter Mammazellen der Frau beteiligt, wie Untersuchungen an Mammakarzinomzelllinien nahe legen. Es reduziert die Bildung bestimmter Proteine, die für Entwicklung und Aufrechterhaltung der Geschwülste notwendig sind. Aus diesem Grund wird es in der Tumorthherapie eingesetzt (CHEN et al. 2002).

Die Wirkung anderer GnRH-Varianten wurde sporadisch bei verschiedenen Tierarten getestet. Die Bedeutung des c-GnRH-II ist bislang ungeklärt, eine Beteiligung an der Regulation bestimmter Fortpflanzungsprozesse, inklusive Sexualverhalten und Gonadenfunktion, ist anzunehmen (MILLAR et al. 2001, NEILL 2002, SOMOZA et al. 2002, MILLAR 2003, KAUFFMAN u. RISSMAN 2004, NEILL et al. 2004). Erste konkrete Belege dafür wurden in Untersuchungen an weiblichen Krallenaffen ermittelt (BARNETT et al. 2006). Da die Struktur des c-GnRH-II über Jahrtausende erhalten blieb, ist seine Funktion vermutlich essentiell (TROSCHIE et al. 1997, MILLAR et al. 2001, SOMOZA et al. 2002, PAWSON et al. 2003). Es wird pulsatil freigesetzt (SILER-KHODR u. GRAYSON 2001). Wahrscheinlich ist es jedoch kein Regulator der Sekretion gonadotroper Hormone bei Säugetieren, da weitaus höhere Dosierungen als beim m-GnRH notwendig sind, um die Gonadotropinausschüttung zu stimulieren (McCANN et al. 2001, MILLAR et al. 2001, GAULT et al. 2003). Das c-GnRH-II ist vermutlich in das Paarungsverhalten von Riesenwimperspitzmäusen (TEMPLE et al. 2003) und von Ratten involviert (MILLAR 2003, KAUFFMAN u. RISSMAN 2004, NEILL et al. 2004). Vermutlich nimmt c-GnRH-II Einfluss auf die Steroidsynthese während der Gravidität von Pavian sowie Mensch (PAWSON et al. 2003), ist am Aufbau des menschlichen Plazentagewebes beteiligt (SILER-KHODR u. GRAYSON 2001) und möglicherweise in die embryonale Entwicklung der m-GnRH-Neurone involviert (MILLAR 2003).

Die Wirkung von c-GnRH-II als Neurotransmitter und/oder -modulator scheint erwiesen (TROSCHIE et al. 1997, MILLAR et al. 2001, SOMOZA et al. 2002, PAWSON et al. 2003). Sie ist beim Ochsenfrosch belegt (TROSCHIE et al. 1997, MILLAR 2003). Eventuell reguliert c-GnRH-II ähnlich wie m-GnRH die Proliferation tumoröser Mammazellen der Frau (CHEN et al. 2002, PAWSON et al. 2003). Bemerkenswert ist, dass c-GnRH-II stärker als m-GnRH antiproliferativ auf ovarielle und endometriale Tumorzellen wirkt (GRÜNDKER et al. 2002).

Wie die bei zahlreichen Tierarten vorliegenden GnRH-Varianten wirken, ist kaum bekannt. Die nur spärlichen Befunde werden nachfolgend skizziert. So stimulieren z. B. bei der Meerbrasse alle drei GnRH-Formen die Freisetzung von Gonadotropin-II (entspricht LH), wenn auch in unterschiedlicher Intensität. Das c-GnRH-II ist am potentesten. Die speziesspezifische Variante, das sb-GnRH, stimuliert die Gonadotropinsekretion in viel geringerem Ausmaß, obwohl es bei der Meerbrasse zum Teil in hohen Konzentrationen vorkommt. Ob die GnRH-Varianten der Meerbrasse auch an der Regulation der Sekretion von Gonadotropin-I (entspricht FSH) und Wachstumshormon beteiligt sind (ZOHAR et al. 1995), bleibt zu klären.

Beim Pejerreyfisch und Afrikanischen Wels stimulieren die jeweils speziesspezifischen Varianten pj- und cf-GnRH die Sekretion von Gonadotropin-II (SCHULZ et al. 1993, MONTANER et al. 2001, OKUBO et al. 2001) und Wachstumshormon (MONTANER et al. 2001).

Beim Zwergfadenfisch wird die Sekretion von s-GnRH als speziesspezifische Variante durch einen Schrittmacher im Nervus terminalis moduliert; Calcium ist dabei maßgeblich beteiligt (ABE u. OKA 2002). Möglicherweise reguliert s-GnRH seine eigene Freisetzung durch positive Rückkopplung (ABE u. OKA 2002). Es stimuliert beim Zwergfadenfisch die Sekretion von Gonadotropinen (SOMOZA et al. 2002). Bei Knochenfischen werden als Reaktion auf s-GnRH sowohl Wachstumshormon, Prolaktin, Somatolaktin als auch Thyreotropin sezere-

niert (SOMOZA et al. 2002). Das bei *Euphyllia ancora* vorkommende GnRH dürfte über die Anregung einer LH-Sekretion Bedeutung für die Eizellentwicklung haben (TWAN et al. 2006).

Die im Hypothalamus vom Rind nachgewiesene dritte GnRH-Form, die dem s-GnRH ähnelt, stimuliert in vitro dosisabhängig Hypophysenzellen der Ratten zur Sekretion von LH (YAHALOM et al. 1999).

Das beim Seeneunauge vorkommende I-GnRH-I ist in die Regulation der Östradiol- und Progesteronsynthese sowie des Ovulationsprozesses involviert (SOWER et al. 1987, YOUSON u. SOWER 1991). Vor allem während der Entwicklungsstufe Metamorphose kommt es beim Seeneunauge in nennenswerten Mengen vor (YOUSON u. SOWER 1991). Wird es bei Säugtieren und Vögeln wie Schaf, Ratte und Huhn angewendet, bleibt es wirkungslos, da sich an dritter Stelle dieses Dekapeptides, einzigartig unter den bisher bekannten GnRH-Formen, Tyrosin befindet, und I-GnRH-I dadurch offensichtlich nur speziesspezifisch bindet (SOWER et al. 1987).

Auch die zweite GnRH-Form des Seeneunauges, I-GnRH-II (SHERWOOD et al. 1986), scheint im Stadium der Metamorphose eine Rolle zu spielen (YOUSON u. SOWER 1991). Gründlicher untersucht ist das I-GnRH-III, welches beim Seeneunauge die Sekretion von Progesteron stimuliert, ohne die Effektivität von I-GnRH-I zu erreichen (SOWER et al. 1993). Die wesentliche Funktion des I-GnRH-III ist vermutlich die Regulation der Sekretion von Östrogenen, die nach Stimulation der hypophysären Gonadotropinsekretion angeregt wird (GAZOURIAN et al. 1997, 2000).

In Untersuchungen an Ratten führten nur die höchsten I-GnRH-III-Dosierungen zur LH-Freisetzung. Es war dabei 1.000fach schwächer wirksam als m-GnRH (LOVAS et al. 1998). Wurde synthetisch hergestelltes I-GnRH-III in niedriger Dosierung an weibliche Rinder appliziert, konnten erhöhte FSH-, nicht jedoch LH-Konzentrationen im Blutplasma festgestellt werden. Diese selektive Stimulation der FSH-Sekretion wird durch höhere Dosierungen (0,5 bis 2,0 mg) nivelliert; es erfolgt dabei die Sekretion beider Gonadotropine (DEES et al. 2001). Dazu im Widerspruch stehende Ergebnisse ermittelten KOVÁCS et al. (2002) und AMSTALDEN et al. (2004), die eine dosisabhängige, nicht-selektive Stimulation der Sekretion beider Gonadotropine bei Ratten und Kühen feststellten, und I-GnRH-III als „schwachen Konkurrenten“ um Bindungsstellen für m-GnRH bezeichnen (AMSTALDEN et al. 2004).

Beim kastrierten männlichen Schwein bewirkt das synthetisch hergestellte I-GnRH-III eine selektive FSH-Ausschüttung (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005). Nach Applikation von 150 µg dieser Substanz stiegen die Blutplasmakonzentrationen des FSH innerhalb der ersten Stunde abrupt um das Vielfache des Ausgangswertes an und blieben in den nächsten 10 Stunden erhöht. Die Sekretion von LH wurde nicht stimuliert.

2.3.4 EINSATZ VON GNRH ZUR STEUERUNG VON FORTPFLANZUNGSVORGÄNGEN BEI LANDWIRTSCHAFTLICHEN NUTZTIEREN

Bei landwirtschaftlichen Nutztieren sind m-GnRH und insbesondere seine Analoga therapeutisch von Bedeutung (RIPPEL et al. 1974, KNIGHT et al. 1988, IRVINE 1993, SOBIRAJ u. ZAREMBA 2000). Sie werden zur Ovulationsinduktion u. a. beim Schwein im Rahmen der Verfahren zur Ovulationssynchronisation genutzt, da damit sicher der präovulatorische LH-Peak auslösbar ist (KÖNIG u. BERGFELD 1979, RAASCH et al. 1989, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994, BRÜSSOW et al. 1996). Weit verbreitet ist der Einsatz von Gonadorelin[6-D-Phe] (RAASCH et al. 1988, WÄHNER et al. 1988, SCHLEGEL et al. 1989, KÖNIG et al. 1990, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994), das nach einer Vorbehandlung der Sauen mit eCG als Mittel zur Anregung des Follikelwachstums und als Brunststimulans appliziert wird (RAASCH et al. 1989, BRÜSSOW et al. 1996).

Beim Rind wird m-GnRH zur Therapie von Ovarialzysten sowie bei verzögerter Ovulation eingesetzt (GRUNERT 1999). Es findet zur Brunst- und Ovulationssynchronisation Einsatz, z. B. im Rahmen des von WILTBANK (1998) beschriebenen Ovsynch-Verfahrens, das auf einer kombinierten Anwendung von GnRH-Analoga und PGF_{2α} basiert (SOBIRAJ u. ZAREMBA 2000).

Beim anöstrischen Schaf stimuliert m-GnRH oder dessen Analogon das Follikelwachstum und kann zur Überwindung der saisonalen Anöstrie genutzt werden (RIPPEL et al. 1974, BANKOV et al. 1984, BARTLEWSKI et al. 2001). Gleiches ist bei der Ziege möglich (KNIGHT et al. 1988, MEDAN et al. 2002).

Bei der Stute wirken m-GnRH-Agonisten ovulationsinduzierend (PERKINS 1999). Wird m-GnRH pulsatil verabreicht, lassen sich Follikelreifung und Ovulation induzieren (IRVINE 1993). Durch subkutane Implantate, die m-GnRH enthalten und dieses über einen längeren Zeitraum sezernieren, ist eine Anöstrie zu therapieren bzw. eine Rosse mit Ovulation zu induzieren (MUMFORD et al. 1994, JÖCHLE 1995).

Besteht der Verdacht, dass Hengste nicht vollständig kastriert wurden oder kryptorche Hoden vorliegen, kann im Rahmen einer so genannten Provokationsprobe GnRH appliziert und die Testosteron-Antwort vorhandener Leydigischer Zwischenzellen gemessen werden (GLATZEL u. KELLER 1997). Bei Verdacht auf „Hypophyseninsuffizienz“ ist mit GnRH-Applikationen prüfbar, ob die Hypophyse zur Gonadotropinausschüttung in der Lage ist (BRINSKO 1996, GLATZEL u. KELLER 1997).

2.3.5 HINWEISE AUF EINE M-GNRH-UNABHÄNGIGE REGULATION DER FSH-SEKRETION

Unumstritten ist, dass GnRH die Sekretion sowohl von LH als auch von FSH stimuliert. Bei Schafen, deren Portalvenengeflecht katheterisiert wurde, konnte nachgewiesen werden, dass auf jeden GnRH-Puls LH und FSH sezerniert werden (Abbildung 8, PADMANABHAN u. McNEILLY 2001). Da auch FSH-Pulse auftraten, die nicht mit einem vorangegangenen GnRH-Puls assoziiert waren, war offensichtlich, dass die Gonadotropinsekretion unterschiedlich gesteuert wird. Mögliche Erklärungen hierfür, die der Übersichtsarbeit von PAD-

MANABHAN u. McNEILLY (2001) entnommen wurden, sind: 1. Unterschiede in der Frequenz der GnRH-Sekretion: Wird GnRH niederfrequent ausgeschüttet, soll vor allem FSH, bei hoher Frequenz vor allem LH sezerniert werden (KAISER et al. 1995, KAISER 1998, PADMANABHAN u. McNEILLY 2001). 2. Unterschiedliche Schwellenwerte: Geringe GnRH-Mengen sollen vor allem die FSH-Sekretion, hohe Mengen die LH-Sekretion stimulieren. Eine GnRH-unabhängige FSH-Ausschüttung ist damit jedoch nicht erklärbar. Gleichfalls irritiert, dass in vitro LH empfindlicher als FSH gegenüber GnRH reagiert (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001). 3. Unterschiedliche Reaktionszeiten gegenüber GnRH: Während eine Antagonisierung der GnRH-Ausschüttung die LH-Sekretion vollständig unterbindet, wird FSH auch dann sezerniert. Das zweite Gonadotropin scheint also zeitlich versetzt auf GnRH zu reagieren (SCHWARTZ et al. 1985), obwohl dieser Mechanismus nicht die überproportional größere Anzahl von FSH-Pulsen im Vergleich zu GnRH-assoziierten LH-Pulsen erklärt. Überdies führt in vitro exogen pulsatil zugeführtes GnRH zu synchroner Sekretion beider Gonadotropine (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001).

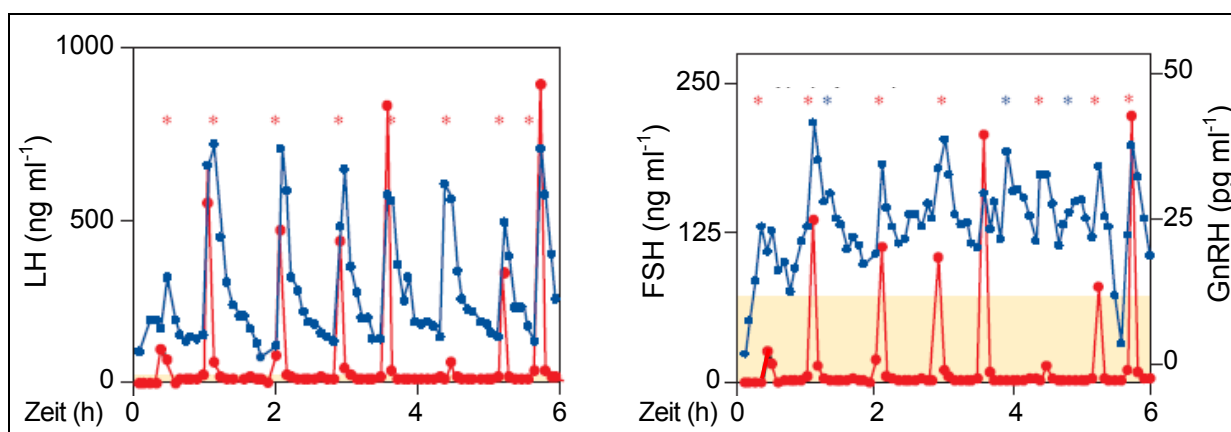


Abbildung 8: GnRH (links und rechts rot) sowie LH (links blau) bzw. FSH (rechts blau) in Hypophysenportalgefäßen eines ovarektomierten weiblichen Schafes während des Anöstrus (aus PADMANABHAN u. McNEILLY 2001)
Mit roten Sternchen markiert sind GnRH-assoziierte Gonadotropinpulse. Mit blauen Sternchen markierte Pulse sind nicht GnRH-assoziiert.

Neben der gonadotropen Kontrolle werden die Gonadotropine durch zahlreiche andere Faktoren wie ovarielle Steroide und die Peptidhormone Aktivin, Inhibin und Follistatin reguliert. Während Östradiol die hypophysäre Verteilung der LH-, nicht aber der FSH-Granula modelliert (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001), beeinflusst Testosteron offensichtlich selektiv die Ausschüttung von FSH bei Ratten (BHASIN et al. 1987). Aktivin stimuliert selektiv die Expression der mRNA für die β -Untereinheit des FSH (HAISENLEDER et al. 1994), so dass FSH verstärkt translatiert und sezerniert wird (CHILDS u. UNABIA 1997, McCANN et al. 1993). LH wird hingegen nicht beeinflusst. Im Unterschied dazu hemmt Inhibin nach dessen Bindung an den Aktivinrezeptor (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001) selektiv Synthese und Freisetzung von FSH (CHILDS u. UNABIA 1997, McCANN et al. 1993), da die Expression der mRNA seiner β -Untereinheit blockiert wird (HAISENLEDER et al. 1994). Die LH-Ausschüttung kann durch Gabe von δ -9-Tetrahydrocannabinol, dem wesentlichen psychoaktiven Bestandteil von Marihuana (WENGER et al. 1987), Äthylalkohol (RETTORI et al. 1987)

oder Zytokinen wie Interleukin1 α , inhibiert werden, ohne dass FSH-Pulse ausbleiben (McCANN et al. 1998, 2001).

Seit langem wird vermutet, dass es für das FSH neben dem m-GnRH (auch als LH-Releasing-Hormon bezeichnet) einen eigenen Releasing-Faktor (FSH-RF) gibt (IGARASHI u. McCANN 1964), der zusätzlich oder alternativ zu oben genannten Mechanismen in die Kontrolle der GnRH-Sekretion involviert ist (u. a. DÖCKE 1994, McCANN et al. 1993). Auf Beispiele für dessen Existenz wird nachfolgend eingegangen.

Nach Verabreichung eines m-GnRH-Antagonisten an Schafe wird nur die LH-, nicht aber die FSH-Ausschüttung unterdrückt (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001, PADMANABHAN et al. 2003).

Fundierte Indizien für einen separaten hypothalamischen FSH-RF ergeben sich aus Experimenten an Rattenhypophysen, die verschiedenen Hypothalamusextrakten exponiert wurden. Demnach wird nach Exposition mit rostralen Hypothalamusabschnitten (mediorostrale Eminentia mediana) eine zum darin gefundenen m-GnRH-Gehalt passende LH-Menge freigesetzt (McCANN et al. 2001). Im kaudalen Hypothalamus (kaudale Eminentia mediana, Hypophysenstiel und Nucleus arcuatus) war nur halb so viel m-GnRH enthalten wie im rostralen Bereich. Wurden Hypophysengewebe Extrakten aus beiden Bereichen ausgesetzt, unterschieden sie sich entsprechend der m-GnRH-Menge in der abgegebenen Menge an LH, während FSH in gleich hohen Konzentrationen sezerniert wurde (MIZUNUMA et al. 1983a). Diese differentielle Stimulation der Sekretion beider Gonadotropine überraschte (MIZUNUMA et al. 1983a, McCANN et al. 2001), konnte in späteren Untersuchungen jedoch untermauert werden. So war mit Hypothalamusextrakten die FSH-Sekretion in einem weitaus höheren Maß stimulierbar, als der m-GnRH-Gehalt dieser Extrakte erwarten ließ (MIZUNUMA et al. 1983b). Diese bei der Ratte beobachteten Phänomene konnten später auch bei Schafen nachgewiesen werden (LUMPKIN et al. 1987).

Bereits ältere Arbeiten weisen auf einen FSH-RF hin. So stellten SCHALLY et al. (1976) fest, dass in vitro bestimmte Hypothalamusextrakte vom Schwein oder vom Rind an Hypophysengewebe von Ratten die Freisetzung von FSH in stärkerem Maß stimulierten als die von LH. Auch FUCHS et al. (1979) konnten mit einem Hypothalamusextrakt vom Schwein Rattenhypophysen zur Sekretion von FSH anregen, obwohl im Extrakt kein m-GnRH nachweisbar war.

Nach elektrochirurgischer vollständiger Zerstörung der Eminentia mediana von Ratten wird schlagartig kein LH mehr sezerniert, während die Sekretion von FSH protrahiert nachlässt (BISHOP et al. 1971). Eng umschriebene Läsionen im rostralen Abschnitt unterbanden die LH-Ausschüttung gänzlich, während die FSH-Freisetzung davon unbeeinflusst blieb (LUMPKIN et al. 1989). Wurden ein dorsoanteriores Hypothalamusgebiet (LUMPKIN et al. 1989) oder der kaudale Abschnitt der Eminentia mediana (MARUBAYASHI et al. 1999) zerstört, verhielt es sich umgekehrt.

Bei elektrischer Stimulation der medialen präoptischen Region der Rattenhypophyse wurde nur LH, nicht aber FSH ausgeschüttet (KALRA et al. 1971). Wurde hingegen weiter kaudal – im rostralen Teil des Hypothalamus in der Umgebung der Eminentia mediana nahe des Nucleus infundibularis – stimuliert, erfolgte die Sekretion beider Gonadotropine (KALRA et al. 1971). Die Stimulation des rostradorsalen Bereiches des Hypothalamus bewirkte eine selektive FSH-Freisetzung (McCANN et al. 2001). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die FSH regulierenden Neurone vermutlich in der mittleren und kaudalen Eminentia mediana lokalisiert sind (McCANN et al. 1998, MARUBAYASHI et al. 1999, McCANN et al. 2001), während die mediale präoptische Region für die LH-Ausschüttung verantwortlich zu sein scheint (McCANN et al. 1998, 2001).

PADMANABHAN und McNEILLY (2001) entwickelten aus bisher bekannten Befunden ein Modell zur Steuerung der FSH-Ausschüttung, das auch einen präsumtiven FSH-RF einschließt (Abbildung 9).

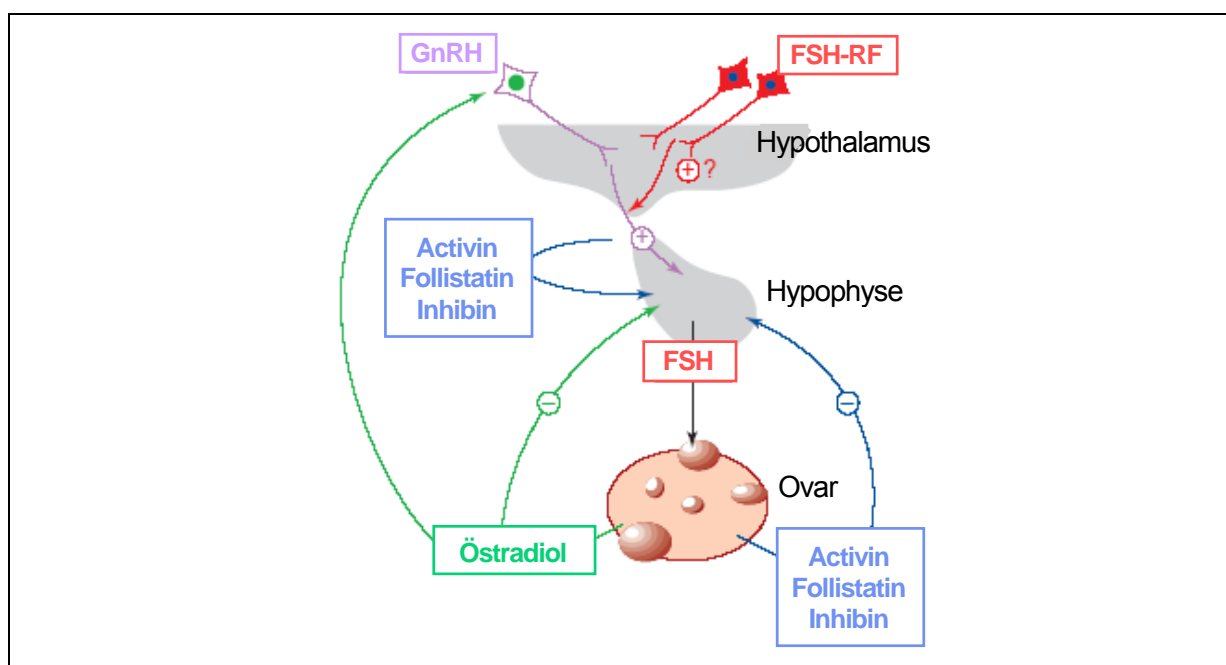


Abbildung 9: Modell der FSH-Regulation (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001)

Ob tatsächlich ein solcher hypothalamischer FSH-RF existiert, bleibt derzeit offen. Die Forschungsaktivitäten richten sich auf die verschiedenen bisher entdeckten GnRH-Varianten, die als potenzielle FSH-RF diskutiert werden (PADMANABHAN u. McNEILLY 2001). Hervorzuheben sind hierbei die Arbeiten von YU et al. (1997, 2000) und McCANN et al. (2001), die mehrfach nachwiesen, dass I-GnRH-III selektiv die FSH-Sekretion bei Ratten in vitro und in vivo stimuliert. Ähnliches konnte auch bei Kühen gezeigt werden, die nach intravenöser Applikation von I-GnRH-III in der Lutealphase selektiv FSH sezernierten und daraufhin multiple Follikel anbildeten (DEES et al. 2001). Bei verschiedenen Säugetieren (Ratte, Mensch, Rind) wurden I-GnRH-III-positive hypothalamische Regionen immunhistologisch nachgewiesen (DEES et al. 1999, HINEY et al. 2002). Fraktionen von Hypothalamusextrakten der Ratte, die nachweislich I-GnRH enthielten, konnten mit I-GnRH-Antiserum neutralisiert werden (YU et al. 2000). Es wurde deshalb geschlossen, dass I-GnRH-III möglicherweise für eine sepa-

rate Kontrolle der FSH-Sekretion verantwortlich ist und vielleicht den seit langem gesuchten FSH-RF repräsentiert (McCANN et al. 2001).

Wie bereits erwähnt, kann auch bei kastrierten männlichen Schweinen selektiv die Sekretion von FSH stimuliert werden, wenn ihnen synthetisch hergestelltes I-GnRH-III intramuskulär verabreicht wurde (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005). Da I-GnRH-III weder an den menschlichen GnRH-I-Rezeptor noch den GnRH-II-Rezeptor des Affen bindet, wie Untersuchungen mit experimentell entsprechend ausgestatteten COS-1-Zellen belegen (NEILL 2002), wirkt I-GnRH-III beim kastrierten Eber möglicherweise über spezifische Rezeptoren (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005). Ähnliches wird für die Ratte angenommen (YU et al. 2002).

Insgesamt scheinen sich die bereits vor längerer Zeit aufgestellten Hypothesen von MIZUNUMA et al. (1983a) zu bestätigen, dass ein potenzieller FSH-RF ein Dekapeptid und strukturell vergleichbar mit dem m-GnRH ist. Ob die Aminosäuren der Stellen fünf bis acht bedeutsam für die FSH-Freisetzung sind, ist zu überprüfen (McCANN et al. 2001).

3 TIERE, MATERIAL UND METHODE

3.1 ZIELSTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte überprüft werden, ob das synthetische I-GnRH-III (= Peforelin), enthalten in dem Präparat Maprelin® XP10, zur Brunstinduktion bei abgesetzten pluriparen Sauen geeignet ist.

1 ml Maprelin® XP10 enthält:

Peforelin	75,0 µg
Chlorkresol	1,0 mg
Essigsäure 1 N	4,0 mg
Natriumhydroxid 20 % (pH-Wert-Einstellung)	0,5 bis 2,0 mg
Wasser für Injektionszwecke	ad 1,0 ml.

In einem ersten Versuchsabschnitt wurden verschiedene Dosierungen des Wirkstoffs sowie unterschiedliche Injektionszeitpunkte bei Altsauen nach dem Absetzen erprobt, um in einer zweiten Phase die geeignetste Variante an einer größeren Tierzahl im Vergleich zu einer eCG- bzw. einer Placebo-Gruppe zu testen. Zur Beurteilung der Eignung der Varianten wurden die in Kapitel 3.10 aufgeführten Parameter erhoben und zwischen den Gruppen verglichen.

Sowohl in der Dosisfindungsstudie als auch in der Studie zur klinischen Wirksamkeit wurden die Tiere in demselben Versuchsbetrieb unter identischen Bedingungen gehalten, so dass Tiere und Versuchsbedingungen vergleichbar waren.

3.2 VERSUCHSABSCHNITTE

3.2.1 UNTERSUCHUNGEN ZUR DOSISFINDUNG

In diesen Versuchsabschnitt wurden insgesamt 88 Tiere einbezogen. Die verschiedenen getesteten Dosierungen und Injektionszeitpunkte nach dem Absetztermin gehen aus der Tabelle 9 hervor.

Tabelle 9: Behandlungen der Tiere der Gruppen 1 bis 6 zur Dosisfindung

Gruppe	Dosis (µg je Tier)	Injektionszeitpunkt nach dem Absetzen (h)	Anzahl der Probanden (n)
1	100	24	18
2	150	0	10
3	150	24	15
4	150	48	10
5	187,5	24	24
6	225	24	11

Die Injektionen erfolgten jeweils tief in die Halsmuskulatur mittels sterilen BD Microlance™ 3-Kanülen der Größe 18G; 1,2 x 50 mm (Becton Dickinson Ltd., Drogheda, Ireland) und sterilen Norm-Ject®-Einmalspritzen 10 ml (Henke Sass Wolf GmbH, Tuttlingen). Dabei wurde an

der kaudalen Begrenzung des dünn behaarten Bereiches hinter dem Ohransatz in medialer, leicht kaudaler Richtung eingestochen.

In diesem Abschnitt wurden ausgewählte Parameter aus der Liste in Kapitel 3.10 ausgewertet. Es wurden die Östrusrate, das Absetz-Östrus-Intervall sowie die Trächtigkeitsrate bestimmt.

3.2.2 UNTERSUCHUNGEN ZUR KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

Von den im Wochenrhythmus abgesetzten Sauengruppen wurden 313 pluripare Tiere in diesen Versuchsabschnitt einbezogen. Die Sauen wurden nach dem Zufallsprinzip drei Gruppen zugeordnet und 24 Stunden nach dem Absetzen, wie in Tabelle 10 dokumentiert, behandelt.

Tabelle 10: Behandlungen der Tiere der Gruppen I bis III zur Prüfung der klinischen Wirksamkeit

Gruppe I Peforelin (n = 103)	Je Tier 2 ml Maprelin® XP10 i.m. (pro 1 ml sind 75 µg Peforelin enthalten, Veyx-Pharma GmbH, Schwarzenborn)
Gruppe II eCG (n = 107)	Je Tier 16 ml Prolosan® s.c. (entsprechend 800 IE eCG; 1 ml enthält 50 IE des flüssigkonservierten Hormons, Impfstoffwerk Dessau Tornau-GmbH, Rodleben)
Gruppe III Placebo (n = 103)	Je Tier 2 ml 0,9%ige Kochsalzlösung i.m. (isotonische Kochsalzlösung, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg)

In die Gruppe I wurden auch die 15 Tiere einbezogen, die im ersten Versuchsabschnitt 24 Stunden nach dem Absetzen mit 150 µg Peforelin (Gruppe 3) behandelt worden waren.

Die intramuskulären Injektionen erfolgten, wie vorher beschrieben (Kapitel 3.2.1), tief in die Halsmuskulatur. Die subkutanen Injektionen wurden in der gleichen Lokalisation, aber mit dorsoventraler Führung der Kanüle durchgeführt.

Die durchschnittliche Wurfleistung im vorangegangenen Wurf, die mittlere Wurfnummer und auch die Säugezeit waren in allen drei Gruppen vergleichbar (Tabelle 11).

Tabelle 11: Angaben zur Wurfnummer, Wurfleistung und Dauer der Säugezeit der Tiere der Gruppen I bis III im vorangegangenen Wurf

	Gruppe I Peforelin (n = 103) $\bar{x} \pm s$	Gruppe II eCG (n = 107) $\bar{x} \pm s$	Gruppe III Placebo (n = 103) $\bar{x} \pm s$
Wurfnummer	4,1 ± 1,8	3,8 ± 1,7	4,1 ± 1,7
insgesamt geborene Ferkel/Wurf	11,8 ± 2,6	12,2 ± 2,3	12,1 ± 2,1
lebend geborene Ferkel/Wurf	11,2 ± 2,6	11,9 ± 2,3	11,6 ± 2,1
tot geborene Ferkel/Wurf	n	0,6 ± 1,0	0,5 ± 0,9
	(%)	4,8 ± 8,2	3,9 ± 6,7
abgesetzte Ferkel/Wurf	10,1 ± 1,3	10,0 ± 1,5	10,0 ± 1,3
Dauer Säugezeit (Tage)	27,1 ± 0,8	27,2 ± 1,0	27,4 ± 0,8

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Die angewendeten statistischen Tests sind in Kapitel 3.12 beschrieben.

3.3 VERSUCHSTIERE

Die Untersuchungen in beiden Versuchsabschnitten erfolgten an Altsauen (Wurfnummer ≥ 2) mit einer vorausgegangenen Säugezeit von 25 bis 31 Tagen. Die Tiere gehörten entweder der Rasse Deutsches Edelschwein (DE) an oder waren Hybriden aus DE und Leicoma (LC). Nur die Sauen, die nachfolgende Kriterien zu Untersuchungsbeginn erfüllten, wurden involviert:

- im vorausgegangenen Puerperium keine Puerperalerkrankungen
- guter Ernährungszustand (Zuchtkondition)
- ungestört erscheinendes Allgemeinbefinden
- äußeres Genitale ohne besonderen Befund (keine Rötung, kein Ausfluss)
- transkutane Sonographie vor Versuchsbeginn: keine Ovarialzysten, Gelbkörper oder pathologische Uterusbefunde
- Vollständigkeit der erhobenen Daten.

In der Untersuchung zur Dosisfindung konnten anhand dieser Kriterien alle 88 vorausgewählten Tiere ausgewertet werden. In der Untersuchung zur klinischen Wirksamkeit fielen zwei Sauen vorzeitig aus der Bewertung, da sie bei der sonographischen Untersuchung vor der Injektion des entsprechenden Präparates multiple Ovarialzysten aufwiesen. Vier Sauen konnten nicht ausgewertet werden, da die Daten unvollständig waren. Insgesamt konnten nach der Vorselektion 103, 107 bzw. 103 Sauen in den Gruppen I, II bzw. III ausgewertet werden.

3.4 VERSUCHSZEITRAUM, ANGABEN ZUM VERSUCHSBETRIEB

Die Untersuchungen fanden von Februar 2002 bis März 2003 statt. Sie wurden in einem Ferkelerzeugerbetrieb in Sachsen-Anhalt mit eigener Jungsauenaufzucht durchgeführt, der über 1.000 Sauenplätze verfügte. Der Betrieb praktiziert ein System des gruppenweisen Ab-

ferkelns im Sieben-Tage-Rhythmus. Im Wirtschaftsjahr 2001 erreichte der Betrieb 20,49 abgesetzte Ferkel je Sau (ab erster Belegung) und Jahr. Im Jahr 2002 wurden 20,87 Ferkel je Sau und Jahr abgesetzt.

3.5 HALTUNG

Die Anlage gliedert sich in fünf voneinander getrennte Abferkelabteile mit je 44 Plätzen für abferkelnde und säugende Sauen. Die Tiere standen in Einzelbuchten mit Bügelfixierung auf teilperforiertem Boden (Tenderfoot). Für die Ferkel standen innerhalb dieser Einzelbuchten Ferkelnester mit planbefestigtem Boden und Wärmelampen zur Verfügung.

Direkt nach dem Absetzen wurden die Sauen in den Besamungsstall verbracht, wo sie in Kastenständen mit teilperforiertem Boden (Gitterroste) aufgestellt waren. Dabei wurden die Tiere derselben Abferkelgruppe in benachbarten Ständen untergebracht.

Zur Besamung aufgestellte Jungsauen wurden in einem separaten Stallabteil in Kastenständen auf Vollspaltenboden gehalten. In diesem Stall befanden sich im Eingangsbereich zwei Einzelboxen von etwa 4 m² Größe, in denen zwei zur Stimulation und Brunstkontrolle eingesetzte Eber untergebracht waren.

Etwa die Hälfte der Wochengruppen tragender Sauen verblieb während der Trächtigkeit bis etwa eine Woche vor dem errechneten Geburtstermin in den Kastenständen. Die andere Hälfte wurde in wechselnder Folge ab dem 35. bis 42. Trächtigkeitstag in einen Wartestall mit 38 Gruppenbuchten verbracht und dort auf Vollspaltenboden in Gruppen von je sechs bis acht Tieren gehalten.

Die Umstallung der hochtragenden Tiere in den Stall für abferkelnde und säugende Sauen erfolgte freitags vor dem errechneten Abferkeltermin (durchschnittlich am 108. Trächtigkeitstag). Am darauffolgenden Donnerstagvormittag (durchschnittlich 114. Trächtigkeitstag) erhielten die Sauen, die bis dahin nicht spontan abgeferkelt hatten, zur Partusinduktion eine einmalige intramuskuläre Injektion von 175 µg Cloprostenol (PGF_{2α}-Analogon) pro Tier.

Für die Ferkel- und Jungsauenaufzucht standen gesonderte Abteile zur Verfügung.

3.6 BESAMUNGSMANAGEMENT

Wie im Betrieb üblich, so wurden auch alle Versuchssauen künstlich besamt. Entsprechend dem im Betrieb praktizierten Zuchtprogramm wurde eine Kernsauenherde der Rasse DE (27 % der Versuchssauen) gehalten, die zur Erzeugung der eigenen Remontetiere diente. Es wurden verschiedene Gebrauchskreuzungen unter wechselndem Einsatz von Ebern von drei Mutterassen (DE, LC und Deutsche Landrasse) angewendet. Die zum Verkauf bestimmten Ferkel wurden durch Belegung der Sauen mit flüssigkonserviertem Sperma der Rasse Pietrain erzeugt.

Das gruppenweise Absetzen erfolgte jeweils mittwochs um 14.00 Uhr; die Tiere wurden dul-
dungsorientiert besamt. Brunstkontrollen fanden jeweils um 7.00 Uhr und um 15.00 Uhr statt,
begannen am Sonntag (vierter Tag) nach dem Absetzen und wurden bis zum Brunstende
fortgesetzt.

Die Brunstkontrolle wurde von zwei Personen durchgeführt. Eine Person führte dabei einen
Sucheber auf dem Futtergang entlang, während die zweite Person auf dem Mistgang die
Sauen auf Brunst kontrollierte (Rötung, Schwellung und Duldung).

Brünstige Sauen einer Gruppe wurden nacheinander besamt. Die Anzahl und die Zeitpunkte
der Inseminationen je Einzeltier variierten in Abhängigkeit von den Brunsteintritten und der
Dauer der Östren. Sauen mit erstmalig am Sonntag oder Montagmorgen registriertem Dul-
dungsreflex erhielten die erste künstliche Besamung am Montagmittag (ca. 14.00 Uhr) und
die zweite Insemination am Dienstagmorgen (ca. 8.00 Uhr). Bei anhaltendem Östrus folgte
am Mittwochmorgen (ca. 10.00 Uhr) eine dritte Besamung. War der Duldungsreflex weiterhin
auslösbar, wurde am Donnerstag (ca. 10.00 Uhr) eine vierte Insemination vorgenommen.

Sauen, die erstmals am Dienstagmorgen duldeten, erhielten die erste Besamung bereits am
Dienstagmorgen, die zweite am Mittwochmorgen und, sofern sie noch duldeten, eine dritte
am Donnerstagmorgen. Tiere, die an einem späteren Tag der Woche erstmals Duldungsre-
flex zeigten, wurden am Tag der ersten Duldung und bei weiter bestehendem Östrus an den
folgenden Tagen jeweils um ca. 10.00 Uhr besamt.

War bis zum Nachmittag des siebten Tages nach dem Absetzen (Mittwoch) keine Duldung
eingetreten, galt das Tier als nicht in die Brunst gekommen.

Die Anzahl Besamungen innerhalb eines Östrus war innerhalb und zwischen den Gruppen
homogen verteilt. Der überwiegende Teil der Sauen (63,3 %, 65,0 % bzw. 61,4 % in den
Gruppen I, II und III) wurde zweimal besamt, etwa ein Drittel der Tiere erhielt drei Besamun-
gen (31,6 %, 31,1 % bzw. 38,6 % in den Gruppen I, II und III). Lediglich drei Sauen aus
Gruppe I und vier aus Gruppe II wurden einmalig inseminiert, bei zwei Tieren der Gruppe I
wurden vier Besamungen durchgeführt.

Ab der dritten Woche post inseminationem wurde bei den Sauen eine Umrauscherkontrolle
durchgeführt. In der vierten Woche wurden sie sonographisch auf Trächtigkeit untersucht.

3.7 IMPFREGIME

Alle Altsauen wurden in der zweiten Woche vor dem voraussichtlichen Besamungstermin
gegen Parvovirose und Rotlauf geimpft. Jungsauen erhielten im Alter von etwa 200 Tagen
eine Grundimmunisierung und eine weitere Impfung drei Wochen später (in beiden Al-
tersgruppen Parvoruvac[®], Merial GmbH, Halbergmoos). Zur Rhinitis atrophicans-Prophylaxe
erhielten alle Sauen in der vierten Woche post inseminationem und in der 12. Trächtigkeit-
woche einen Kombinationsimpfstoff mit inaktivierten *Bordetella bronchiseptica*- und *Pasteu-
rella multocida*-Stämmen (Respiporc ART + EP, Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Rod-

leben). In der 11. und 14. Trächtigswoche erfolgte eine Immunisierung der Muttertiere gegen *Escherichia coli* (Coliporc Plus, Impfstoffwerk Dessau-Tornau GmbH, Rodleben).

3.8 FÜTTERUNG UND TRÄNKUNG

Die Tiere wurden phasenweise mit selbst hergestellten Alleinfuttermitteln für abgesetzte und tragende bzw. für abferkelnde und laktierende Sauen gefüttert. Als Komponenten wurden Gerste, Weizen, Triticale, Sojaextraktionsschrot, Protex, Weizenkleie, Trockenschnitzel sowie Sojaöl verwendet und handelsübliche Mineralstoffvormischungen hinzugefügt. Bei Protex handelt es sich um ein Ergänzungsfuttermittel mit 97 % Fischmehlanteil (Köster GmbH & Co. KG, Bremen). Laut Futtermittelanalyse der Spezialfutter Neuruppin GmbH & Co. KG, Neuruppin, enthielten die an die Versuchstiere verabreichten Futtermittel die in den Tabellen 12 und 13 aufgelisteten Komponenten bzw. Inhaltsstoffe.

Die eingesetzten Mineralstoffvormischungen Sau-Min 16 und Sauen M enthielten Calciumcarbonat, Natriumchlorid, Mono-Calcium-Phosphat, Weizenkleie, Calcium-Natrium-Phosphat sowie eine Spurenelement- und Vitaminvormischung (Spezialfutter Neuruppin GmbH & Co. KG, Neuruppin; Tabelle 14).

Für die tragenden, in Gruppen gehaltenen Sauen wurde das Futter (Futtermischung für abgesetzte und tragende Sauen) in flüssiger Form in einen Gruppentrog mit acht abgeteilten Fressplätzen geleitet. In den Ställen mit Kastenständen erfolgte die Zuteilung der Futtermischung für abgesetzte und tragende Sauen als Trockenfütterung individuell über Volumendosierer in einer Menge, bei der die Wurfnummer und Körperkondition berücksichtigt wurde. Die in den Kastenständen untergebrachten hochtragenden Sauen bekamen zusätzlich zur Mischung für abgesetzte und tragende Sauen ab der fünften Woche vor der Abferkelung bis zum Umstallen in den Stall für abferkelnde und säugende Sauen täglich einmal 1 kg der Mischung für abferkelnde und laktierende Sauen von Hand zuteilt. Nach der Umstallung in den Abferkel- und Säugendenstall erhielten die Tiere ihre Trockenfütterration individuell aus Volumendosierern. In der ersten Woche p. p. erfolgte die Fütterung per Hand, anschließend über individuelle Zuteilung aus Volumendosierern.

Wasser war den Tieren ad libitum zugänglich. Sowohl im Gruppenwartestall als auch im Abferkel- bzw. Säugendenbereich standen den Sauen Zapfentränken zur Verfügung. In den Besamungs- und Warteställen wurde der Trinkwasserzustrom automatisch über ein Sensorensystem im Futtertrog reguliert.

Tabelle 12: Rationszusammensetzung für abgesetzte und tragende bzw. abferkelnde und laktierende Sauen (Futtermittel)

Futtermittel	Futtermischung für abgesetzte und tragende Sauen	Futtermischung für abferkelnde und laktierende Sauen
Gerste	47,50 %	18,00 %
Weizen	–	38,30 %
Triticale	15,00 %	16,00 %
Sojaextraktionsschrot	4,50 %	15,30 %
Protex	–	3,00 %
Weizenkleie	15,00 %	–
Trockenschnitzel	15,00 %	4,00 %
Sojaöl	0,50 %	1,80 %
Sau-Min 16*	–	3,60 %
Sauen M*	2,50 %	–

* siehe Tabelle 14

Tabelle 13: Rationszusammensetzung für abgesetzte und tragende bzw. abferkelnde und laktierende Sauen (Inhaltsstoffanalyse) (pro kg)

Analysenergebnis	Futtermischung für abgesetzte und tragende Sauen	Futtermischung für abferkelnde und laktierende Sauen
Trockenmasse	88,61 %	88,74 %
Rohfaser	7,58 %	3,96 %
Rohprotein	12,45 %	17,93 %
Rohfett	2,63 %	3,63 %
Rohasche	5,32 %	5,99 %
Metabolisierbare Energie	11,31 MJ	13,22 MJ
Lysin	0,53 %	1,00 %
Methionin/Cystein	0,44 %	0,59 %
Threonin	0,43 %	0,62 %
Tryptophan	0,24 %	0,23 %
Calcium	0,71 %	1,02 %
Phosphor	0,56 %	0,65 %
Natrium	0,20 %	0,23 %
Magnesium	0,19 %	0,14 %
Vitamin A	7.500 IE	14.400 IE
Vitamin D ₃	750 IE	1.800 IE
Vitamin E	26,26 mg	70,59 mg

Tabelle 14: Inhalts- und Zusatzstoffe der in den Rationen eingesetzten Mineralstoffvorbmischungen Sau-Min 16 und Sauen M (pro kg)

Inhalts- und Zusatzstoffe	Sau-Min 16	Sauen M
Phosphor	6,0 %	5,0 %
Calcium	20,0 %	21,0 %
Natrium	5,0 %	6,0 %
Lysin	3,75 %	–
Vitamin A	400.000 IE	300.000 IE
Vitamin D ₃	50.000 IE	30.000 IE
Vitamin E	1.750 mg	750 mg
Kupfer	750 mg	800 mg

3.9 SONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN

Zur Erfassung des Follikelwachstums nach der Behandlung wurden alle Sauen ultrasonographisch untersucht. Dazu wurde das Ultraschallgerät HS 2000 (Honda electronics Co. Ltd., Tokio, Japan) eingesetzt (Abbildung 10). Es handelte sich dabei um ein tragbares Gerät mit ausklappbarer Tastatur, mehreren Schallsonden und vielfältigen Bildsteuerungsmöglichkeiten. Dieses Gerät war zur Darstellung der Ovarien des Schweines sehr gut geeignet.



Abbildung 10: Zur sonographischen Untersuchung verwendetes Ultraschallgerät und Geräte zur Datenerfassung

- 1 Laptop zur Bildspeicherung und -verarbeitung
- 2 Ultraschallgerät HS 2000 (Honda electronics Co. Ltd., Tokio, Japan)
- 3 Auslöser zur Bildaufzeichnung (umprogrammierte Computermaus)
- 4 Dazzle-Bridge (Verbindungseinheit zwischen Laptop und Ultraschallgerät)
- 5 Linearschallkopf der Multifrequenz-Schallsonde (HLS-475VWF; Honda electronics Co. Ltd., Tokio, Japan)

Die Befunde wurden mit dem Computerprogramm SonoWinlite[®] dokumentiert, das mittels an das Ultraschallgerät angeschlossenen Laptop neben Standbildern auch kurze Bildsequenzen archivieren konnte (SCHWERIN 1998).

Die Untersuchungen wurden mit einer Multifrequenz-Linearschallsonde (HLS-475VWF; Honda electronics Co. Ltd., Tokio, Japan) bei einer Schallfrequenz von 5 MHz durchgeführt. Mit Hilfe von Ultraschallgel (Serumwerk Bernburg AG, Bernburg) wurde der Kontakt zwischen Schallkopf und Haut vermittelt. Die Untersuchungen wurden transkutan durchgeführt. Dabei wurde der Schallkopf in der rechten Kniefaltenregion des stehenden, unfixierten Tieres von außen an die Bauchwand geführt (Abbildung 11) und das Abdomen durch Bewegen des Schallkopfes in verschiedenen Richtungen kontinuierlich abgesucht. Sowohl Anschnitte des Uterus als auch das rechte und das linke Ovar waren in den meisten Fällen in diesem Bereich aufzufinden. Waren die Ergebnisse der Untersuchung auf der rechten Körperseite zweifelhaft oder war nicht mindestens ein Ovar aufzufinden, wurde nochmals von der linken Körperseite aus untersucht. Das Auffinden eines Ovars wurde für die Befundaussage zum Zyklusstand und zur Beurteilung des Ovulationsverlaufes für ausreichend betrachtet (KAUFFOLD 1995, 2004a).

Die erste sonographische Ovaruntersuchung erfolgte am Tag nach dem Absetzen unmittelbar vor der Injektion des Prüfpräparates und der Vergleichspräparate. Ab Tag vier nach dem Absetzen wurden alle duldbaren Tiere täglich zweimal im 12-Stundenabstand (7.00 Uhr und 19.00 Uhr) untersucht, bis die Ovulation abgeschlossen war. Sauen ohne Duldungsreflex wurden nur einmal täglich (um 7.00 Uhr), längstens bis zum siebten Tag nach dem Absetzen (Mittwoch) untersucht.



Abbildung 11: Sonographische Untersuchung einer Sau im Kastenstand

- A: Der Untersucher begibt sich dabei in den Kastenstand der Sau, während das Ultraschallgerät auf dem Mistgang steht.
- B: Position des Schallkopfes in der rechten Kniefaltenregion während der Ultraschalluntersuchung.

Funktionskörper an den Ovarien (Follikel, Corpora haemorrhagica, Corpora lutea, Zysten) wurden in Anlehnung an KAUFFOLD et al. (2004c) dokumentiert. Sonographisch zeigen sich Follikel als schwarze, kugelförmige Gebilde, die kurz vor der Ovulation ihre runde Gestalt

verlieren und polygonal erscheinen (KAUFFOLD et al. 1997, SOEDE et al. 1998, KAUFFOLD 2004a). Corpora haemorrhagica stellen sich in homogener Textur und grau dar. Corpora lutea werden sonographisch homogen und weißlich dargestellt. Zysten ähneln meist im Erscheinungsbild den Follikeln, sind jedoch wesentlich größer als diese (KAUFFOLD et al. 2004c). Die Charakteristika der Funktionskörper sind in Kapitel 2.1 bereits ausführlich beschrieben (u. a. KUNAVONGKRIT et al. 1982, BRITT et al. 1985, LEISER et al. 1988, LUCY et al. 2001). Waren Follikel darstellbar, wurden zwei bis vier Follikel von repräsentativer Größe vermessen. Der Durchmesser wurde mit einer Genauigkeit von 1/10 Millimeter angegeben.

Die sonographischen Trächtigkeitsuntersuchungen wurden in der vierten Woche nach der Besamung jeweils dienstags durchgeführt.

Um einen Einfluss der Körperkondition auf die Befunde auszuschließen, erfolgte am Tag nach dem Absetzen vor der Injektion der jeweiligen Substanz die sonographische Messung der Seitenspeckdicke der Sauen mit dem beschriebenen Gerät HS 2000. Der Linearschallkopf wurde hierfür handbreit median der Wirbelsäulenlinie in Höhe des letzten Rippenpaares sowie handbreit davor und dahinter jeweils median auf die Haut gelegt (Abbildung 12), so dass der Abstand zwischen Cutis und Fascia lumbodorsalis gemessen und als Seitenspeckdicke an der jeweiligen Messstelle ausgewiesen werden konnte. Aus den drei Messwerten wurde das arithmetische Mittel errechnet und als Seitenspeckdicke für das jeweilige Tier angegeben (CISNEROS et al. 1996).

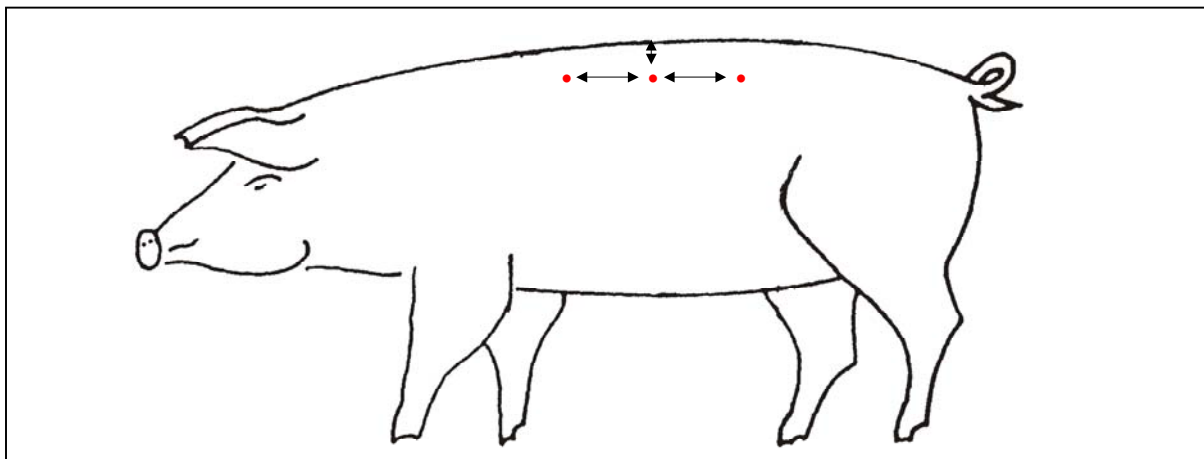


Abbildung 12: Messpunkte (rot) für die Erhebung der Seitenspeckdicke

In der Studie zur klinischen Wirksamkeit wiesen die Sauen direkt nach dem Absetzen durchschnittlich 15 bis 16 mm Seitenspeckdicke auf und unterschieden sich weder in noch zwischen den Gruppen (Statistik siehe Kapitel 3.12; Tabelle 15). Da der erste Versuchsabschnitt zur Dosisfindung als Vorversuch galt, wurden zusätzliche Parameter, die in der zweiten Versuchsphase ausgewertet wurden – so auch die Speckdickenmessungen – nicht in die Analyse der Fruchtbarkeitsdaten involviert.

Tabelle 15: Seitenspeckdicke der Sauen der Gruppen I bis III

		Seitenspeckdicke nach dem Absetzen			$\bar{x} \pm s$ (mm)
		< 18,0 mm	18,0 bis 23,9 mm	> 23,9 mm	
Gruppe I Peforelin (n = 103)	n	72	22	9	16,0 ± 5,3
	%	69,9	21,4	8,7	
Gruppe II eCG (n = 107)	n	82	17	8	15,4 ± 4,8
	%	76,6	15,9	7,5	
Gruppe III Placebo (n = 103)	n	67	31	5	16,1 ± 4,5
	%	65,0	30,1	4,9	

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Die angewendeten statistischen Tests sind in Kapitel 3.12 aufgeführt.

3.10 **ERFASSTE PARAMETER**

Die erfassten Parameter dienen der Charakterisierung des Brunstgeschehens, des Follikelwachstums und des Ovulationsverlaufs sowie des Umrauscher-, Trächtigkeits- und Abferkelresultates.

Nachfolgende Definitionen wurden dazu etabliert: Eine Brunstkontrolle galt als positiv, wenn der Duldungsreflex auslösbar war. Als Zeitpunkt des Brunstbeginns wurde die zeitliche Mitte zwischen der letzten negativ und der ersten positiv befundenen Brunstkontrolle angenommen (SCHULZ 1998, STEVERINK et al. 1999). Bei Sauen, die bereits am Sonntagmorgen also vier Tage nach dem Absetzen duldeten, wurde unterstellt, dass der Duldungsreflex sechs Stunden zuvor erstmalig aufgetreten ist. Als Brunstende wurde die zeitliche Mitte zwischen der letzten positiv und der ersten negativ diagnostizierten Brunstkontrolle angenommen (SCHULZ 1998, STEVERINK et al. 1999). In Anlehnung an WEITZE et al. (1994) wurde zur Realisierung einer Vergleichbarkeit der ermittelten Werte des Brunstgeschehens definiert, dass die abendliche sonographische Untersuchung und die nachmittägliche Brunstkontrolle zeitgleich um 19.00 Uhr durchgeführt wurden.

Konnten bei der sonographischen Untersuchung neben Graafschen Follikeln Corpora haemorrhagica diagnostiziert werden, wurde angenommen, dass sich das Tier in der Ovulation befand und dieser Befund als Zeitpunkt der Ovulation definiert. Waren keine Follikel, aber ausschließlich Corpora haemorrhagica zu sehen, galt die Ovulation als abgeschlossen. Als Zeitpunkt der Ovulation wurde die zeitliche Mitte zwischen vorheriger und aktueller Untersuchung angenommen. Tiere, die ovuliert hatten, wurden bis zur Trächtigkeitsuntersuchung nicht weiter sonographisch untersucht.

3.10.1 BRUNSTGESCHEHEN

- **Östrusrate:**
Prozentualer Anteil an Sauen mit Brunsteintritt bis zum Nachmittag des siebten Tages nach dem Absetzen, bezogen auf die Anzahl der zur Brunstkontrolle aufgestellten Sauen
- **Absetz-Östrus-Intervall:**
Zeitraum vom Absetztermin bis zum Brunstbeginn. Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:
 - Absetz-Östrus-Intervall < 107 Stunden (entsprach Brunstbeginn am Sonntag)
 - Absetz-Östrus-Intervall 107 bis 119 Stunden (entsprach Brunstbeginn am Montag)
 - Absetz-Östrus-Intervall > 119 Stunden (entsprach Brunstbeginn am Dienstag oder Mittwoch)
- **Brunstdauer:**
Zeitraum vom Brunstbeginn bis zum Brunstende. Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:
 - Brunstdauer < 50 Stunden
 - Brunstdauer 50 bis 80 Stunden
 - Brunstdauer > 80 Stunden
- **Intervall Östrusbeginn bis Ovulation:**
Zeitraum vom Brunstbeginn bis zum Zeitpunkt der Ovulation. Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:
 - Intervall Östrusbeginn bis Ovulation < 40 Stunden
 - Intervall Östrusbeginn bis Ovulation 40 bis 65 Stunden
 - Intervall Östrusbeginn bis Ovulation > 65 Stunden
- **Intervall Ovulation bis Östrusende:**
Zeitraum vom Zeitpunkt der Ovulation bis zum Brunstende. Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:
 - Intervall Ovulation bis Östrusende < 12 Stunden
 - Intervall Ovulation bis Östrusende 12 bis 18 Stunden
 - Intervall Ovulation bis Östrusende > 18 Stunden
- **Brunsteintritt nach Anöstrie:**
Zeit in Tagen nach dem Absetzen bis zum Brunsteintritt für Sauen, die später als am Nachmittag des siebten Tages nach dem Absetzen in den Östrus kamen.

3.10.2 FOLLIKELWACHSTUM UND OVULATIONSVERLAUF

- **Follikelgröße bei erster sonographischer Untersuchung nach dem Absetzen** (für jedes Tier wurde das arithmetische Mittel aus den Messwerten eines Messzeitpunktes gebildet). Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:
 - Follikelgröße < 3,5 mm
 - Follikelgröße 3,5 bis 4,4 mm
 - Follikelgröße > 4,4 mm
- **Follikelgröße bei erster Duldung** (für jedes Tier wurde das arithmetische Mittel aus den Messwerten eines Messzeitpunktes gebildet). Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:

- Follikelgröße < 5,5 mm
- Follikelgröße 5,5 bis 6,4 mm
- Follikelgröße > 6,4 mm
- Zeitpunkt der Ovulation.

3.10.3 UMRAUSCHER- UND TRÄCHTIGKEITSERGEBNIS

- Umrauscherquote:
Anteil der Sauen, die nach Erstbesamung nicht tragend wurden und erneut in die Brunst kamen
- Zeit bis zum Umrauschen in Tagen
- Trächtigkeitsergebnis in der vierten Woche post inseminationem:
Anteil der Sauen an besamten Tieren, die bei der sonographischen Trächtigkeitsuntersuchung in der vierten Woche nach der Besamung als tragend diagnostiziert wurden
- Trächtigkeitsrate:
Anteil der abgeferkelten Sauen an der Anzahl der besamten Sauen
- Trächtigkeitsdauer:
Dauer zwischen Besamung und Geburt; dabei wurde der Tag nach der letzten Besamung als erster Tag der Trächtigkeit gerechnet, der Tag der Geburt als letzter Tag der Trächtigkeit.

3.10.4 ABFERKELERGEBNIS

- Abferkelrate:
Anteil der abgeferkelten Sauen an der Anzahl der zur Belegung aufgestellten Sauen
- Anzahl insgesamt geborener Ferkel je Wurf (IGF)
- Anzahl lebend geborener Ferkel je Wurf (LGF)
- Anzahl tot geborener Ferkel je Wurf (TGF)
- Ferkelindex:
Quotient aus der Summe aller lebend geborenen Ferkel je Wurf und der Anzahl der Erstbelegungen multipliziert mit 100:

$$\frac{\text{Summe aller lebend geborenen Ferkel je Wurf}}{\text{Anzahl der Erstbelegungen}} \times 100 = \text{Ferkelindex.}$$

3.10.5 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ERGEBNISSEN

Ausgewählte Ergebnisse wurden auf ihren Zusammenhang untereinander untersucht.

3.10.6 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ERGEBNISSEN UND ANAMNESTISCHEN DATEN

Die nachfolgend dokumentierten anamnestischen Parameter wurden erfasst:

- Anzahl vorangegangener Würfe (Wurfnummer). Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:

- Wurfnummer 2
- Wurfnummer 3 bis 5
- Wurfnummer > 5
- Größe des vorangegangenen Wurfes:
Es wurde die Anzahl der insgesamt geborenen Ferkel im erzeugten Wurf mit der Anzahl der insgesamt geborenen Ferkel im letzten Wurf vor Versuchsbeginn verglichen. Um eine Vergleichbarkeit der letzten Würfe vor Versuchsbeginn zu gewährleisten, wurden nur solche letzten Würfe ausgewertet, die aus einem Zyklus resultierten, der mittels eCG stimuliert worden war (einzelne Tiere hatten kein eCG zur Stimulation erhalten, z. B. Umrauscher).
- Dauer der Säugezeit im vorangegangenen Wurf. Es erfolgte eine Einteilung in zwei Klassen:
 - Säugezeit 25 bis 27 Tage
 - Säugezeit 28 bis 31 Tage
- Anzahl der abgesetzten Ferkel im vorangegangenen Wurf:
Da die Einflüsse, die während der Säugezeit auf Sau und Ferkel wirken (z. B. Wurfausgleich, Erkrankungen), nicht in direkten Zusammenhang mit einer Zyklusinduktion gebracht werden können, wurden hierfür alle letzten Würfe vor Versuchsbeginn einbezogen. Es erfolgte eine Einteilung in zwei Klassen:
 - im letzten Wurf ≤ 10 abgesetzte Ferkel
 - im letzten Wurf > 10 abgesetzte Ferkel
- Anzahl der Besamungen je Einzeltier
- Verhältnis der Besamungen zum Zeitpunkt der Ovulation. Es erfolgte eine Einteilung in drei Klassen:
 - ausschließlich präovulatorische Besamungen
 - Besamungen im ovulationsnahen Zeitraum (\pm drei Stunden vom errechneten Ovulationszeitpunkt), aber nicht postovulatorisch
 - postovulatorische Besamungen (auch wenn präovulatorische oder Inseminationen im ovulationsnahen Zeitraum stattgefunden hatten)
- Seitenspeckdicke nach dem Absetzen
- Haltungsform in der erzeugten Trächtigkeit bis zur Umstallung in den Abferkelstall am ca. 108. Trächtigkeitstag. Es erfolgte eine Einteilung in zwei Klassen:
 - Haltung in Gruppenbuchten ab 35. bis 42. Trächtigkeitstag
 - Haltung in Einzelständen während der gesamten Trächtigkeit.

3.11 ***KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN***

Über einen Zeitraum von 15 Tagen, beginnend am Tag des Absetzens der Ferkel, wurden alle in beide Versuchsabschnitte einbezogenen Sauen mindestens einmal täglich einer allgemeinen und bei Erfordernis einer speziellen Untersuchung unterzogen (z. B. Auskultation der Lungen, gynäkologische Untersuchung). Folgende Parameter wurden erfasst und Abweichungen vom physiologischen Befund dokumentiert: Körperhaltung, Verhalten, Habitus, Atmungsfrequenz, Intensität und Typ der Atmungsbewegungen, sichtbare Schleimhäute, Futteraufnahme, soweit anlässlich der Untersuchungen ersichtlich Harn- und Kotabsatz sowie Kotbeschaffenheit. Zur Beurteilung der lokalen Verträglichkeit des Prüfpräparates und

der Vergleichspräparate wurde die Injektionsstelle in den ersten 14 Tagen nach der Applikation adspektorisch und palpatorisch untersucht. Während des gesamten Versuchszeitraums waren die mit der Betreuung der Tiere beauftragten Betriebsangehörigen angewiesen, auf Gesundheitsstörungen der Sauen hindeutende Verdachtsmomente unverzüglich zu melden.

3.12 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 11.5.1 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). In allen Versuchsgruppen wurden für die erfassten Parameter jeweils der arithmetische Mittelwert (\bar{x}) und die Standardabweichung ($\pm s$) berechnet, nachdem eine Überprüfung der Daten ergeben hatte, dass sie normal verteilt waren.

Beim Vergleich der Östrusrate und der Follikelgröße zum Zeitpunkt des Absetzens unmittelbar vor der Injektion wurden alle Tiere aller Gruppen einbezogen. Für die Auswertung der übrigen Parameter wurden ausschließlich die Daten derjenigen Sauen herangezogen, die bis zum siebten Tag nach dem Absetzen in den Östrus gekommen waren.

Die Unterschiede bzw. Zusammenhänge in qualitativen Merkmalen wurden mittels Kreuztabelle und dem χ^2 -Test nach PEARSON bzw. mit dem exakten Test nach FISHER auf Signifikanz geprüft. Damit wurden die Parameter des Brunstgeschehens, des Follikelwachstums/Ovulationsverlaufs, die Umrauscherquote, die Trächtigkeitsrate, die Parameter des Abferkelerggebnisses sowie die anamnestischen Parameter getestet.

Nachfolgende Parameter wurden mit Hilfe der Varianzanalyse (ANOVA) auf Unterschiede zwischen den Gruppen bzw. den Klassen untersucht: Parameter des Brunstgeschehens, Follikelgröße nach dem Absetzen bzw. zum Zeitpunkt der ersten Duldung, Zeit bis zum Umrauschen, Trächtigkeitsergebnis in der vierten Woche post inseminationem, Trächtigkeitsdauer, Anzahl der im erzeugten Wurf insgesamt, lebend, tot geborenen bzw. abgesetzten Ferkel und die anamnestischen Parameter.

Zum Test der Homogenität der jeweiligen Varianzen (nicht für den Parameter Zeit bis zum Umrauschen) wurde der Homogenitätstest nach LEVENE angewendet. Als post-hoc-Tests wurden Mehrfachvergleiche (DUNETT-T3-Test) und bei homogenen Untergruppen der STUDENT-NEWMAN-KEULS-Test durchgeführt.

Die Leistungen im letzten Wurf vor Versuchsbeginn sowie Säugezeitdauer und Seitenspeckdicke, aber auch Follikelentwicklung im periöstrischen Untersuchungszeitraum wurden mittels Paarvergleichen (T-Test für abhängige Stichproben) untersucht.

Der Vergleich der Anzahl tot geborener Ferkel je Wurf erfolgte mit dem U-Test nach MANN und WHITNEY. Zusammenhänge zwischen einzelnen Parametern (Säugezeitdauer, im vorangegangenen Wurf abgesetzte Ferkel, Absetz-Östrus-Intervall, Brunstdauer, Intervall Östrusbeginn bis Ovulation, Follikelgröße nach dem Absetzen, Anzahl der Besamungen, insgesamt, lebend, tot geborene bzw. abgesetzte Ferkel) wurden mit der Korrelationsanalyse nach PEARSON untersucht.

Die in den Tabellen angegebenen Ergebnisse und Werte wurden jeweils auf 1/10 gerundet. Die grafische Darstellung erfolgte mit Punkt- und Säulendiagrammen. Als Signifikanzgrenze wurde $p \leq 0,05$ festgelegt.

4 ERGEBNISSE

4.1 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN ZUR DOSISFINDUNG

Im Vergleich der verschiedenen Dosierungen und unterschiedlichen Injektionszeitpunkte bewirkte die Injektion von 150 µg Peforelin 24 Stunden nach dem Absetzen (Gruppe 3) den höchsten Anteil östrischer Tiere im Referenzzeitraum (Tabelle 16). Bei Anwendung der übrigen Dosierungen bzw. Injektionsabstände wurden 20 bis 50 % weniger (Gruppen 1, 2, 4 und 6; $p \leq 0,05$) bzw. tendenziell weniger Sauen (Gruppe 5) während des Referenzintervalls brünstig.

Bezüglich der Absetz-Östrus-Intervalle bestanden signifikante Unterschiede lediglich zwischen Sauen der Gruppe 2 und Tieren der Gruppen 1 sowie 3. Letztere wiesen ein kürzeres Absetz-Östrus-Intervall auf ($p \leq 0,05$; Tabelle 16).

In der vierten Woche nach der Besamung wurden alle Tiere in den Gruppen 1, 3 und 6 als tragend befunden, während in den Gruppen 2, 4 und 5 tendenziell weniger Sauen als gravid diagnostiziert wurden (Tabelle 16).

Tabelle 16: Ausgewählte Fruchtbarkeitsleistungen in Abhängigkeit der verschiedenen Dosierungen von Peforelin zu den unterschiedlichen Injektionszeitpunkten nach dem Absetzen

Gruppe	Dosis (µg/Tier)	Injektionszeit- punkt nach dem Absetzen (h)	n	Sauen mit Brunst- eintritt bis siebten Tag nach dem Absetzen		Absetz-Östrus- Intervall (h) $\bar{x} \pm s$	Sauen gravid*	
				(n)	(%)		(n)	(%)
1	100	24	18	9	50,0 ^c	88,3 ± 10,6 ^b	9	100,0
2	150	0	10	6	60,0 ^{b, c}	129,0 ± 27,8 ^a	4	66,7
3	150	24	15	15	100,0 ^a	98,2 ± 14,7 ^b	15	100,0
4	150	48	10	5	50,0 ^{b, c}	109,4 ± 34,4 ^{a, b}	3	60,0
5	187,5	24	24	19	79,2 ^{a, b}	107,6 ± 21,3 ^{a, b}	17	89,5
6	225	24	11	7	63,6 ^{b, c}	110,4 ± 15,0 ^{a, b}	7	100,0

a, b, c: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

* bezogen auf den Anteil besamter Sauen.

Die besten Resultate erzielte Peforelin (enthalten in Maprelin® XP10), wenn es 24 Stunden nach dem Absetzen in einer Dosierung von 150 µg je Tier injiziert wurde (Gruppe 3). Daher fand diese Variante in den Untersuchungen zur klinischen Wirksamkeit Anwendung.

4.2 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN ZUR KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

4.2.1 BRUNSTGESCHEHEN

Bis zum Tag sieben nach dem Absetzen waren 95,1 % (98/103), 96,3 % (103/107) bzw. 80,6 % (83/103) der Sauen der Gruppen I, II und III brünstig (Tabelle 17). Der Anteil der Tiere mit Brunsterscheinungen bis zum siebten Tag nach dem Absetzen war in der Gruppe III am geringsten ($p \leq 0,05$). In der Gruppe II zeigte eine Sau trotz Follikelwachstums und erfolgter Ovulation bei keiner Brunstkontrolle einen Duldungsreflex. Das mittlere Absetz-Östrus-Intervall war in Gruppe II etwa sechs Stunden kürzer als in der Gruppe I und ca. 10 Stunden kürzer als in der Gruppe III ($p \leq 0,05$).

Tabelle 17: Östrusrate und Absetz-Östrus-Intervall in Abhängigkeit von der Behandlung

		Gruppe I Peforelin (n = 103)	Gruppe II eCG (n = 107)	Gruppe III Placebo (n = 103)
Östrusrate	n	98	103	83
	%	95,1 ^a	96,3 ^a	80,6 ^b
Absetz-Östrus-Intervall (h)	$\bar{x} \pm s$	100,5 ± 19,2 ^a	94,2 ± 14,1 ^b	104,1 ± 19,4 ^a

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Zeile sind signifikant ($p \leq 0,05$).

Hinsichtlich der durchschnittlichen Brunstdauer unterschieden sich die Sauen der drei Gruppen nur unwesentlich (Tabelle 18). Bis 66,3 % der Sauen aller Gruppen waren 50 bis 80 Stunden lang brünstig. Die Intervalle Östrusbeginn bis Ovulation und Ovulation bis Östrusende waren im Gruppenvergleich ähnlich. So ovulierten die meisten Sauen 40 bis 65 Stunden nach Östrusbeginn (Tabelle 19) und wiesen 18 Stunden später keinen Duldungsreflex mehr auf (Tabelle 20).

Tabelle 18: Brunstdauer in Abhängigkeit von der Behandlung

		Brunstdauer			$\bar{x} \pm s$ (h)
		< 50 h	50 bis 80 h	> 80 h	
Gruppe I Peforelin (n = 98)	n	19	64	15	66,4 ± 14,5
	%	19,4	65,3	15,3	
Gruppe II eCG (n = 103)	n	21	61	21	66,8 ± 15,6
	%	20,4	59,2	20,4	
Gruppe III Placebo (n = 83)	n	20	55	8	63,5 ± 12,2
	%	24,1	66,3	9,6	

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Tabelle 19: Intervall Östrusbeginn bis Ovulation in Abhängigkeit von der Behandlung

		Intervall Östrusbeginn bis Ovulation			$\bar{x} \pm s$ (h)
		< 40 h	40 bis 65 h	> 65 h	
Gruppe I Peforelin (n = 98)	n	19	61	18	52,2 ± 13,0
	%	19,4	62,2	18,4	
Gruppe II eCG (n = 103)	n	18	67	18	51,2 ± 13,1
	%	17,5	65,0	17,5	
Gruppe III Placebo (n = 83)	n	18	60	5	48,8 ± 11,2
	%	21,7	72,3	6,0	

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Tabelle 20: Intervall Ovulation bis Östrusende in Abhängigkeit von der Behandlung

		Intervall Ovulation bis Östrusende			$\bar{x} \pm s$ (h)
		< 12 h	12 bis 18 h	> 18 h	
Gruppe I Peforelin (n = 98)	n	26	49	23	14,2 ± 9,1
	%	26,5	50,0	23,5	
Gruppe II eCG (n = 103)	n	24	48	31	15,6 ± 9,9
	%	23,3	46,6	30,1	
Gruppe III Placebo (n = 83)	n	25	35	23	14,7 ± 9,2
	%	30,1	42,2	27,7	

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Wesentliche Ergebnisse dieses Kapitels werden zur Veranschaulichung in der Tabelle 21 zusammengefasst.

Tabelle 21: Östrusrate, Absetz-Östrus-Intervall, Brunstdauer sowie Intervall Östrusbeginn bis Ovulation in Abhängigkeit von der Behandlung (Zusammenfassung)

	Östrusrate % (n)	Absetz-Östrus- Intervall* $\bar{x} \pm s$ (h)	Brunstdauer* $\bar{x} \pm s$ (h)	Intervall Östrusbeginn bis Ovulation* $\bar{x} \pm s$ (h)
Gruppe I Peforelin (n = 103)	95,1 ^b (98)	100,5 ± 19,2 ^a	66,4 ± 14,5	52,2 ± 13,0
Gruppe II eCG (n = 107)	96,3 ^b (103)	94,2 ± 14,1 ^b	66,8 ± 15,6	51,2 ± 13,1
Gruppe III Placebo (n = 103)	80,6 ^a (83)	104,1 ± 19,4 ^a	63,5 ± 12,2	48,8 ± 11,2

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

* Nur Sauen, die innerhalb der ersten sieben Tage nach dem Absetzen brünstig wurden.

Von den fünf Sauen der Gruppe I ohne Brunstsymptome bis zum siebten Tag nach dem Absetzen wurden drei Tiere 19, 26 bzw. 34 Tage nach dem Absetzen östrisch und belegt. Die beiden übrigen anöstrischen Sauen kamen nicht mehr spontan in die Brunst.

Von den vier Tieren der Gruppe II ohne Brunstsymptome bis zum siebten Tag nach dem Absetzen wurden zwei 12 bzw. 26 Tage nach dem Absetzen östrisch und belegt, wobei letzteres am sechsten Tag nach dem Absetzen ovuliert hatte, ohne jedoch Duldung zu zeigen (siehe Seite 64). Die beiden übrigen anöstrischen Tiere kamen nicht mehr spontan in Brunst.

Von den 20 Sauen der Gruppe III mit fehlenden Brunstsymptomen bis zum siebten Tag nach dem Absetzen kamen 15 Tiere spontan 17,5 ± 9,6 Tage nach dem Absetzen in den Östrus, während fünf andere Sauen während des restlichen Versuchszeitraums keine Brunstsymptome aufwiesen.

4.2.2 FOLLIKELWACHSTUM UND OVULATIONSVERLAUF

Nach dem Absetzen wiesen die Sauen der Gruppe III Follikel mit einer Durchschnittsgröße von 3,9 ± 0,6 mm auf. In der Gruppe II waren die Follikel im Mittel 3,8 ± 0,5 mm groß und die der Gruppe I durchschnittlich 0,2 mm größer ($p \leq 0,05$; Tabelle 22). Die meisten Sauen aller drei Gruppen wiesen Follikeldurchmesser zwischen 3,5 und 4,4 mm auf.

Tabelle 22: Follikelgrößen nach dem Absetzen in Abhängigkeit von der Behandlung

		Follikelgrößen nach dem Absetzen			$\bar{x} \pm s$ (mm)
		< 3,5 mm	3,5 bis 4,4 mm	> 4,4 mm	
Gruppe I Peforelin (n = 103)	n	15	71	17	4,0 ± 0,5 ^a
	%	14,6	68,9	16,5	
Gruppe II eCG (n = 107)	n	29	61	17	3,8 ± 0,5 ^b
	%	27,1	57,0	15,9	
Gruppe III Placebo (n = 103)	n	23	68	12	3,9 ± 0,6 ^{a, b}
	%	22,3	66,0	11,7	

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

Bis zu 90 % der Tiere wiesen zum Zeitpunkt der ersten Duldung Follikel mit Durchmessern größer als 5,5 mm auf. Die mittleren Follikelgrößen betragen $6,4 \pm 0,8$ mm, $6,2 \pm 0,8$ mm bzw. $6,2 \pm 0,9$ mm in den Gruppen I, II bzw. III. Sie differierten zwischen den Gruppen I und II signifikant ($p \leq 0,05$; Tabelle 23).

Tabelle 23: Follikelgrößen zum Zeitpunkt der ersten Duldung in Abhängigkeit von der Behandlung

		Follikelgröße zum Zeitpunkt der ersten Duldung			$\bar{x} \pm s$ (mm)
		< 5,5 mm	5,5 bis 6,4 mm	> 6,4 mm	
Gruppe I Peforelin (n = 98)	n	11	44	43	6,4 ± 0,8 ^a
	%	11,2	44,9	43,9	
Gruppe II eCG (n = 103)	n	20	49	34	6,2 ± 0,8 ^b
	%	19,4	47,6	33,0	
Gruppe III Placebo (n = 83)	n	17	38	28	6,2 ± 0,9 ^{a, b}
	%	20,5	45,8	33,7	

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

Die Ovulationen fanden in allen drei Gruppen hauptsächlich von Dienstagmittag bis Mittwochnacht (Di 13h bis Mi 1h in Abbildungen 13 und 14) statt. Die Abbildungen 15 und 16 zeigen typische Ultraschallbilder von Ovarien, wie sie einen Tag nach dem Absetzen bzw. bei Untersuchungen während der Brunst und nach Abschluss der Ovulation zu erhalten waren. Sie dokumentieren den typischen Verlauf der Follikelentwicklung bis zur Ovulation.

ERGEBNISSE

ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN ZUR KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

Je eine Sau aus den Gruppen I und II zeigte bei der letzten sonographischen Untersuchung eine solitäre Follikelzyste. Multiple Zysten wurden bei keinem Tier der drei Gruppen beobachtet.

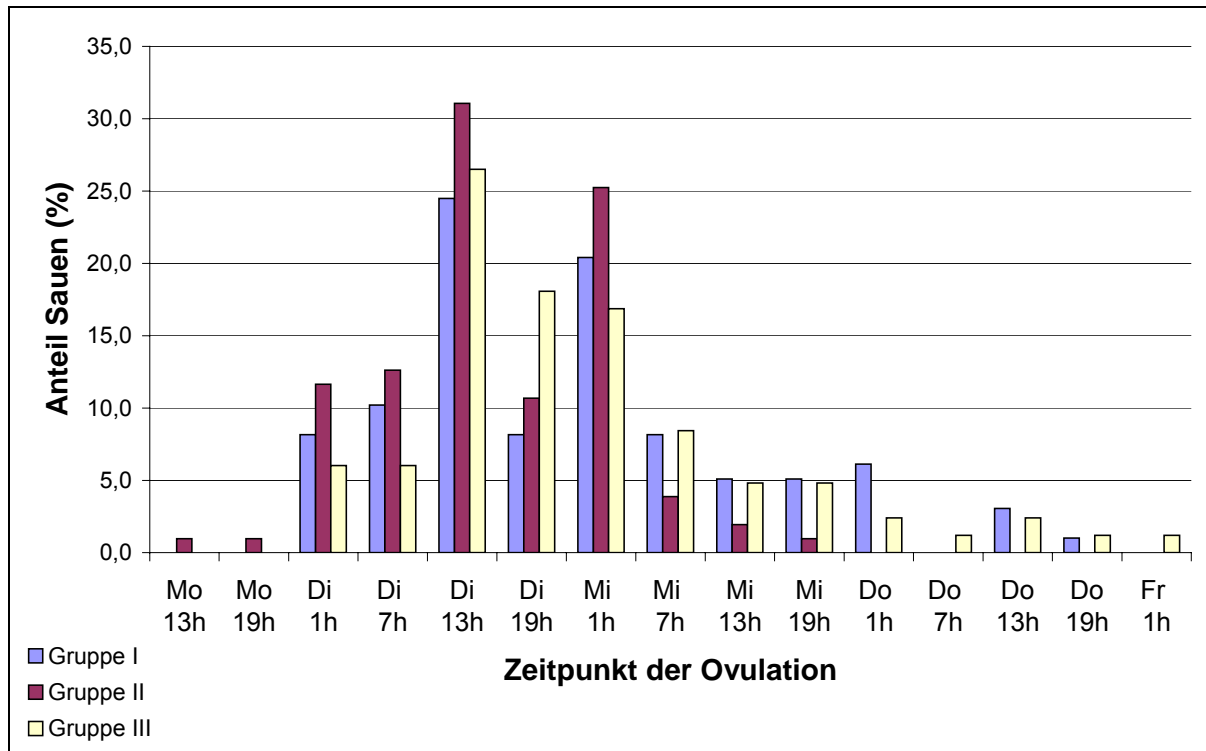


Abbildung 13: Prozentuale Verteilung der Zeitpunkte der Ovulationen in den verschiedenen Gruppen (Sauen, die bis zum siebten Tag nach dem Absetzen östrisch wurden)

ERGEBNISSE

ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN ZUR KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

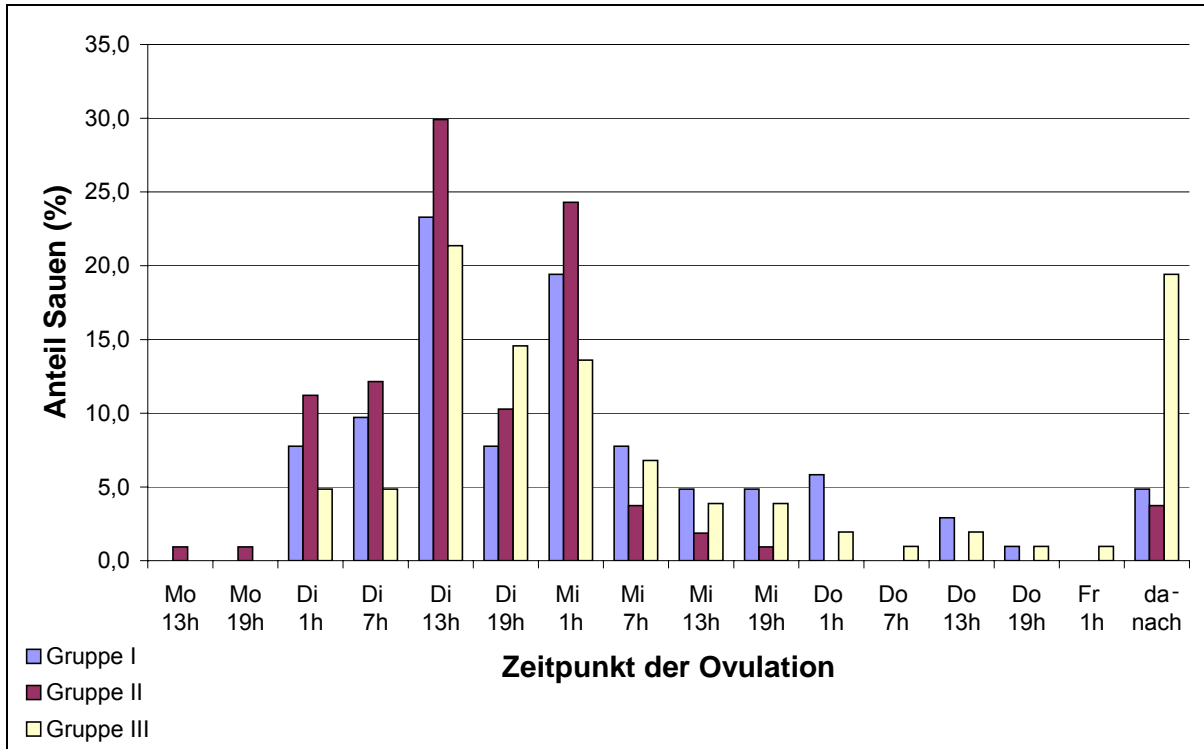


Abbildung 14: Prozentuale Verteilung der Zeitpunkte der Ovulationen in den verschiedenen Gruppen (alle Sauen, auch die ohne Brunsterscheinungen bis zum siebten Tag nach dem Absetzen, gekennzeichnet mit „danach“)

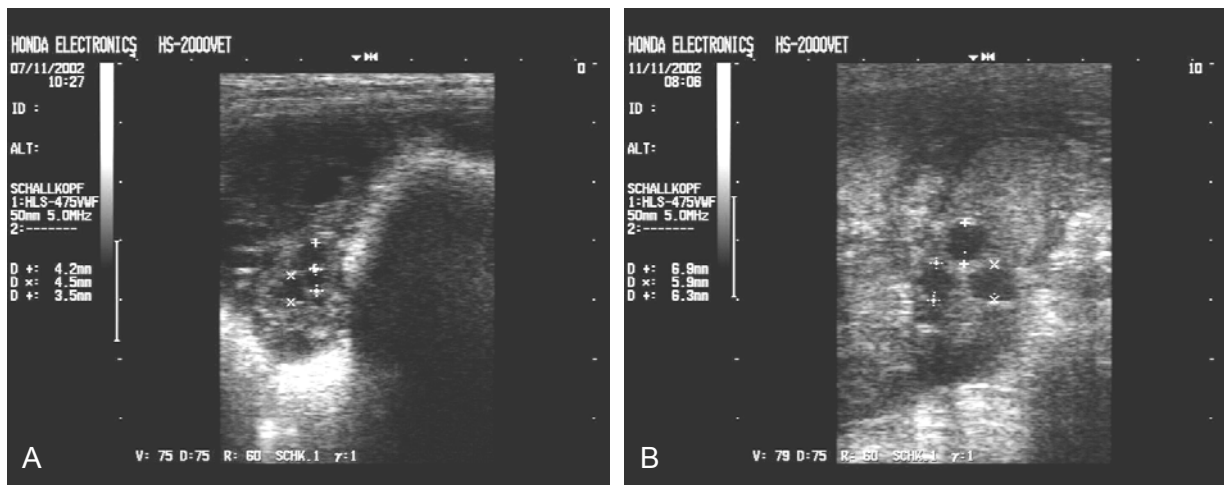


Abbildung 15: Ovarbefunde einer Sau

- A: Am Tag nach dem Absetzen (x, + bzw. + bezeichnen die Follikelgrenzen)
- B: Am fünften Tag nach dem Absetzen. Zustand in Brunst. (x, + bzw. + bezeichnen die Follikelgrenzen)



Abbildung 16: Ovarbefund am Dienstag nach dem Absetzen
Zustand mit abgeschlossener Ovulation (CH = Corpora haemorrhagica)

4.2.3 UMRAUSCHER- UND TRÄCHTIGKEITSERGEBNIS

In der Gruppe I wurde kein Umrauscher registriert. In der Gruppe II wurde bei einer Sau nach 21 Tagen Umrauschen festgestellt. In der Gruppe III rauschten zwei Tiere nach 19 bzw. 20 Tagen um.

Im Rahmen der ultrasonographischen Trächtigkeitsuntersuchung wurden 100,0 % der gesamten Tiere in der Gruppe I, 99,0 bzw. 97,6 % in den Gruppen II bzw. III als tragend befundet (Tabelle 24).

In der Gruppe I schieden drei gravide Muttertiere wegen Abort, Verendung bzw. Nottötung vorzeitig aus. In Gruppe II abortierte eine Sau, eine weitere gravide verendete. Fünf der früher als gravid diagnostizierten Sauen der Gruppe III ferkelten nicht ab. Eine Sau abortierte, drei Tiere verendeten, und das letzte Tier wurde wegen Fundamentproblemen gemerzt.

In Gruppe III betrug die Trächtigkeitsrate 91,6 %. In den Gruppen I und II wurden mit 96,9 und 97,1 % tendenziell höhere Trächtigkeitsraten als in der Gruppe III ermittelt. Die Trächtigkeit dauerte durchschnittlich $113,5 \pm 1,3$ Tage (Gruppe III) bis $114,0 \pm 1,0$ Tage (Gruppe I), unterschied sich damit im Gruppenvergleich nur geringfügig (Tabelle 24).

Tabelle 24: Trächtigkeitsergebnis in Abhängigkeit von der Behandlung

		Gruppe I Peforelin	Gruppe II eCG	Gruppe III Placebo
Sauen besamt	n	98	103	83
Sauen gravid (vierte Woche post inseminationem)	n %	98 100,0	102 99,0	81 97,6
Sauen mit Partus	n	95	100	76
Trächtigkeitsrate	%	96,9	97,1	91,6
Trächtigkeitsdauer (Tage)	$\bar{x} \pm s$	114,0 \pm 1,0 ^a	113,9 \pm 1,1 ^{a, b}	113,5 \pm 1,3 ^b

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Zeile sind signifikant ($p \leq 0,05$).

4.2.4 ABFERKELERGEBNIS

Die Abferkelraten der Gruppen I (92,2 %) und II (93,4 %) waren nahezu identisch. Die Abferkelrate war in Gruppe III (73,8 %) signifikant niedriger als in den beiden Vergleichsgruppen ($p \leq 0,05$). Weder die Anzahl der insgesamt geborenen Ferkel je Wurf noch die Anzahl der lebend und der tot geborenen Ferkel unterschieden sich zwischen den drei Gruppen (Tabelle 25).

Der Ferkelindex war in der Gruppe III mit 978 um 104 bzw. um 127 kleiner als in den Gruppen I und II ($p \leq 0,05$), während er sich zwischen den Gruppen I und II nicht unterschied (Tabelle 25).

Tabelle 25: Abferkelrate und Wurfgröße in Abhängigkeit von der Behandlung

		Gruppe I Peforelin	Gruppe II eCG	Gruppe III Placebo
zur Besamung aufgestellt	n	103	107	103
Anzahl Sauen mit Partus	n	95	100	76
Abferkelrate	%	92,2 ^a	93,4 ^a	73,8 ^b
IGF	$\bar{x} \pm s$	11,7 \pm 2,3	12,0 \pm 2,6	11,6 \pm 2,0
LGF	$\bar{x} \pm s$	11,2 \pm 2,4	11,4 \pm 2,5	10,7 \pm 3,0
TGF	$\bar{x} \pm s$	0,5 \pm 0,9	0,6 \pm 1,2	0,9 \pm 1,9
	%	4,7 \pm 7,9	4,5 \pm 8,3	8,6 \pm 20,1
Ferkelindex		1082 ^a	1105 ^a	978 ^b

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Zeile sind signifikant ($p \leq 0,05$).

4.2.5 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ERGEBNISSEN

Das Intervall vom Östrusbeginn bis zur Ovulation stand in allen drei Gruppen in engem Zusammenhang mit dem Absetz-Östrus-Intervall und verkürzte sich, je länger das Absetz-Östrus-Intervall wurde und umgekehrt (Tabelle 26).

Obige Beobachtung ließ sich durch eine mittel- bis hochgradige negative Korrelation zwischen den Parametern Absetz-Östrus-Intervall und Intervall Östrusbeginn bis Ovulation (Korrelationskoeffizienten in den Gruppen I, II und III: -0,60, -0,75 bzw. -0,63; $p \leq 0,05$) bestätigen. Es bestand ein gering- bis mittelgradiger negativer Zusammenhang zwischen dem Absetz-Östrus-Intervall und der Brunstdauer (Korrelationskoeffizienten in den Gruppen I, II und III: -0,50, -0,65 bzw. -0,49; $p \leq 0,05$). Die Brunstdauer wiederum korrelierte mittel- bis hochgradig positiv mit dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation (Korrelationskoeffizienten in den Gruppen I, II und III: 0,79, 0,77 bzw. 0,69; Abbildungen 17 bis 19; $p \leq 0,05$).

Tabelle 26: Intervall Östrusbeginn bis Ovulation in Abhängigkeit von der Länge des Absetz-Östrus-Intervalls und Verteilung dieses Zeitabschnittes in Klassen (Anteil der Sauen einer Absetz-Östrus-Intervall-Klasse in %)

	Absetz-Östrus-Intervall (h)	Intervall Östrusbeginn bis Ovulation		
		< 40 h	40 bis 65 h	> 65 h
Gruppe I Peforelin (n = 98)	< 107	5,5 % ^{b, ○}	63,6 % [●]	30,9 % ^{a, ●}
	107 bis 119	34,5 % ^{a, ●}	62,1 % ^{●, ○}	3,4 % ^{b, ○}
	> 119	42,9 % ^{a, ○}	57,1 % [●]	0 % ^{b, ●}
Gruppe II eCG (n = 103)	< 107	5,3 % ^{c, ○}	70,7 % ^{a, ●}	24,0 % ^{a, ●}
	107 bis 119	38,1 % ^{b, ○}	61,9 % ^{a, b, ●}	0 % ^{b, ●}
	> 119	85,7 % ^{a, ●}	14,3 % ^{b, ○}	0 % ^{b, ○}
Gruppe III Placebo (n = 83)	< 107	0 % ^{b, ○}	90,2 % ^{a, ●}	9,8 % ^{a, ●}
	107 bis 119	37,0 % ^{a, ○}	59,3 % ^{b, ●}	3,7 % ^{a, b, ●}
	> 119	53,3 % ^{a, ●}	46,7 % ^{b, ○}	0 % ^{b, ○}

a, b, c: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Gruppe in einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

●, ○: Die Unterschiede zwischen den Werten in einer Zeile sind signifikant ($p \leq 0,05$).

ERGEBNISSE

ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN ZUR KLINISCHEN WIRKSAMKEIT

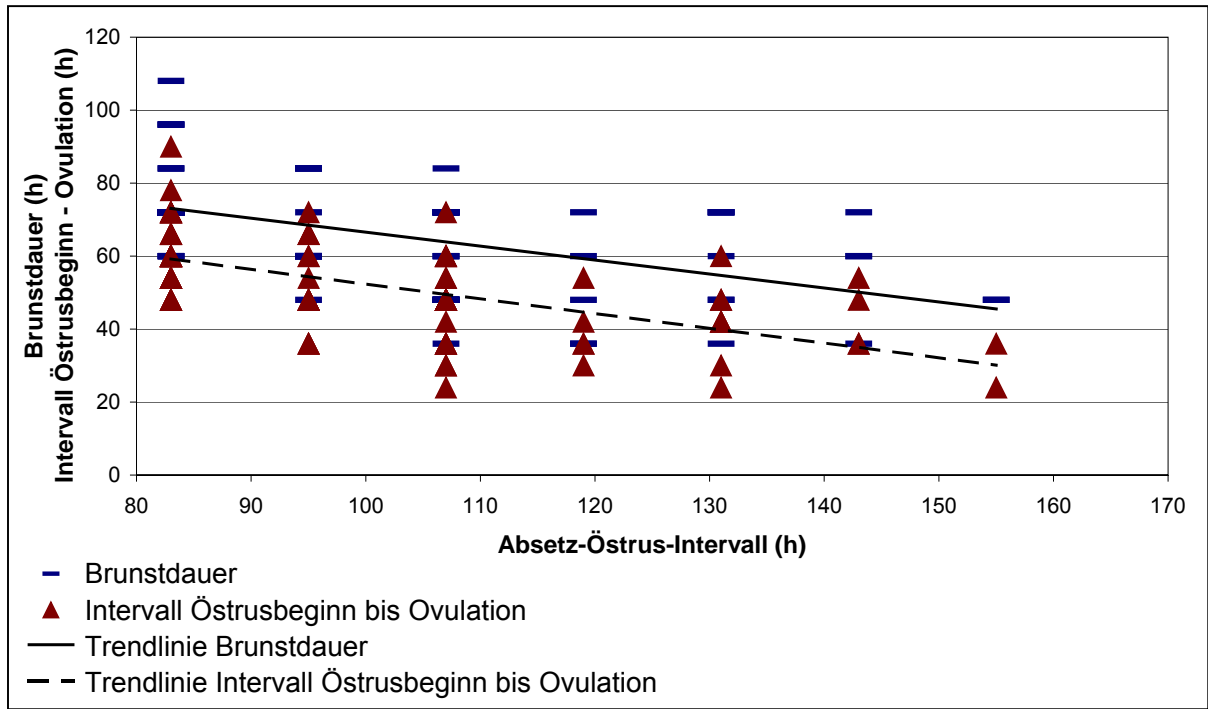


Abbildung 17: Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation sowie dem Absetz-Östrus-Intervall in der Gruppe I

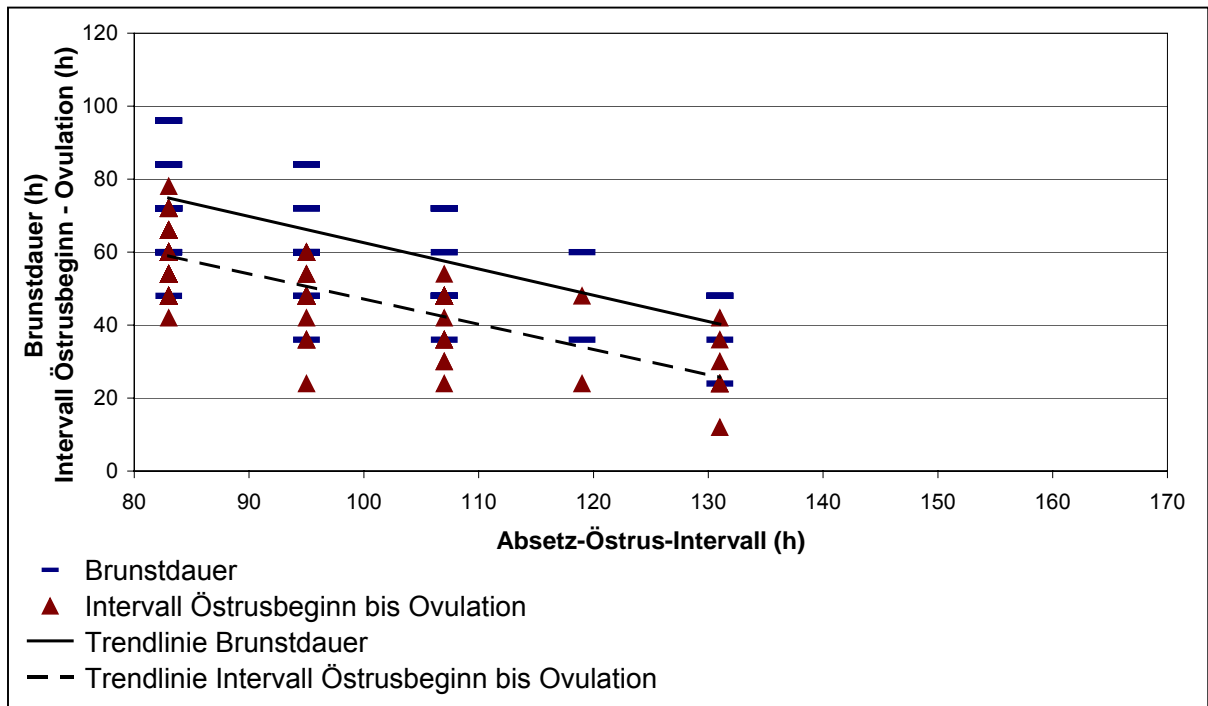


Abbildung 18: Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation sowie dem Absetz-Östrus-Intervall in der Gruppe II

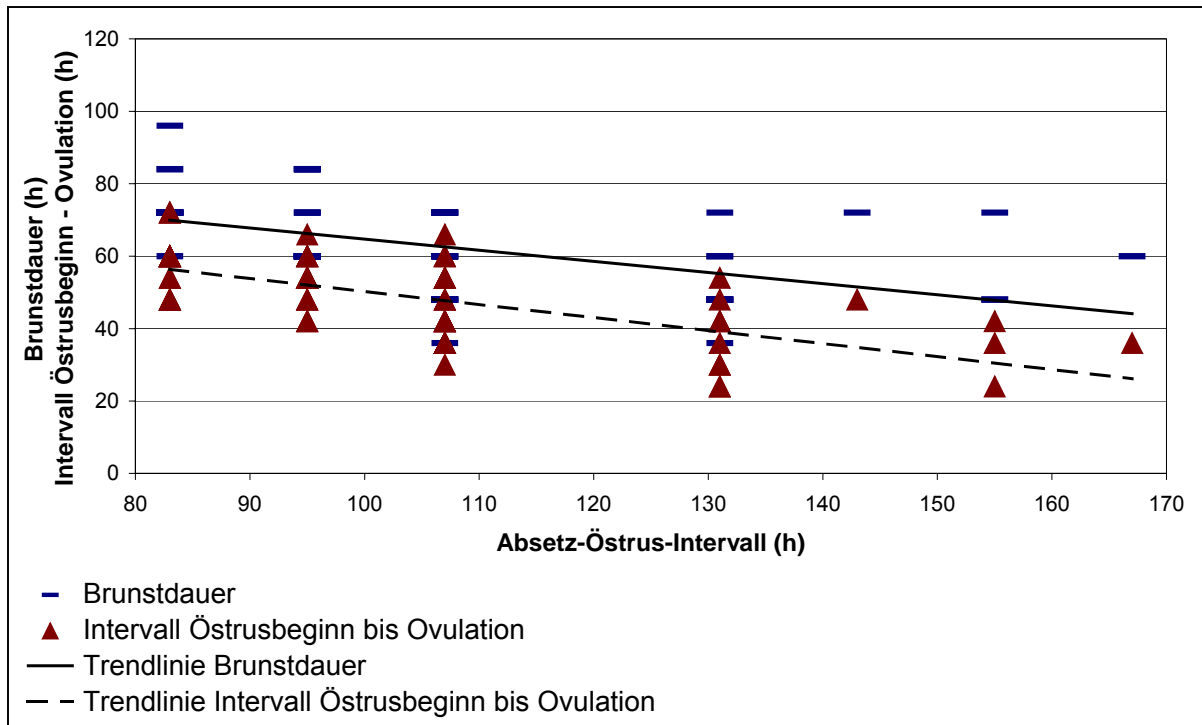


Abbildung 19: Zusammenhang zwischen Brunstdauer und dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation sowie dem Absetz-Östrus-Intervall in der Gruppe III

Die Dauer der Säugezeit hatte bei keiner der drei Gruppen Einfluss auf die Follikelgröße zum Zeitpunkt des Absetzens. Geringfügige Unterschiede bestanden lediglich zwischen den Gruppen I und II bei Tieren, die eine Säugezeit von 28 bis 31 Tagen aufwiesen (Tabelle 27).

Tabelle 27: Follikelgröße (mm) nach dem Absetzen in Abhängigkeit von der Dauer der Säugezeit

		Gruppe I Peforelin (n = 103)	Gruppe II eCG (n = 107)	Gruppe III Placebo (n = 103)
Säugezeitdauer (Tage)	25 bis 27	3,9 ± 0,5	3,8 ± 0,5	3,9 ± 0,6
	28 bis 31	4,1 ± 0,5 ^a	3,7 ± 0,5 ^b	3,8 ± 0,6 ^{a, b}

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Zeile sind signifikant (p ≤ 0,05).

Es bestand kein Zusammenhang zwischen den durchschnittlichen Follikeldurchmessern nach dem Absetzen und zur Zeit der ersten Duldung sowie zwischen der Follikelgröße nach dem Absetzen und der Länge des Absetz-Östrus-Intervalls. In allen Gruppen bestand eine geringgradige positive Korrelation zwischen der Länge des Absetz-Östrus-Intervalls und der Follikelgröße zum Zeitpunkt der ersten Duldung (Korrelationskoeffizienten in den Gruppen I, II und III: 0,35, 0,35 bzw. 0,38; p ≤ 0,05).

Die Länge des Absetz-Östrus-Intervalls hatte keinen Einfluss auf die Anzahl insgesamt, lebend oder tot geborener Ferkel.

4.2.6 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ERGEBNISSEN UND ANAMNESTISCHEN DATEN

Sauen mit bis zu fünf Würfen hatten unabhängig von der Behandlung gleich lange Absetz-Östrus-Intervalle. Bei Sauen mit Wurfnummern über fünf wiesen die Tiere der Gruppe III ein um etwa 15 Stunden längeres Absetz-Östrus-Intervall als Tiere der Gruppe II auf ($p \leq 0,05$; Tabelle 28).

Zwischen der Wurfnummer und der Anzahl der insgesamt sowie lebend geborenen Ferkel bestand kein Zusammenhang.

Tabelle 28: Absetz-Östrus-Intervall (h) in Abhängigkeit von der Wurfnummer

Wurfnummer	Gruppe I Peforelin (n = 98) $\bar{x} \pm s$	Gruppe II eCG (n = 103) $\bar{x} \pm s$	Gruppe III Placebo (n = 83) $\bar{x} \pm s$
2	101,2 ± 17,0	92,0 ± 11,8	101,9 ± 13,9
3 - 5	100,5 ± 20,8	97,2 ± 16,6	104,0 ± 20,0
> 5	99,8 ± 18,6 ^{a, b}	90,4 ± 8,9 ^b	105,9 ± 21,8 ^a

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Zeile sind signifikant ($p \leq 0,05$).

In nahezu der Hälfte der Würfe der drei Gruppen wurden weniger Ferkel insgesamt geboren als im vorherigen Wurf. Mehr Ferkel wurden bei etwa einem Drittel, gleich viele bei den übrigen Sauen beobachtet (Unterschiede nicht signifikant; Tabelle 29).

Tabelle 29: Zusammenhang zwischen der Anzahl der insgesamt geborenen Ferkel im erzeugten Wurf und im vorangegangenen Wurf

		Gruppe I Peforelin	Gruppe II eCG	Gruppe III Placebo
ausgewertete Würfe	n	87	86	65
geringere Anzahl IGF als im vorangegangenen Wurf	n %	37 42,5	40 46,5	33 50,8
gleiche Anzahl IGF wie im vorangegangenen Wurf	n %	19 21,9	12 14,0	8 12,3
größere Anzahl IGF als im vorangegangenen Wurf	n %	31 35,6	34 39,5	24 36,9

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Sauen der Gruppe I mit längerer Säugezeit hatten ein kürzeres Absetz-Östrus-Intervall als die mit kürzerer Säugezeitdauer. Die Sauen der Gruppen II und III wiesen unabhängig von der Säugezeitdauer gleich lange Absetz-Östrus-Intervalle auf (Tabelle 30).

Die Dauer der Säugezeit hatte keinen Einfluss auf die im folgenden Wurf erzeugte Anzahl insgesamt geborener Ferkel.

Tabelle 30: Absetz-Östrus-Intervall in Abhängigkeit von der Dauer der Säugezeit im vorangegangenen Wurf

	letzte Säugezeit	Absetz-Östrus-Intervall			$\bar{x} \pm s$ (h)
		< 107 h	107 bis 119 h	> 119 h	
Gruppe I Peforelin (n = 98)	25 bis 27	49,3 % ^b	33,3 %	17,3 % ^a	102,8 ±19,5 ^{a, ●}
	28 bis 31	78,3 % ^{a, A}	17,4 % ^B	4,3 % ^{b, B}	92,9 ±16,4 ^{b, ■, □}
Gruppe II eCG (n = 103)	25 bis 27	68,6 %	24,3 %	7,1 %	95,7 ±14,0 [○]
	28 bis 31	81,8 %	12,1 %	6,1 %	91,0 ±14,0 [□]
Gruppe III Placebo (n = 83)	25 bis 27	46,4 %	32,1 %	21,4 %	105,1 ±20,2 [●]
	28 bis 31	55,6 %	33,3 %	11,1 %	102,1 ±18,0 [■]

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Spalte sind signifikant (p ≤ 0,05).

A, B: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Zeile sind signifikant (p ≤ 0,05).

Die Unterschiede zwischen den Werten bei Säugezeiten von 25 bis 27 Tagen (●, ○) bzw. von 28 bis 31 Tagen (■, □) innerhalb einer Spalte sind signifikant (p ≤ 0,05).

Es konnte kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der vom vorangegangenen Wurf abgesetzten Ferkel und der Länge des Absetz-Östrus-Intervalls gefunden werden. Es konnte auch kein Einfluss der Anzahl abgesetzter Ferkel aus dem letzten Wurf auf die im neuen Wurf erzeugte Wurfgröße festgestellt werden.

In keiner der Gruppen wurde ein Zusammenhang zwischen der Anzahl an Besamungen je Einzeltier und der erzielten Anzahl insgesamt, lebend oder tot geborener Ferkel nachgewiesen.

Die Verteilung der Besamungszeitpunkte im Verhältnis zur Ovulation der Sauen war in allen drei Gruppen ähnlich (Tabelle 31), ohne dass das Besamungsmanagement die Wurfgröße (insgesamt geborene Ferkel je Wurf) in den Gruppen entscheidend beeinflusst hätte. Lediglich postovulatorisch besamte Sauen wiesen gruppenabhängig eine geringfügig unterschiedliche Anzahl lebend geborener Ferkel je Wurf auf (Tabelle 32).

Tabelle 31: Verteilung der Besamungszeitpunkte im Verhältnis zur Ovulation

		Verhältnis der Besamungszeitpunkte zur Ovulation		
		nur präovulatorisch	ovulationsnah, aber nicht postovulatorisch	auch postovulatorisch
Gruppe I Peforelin (n = 98)	n	32	33	33
	%	32,6	33,7	33,7
Gruppe II eCG (n = 103)	n	26	36	41
	%	25,2	35,0	39,8
Gruppe III Placebo (n = 83)	n	36	19	28
	%	43,4	22,9	33,7

Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

Tabelle 32: Wurfgröße in Abhängigkeit vom Besamungsmanagement

		Verhältnis der Besamungszeitpunkte zur Ovulation		
		nur präovulatorisch	ovulationsnah, aber nicht postovulatorisch	auch postovulatorisch
Gruppe I Peforelin (n = 98)	IGF ($\bar{x} \pm s$)	11,4 ± 2,5	12,2 ± 1,9	11,4 ± 2,4
	LGF ($\bar{x} \pm s$)	10,9 ± 2,6	11,9 ± 2,0	10,7 ± 2,4 ^b
Gruppe II eCG (n = 103)	IGF ($\bar{x} \pm s$)	11,6 ± 2,6	11,5 ± 3,0	12,6 ± 2,0
	LGF ($\bar{x} \pm s$)	11,2 ± 2,5	10,8 ± 3,0	12,0 ± 1,8 ^a
Gruppe III Placebo (n = 83)	IGF ($\bar{x} \pm s$)	11,4 ± 1,8	12,1 ± 1,6	11,6 ± 2,4
	LGF ($\bar{x} \pm s$)	10,5 ± 2,7	11,0 ± 3,4	10,7 ± 3,2 ^{a, b}

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten korrespondierender Parameter innerhalb einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

Die Seitenspeckdicke hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse dieser Studie.

Die Haltungform nahm in den drei Gruppen keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl insgesamt oder tot geborener Ferkel. Lediglich in Gruppe I wurden bei Würfen nach Gruppenhaltung während der Trächtigkeit weniger Ferkel lebend geboren als in Einzelhaltung ($p \leq 0,05$; Tabelle 33). Die Anzahl der tot geborenen Ferkel je Wurf war in allen drei Gruppen bei Gruppenhaltung während der Trächtigkeit tendenziell größer als in Einzelhaltung.

Tabelle 33: Wurfgröße in Abhängigkeit von der Haltungsform in der Trächtigkeit

Haltungsform		IGF ($\bar{x} \pm s$)	LGF ($\bar{x} \pm s$)	TGF ($\bar{x} \pm s$)	TGF (%)
Gruppe I Peforelin	Gruppenhaltung (n = 35)	11,2 ± 2,4	10,4 ± 2,4 ^b	0,7 ± 1,0	6,2
	Einzelhaltung (n = 41)	12,1 ± 2,1	11,6 ± 2,2 ^a	0,4 ± 0,8	3,3
Gruppe II eCG	Gruppenhaltung (n = 33)	11,9 ± 2,7	11,2 ± 2,4	0,7 ± 1,5	5,9
	Einzelhaltung (n = 67)	12,0 ± 2,5	11,5 ± 2,5	0,5 ± 0,9	4,2
Gruppe III Placebo	Gruppenhaltung (n = 38)	12,0 ± 2,0	10,9 ± 3,4	1,1 ± 2,2	9,2
	Einzelhaltung (n = 57)	11,2 ± 1,9	10,5 ± 2,6	0,7 ± 1,7	6,2

a, b: Die Unterschiede zwischen den Werten innerhalb einer Spalte sind signifikant ($p \leq 0,05$).

4.3 **ERGEBNISSE DER KLINISCHEN UNTERSUCHUNG BEIDER VERSUCHS-ABSCHNITTE**

Bei keinem der mit Maprelin[®] XP10 behandelten Tiere wurden im Rahmen der klinischen Untersuchungen vom Physiologischen abweichende Befunde erhoben. Alle Sauen blieben während des Untersuchungszeitraums klinisch gesund. Das Peforelin enthaltende Präparat Maprelin[®] XP10 wurde somit in allen Dosierungen gut und ohne erkennbare Nebenwirkungen vertragen. Die Injektionsstellen waren in den ersten 14 Tagen nach der Applikation bei allen mit Maprelin[®] XP10 behandelten Sauen adspektorisch und palpatorisch unauffällig. Auch solche Tiere, die eCG oder 0,9%ige Kochsalzlösung erhalten hatten, waren während der ersten 14 Tage nach der Applikation klinisch gesund und wiesen an den Applikationsstellen unauffällige Befunde auf.

5 DISKUSSION

In der modernen Ferkelproduktion finden Maßnahmen zur Steuerung der Fortpflanzung routinemäßig Anwendung. Wesentliches Ziel derartiger Maßnahmen ist es, die Effizienz der Betriebe zu steigern. Dies kann durch Einsparungen auf der einen und hohe Fruchtbarkeitsleistungen auf der anderen Seite erfolgen. Die Fruchtbarkeitsleistung eines Ferkelerzeugerbetriebes wird u. a. durch die Wurffolge dokumentiert. Die Wurffolge als Anzahl Würfe je Sau und Jahr ist so gut oder so schlecht wie „Leertage“ oder „nicht produktive“ Tage im Betrieb anfallen (BRITT et al. 1999). Mit anderen Worten, sie ist dann maximiert, wenn der Anteil nichttragender Sauen im Bestand zu jedem beliebigen Zeitpunkt gering, vorzugsweise minimiert ist (STRAW et al. 1999). „Leertage“, die einen Produktionsausfall in Höhe von derzeit ca. 2,55 € pro Sau und Tag darstellen, entstehen zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Eine besonders kritische Phase ist dabei die Zeit nach dem Absetzen der Ferkel, wenn Sauen nicht rauschen und damit die Belegung ausbleibt. Um dies zu vermeiden, wird heute als Teil biotechnischer Maßnahmen eCG eingesetzt, welches beim Schwein vornehmlich FSH-Wirkung entfaltet und das Follikelwachstum anregt. Obwohl eCG weit verbreitet ist und ohne Zweifel erfolgreich zu oben genanntem Zweck Anwendung findet, ist dessen Einsatz nicht zuletzt aus tierschützerischen Gesichtspunkten nicht unproblematisch. So wird dieses Hormon aus dem Blutserum tragender Stuten zwischen den Graviditätstagen 40 und 120 gewonnen. Um eine kontinuierliche Produktion zu gewährleisten, wird die Gravidität der Stuten artifiziell unterbrochen, um sie anschließend wiederum zu belegen.

Seit langem wird angenommen, dass es separate Steuerungselemente für die FSH-Synthese und/oder dessen Sekretion gibt. Seit langem wird auch vermutet, dass alternative GnRH-Varianten daran beteiligt sein könnten (IGARASHI u. McCann 1964, YU et al. 2000, DEES et al. 2001, McCANN 2001, PADMANABHAN u. McNEILLY 2001, KAUFFOLD et al. 2004b, MILLAR et al. 2004, KAUFFOLD et al. 2005). 1993 entdeckten SOWER et al. beim Seeneunauge eine GnRH-Variante, die als I-GnRH-III bezeichnet wird. Spätere Untersuchungen zeigten, dass dieses GnRH auch bei anderen Spezies, z. B. Ratte (DEES et al. 1999, HINEY et al. 2002) und Sperling (BENTLEY et al. 2004) vorkommt. In vitro bei Ratten und in vivo beim Rind konnte demonstriert werden, dass dieses Hormon die FSH-Sekretion stimuliert, die unter bestimmten Konstellationen zum Teil selektiv, d. h. ohne zeitgleiche LH-Sekretion, erfolgt (YU et al. 1997, LOVAS et al. 1998, DEES et al. 2001). Da Letzteres in Versuchen an kastrierten Ebern bestätigt wurde (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005), kann vermutet werden, dass I-GnRH-III auch beim weiblichen Schwein wirksam ist und auf Grund der FSH-stimulierenden Wirkung zur Anregung des Follikelwachstums und Stimulation der Brunst anwendbar ist. Diese Hypothese ist auch insofern interessant, als I-GnRH-III im Gegensatz zu eCG synthetisch hergestellt werden kann und seine Verfügbarkeit somit keine Tierschutzrelevanz besitzt.

Ziel dieser Arbeit war es daher, I-GnRH-III in seiner Wirksamkeit zur Östrusinduktion bei abgesetzten Sauen in einem Ferkelerzeugerbetrieb zu überprüfen. Zum Einsatz kam I-GnRH-III in Form des synthetisch hergestellten Peforelin (enthalten in dem Prüfpräparat Maprelin® XP10). Im ersten Versuchsabschnitt wurde Peforelin einer begrenzten Anzahl von Tieren in unterschiedlichen Dosierungen und variierenden Intervallen nach dem Absetzen verabreicht. In einem zweiten Versuchsabschnitt wurde der als geeignet befundene Modus (Dosis, Inter-

vall) gewählt und Peforelin entsprechend appliziert, um dessen brunstinduzierende Wirkung unter Einbeziehung einer Placebogruppe mit der von eCG zu vergleichen.

Dementsprechend wurden drei Tiergruppen etabliert. Alle in die Versuche einbezogenen Tiere unterlagen strengen Selektionskriterien, waren ohne Erkrankungen und relativ homogen im Vergleich der Gruppen (ähnliche mittlere Wurfnummer, vorangegangene Wurfleistung und Kondition, gemessen an der Seitenspeckdicke). Haltungs- und Fütterungsbedingungen sowie sonstige Maßnahmen des Reproduktionsmanagements waren annähernd gleich, so dass neben vergleichbarem Tiermaterial auch die Versuchsbedingungen übereinstimmten.

Als Verfahren zur Überprüfung des Effektes des synthetisch hergestellten Peforelin sowie der Kontrollsubstanzen eCG bzw. Placebo auf Follikelwachstum und Ovulation fand die transkutane Sonographie Anwendung. Follikel unterschiedlicher Größe, Corpora haemorrhagica und Corpora lutea sowie pathologische ovarielle Funktionskörper wie Zysten sind sonographisch problemlos darzustellen (HABECK 1989, SCHMIDT 1993, KAUFFOLD et al. 1997, PLISCHKE 1998, KAUFFOLD 2004a). Die transkutane Sonographie ist als Instrument zur Untersuchung der Ovarien seit mehreren Jahren in der Ferkelerzeugung etabliert (PLISCHKE 1998, KAUFFOLD 1999, 2004a) und damit als repräsentatives methodisches Element berechtigt.

Daneben wurde eine Vielzahl weiterer Parameter wie die zur Charakterisierung des Brunstgeschehens und der Fruchtbarkeitsleistungen ausgewertet, um letztlich auch den Vergleich zu Ergebnissen anderer Studien zu ermöglichen. Dabei ist zu bedenken, dass die erfassten Parameter verschiedensten endogenen und exogenen Einflussfaktoren unterliegen, die zwischen Betrieben und somit auch Studien, einschließlich der vorliegenden, variieren und den Vergleich von Ergebnissen erschweren.

5.1 DOSISFINDUNG

Der erste Versuchsabschnitt diente der Dosisfindung. Es kamen insgesamt sechs verschiedene Dosierungen zur Anwendung. Das Spektrum der geprüften Dosierungen war nicht empirisch begründet, sondern basierte vor allem auf Indizien, die sich aus den Resultaten anderer Studien ergaben: 1. Analoga des m-GnRH wie Gonadorelin[6-D-Phe] können zur Ovulationsinduktion beim Schwein eingesetzt werden. Gonadorelin[6-D-Phe] stimuliert in Dosierungen zwischen 25 und 100 µg die LH-Freisetzung (SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994, HÜHN 1996, HÜHN et al. 1996). 2. Nach Applikation von 150 µg l-GnRH-III an kastrierte Eber wurde eine selektive FSH-Freisetzung beobachtet (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005). So war es folgerichtig, Dosierungen mit dem im ersten Versuchsabschnitt gewählten Spektrum zu untersuchen.

Die zur Überprüfung gewählten Intervalle orientierten sich an bekannten Versuchen zur Testung der Wirksamkeit von eCG zur Induktion des Brunsteintritts. Ferner wurden reproduktionsphysiologische Aspekte, allen voran die der FSH-Sekretion, berücksichtigt. Auch wenn dem LH in der Phase der Reifung und des Wachstums größerer antraler Follikel eine entscheidende Bedeutung zukommt, ist FSH offensichtlich für die Initiierung des Follikelwachs-

tums essentiell (BRITT et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990, LUCY et al. 2001). So wurde unlängst gezeigt, dass das spätlaktierende Schwein ein wellenförmiges Follikelwachstum aufweist, welches durch FSH initiiert wird (LUCY et al. 2001).

Mit 150 µg Peforelin, 24 Stunden nach dem Absetzen der Ferkel appliziert, kamen alle 15 behandelten Sauen innerhalb von sieben Tagen in Brunst. Mit allen anderen Varianten wurden, bezogen auf die Östrusrate, schlechtere Ergebnisse erreicht. Die Dosierung von 150 µg Peforelin ist offenbar optimal. Die Ergebnisse suggerieren, dass die oben erwähnte FSH-Sekretion beim kastrierten Eber nach Applikation von 150 µg Peforelin auch beim pluriparen Schwein auftritt. Der 24-stündige Abstand zwischen dem Absetzen der Ferkel und Applikation des Peforelin entspricht dem von eCG (ROOST et al. 1982, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994, HÜHN 1995). Während eCG die Wirkung des FSH simuliert, ist zu vermuten, dass Peforelin die hypophysäre Ausschüttung von FSH bei der Sau stimuliert. Trifft dies zu, ist davon auszugehen, dass endogen ausgeschüttetes FSH genauso wie exogen in Form des eCG supplementiertes 24 Stunden nach dem Absetzen bei der Mehrzahl der Sauen auf eine „rezeptive“ Follikelpopulation trifft und deren Wachstum anregt (COX u. BRITT 1982, BRITT et al. 1985).

Eine Östrusrate von mindestens 95 % gilt seit langem als Indikator einer wirtschaftlich arbeitenden Herde (HÜHN u. LUTTER 1989, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994, WÄHNER 2002). Gemessen an diesem Wert wurden nur in der Versuchsgruppe 3 akzeptable Resultate erreicht. In allen anderen fünf Gruppen war die Östrusrate zum Teil erheblich niedriger. Ursachen dafür sind schwer detektierbar und vermutlich vielfältig, da sich die Gruppen sowohl in der Dosierung der Prüfsubstanz als auch im Zeitpunkt seiner Applikation unterscheiden. Möglicherweise erfolgte nach Verabreichung der Prüfsubstanz in höherer Dosierung (Gruppen 5 und 6) eine verstärkte Dimerisierung und Verinnerlichung des komplementären Rezeptors (CONN 1994, KARCK 1996, SHAPIRO 2003), in dessen Folge der Rezeptor refraktär wurde (CONN u. CROWLEY 1994). Da die Sekretionsantwort nach Bindung an den GnRH-Rezeptor dosisabhängig erfolgt (CONN u. CROWLEY 1994), wurde bei Verwendung der niedrigeren Dosierung (Gruppe 1) vermutlich zu wenig FSH sezerniert, um das Follikelwachstum adäquat zu stimulieren. Letztlich ist zu vermuten, dass die Prüfsubstanz bei Applikation 48 Stunden nach dem Absetzen (Gruppe 4) auf eine Follikelpopulation traf, die nicht „rezeptiv“ war, da die Follikel keine oder weniger FSH-Rezeptoren aufwiesen (LUCY et al. 2001, HUNTER et al. 2004, KNOX 2005). Unmittelbar nach dem Absetzen (Gruppe 2) überwiegen dagegen sicherlich noch die während der Laktation vorherrschenden Hemmmechanismen, die ein Follikelwachstum unterdrücken (Kapitel 2.1.1, ELSAESSER u. PARVIZI 1980, EDWARDS u. FOXCROFT 1983, BRITT et al. 1985, MATTIOLI et al. 1985, KRAEHLING u. BARB 1990, VARLEY u. FOXCROFT 1990).

5.2 KLINISCHE WIRKSAMKEIT

Ausgehend von den Ergebnissen des ersten Versuchsabschnittes wurde in einer zweiten Versuchsphase an einer repräsentativen Tiergruppe von ca. 100 Tieren geprüft, ob sich 150 µg Peforelin, 24 Stunden nach dem Absetzen appliziert, zur Stimulation der Brunst bei

pluriparen Sauen eignen. Als Kontrollpopulationen wurden eCG- bzw. Placebo-behandelte Sauengruppen gleicher Größe getestet.

5.2.1 BRUNSTGESCHEHEN

Wie aus den Ergebnissen ersichtlich, kamen weitaus weniger unbehandelte als behandelte (eCG und Peforelin) Tiere bis zum siebten Tage nach dem Absetzen in Brunst. Da alle Tiere gleichermaßen zootecnisch über Eberkontakt stimuliert wurden (SIGNORET 1970, BRITT et al. 1985, HEMSWORTH u. BARNETT 1990, SOEDE 1993, SCHNURRBUSCH u. HÜHN 1994, SOEDE u. KEMP 1997, LANGENDIJK et al. 2000, CARR 2002, KNOX et al. 2002a), kann der höhere Anteil brünstiger Sauen in den Gruppen I und II nur auf einen Effekt der zum Einsatz gekommenen Wirkstoffe zurückzuführen sein. In beiden Gruppen wurde annähernd die gleiche Anzahl an Tieren brünstig, so dass vergleichbare Qualitäten bzw. Effekte beider Substanzen hinsichtlich einer Brunststimulation unterstellt werden können. Vergleiche mit den Ergebnissen anderer Studien sind auf Grund der eingangs erwähnten Limitationen schwierig, zum Teil unmöglich. Dennoch sollte erwähnt werden, dass eine wie in dieser Studie erreichte Östrusrate von 95 % nach Applikation von 800 IE eCG 24 Stunden nach dem Absetzen ein ausgezeichnetes Resultat darstellt (HÜHN et al. 1996) und vergleichbare Raten mit dem alternativen Verfahren der Peforelin-Verabreichung ebenso hervorzuheben sind.

Im Vergleich der Absetz-Östrus-Intervalle wurden marginale Unterschiede ersichtlich. Sauen der Gruppe II, die eCG erhielten, wiesen ein durchschnittlich 0,3 Tage kürzeres Intervall auf als Tiere, denen Peforelin verabreicht wurde. Wenn auch statistisch gesichert, ist dieser Fakt zu vernachlässigen, da ein derartig verkürztes Intervall keine ökonomischen Vorteile bringt. Es vereinfacht das Reproduktionsmanagement nicht, da nur Intervalle von 12 Stunden und mehr in Gestaltung eines Produktionsablaufs umsetzbar sind (SCHNURRBUSCH 2003). Unbehandelte Sauen der Kontrollgruppe wiesen durchschnittlich ein ähnliches Absetz-Östrus-Intervall wie die mit Peforelin behandelten Sauen auf. Bei diesem Vergleich blieben die Tiere der Kontrollgruppe unberücksichtigt, die erst wesentlich später, d. h. nicht innerhalb der ersten Woche nach dem Absetzen, brünstig wurden. Korrigiert man das durchschnittliche Absetz-Östrus-Intervall der Kontrollgruppe um diese Tiere, verlängert es sich um etwa 60 Stunden auf ca. 163 Stunden und währt damit erheblich länger als das der Tiere in Gruppe I.

Wie nicht anders zu erwarten, konnte die Dauer der Brunst durch die Art der Behandlung nicht signifikant beeinflusst werden. In allen drei Gruppen währte sie ca. 65 Stunden und damit 10 bis 20 Stunden länger als in anderen Studien (SOEDE et al. 1994, DALIN et al. 1995, MBURU et al. 1995). Die Ursachen dafür könnten in der Methodik liegen. So wurde die Brunst in obigen Studien im Abstand von vier Stunden kontrolliert, während in der vorliegenden Arbeit alle 12 Stunden Untersuchungen stattfanden.

In allen drei Gruppen betrug das Intervall vom Östrusbeginn bis zur Ovulation durchschnittlich etwa 50 Stunden. Andere Autoren ermittelten nur 35 bis 45 Stunden, nutzten jedoch auch kürzere Untersuchungsintervalle (KEMP u. SOEDE 1996, KNOX u. RODRIGUEZ-ZAS

2001, KAEOKET et al. 2002). Im Konsens mit Literaturangaben (KÖNIG 1978, MBURU et al. 1995, SOEDE et al. 2002) fand die Ovulation im letzten Drittel der Brunst statt.

5.2.2 FOLLIKELWACHSTUM UND OVULATIONSVERLAUF

Sauen aller drei Gruppen wiesen am Tag des Absetzens Follikel mit einer Größe von durchschnittlich 4 mm auf. Vergleichbare Daten sind der Literatur u. a. auch deshalb nur spärlich zu entnehmen, da die Follikelgröße nach dem Absetzen von der Säugezeit abhängt. Je länger die Säugezeit, desto größer die durchschnittliche Follikelgröße. So wurden nach dreiwöchiger Säugezeit Follikel mit einer Größe von ca. 3 mm beobachtet (SOEDE et al. 1998), während die Follikel bei achtwöchiger Säugezeit ca. 6 mm maßen (PALMER et al. 1965). Zum Zeitpunkt der ersten Duldung waren die Follikel auf durchschnittlich 6 mm gewachsen. Ähnliche Follikelgrößen in dieser frühen Östrusphase beobachteten DALIN et al. (1995) und PLISCHKE (1998).

Wie erwähnt, lässt das Wachstum der Follikel um ca. 2 mm innerhalb weniger Tage – vor allem bei mit eCG bzw. Peforelin behandelten Sauen – vermuten, dass die sonographisch beobachtete Follikelpopulation zum Zeitpunkt des Absetzens gegenüber der applizierten Substanz (eCG) oder dem durch sie stimulierten Hormon (FSH bei Peforelin) ansprechbar war. Diese Vermutung suggeriert, dass FSH bei abgesetzten Sauen für das Follikelwachstum zwischen 4 und 6 mm eine große Rolle spielt und die Zielorgane, nämlich die Follikel, Rezeptoren für FSH aufweisen. Diesbezügliche Übersichtsarbeiten finden sich bei LUCY et al. (2001), HUNTER et al. (2004) und KNOX (2005).

Wie beim Schaf (CAMPBELL et al. 1995, HUNTER et al. 2004) und Rind (CAMPBELL et al. 1995, HUNTER et al. 2004) ist das Wachstum kleinerer und mittelgroßer Follikel auch beim Schwein FSH-abhängig. Später erfolgt eine „Umschaltung“ auf LH (LUCY et al. 2001). FSH-Rezeptoren nehmen ab (FOXCROFT u. HUNTER 1985, AINSWORTH et al. 1990, LIU et al. 2000), während solche für LH entstehen und in ihrer Anzahl zunehmen (FOXCROFT u. HUNTER 1985, LIU et al. 2000, HUNTER et al. 2004). Bei Wiederkäuern ist dieser Vorgang Teil der Selektionsmechanismen, in deren Folge der dominante Brunstfollikel entsteht, während der größte subdominante Follikel atresiert (GINTHER et al. 2003). Der spätere dominante Graafsche Follikel vollzieht den Wechsel von FSH- zu LH-Kontrolle früher und bleibt dadurch privilegiert.

Beim Schwein weisen Granulosazellen in Follikeln bis zu einem Durchmesser von 4 mm Transkripte für FSH-Rezeptoren auf, während sie in Follikeln größeren Durchmessers fehlen (FOXCROFT u. HUNTER 1985, AINSWORTH et al. 1990, LIU et al. 2000, LUCY et al. 2001). Reziprok verhält sich LH; mRNA für dessen Rezeptoren ist erst ab einer Follikelgröße von ca. 5 mm zu beobachten. Es stellt sich also die Frage, wie FSH, als eCG supplementiert oder nach Stimulation durch Peforelin endogen sezerniert (so die Vermutung), das Wachstum von Follikeln mit einer Größe von ca. 4 mm stimulieren kann. Eine Erklärung ist nicht einfach, und die nachfolgenden Thesen in diesem Zusammenhang sind zumindest teilweise spekulativ. Da Follikel mit einer Größe von 4 mm FSH-Rezeptoren, wenn auch in ihrer Anzahl vermindert, aufweisen (LUCY et al. 2001), kann das durch eCG supplementierte oder

endogen sezernierte FSH vermutlich gebunden und somit wirksam werden. Tatsächlich ist FSH bei spätlaktierenden bzw. abgesetzten Sauen, wie bereits vorab erwähnt, für die Initiierung des Wachstums der Follikel, die während der Stimulation vergleichbarer Größe wie die in dieser Studie waren, notwendig (LUCY et al. 2001). Dass FSH für das Wachstum kleinerer (1 bis 3 mm) und mittelgroßer Follikel (4 bis 6 mm) essentiell ist, zeigen andere Arbeiten. So verringert sich der Anteil Follikel dieser Größe, wenn die FSH-Sekretion zum Zeitpunkt der spontanen Luteolyse für 36 Stunden inhibiert wurde (KNOX 2005). Andererseits konnte eine derartige, durch Verabreichung porziner Follikelflüssigkeit provozierte Follikeldepletion durch Zufuhr von FSH kompensiert werden (KNOX 2005). Jungsaunen, die FSH erhalten, weisen vermehrt kleine und mittelgroße Follikel auf (GUTHRIE et al. 1990). FSH wirkt offensichtlich auch antiatretisch (HSUEH et al. 1994, GUTHRIE u. GARRETT 2001), so dass frühatretische Follikel weiteren Atresievorgängen entgehen und sich dem Pool intakter, potenziell ovulationskompetenter Follikel anschließen können. KNOX (2005) resümiert, dass FSH beim Schwein für den Erhalt oder die Bereitstellung einer ausreichenden Anzahl mittelgroßer Follikel notwendig und verantwortlich ist.

Das weitere Follikelwachstum bis zur präovulatorischen Größe erfolgt beim Schwein unter LH-Kontrolle. LH ist zu diesem Zeitpunkt essentiell, wird höherfrequent ausgeschüttet (BRITT et al. 1985, VARLEY u. FOXCROFT 1990, LUCY et al. 2001) und kann an entsprechende, zuvor ausgebildete Rezeptoren binden (FOXCROFT u. HUNTER 1985, LIU et al. 2000, HUNTER et al. 2004). Während eCG neben der FSH-Wirkkomponente auch eine solche für das LH enthält (BERGFELD et al. 1978, TIEMANN 1983, COMBARNOUS et al. 1984, HÜHN u. ROTHE 1992), ist auf Grund der vorliegenden Untersuchungen anzunehmen, dass nach Applikation von Peforelin an Sauen kein LH sezerniert wird. Anlass für diese Annahme sind Beobachtungen an kastrierten Ebern, die nach Applikation von 150 µg Peforelin FSH, aber kein LH sezernierten (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005). Während eCG auf Grund seines beim Schwein anzunehmenden LH-Anteils (COMBARNOUS et al. 1984, HÜHN u. ROTHE 1992) und einer als ausreichend lang angesehenen Wirkungsdauer [SCHNURBUSCH u. HÜHN 1994; Halbwertszeit: 16,4 h (MANN et al. 1994)] finale Wachstums- und Reifungsprozesse der Follikel stimulieren dürfte, ist Gleiches nach Applikation von Peforelin wegen oben genannter Ergebnisse nicht zu erwarten. Vielmehr ist anzunehmen, dass nach einem initialen, durch FSH stimulierten „Wachstumsschub“ endogenes LH die Kontrolle nachfolgender Vorgänge übernimmt. Bemerkenswert ist, dass FSH auch allein in der Lage ist, das Wachstum kleinerer und mittelgroßer Follikel bis zu präovulatorischer Größe zu stimulieren, wenn es über 168 Stunden stündlich verabreicht wird (PICTON et al. 1999). Ob dieser Applikationsmodus, d. h. langes Intervall und hochfrequente Applikation, tatsächlich die sich ansonsten entwickelnde LH-Abhängigkeit „überschreibt“ bzw. verhindert, bleibt offen (HUNTER et al. 2004). Dennoch ist es sinnvoll zu prüfen, ob die bei kastrierten Ebern nach Applikation von 150 µg Peforelin beobachtete Erhöhung der FSH-Konzentration über 12 Stunden ähnlich oder vielleicht sogar protrahierter auch bei Sauen auftritt und lang genug währt, um obiges Phänomen zu verursachen. Eine derartige Studie sollte weitere Fragestellungen berücksichtigen, generell aber dazu beitragen, die nach Applikation von Peforelin beobachteten Sekretionsmuster der Gonadotropine bei Sauen zu eruieren.

Wie wiederholt beschrieben (KÖNIG 1978, MBURU et al. 1995, SOEDE et al. 2002), fand in allen drei Gruppen bei den Sauen, die innerhalb der ersten sieben Tage nach dem Absetzen brünstig wurden, die Ovulation im letzten Drittel der Brunst statt. Betreffende Sauen ovulierten mehrheitlich im Intervall zwischen Dienstagnachmittag (13.00 Uhr) und Mittwochnacht (1.00 Uhr). Während somit nahezu alle mit eCG bzw. Peforelin behandelten Sauen annähernd synchron ovulierten, sind bei der Analyse des Ovulationsverhaltens der unbehandelten Kontrolltiere diejenigen Tiere zu berücksichtigen, die innerhalb der ersten Woche nach dem Absetzen keine Brunstsymptome aufwiesen. Wird Entsprechendes berücksichtigt, haben die Ovulationszeitpunkte bei den Kontrolltieren nicht unerheblich gestreut. Da die Ovulation als finales Ereignis einer komplexen Kaskade vorangegangener Entwicklungs- und Reifungsprozesse von Follikeln und Eizellen anzusehen ist, wird angenommen, dass Peforelin derartige Prozesse stimuliert und damit die Voraussetzungen für eine nachfolgende fertile Brunst schafft (siehe unten).

Bei jeweils einer der mit eCG bzw. Peforelin behandelten Sauen wurden zum Zeitpunkt der letzten Untersuchung nach ansonsten abgeschlossener Ovulation solitäre Zysten beobachtet. Diese zu vernachlässigende Anzahl demonstriert, dass weder Peforelin noch eCG, wie gelegentlich betont (WRATHAL 1977), Zysten provozieren. Zudem muss bedacht werden, dass solitäre Zysten das Zyklusgeschehen und – auf Grund der gewöhnlich hohen Ovulationsrate beim Schwein – die Reproduktionsleistung betreffender Sauen nicht negativ beeinflussen müssen (WRATHAL 1977). Solche Zysten atresieren in der Regel spontan, auch wenn parallel dazu Corpora lutea vorhanden sind (SCHMIDT 1993, PLONAIT 2001a).

5.2.3 UMRAUSCHER- UND TRÄCHTIGKEITSERGEBNIS

Unabhängig von den Maßnahmen zur Brunststimulation, d. h. behandelt oder unbehandelt, wurden in der vierten Woche post inseminationem 95 % der Sauen als tragend befundet. Ähnlich hoch waren die Trächtigkeitsraten (90 bis 95 %). Ein nur marginaler Anteil Sauen rauschte um. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die Art der Brunststimulation keinen Einfluss auf obige Parameter hat. Sie demonstrieren, dass das Fruchtbarkeitsniveau im Versuchsbetrieb hoch war. Ein Vergleich mit Angaben anderer Autoren ist nur schwer möglich. Erwähnt sei, dass noch vor 10 Jahren Trächtigkeitsraten von 80 % auch in gut geführten Betrieben (LONGENECKER u. DAY 1968, KÖNIG et al. 1977, HÜHN et al. 1996) als normal angesehen wurden. Aktuell erreichen solche Herden Trächtigkeitsraten von 85 bis 93 %, wie Auswertungen aus Sachsen, Sachsen-Anhalt und Brandenburg zeigen (WEBER 2002).

5.2.4 ABFERKELERGEBNIS

Die Abferkelrate war in der mit Placebo behandelten Gruppe um ca. 20 % niedriger als in den beiden anderen Gruppen (92,2 bzw. 93,4 versus 73,8 % in den Gruppen I, II bzw. III). Da dieser Parameter die zur Besamung aufgestellten Sauen, die abferkelten reflektiert, werden bei dessen Berechnung auch die Sauen berücksichtigt, die nicht zeitgerecht innerhalb des Referenzintervalls von sieben Tagen nach dem Absetzen brünstig wurden. In der Kontrollgruppe gab es einen besonders hohen Anteil Sauen ohne Brunsterscheinungen, so dass

sich die Unterschiede in der Abferkelrate vor allem darin begründen. Andere Ausfälle wie vorzeitige Abgänge oder Umrauscher waren eher von marginalem Einfluss.

Maßgeblich war, dass in dieser Studie in gleichem Umfang mit eCG und Peforelin behandelte Sauen abferkelten. Für die Interpretation dieses Resultates trifft oben Erwähntes gleichermaßen zu: Der (gleich) hohe Anteil brünstiger Sauen innerhalb der ersten Woche ist als Schrittmacher für diese Entwicklung anzusehen.

Die Wurfgrößen waren in allen drei Gruppen vergleichbar. Insgesamt wurden behandlungsunabhängig durchschnittlich 11,5 bis 12 Ferkel je Wurf geboren. Im Vergleich mit Angaben in der Literatur (HENZE u. KRETZSCHMAR 1980, HEINZE 1982, HEINZE et al. 1982, ROOST et al. 1982, HEINZE u. STAHL 1989, HÜHN u. ROTHE 1992, HEINZE 2003) sind diese Resultate als sehr gut zu bezeichnen. Welche Interpretation ist darüber hinaus möglich? 1. Es wurde weder mit eCG noch mit Peforelin eine Superovulationsantwort provoziert, da Sauen der unbehandelten Kontrollgruppe die gleiche Anzahl Ferkel gebaren. 2. Selbst wenn eine Superovulationsantwort auftrat, wurde die Wurfgröße nachträglich auf eine physiologische Anzahl reduziert. Das ist nicht verwunderlich, da die Uterusgröße, allen voran die Uterushornlänge, die Wurfgröße determiniert und ein „over-crowding“ vermeidet (LONGENECKER u. DAY 1968, WU et al. 1987, BENNETT u. LEYMASTER 1989). 3. Zumindest im Untersuchungsbetrieb kann die Wurfgröße nicht Anlass sein, Maßnahmen zur biotechnischen Zyklusbeeinflussung, wie in dieser Studie untersucht, anzuwenden. Die Stimulation eines zeitgerechten bzw. rechtzeitigen Brunsteintritts dürfte wesentlichste Motivation sein, da auch andere, von der Östrusrate unbeeinflusste Parameter wie lebend und tot geborene Ferkel oder die Ferkelindizes zwischen den Gruppen gleich waren oder nur marginale Unterschiede aufwiesen.

5.2.5 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ERGEBNISSEN SOWIE ZWISCHEN ERGEBNISSEN UND ANAMNESTISCHEN DATEN

In der vorliegenden Arbeit wurden in allen drei Gruppen Zusammenhänge zwischen Brunstdauer bzw. dem Intervall Östrusbeginn bis Ovulation und dem Absetz-Östrus-Intervall beobachtet. Ferner bestand ein Zusammenhang zwischen der Brunstdauer und dem Intervall von Östrusbeginn bis Ovulation. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen somit seit längerem bekannte Phänomene (WEITZE et al. 1994, MBURU et al. 1995, SOEDE et al. 2002), die besagen, dass die Brunst umso länger dauert, je kürzer das Absetz-Östrus-Intervall ist und entsprechende Tiere, bezogen auf den Brunstbeginn, später ovulieren. Auch wenn diese Ergebnisse im Hinblick auf die zyklusstimulierende Wirkung der verwendeten Substanzen eher von untergeordneter Bedeutung sind, verdeutlichen sie andererseits, wie wichtig eine genaue Brunstbeobachtung und die Kenntnis des Brunstverhaltens der Sauen einer Herde für die richtige zeitliche Platzierung von Besamungen sind (FLÉCHON u. HUNTER 1981, HUNTER 1984, SOEDE et al. 1995, 2002).

In dieser Arbeit wurde des Weiteren untersucht, ob Wechselwirkungen zwischen Ergebnissen und anderen Parametern wie z. B. Leistungen im vorangegangenen Wurf oder Haltungsbedingungen bestanden. Derartige Wechselwirkungen bestanden mit wenigen Ausnah-

men nicht. Damit wird u. a. belegt, dass externe Faktoren keinen oder für alle Gruppen gleichen Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse hatten.

In der Gruppe I bestand ein Zusammenhang zwischen Dauer der Säugezeit und Länge des Absetz-Östrus-Intervalls, der in den beiden anderen Gruppen jedoch nicht beobachtet werden konnte. Sauen der Gruppe I mit längerer Säugezeit kamen früher in Brunst. Ein solcher Zusammenhang ist auch den Angaben von SVAJGR et al. 1974, COLE et al. 1975, ALLRICH et al. 1979, DEWEY et al. 1994, KOKETSU und DIAL 1997, BORCHARDT NETO 1998 sowie BELSTRA et al. 2002 zu entnehmen. Ursache dafür soll sein, dass die Follikel nach langer Säugezeit größer als die nach kürzerer sind und sich schneller zu präovulatorischer Größe entwickeln (PALMER et al. 1965, SOEDE et al. 1998). Da die Follikel zum Zeitpunkt des Absetzens unabhängig von der Säugezeit und Gruppenzugehörigkeit gleich groß waren, ist obige Erklärung nicht stimmig.

Ob die nur in Gruppe I ermittelte höhere Anzahl tot geborener Ferkel tatsächlich auf die Gruppenhaltung zurückzuführen ist, bleibt fraglich, obwohl negative Effekte einer derartigen Haltung u. a. durch Stress, erhöhte Verletzungsgefahr durch Buchtennachbarinnen, schlechtere Kontrollmöglichkeiten der Futteraufnahme und ein erhöhtes Infektionsrisiko auf verschiedene Reproduktionsleistungen beschrieben wurden (HURTTGEN 1981, CROMWELL et al. 1989, GJEIN u. LARSEN 1995). Dass acht von 10 Tieren ohne Wurf als tragende Tiere in Gruppen gehalten wurden, mag als weiteres Indiz für einen nachteiligen Effekt dieser Haltungsform auf die Gravidität beim Schwein gelten.

5.2.6 SCHLUSSBETRACHTUNG, SCHLUSSFOLGERUNGEN

Der Einsatz der Biotechnik in der Schweineproduktion ermöglicht die Anwendung des Alles-rein-alles-raus-Prinzips. Dies führt zu einer verbesserten Hygiene, ermöglicht eine optimale Herdenüberwachung und unterstützt den Gesundheitszustand der Herde.

In dieser Arbeit wurde überprüft, ob der in dem Präparat Maprelin[®] XP10 enthaltene Wirkstoff Peforelin zur Brunststimulation bei pluriparen Sauen geeignet ist. Der Wirkstoff ist ein synthetisch hergestelltes Polypeptid und mit dem beim Seeneunauge (*Petromyzon marinus*) vorkommenden I-GnRH-III strukturgleich. Diese Substanz regt wie das im Hypothalamus gebildete GnRH die Gonadotropinausschüttung in der Hypophyse an. Während das bekannte GnRH vornehmlich die LH-Freisetzung und in geringerem Ausmaß auch die von FSH stimuliert, zeigt das neue Releasing-Hormon eine selektive Wirkung für FSH, wie in einer präklinischen Untersuchung an kastrierten Ebern nachgewiesen werden konnte (KAUFFOLD et al. 2004b, 2005).

In dieser Arbeit konnte durch die intramuskuläre Injektion von 2 ml Maprelin[®] XP10 (150 µg Peforelin) 24 Stunden nach dem Absetzen die Östrusrate gegenüber unbehandelten Kontrolltieren signifikant um etwa 15 auf über 95 % gesteigert werden. Im Vergleich zu Sauen, die 800 IE eCG erhielten, erwies sich Maprelin[®] XP10 als gleichwertig. Sauen, die mit eCG oder Maprelin[®] XP10 behandelt wurden, wiesen eine um ca. 5 % tendenziell höhere Träch-

tigkeitsrate als Sauen der Placebogruppe auf. In allen drei Gruppen wurden jeweils insgesamt ca. 12 Ferkel geboren.

Die Ergebnisse der Untersuchungen demonstrieren, dass sich Maprelin® XP10 in gleicher Weise wie eCG zur Stimulation der Brunst bei Altsauen eignet und bei dessen Einsatz vergleichbare gute Fruchtbarkeitsleistungen zu erzielen sind. Da Maprelin® XP10 einen Wirkstoff enthält, der im Tierkörper sehr schnell enzymatisch abgebaut wird, keinerlei Rückstände im Fleisch verursacht und sich in allen Untersuchungen als sehr gut lokal sowie allgemein verträglich erwies, kann seine Anwendung zum Zyklusstart bei pluriparen Sauen empfohlen werden. Die Verfügbarkeit des Präparates mag vor allem aus tierschützerischer Sicht als Fortschritt angesehen werden, da der enthaltene Wirkstoff synthetisch herstellbar ist. Im Gegensatz dazu wird eCG auch heute noch aus dem Serum gravider Stuten gewonnen (RICHTER 1982, ANONYM 2005) und muss gemäß Europäischem Arzneibuch (ANONYM 2005) in Ratten (Rattenovartest) und/oder Mäusen (Mäuseuterustest) auf Wertigkeit und Qualität überprüft werden (BERGFELD et al. 1978, BERGFELD et al. 1982, BERGFELD u. GUIARD 1983).

Untersuchungen zur Eignung von Maprelin® XP10 bei Jungsaunen und primiparen Sauen sollten durchgeführt werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Silke Engl

Untersuchungen zur Eignung einer neuen GnRH-Variante zur Brunstinduktion bei pluriparen Sauen

Ambulatorische und Geburtshilfliche Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im April 2006

121 Seiten, 19 Abbildungen, 34 Tabellen, 345 Literaturangaben, Anhang

Schlüsselworte: Schwein, Zyklusinduktion, Brunststeuerung, GnRH, Gonadorelin[5-His, 6-Asp, 7-Trp, 8-Lys], Peforelin, eCG, Trächtigkeitsrate, Wurfgröße

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die brunststimulierende Wirkung des synthetisch hergestellten Gonadorelin[5-His, 6-Asp, 7-Trp, 8-Lys] (International Nonproprietary Name: Peforelin), das in dem Präparat Maprelin[®] XP10 enthalten ist, bei abgesetzten pluriparen Sauen zu prüfen. Im ersten Versuchsabschnitt wurde die zweckmäßige Dosierung ermittelt. Im zweiten Versuchsabschnitt wurde die Wirkung von Maprelin[®] XP10 mit der einer eCG- und einer Placebobehandlung verglichen.

Die Bedingungen waren für die Versuchstiere in beiden Versuchsabschnitten homogen (etwa vierter Wurf, Säugezeit vier Wochen, Brunstkontrolle zweimal täglich in Anwesenheit eines geschlechtsaktiven Ebers, zweimal täglich sonographische Ovaruntersuchung, duldungsorientierte Besamung einmal täglich).

In der Dosisfindungsstudie, in die 88 Tiere einbezogen wurden, erwies sich die Dosierung von 150 µg Peforelin, 24 Stunden nach dem Absetzen appliziert, als zweckmäßig zur Brunststimulation. Andere getestete Varianten (100 µg 24 Stunden, 150 µg 0 Stunden, 150 µg 48 Stunden, 187,5 µg 24 Stunden, 255 µg 24 Stunden nach dem Absetzen) waren hierzu weniger geeignet.

In der Untersuchung zur klinischen Wirksamkeit wurden die 313 einbezogenen Tiere in drei Gruppen aufgeteilt und erhielten 24 Stunden nach dem Absetzen pro Tier 150 µg Peforelin (Gruppe I), 800 IE eCG (Gruppe II) oder 2 ml physiologische NaCl-Lösung als Placebo (Gruppe III). Zur Befunderhebung an den Ovarien wurden die Tiere zweimal täglich sonographisch untersucht.

Die Östrusrate nach der Peforelin-Behandlung war derjenigen nach eCG-Injektion gleichwertig (95,1 bzw. 96,3 %), beide waren der Placebobehandlung signifikant überlegen (80,6 %). In die weiteren Auswertungen wurden nur Tiere mit Brunstbeginn bis zum siebten Tag nach dem Absetzen einbezogen. Das Absetz-Östrus-Intervall betrug 100,5, 94,2 bzw. 104,1 Stunden in den Gruppen I, II bzw. III. In der Brunstdauer und dem Intervall vom Östrusbeginn bis zur Ovulation unterschieden sich die drei Gruppen nicht.

Die durchschnittliche Follikelgröße war in allen drei Gruppen zum Zeitpunkt des Absetzens 4 mm und zum Zeitpunkt der ersten Duldung 6 mm. Die Ovulationen fanden sowohl nach eCG als auch nach Maprelin® XP10 zwischen dem Mittag des sechsten (13.00 h) und der Nacht des siebten Tages (1.00 h) nach dem Absetzen statt.

Bei der sonographischen Trächtigkeitsuntersuchung in der vierten Woche post inseminationem waren 100,0, 99,0 bzw. 97,6 % in den Gruppen I, II bzw. III positiv. Die Trächtigkeitsrate betrug 96,9, 97,1 bzw. 91,6 % in den Gruppen I, II bzw. III. Die Abferkelrate ergab 92,2, 93,4 und 73,8 % in den Gruppen I, II und III. Das Abferkelergebnis war in allen drei Gruppen gleich (11,7, 12,0 bzw. 11,6 insgesamt geborene Ferkel in den Gruppen I, II bzw. III).

Es wurde eine negative Korrelation zwischen der Dauer des Absetz-Östrus-Intervalls und der Brunstdauer bzw. dem Intervall vom Östrusbeginn bis zur Ovulation nachgewiesen. Darüber hinaus korrelierten die Brunstdauer und das Intervall Östrusbeginn bis Ovulation positiv miteinander. In allen drei Gruppen stand die Follikelgröße bei der ersten Duldung in positiver Korrelation mit der Länge des Absetz-Östrus-Intervalls. Nach längerer Säugezeit kamen die Sauen tendenziell und in der Gruppe I signifikant früher in die Brunst als nach kürzerer Laktation. Weitere überprüfte potentielle Einflussfaktoren hatten weder auf den Brunsteintritt noch auf die erzielten Wurfgrößen oder andere Parameter Auswirkungen.

Mit der vorliegenden Untersuchung wurde erstmals die Wirksamkeit des synthetisch hergestellten Peforelin zur Brunststimulation bei abgesetzten pluriparen Sauen nachgewiesen. Inwieweit das Präparat für diese Indikation auch bei primiparen Sauen oder Jungsaunen wirksam eingesetzt werden kann, bleibt weiteren klinischen Prüfungen vorbehalten.

7 SUMMARY

Silke Engl

Researches into the suitability of a new GnRH-variant for oestrus induction in pluriparous sows

Large Animal Clinic for Theriogenology and Ambulatory Services, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in April 2006

121 pages, 19 figures, 34 tables, 345 references, appendix

Keywords: pig, inducing the oestrous cycle, controlling reproduction, GnRH, Gonadorelin[5-His, 6-Asp, 7-Trp, 8-Lys], Peforelin, eCG, pregnancy rate, litter size

The objective of this work was to test the oestrus inducing efficacy in weaned pluriparous sows of the synthetically produced Gonadorelin[5-His, 6-Asp, 7-Trp, 8-Lys] (International non-proprietary name: Peforelin), which is contained in the preparation Maprelin[®] XP10. The effective dosage was determined in the first part of the experiment. In the second phase the efficacy of Maprelin[®] XP10 was compared to that of an eCG and a placebo treatment.

The conditions for the experimental animals were homogenous during both parts of the experiment (around the 4th litter, four weeks suckling period, heat detection twice daily in the presence of a sexually active boar, twice daily sonographic examination of the ovaries, insemination once-daily based on the standing reflex).

The investigation into the dosage rate involving 88 animals, proved that a dosage of 150 µg Peforelin given 24 hours following weaning is suitable for inducing oestrus. Other tested variants (100 µg 24 hours, 150 µg 0 hours, 150 µg 48 hours, 187.5 µg 24 hours, 255 µg 24 hours after weaning) were less suitable.

In the investigation into the clinical efficacy, the 313 animals included were allocated equally into three groups and 24 hours after weaning each animal received 150 µg Peforelin (group I), 800 IU eCG (group II) or 2 ml sodium chloride solution as a placebo (group III). In order to investigate the ovaries the animals were sonographically examined twice a day.

The rate of oestrus following the Peforelin treatment was equal to that after the eCG injection (95.1 and 96.3 %, resp.), both were significantly superior to the placebo treatment (80.6 %). Only animals that had commenced oestrus by day seven following weaning were included for further evaluation. The weaning to oestrus interval was 100.5, 94.2 and 104.1 hours in groups I, II and III, resp. The three groups did not differ for the duration of oestrus or the interval from the commencement of oestrus to ovulation.

The average follicle size was in all three groups 4 mm at the time of weaning and 6 mm at the time of first standing reflex. Following both eCG as well as Maprelin[®] XP10, the ovulations occurred within a period between the noon of the 6th (01.00 h p.m.) and the night of the 7th day (01.00 h a.m.) after weaning.

The sonographic pregnancy tests in the fourth week after inseminationem gave 100.0, 99.0 and 97.6 % as positive in groups I, II and III, resp. The gestation rates were 96.9, 97.1 and 91.6 % in groups I, II and III, resp. The farrowing rates were 92.2, 93.4 and 73.8 % in groups I, II and III, resp. The litter sizes were the same in all three groups (11.7, 12.0 and 11.6 total piglets born in groups I, II and III, resp.).

A negative correlation was derived between the length of the weaning to oestrus interval and the duration of oestrus as well as the interval from the onset of oestrus to ovulation. Furthermore, the duration of oestrus and the interval from the onset of oestrus to ovulation correlated positively with each other. In all three groups the follicle size at the first standing reflex had a positive correlation to the length of the weaning to oestrus interval. The sows in group III came into oestrus significantly earlier following a longer lactation in comparison to those with a shorter lactation, in groups I and II this was as a tendency. Further potential influencing factors investigated did not have any effects on the commencement of oestrus nor on the litter size achieved, or on any other parameter.

The experiment presented has determined for the first time the efficacy of synthetically produced Peforelin for inducing oestrus in weaned pluriparous sows. To what extent the preparation can be used effectively for this indication in primiparous sows or gilts is reserved for further clinical investigations.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Abe H, Oka Y. Mechanisms of the modulation of pacemaker activity by GnRH peptides in the terminal nerve-GnRH neurons. *Zoolog Sci.* 2002;19:111-28.

Adams BA, Tello JA, Erchegyi J, Warby C, Hong DJ, Akinsanya KO et al. Six novel gonadotropin-releasing hormones are encoded as triplets on each of two genes in the protochordate, *Ciona intestinalis*. *Endocrinology.* 2003;144:1907-19.

Ainsworth L, Tsang BK, Downey BR, Marcus GJ. The synthesis and actions of steroids and prostaglandins during follicular maturation in the pig. *J Reprod Fertil Suppl.* 1990;40:137-50.

Allen WR, Moor RM. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of eCG by fetal trophoblast cells. *J Reprod Fertil.* 1972;29:313-6.

Allrich RD, Tilton JE, Johnson JN, Slanger WD, Marchello MJ. Effect of lactation length and fasting on various reproductive phenomena of sows. *J Anim Sci.* 1979;48:359-62.

Amstalden M, Zieba DA, Garcia MR, Stanko RL, Welsh Jr TH, Hansel WH et al. Evidence that lamprey GnRH-III does not release FSH selectively in cattle. *Reproduction.* 2004;127:35-43.

Andreu-Vieyra CV, Habibi HR. Growth inhibitory and apoptotic effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on human hepatocellular carcinoma. In: Matsoukas J, Mavroumoustakos T, editors. *Drug Discovery and Design: Medical Aspects.* Amsterdam: IOS Press; 2002. p. 41-53. (Biomedical and Health Research; vol 55).

Anonym. Gonadotrophin, equine serum, for veterinary use. *European pharmacopoeia.* 2005; 5.0:1686.

Armstrong JD, Kraeling RR, Britt JH. Morphine suppresses luteinizing hormone concentrations in transiently weaned sows and delays onset of estrus after weaning. *J Anim Sci.* 1988; 66:2216-23.

Bagnell CA, McMurtry JP, Baker NK, Timtim JK, Bryant-Greenwood GD. Detection of relaxin by immunohistochemistry in the corpus luteum during lactation. *Biol Reprod.* 1987;37:1317-25.

Bankov N, Dontschev P, Zotschev I, Christov M. Über den Effekt des Gn-RH vet. "Berlin-Chemie" für die Synchronisation der Brunst und der Ovulation bei Schafen in der Fortpflanzungsperiode. *Mh Veterinärmed.* 1984;39:160-1.

Barnett DK, Bunnell TM, Millar RP, Abbott DH. Gonadotropin-releasing hormone II stimulates female sexual behavior in marmoset monkeys. *Endocrinology.* 2006;147:615-23.

Bartlewski PM, Beard AP, Chapman CL, Nelson ML, Palmer B, Aravindakshan J et al. Ovarian responses in gonadotrophin-releasing hormone-treated anoestrous ewes: Follicular and endocrine correlates with luteal outcome. *Reprod Fertil Dev.* 2001;13:133-42.

Bates RO, Day BN, Britt JH, Clark LK, Brauer MA. Reproductive performance of sows treated with a combination of pregnant mare's serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin at weaning in the summer. *J Anim Sci.* 1991;69:894-8.

Bates RO, Kelpinski J, Hines B, Ricker D. Hormonal therapy for sows weaned during fall and winter. *J Anim Sci.* 2000;78:2068-71.

Battin DA, diZerega GS. The effect of follicular fluid protein(s) on gonadotropin-modulated secretion of progesterone in porcine granulosa cell cultures. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;153:432-8.

Bellisario R, Carlsen RB, Bahl OP. Human chorionic gonadotropin. Linear amino acid sequence of the α subunit. *J Biol Chem.* 1973;248:6796-809.

Belstra BA, Diekman MA, Richert BT, Singleton WL. Effects of lactation length and an exogenous progesterone and estradiol-17 β regimen during embryo attachment on endogenous steroid concentrations and embryo survival in sows. *Theriogenology.* 2002;57:2063-81.

Belstra BA, Flowers WL, See MT. Factors affecting temporal relationships between estrus and ovulation in commercial sow farms. *Anim Reprod Sci.* 2004;84:377-94.

Bennett GL, Leymaster KA. Integration of ovulation rate, potential embryonic viability and uterine capacity into a model of litter size in swine. *J Anim Sci.* 1989;67:1230-41.

Bentley GE, Moore IT, Sower SA, Wingfield JC. Evidence for a novel gonadotropin-releasing hormone in hypothalamic and forebrain areas in songbirds. *Brain Behav Evol.* 2004;63:34-46.

Bergfeld J, George G, Brüssow KP. Untersuchungen zur Ovulationsdynamik und -potenz in Altsauengruppen mehrerer Betriebe nach Anwendung unterschiedlicher Behandlungen zur Ovulationsstimulation. *Arch Exp Veterinärmed.* 1984;38:849-56.

Bergfeld J, Guiard V. Zur Ermittlung der gonadotropen Wertigkeit von Präparaten aus dem Serum tragender Stuten (PMSG). 2. Mitteilung: Wirkäquivalenz des PMSG in den Bioassays für Follikelstimulierungshormon (FSH) und Luteinisierungshormon (LH) bzw. humanes Choriongonadotropin (hCG), kritische Einschätzung der Methoden. *Arch Exp Veterinärmed.* 1983;37:767-75.

Bergfeld J, Guiard V, Uhlig H. Zur Bedeutung, Herstellung und Wertbestimmung eines internationalen PMSG-Substandards. *Mh Veterinärmed.* 1982;37:504-7.

Bergfeld J, Hühn U. Stand und Perspektive der Biotechnik der Fortpflanzung bei der Sau. Mh Veterinärmed. 1983;38:688-93.

Bergfeld J, Reinhardt G, König I. Zur Frage der Bedeutung und Bestimmung follikelstimulierender und luteinisierender Wirkanteile in PMSG-Präparaten. Arch Exp Veterinärmed. 1978; 32:135-40.

Bergfeld J, Rubo B, George G, Brüssow KP. Untersuchungen zur PMSG-Dosispräzisierung bei Jung- und Altsauen im Verfahren der biotechnischen Ovulationssynchronisation. 2. Mitteilung: Organo- und histometrische Befunde nach diagnostischen Schlachtungen. Arch Exp Veterinärmed. 1990a;44:781-8.

Bergfeld J, Rubo B, Krey M, George G. Untersuchungen zur PMSG-Dosispräzisierung bei Jung- und Altsauen im Verfahren der biotechnischen Ovulationssynchronisation. 1. Mitteilung: Vergleichende diagnostische Laparotomien. Arch Exp Veterinärmed. 1990b;44:11-8.

Bevers MM, Willemse AH, Kruip TAM. Plasma prolactin levels in the sow during lactation and postweaning period as measured by radioimmunoassay. Biol Reprod. 1978;19:628-34.

Bhasin S, Fielder TJ, Swerdloff RS. Testosterone selectively increases serum follicle-stimulating hormonal (FSH) but not luteinizing hormone (LH) in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated male rats: Evidence for differential regulation of LH and FSH secretion. Biol Reprod. 1987;37:55-9.

Bilkei G. Sauen-Management. Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1996. S. 31-4.

Bishop W, Krulich L, Fawcett CP, McCann SM. The effect of median eminence (ME) lesions on plasma levels of FSH, LH, and Prolactin in the rat (35396). Proc Soc Exp Biol Med. 1971;136:925-7.

Blech W. Regulation der Adenohypophyse durch hypothalamische Hormone – Teil 1: Zur Biochemie und Physiologie der Releasinghormone. Endokrinologie 1977;69:369-94.

Blödw G, Bergfeld J, Kitzig M, Brüssow KP. Steroidhormonspiegel in Follikelflüssigkeiten von spontanöstrischen und ovulationssynchronisierten Schweinen. Arch Exp Veterinärmed. 1990;44:611-20.

Bogerd J, Diepenbroek WB, Hund E, van Oosterhout F, Teves ACC, Leurs R et al. Two gonadotropin-releasing hormone receptors in the african catfish: No differences in ligand selectivity, but differences in tissue distribution. Endocrinology. 2002;143:4673-82.

Boonyaparakob U, Gadsby JE, Hedgpeth V, Routh P, Almond GW. Cloning of pig prostaglandin F_{2α} (FP) receptor cDNA and expression of its mRNA in the corpora lutea. Reproduction. 2003;125:53-64.

Borchardt Neto G. Causes of variation of oestrus length and onset of oestrus-ovulation interval and their relationship with pregnancy rate and litter size in multiparous sows [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztl Hochsch Hannover; 1998.

Braw RH, Tsafiri A. Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary. *J Reprod Fertil.* 1980;59:267-72.

Brinsko SP. GnRH therapy for subfertile stallions. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1996;12:149-60.

Britt JH, Almond GW, Flowers WL. Diseases of the reproductive system. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, editors: *Diseases of swine.* 8th ed. Oxford: Blackwell Science; 1999. p. 883-912.

Britt JH, Armstrong JD, Cox NM, Esbenshade KL. Control of follicular development during and after lactation in sows. *J Reprod Fertil Suppl.* 1985;33:37-54.

Britt JH, Day BN, Webel SK, Brauer MA. Induction of fertile estrus in prepuberal gilts by treatment with a combination of pregnant mare's serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin. *J Anim Sci.* 1989;67:1148-53.

Brossmer R, Merz WE, Hilgenfeldt U. Separation of purified human chorionic gonadotropin into single bands by isoelectric focusing and their characterization. *FEBS Lett.* 1971;18:112-4.

Brown JL, Reeves JJ. Absence of specific luteinizing hormone releasing hormone receptors in ovine, bovine and porcine ovaries. *Biol Reprod.* 1983;29:1179-82.

Brüssow KP. Physiologische Grundlagen der Befruchtung beim Schwein. In: *Tagungsband zum 7. Bernburger Biotechnik-Workshop – Künstliche Besamung beim Schwein*; 18. – 19. Mai 2001; Bernburg, Deutschland; 2001. S. 33-9.

Brüssow KP, Jöchle W, Hühn U. Control of ovulation with a GnRH analog in gilts and sows. *Theriogenology.* 1996;46:925-34.

Brüssow KP, Ratky J, Kanitz W, Becker F. Determination of the duration of ovulation in gilts by means of laparoscopy. *Reprod Dom Anim.* 1990;25:184-90.

Butler SA, Khanlian SA, Cole LA. Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices. *Clin Chem.* 2001;47:2131-6.

Campbell BK, Scaramuzzi RJ, Webb R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *J Reprod Fertil Suppl.* 1995;49:335-50.

Carlsen RB, Bahl OP, Swaminathan N. Human chorionic gonadotropin. Linear amino acid sequence of the β subunit. *J Biol Chem.* 1973;248:6810-27.

Carolsfeld J, Powell JFF, Park M, Fischer WH, Craig AG, Chang JP et al. Primary structure and function of three gonadotropin-releasing hormones, including a novel form, from an ancient teleost, herring. *Endocrinology.* 2000;141:505-12.

Carr J, Thacker B, Jenson S. Control of boar exposure during artificial insemination in sows. In: proceedings of the 17th Congress of the international pig veterinary society; 2002 Jun 2-5; Ames, Iowa, USA. Ames; 2002. Vol 2 p. 497.

Chen A, Kaganovsky E, Rahimpour S, Ben-Aroya N, Okon E, Koch Y. Two forms of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) are expressed in human breast tissue and overexpressed in breast cancer: A putative mechanism for the antiproliferative effect of GnRH by down-regulation of acidic ribosomal phosphoproteins P1 and P2. *Cancer Res.* 2002;62:1036-44.

Cheng KW, Nathwani PS, Leung PCK. Regulation of human gonadotropin-releasing hormone receptor gene expression in placental cells. *Endocrinology.* 2000;141:2340-9.

Childs GV, Unabia G. Cytochemical studies of the effects of activin on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) binding by pituitary gonadotropes and growth hormone cells. *J Histochem Cytochem.* 1997;45:1603-10.

Cisneros F, Ellis M, Miller KD, Novakofski J, Wilson ER, McKeith FK. Comparison of transverse and longitudinal real-time ultrasound scans for prediction of lean cut yields and fat-free lean content in live pigs. *J Anim Sci.* 1996;74:2566-76.

Cole DJA, Varley MA, Hughes PE. Studies in sow reproduction. 2. The effect of lactation length on the subsequent reproductive performance of the sow. *Anim Prod.* 1975;20:401-6.

Combarrous Y, Guillou F, Martinat N, Cahoreau C. Origin of the FSH + LH double activity of equine chorionic gonadotropin (eCG/PMSG) [Origine de la double activité FSH + LH de la choriogonadotropine équine (eCG/PMSG) (frz)]. *Ann Endocrinol (Paris).* 1984;45:261-8.

Conley AJ, Howard HJ, Slanger WD, Ford JJ. Steroidogenesis in the preovulatory porcine follicle. *Biol Reprod.* 1994;51:655-61.

Conn PM. The molecular mechanism of gonadotropin-releasing hormone action in the pituitary. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The physiology of reproduction.* 2nd ed. New York: Raven Press; 1994. p. 1815-32.

Conn PM, Crowley WF. Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. *Annu Rev Med.* 1994;45:391-405.

Conn PM, McArdle CA, Andrews WV, Huckle WR. The molecular basis of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) action in the pituitary gonadotrope. *Biol Reprod.* 1987;36:17-35.

Corless CL, Bielinska M, Ramabhadran TV, Daniels-McQueen S, Otani T, Reitz BA et al. Gonadotropin α subunit. Differential processing of free and combined forms in human trophoblast and transfected mouse cells. *J Biol Chem.* 1987;262:14197-203.

Corrêa MN, Lucia Jr T, Afonso JAB, Deschamps JC. Reproductive performance of early-weaned female swine according to their estrus profile and frequency of artificial insemination. *Theriogenology.* 2002;58:103-12.

Cox NM, Britt JH. Relationships between endogenous gonadotropin-releasing hormone, gonadotropins, and follicular development after weaning in sows. *Biol Reprod.* 1982;27:70-8.

Cromwell GL, Hall DD, Clawson AJ, Combs GE, Knabe DA, Maxwell CV et al. Effects of additional feed during late gestation on reproductive performance of sows: A cooperative study. *J Anim Sci.* 1989;67:3-14.

Daikoku S. The olfactory origin of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neurons. A new era in reproduction physiology. *Arch Histol Cytol.* 1999;62:107-17.

Dalin AM. The effect of a PMSG/hCG preparation in anoestrous sows and gilts. *Nord Vet Med.* 1984;36:201-6.

Dalin AM, Nanda T, Hultén F, Einarsson S. Ovarian activity at naturally attained oestrus in the sow. An ultrasonographic and LH study. *Acta Vet Scand.* 1995;36:377-82.

Danforth DR, Sinosich MJ, Anderson TL, Cheng CY, Dardin CW, Hodgen GD. Identification of gonadotropin surge-inhibiting factor (GnSIF) in follicular fluid and its differentiation from inhibin. *Biol Reprod.* 1987;37:1075-82.

Dees WL, Dearth RK, Hooper RN, Brinsko SP, Romano JE, Rahe H et al. Lamprey gonadotropin-releasing hormone-III selectively releases follicle stimulating hormone in the bovine. *Domest Anim Endocrinol.* 2001;20:279-88.

Dees WL, Hiney JK, Sower SA, Yu WH, McCann SM. Localization of immunoreactive lamprey gonadotropin-releasing hormone in the rat brain. *Peptides.* 1999;20:1503-11.

de Rensis F, Benedetti S, Silva P, Kirkwood RN. Fertility of sows following artificial insemination at a gonadotrophin-induced estrus coincident with weaning. *Anim Reprod Sci.* 2003;76:245-50.

de Rensis F, Cosgrove JR, Foxcroft GR. Luteinizing hormone and prolactin responses to naloxone vary with stage of lactation in the sow. *Biol Reprod.* 1993;48:970-6.

de Rensis F, Cosgrove JR, Foxcroft GR. Ontogeny of the opioidergic regulation of LH and prolactin secretion in lactating sow I: Failure of naloxone to antagonize suckling-induced changes in LH and prolactin secretion in early lactation, irrespective of pattern of administration. *J Reprod Fertil.* 1998;112:79-85.

Dewey CE, Martin SW, Friendship RM, Wilson MR. The effects on litter size of previous lactation length and previous weaning-to-conception interval in ontario swine. *Prev Vet Med.* 1994;18:213-23.

Dieleman SJ, Hendriksen PJ, Viuff D, Thomsen PD, Hyttel P, Knijn HM et al. Effects of in vivo prematuration and in vivo final maturation on developmental capacity and quality of pre-implantation embryos. *Theriogenology.* 2002;57:5-20.

Döcke F, Herausgeber. *Veterinärmedizinische Endokrinologie.* 3. Aufl. Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag;1994.

Driancourt MA. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* 2001;55:1211-39.

Duncan GW, Bowerman AM, Hearn WR, Melampy RM. In vitro synthesis of progesterone by swine corpora lutea (25711). *Proc Soc Exp Biol Med.* 1960;104:17-9.

Edwards S, Foxcroft GR. Endocrine changes in sows weaned at two stages of lactation. *J Reprod Fertil.* 1983;67:161-72.

Elsaesser F, Parvizi N. Partial recovery of the stimulatory oestrogen feedback action on LH release during late lactation in the pig. *J Reprod Fertil.* 1980;59:63-7.

Elze K. Ausschöpfung des Fruchtbarkeitspotentials bei Sauen durch intensive zuchthygienische Betreuung. *Tierzucht.* 1989;43:278-9.

Elze K, Schnurrbusch U, Mehlhorn I, Rittenbach P, Rummer HJ, Freysoldt C. Untersuchungen zur Steigerung der Fruchtbarkeitsleistung bei Altsauen. 3. Mitt.: Ergebnisse histologischer Untersuchungen über die puerperalen Involutions- und Regenerationsvorgänge am Endometrium von säugenden Sauen und Sauen nach extrem frühem Absetzen der Ferkel. *Arch Exp Veterinärmed.* 1975;29:689-99.

Erickson GF, Magoffin DA, Dyer CA, Hofeditz C. The ovarian androgen producing cells: A review of structure/function relationships. *Endocr Rev.* 1985;6:371-99.

Espey LL. Ovulation as an inflammatory reaction – a hypothesis. *Biol Reprod.* 1980;22:73-106.

Estienne MJ, Hartsock TG. Effect of exogenous gonadotropins on the weaning-to-estrus interval in sows. *Theriogenology.* 1998;49:823-8.

Estill CT, Britt JH, Gadsby JE. Repeated administration of prostaglandin F_{2α}, during the early luteal phase causes premature luteolysis in the pig. *Biol Reprod.* 1993;49:181-5.

Evans G, Dobias M, King GJ, Armstrong DT. Estrogen, androgen, and progesterone biosynthesis by theca and granulosa of preovulatory follicles in the pig. *Biol Reprod.* 1981;25:673-82.

Fernald RD, White RB. Gonadotropin-releasing hormone genes: Phylogeny, structure, and functions. *Front Neuroendocrinol.* 1999;20:224-40.

Fléchon JE, Hunter RHF. Distribution of spermatozoa in the utero-tubal junction and isthmus of pigs, and their relationship with the luminal epithelium after mating: A scanning electron microscope study. *Tissue Cell.* 1981;13:127-39.

Flowers B, Cantley TC, Martin MJ, Day BN. Episodic secretion of gonadotrophins and ovarian steroids in jugular and utero-ovarian vein plasma during the follicular phase of the oestrous cycle in gilts. *J Reprod Fertil.* 1991;91:101-12.

Foxcroft GR, Hunter MG. Basic physiology of follicular maturation in the pig. *J Reprod Fertil Suppl.* 1985;33:1-19.

Foxcroft GR, Shaw HJ, Hunter MG, Booth PJ, Lancaster RT. Relationships between luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin secretion and ovarian follicular development in the weaned sow. *Biol Reprod.* 1987;36:175-91.

Fritsch M, Spitschak K, Reuther E, Bergfeld J. Ein Beitrag zur biotechnischen Brunstsicherung bei Jung- und Altsauen. *Mh Veternärmed.* 1973;28:606-7.

Fuchs S, Lundanes E, Leban J, Folkers K, Bowers C. On the existence and separation of the follicle stimulating hormone releasing hormone from the luteinizing hormone releasing hormone. *Biochem Biophys Res Commun.* 1979;88:92-6.

Gardin Y, Desbordes F, Baars JC. Changes in the reproduction rhythm after the introduction of PG 600 in a sow herd. In: proceedings of the 12th international congress on animal reproduction; 1992 Aug 23-27; The Hague, The Netherlands: 1992. Vol 3, p. 1127-9.

Gault PM, Maudsley S, Lincoln GA. Evidence that gonadotropin-releasing hormone II is not a physiological regulator of gonadotropin secretion in mammals. *J Neuroendocrinol.* 2003;15:831-9.

Gault PM, Morgan K, Pawson AJ, Millar RP, Lincoln GA. Sheep exhibit novel variations in the organization of the mammalian type II gonadotropin-releasing hormone receptor gene. *Endocrinology.* 2004;145:2362-74.

Gazourian L, Deragon KL, Chase CF, Pati D, Habibi HR, Sower SA. Characteristics of GnRH binding in the gonads and effects of lamprey GnRH-I and -III on reproduction in the adult sea lamprey. *Gen Comp Endocrinol.* 1997;108:327-39.

Gazourian L, Evans EL, Hanson L, Chase CF, Sower SA. The effects of lamprey GnRH-I, -III and analogs on steroidogenesis in the sea lamprey (*petromyzon marinus*). *Aquaculture.* 2000;188:147-65.

George G, Krey M, Bergfeld J, Kanitz E, Blödown G. Klinisch-endokrinologische Untersuchungen in der ovulationsnahen Zeit nach biotechnischer Fortpflanzungslenkung bei Altsauen. *Mh Veterinärmed.* 1988;43:422-5.

Ginther OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci.* 2003;78:239-57.

Gjein H, Larssen RB. Housing of pregnant sows in loose and confined systems – a field study 1. Vulva and body lesions, culling reasons and production results. *Acta Vet Scand.* 1995;36:185-200.

Glatzel PS, Keller H. Fortpflanzung und Erkrankungen der Geschlechtsorgane von Stute und Hengst. In: Wintzer HJ, Herausgeber. *Krankheiten des Pferdes.* Berlin: Parey Buchverlag; 1997. S. 259-320.

Gospodarowicz D. Purification and physicochemical properties of the pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). *Endocrinology.* 1972;91:101-6.

Grove-Strawser D, Sower SA, Ronsheim PM, Connolly JB, Bourn CG, Rubin BS. Guinea pig GnRH: Localization and physiological activity reveal that it, not mammalian GnRH, is the major neuroendocrine form in guinea pigs. *Endocrinology.* 2002;143:1602-12.

Gründker C, Günthert AR, Millar RP, Emons G. Expression of gonadotropin-releasing hormone II (GnRH-II) receptor in human endometrial and ovarian cancer cells and effects of GnRH-II on tumor cell proliferation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:1427-30.

Grunert E. Ovarielle Dysfunktion. In: Grunert E, de Kruif A, Herausgeber. *Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.* 3. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag; 1999. S. 111-35.

Guthrie HD, Bolt DJ, Cooper BS. Effects of gonadotropin treatment on ovarian follicle growth and granulosa cell aromatase activity in prepuberal gilts. *J Anim Sci.* 1990;68:3719-26.

Guthrie HD, Garrett WM. Apoptosis during folliculogenesis in pigs. *Reprod Suppl.* 2001;58:17-29.

Guthrie HD, Grimes RW, Cooper BS, Hammond JM. Follicular atresia in pigs: Measurement and physiology. *J Anim Sci.* 1995;73:2834-44.

Habeck, OJM. Die Anwendung eines Real-time-Sectorscanners (5 MHz) zur Ovarkontrolle bei der Sau [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztl Hochsch Hannover; 1989.

Haisenleder DJ, Dalkin AC, Marshall JC. Regulation of gonadotropin gene expression. In: Knobil E, Neill JD, editors. The physiology of reproduction. 2nd ed. New York: Raven Press; 1994. p. 1793-813.

Hammond JM, Samaras SE, Grimes R, Leighton J, Barber J, Canning SF et al. The role of insulin-like growth factors and epidermal growth factor-related peptides in intraovarian regulation in the pig ovary. J Reprod Fertil Suppl. 1993;48:117-25.

Haney AF, Schomberg DW. Estrogen and progesterone production by developing porcine follicles in vitro: Evidence for estrogen formation by theca. Endocrinology. 1981;109:971-7.

Hehnke KE, Christenson LK, Ford SP, Taylor M. Macrophage infiltration into the porcine corpus luteum during prostaglandin F_{2α}-induced luteolysis. Biol Reprod. 1994;50:10-5.

Heinze A. Ferkelverluste in Praxisbetrieben – Analysen aus Sauenplanerdaten aus Thüringen. In: Tagungsband zum 9. Bernburger Biotechnik-Workshop – Das Saugferkel; 16. – 17. Mai 2003; Bernburg, Deutschland; 2003. S. 43-9.

Heinze A. Untersuchungen zum Einfluss einer Zyklusstimulation mit 600 IE PMSG/300 IE hCG auf die Fruchtbarkeitsleistungen von brunststimulierten Altsauen. Arch Exp Veterinärmed. 1982;36:919-22.

Heinze A, Schlegel W, Braune S, Schwarze D, Barton A. Untersuchungen zum Einfluss einer Zyklusstimulation mit unterschiedlichen PMSG/hCG-Gemischen auf die Fruchtbarkeitsleistungen von ovulationssynchronisierten Altsauen. Arch Exp Veterinärmed. 1982;36:913-7.

Heinze A, Stahl U. Untersuchungen zur Zyklusstimulation mit unterschiedlicher PMSG-Dosierung bei ovulationssynchronisierten Altsauen während der Sommermonate. Mh Veterinärmed. 1989;44:568-70.

Hemsworth PH, Barnett JL. Behavioural responses affecting gilt and sow reproduction. J Reprod Fertil Suppl. 1990;40:343-54.

Henricks DM, Guthrie HD, Handlin DL. Plasma estrogen, progesterone and luteinizing hormone levels during the estrous cycle in pigs. Biol Reprod. 1972;6:210-8.

Henze A, Hühn U. Zum Stand der Ovulationssynchronisation und terminorientierten Besamung von Sauen in der DDR. Tierzucht. 1987;41:368-72.

Henze A, Kretschmar A. Zur Organisation der duldungsorientierten Besamung von Sauen. Tierzucht. 1980;34:35-8.

Hiney JK, Sower SA, Yu WH, McCann SM, Dees WL. Gonadotropin-releasing hormone neurons in the preoptic-hypothalamic region of the rat contain lamprey gonadotropin-releasing hormone III, mammalian luteinizing hormone-releasing hormone, or both peptides. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:2386-91.

Hsueh AJW, Billig H, Tsafiriri A. Ovarian follicle atresia: A hormonally controlled apoptotic process. *Endocr Rev*. 1994;15:707-724.

Hühn U. Brunststimulation bei abgesetzten Sauen mittels Dessauer PMSG-Präparaten. *Prakt Tierarzt*. 1995;1:35-41.

Hühn U. Lenkung der Fortpflanzung in Ferkelerzeugerbetrieben. *Collegium Veterinarium*. 1996;XXVI:53-5.

Hühn U. Mit Hilfe der Biotechnik Brunst und Geburt steuern? In: Top agrar, Das Magazin für moderne Landwirtschaft, Herausgeber. Fruchtbarkeit im Sauenstall. Münster: Landwirtschaftsverlag GmbH; 2000. S. 56-9.

Hühn U, Lutter K. Zur Erkennung und Minderung von Reproduktionstörungen beim Schwein aus fortpflanzungstechnologischer Sicht. *Mh Veterinärmed*. 1989;44:643-6.

Hühn U, Jöchle W, Brüssow KP. Techniques developed for the control of estrus, ovulation and parturition in the east german pig industry: A review. *Theriogenology*. 1996;46:911-24.

Hühn U, Rothe K. Brunststimulation bei abgesetzten Sauen mittels Gonadotropinen. *Mh Veterinärmed*. 1992;47:615-21.

Hühn U, Schlegel W. Zum Stand der Ovulationssynchronisation und terminorientierten Besamung bei Jung- und Altsauen. *Mh Veterinärmed*. 1977;32:306-9.

Hunter MG, Denning-Kendall P, Boulton MI, de Rensis F, Wild ML, Foxcroft GR. Lack of stimulation of relaxin secretion in lactating sows by suckling in vivo or by oxytocin in vitro. *J Reprod Fertil*. 1992;94:121-8.

Hunter MG, Robinson RS, Mann GE, Webb R. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci*. 2004;82-83:461-77.

Hunter RHF. Denudation of eggs, capacitation of spermatozoa, and fertilization – normal and abnormal. In: Hunter RHF, editor. *The fallopian tubes*. Berlin: Springer-Verlag; 1988. p. 81-103.

Hunter RHF. Pre-ovulatory arrest and peri-ovulatory redistribution of competent spermatozoa in the isthmus of the pig oviduct. *J Reprod Fertil*. 1984;72:203-11.

Hurtgen JP. Influence of housing and management factors on reproductive efficiency of swine. *J Am Vet Med Assoc.* 1981;179:74-8.

Hurtgen JP, Leman AD. Use of PMSG in the prevention of seasonal post-weaning anestrus in sows. *Theriogenology.* 1979;12:207-14.

Hylka VW, diZerega GS. Granulosa cells from pig follicles of different sizes demonstrate maturational differences in their steroidogenic responses to FSH, calcium ionophore A23187, and phorbol diester. *J Reprod Fertil.* 1990;89:181-91.

Igarashi M, McCann SM. A hypothalamic follicle stimulating hormone-releasing factor. *Endocrinology.* 1964;74:446-52.

Ireland JJ. Control of follicular growth and development. *J Reprod Fertil Suppl.* 1987;34:39-54.

Irvine CHG. GnRH clinical application. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine Reproduction.* Philadelphia (USA): Lea Febiger; 1993. p. 329-33.

Jimenez-Liñan M, Rubin BS, King JC. Examination of guinea pig luteinizing hormone-releasing hormone gene reveals a unique decapeptide and existence of two transcripts in the brain. *Endocrinology.* 1997;138:4123-30.

Jöchle W. Ovulationskontrolle bei der Stute mit OvuplantTM (Kurzzeit-Freisetzung des GnRH-Analogs Deslorelinazetat). *Tierärztl Prax.* 1995;23:381-93.

Kaeoket K, Persson E, Dalin AM. The sow endometrium at different stages of the oestrus cycle: Studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system [published corrigendum appears in *Anim Reprod Sci.* 2002;73:89-107] *Anim Reprod Sci.* 2001;65: 95-114.

Kaiser UB. Molecular mechanisms of the regulation of gonadotropin gene expression by gonadotropin-releasing hormone. *Mol Cells.* 1998;8:647-56.

Kaiser UB, Sabbagh E, Katzenellenbogen RA, Conn PM, Chin WW. A mechanism for the differential regulation of gonadotropin subunit gene expression by gonadotropin-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:12280-4.

Kakar SS, Jennes L. Expression of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone receptor mRNAs in various non-reproductive human tissues. *Cancer Lett.* 1995;98:57-62.

Kalra SP, Ajika K, Krulich L, Fawcett CP, Quijada M, McCann SM. Effects of hypothalamic and preoptic electrochemical stimulation on gonadotropin and prolactin release in proestrous rats. *Endocrinology.* 1971;88:1150-8.

Kamiński T, Okrasa S, Bogacka I, Siawrys G, Przala J. Porcine theca cells produce immunoreactive β -endorphin and change steroidogenesis in response to opioid agonist. *Acta Vet Hung.* 2001;49:319-29.

Karck U. GnRH und seine Analoga. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; 1996. (Edition Gynäkologie und Geburtsmedizin; Band 8).

Kauffman AS, Rissman EF. A critical role for the evolutionarily conserved gonadotropin-releasing hormone II: Mediation of energy status and female sexual behavior. *Endocrinology.* 2004;145:3639-46.

Kauffold J. Die gynäkologische Untersuchung beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung der transkutanen Ultrasonographie [Habilschr. med. vet.]. Leipzig: Univ Leipzig; 2004a.

Kauffold J. Experimentelle Untersuchungen im Rahmen eines kombinierten Regimes zur Pubertätsinduktion und Ovulationssynchronisation bei Jungsaugen mit vergleichender Anwendung der Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -Analoga Cloprostenol und Tiaprost sowie Nutzung unterschiedlicher Dosierungen von PMSG und hCG zur Pubertätsinduktion [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ Leipzig; 1995.

Kauffold J, Lusky K, Zaremba W. Lamprey GnRH-III (L-GnRH-III) selectively elicits FSH response after administration to castrated boars. In: proceedings of the 18th Congress of the international pig veterinary society; 2004 Jun 27 – Jul 1; Hamburg, Germany. Hamburg; 2004b. Vol 2 p. 500.

Kauffold J, Rautenberg T, Richter A, Waehner M, Sobiraj A. Ultrasonographic characterization of the ovaries and the uterus in prepubertal and pubertal gilts. *Theriogenology.* 2004c; 61:1635-48.

Kauffold J, Richter A, Sobiraj A. Ist der Ultraschall zur Eierstocksuntersuchung geeignet? *SUS.* 1997;2:34-7.

Kauffold J, Richter A, Rautenberg T, Sobiraj A. Leere Sauen: Ultraschallbefunde und Behandlungsmöglichkeiten. *SUS.* 1999;3:22-5.

Kauffold J, Schneider F, Zaremba W, Brüssow KP. Lamprey GnRH-III stimulates FSH secretion in barrows. *Reprod Dom Anim.* 2005;40:475-9.

Kemp B, Soede NM. Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows. *J Anim Sci.* 1996;74:944-9.

Kineman RD, Leshin LS, Crim JW, Rampacek GB, Kraeling RR. Localization of luteinizing hormone-releasing hormone in the forebrain of the pig. *Biol Reprod.* 1988;39:665-72.

Kita M, Taii S, Kataoka N, Shimatsu A, Nakao K, Mori T. Changes of gonadotrophin surge inhibiting/attenuating factor activity in pig follicular fluid in relation to follicle size. J Reprod Fertil. 1994;101:59-66.

Klausen C, Chang JP, Habibi HR. Multiplicity of gonadotropin-releasing hormone signalling: A comparative perspective. Prog Brain Res. 2002;141:113-30.

Knight CH, Wilde CJ, McLeod BJ, Haresign W. Exogenous GnRH induces ovulation in seasonally anoestrous lactating goats (*capra hircus*). J Reprod Fertil. 1988;83:679-86.

Knox CJ, Boyd SK, Sower SA. Characterization and localization of gonadotropin-releasing hormone receptors in the adult female sea lamprey, *petromyzon marinus*. Endocrinology. 1994;134:492-8.

Knox RV. Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. Dom Anim Endocrinol. 2005;29:385-97.

Knox RV, Breen S, Roth S, Willenburg K, Miller G, Ruggiero K, et al. Effect of housing system and frequency of boar contact on estrus in weaned sows. In: proceedings of the 17th Congress of the international pig veterinary society; 2002 Jun 2-5; Ames, Iowa, USA. Ames; 2002a. Vol 2 p. 484.

Knox RV, Miller GM, Willenburg KL, Rodriguez-Zas SL. Effect of frequency of boar exposure and adjusted mating times on measures of reproductive performance in weaned sows. J Anim Sci. 2002b;80:892-9.

Knox RV, Rodriguez-Zas SL. Factors influencing estrus and ovulation in weaned sows as determined by transrectal ultrasound. J Anim Sci. 2001;79:2957-63.

Knox RV, Rodriguez-Zas SL, Miller GM, Willenburg KL, Robb JA. Administration of P.G. 600 to sows at weaning and the time of ovulation as determined by transrectal ultrasound. J Anim Sci. 2001;79:796-802.

König I. Schweinebesamung: Biologie, Technik, Organisation. 3. Aufl. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin; 1978.

König I, Bergfeld J. Erprobung und Einführung eines synthetischen Gonadotropin-Releasing-hormons zur biotechnischen Fortpflanzungssteuerung bei landwirtschaftlichen Nutztieren – insbesondere beim Schwein. Mh Veterinärmed. 1979;34:601-6.

König I, Gilman SD, Hühn R, Jakimtschuk NA. Die planmäßige Steuerung der Fortpflanzungsprozesse in der industriemäßigen Schweineproduktion. Arch Exp Veterinärmed. 1977; 31:849-56.

König I, Hühn U, Raasch ML. Analyse der Fruchtbarkeitsleistungen von Altsauen nach einer neuen Methode der Ovulationssynchronisation in Abhängigkeit von Wurfnummer und Betriebskategorie. Arch Tierz Berlin. 1990;33:77-82.

Kogo H, Fujimoto T, Mori T. Evidence for gonadotropin-releasing hormone receptor mRNA expression by estrogen in rat granulosa cells. Cell Tissue Res. 1999;297:459-65.

Koketsu Y, Dial GD. Factors influencing the postweaning reproductive performance of sows on commercial farms. Theriogenology. 1997;47:1445-61.

Kovács M, Seprodi J, Koppan M, Horváth JE, Vincze B, Teplan I et al. Lamprey gonadotropin hormone-releasing hormone-III has no selective follicle-stimulating hormone-releasing effect in rats. J Neuroendocrinol. 2002;14:647-55.

Kraeling RR, Barb CR. Hypothalamic control of gonadotrophin and prolactin secretion in pigs. J Reprod Fertil Suppl. 1990;40:3-17.

Kuller WI, Soede NM, van Beers-Schreurs HMG, Langendijk P, Taverne MAM, Verheijden JHM et al. Intermittent suckling: Effects on piglet and sow performance before and after weaning. J Anim Sci. 2004;82:405-13.

Kunavongkrit A, Einarsson S, Settergren I. Follicular development in primiparous lactating sows. Anim Reprod Sci. 1982;5:47-56.

Kvasnickij AV, Konjuchowa VA, Konjuchowa LA. Künstliche Besamung der Schweine. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1963.

Lacau-Mengido IM, Iglesias AG, Díaz-Torga G, Thyssen-Cano S, Libertun C, Becú-Villalobos D. Effect of stage of development and sex on gonadotropin-releasing hormone secretion in vitro hypothalamic perfusion (44255). Proc Soc Exp Biol Med. 1998;217:445-9.

Lange W, Koppitz G, Winkler L. Untersuchungen zum Einfluß von Gn-RH auf den Superovulationseffekt nach PMSG-Behandlung bei Masthybridfärsen. Mh Veterinärmed. 1989;44:414-7.

Langendijk P, Soede NM, Bouwman EG, Kemp B. Responsiveness to boar stimuli and change in vulvar reddening in relation to ovulation in weaned sows. J Anim Sci. 2000;78:3019-26.

Leiser R, Zimmermann W, Sidler X, Christen A. Normal-zyklische Erscheinungen im Endometrium und am Ovar des Schweines. Tierärztl Prax. 1988;16:261-80.

Li WI, Jiao S, Chin PP. Immunoreactive gonadotropin-releasing hormone in porcine reproductive tissues. Peptides. 1993;14:543-9.

Lin X, Conn PM. Transcriptional activation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor gene by GnRH and cyclic adenosine monophosphate. *Endocrinology*. 1998;139:3896-902.

Liu J, Koenigsfeld AT, Cantley TC, Boyd CK, Kobayashi Y, Lucy MC. Growth and the initiation of steroidogenesis in porcine follicles are associated with unique patterns of gene expression for individual components of the ovarian insulin-like growth factor system. *Biol Reprod*. 2000;63:942-52.

Longenecker DE, Day BN. Fertility level of sows superovulated at post-weaning estrus. *J Anim Sci*. 1968;27:709-11.

Lovas S, Pályi I, Vincze B, Horváth J, Kovács M, Mező I, et al. Direct anticancer activity of gonadotropin-releasing hormone-III. *J Pept Res*. 1998;52:384-9.

Lovejoy DA, Fischer WH, Ngamvongchon S, Craig AG, Nahorniak CS, Peter RE et al. Distinct sequence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in dogfish brain provides insight into GnRH evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:6373-7.

Luck MR, Ye J, Almislimani H, Hibberd S. Follicular fluid rheology and the duration of the ovulatory process. *J Reprod Fertil*. 2000;120:411-21.

Lucy MC, Liu J, Boyd CK, Bracken CJ. Ovarian follicular growth in sows. *Reproduction Suppl*. 2001;58:31-45.

Lumpkin MD, Moltz JH, Yu WH, Samson WK, McCann SM. Purification of FSH-releasing factor: Its dissimilarity from LHRH of mammalian, avian, and piscian origin. *Brain Res Bull*. 1987;18:175-8.

Lumpkin MD, McDonald JK, Samson WK, McCann SM. Destruction of the dorsal anterior hypothalamic region suppresses pulsatile release of follicle stimulating hormone but not luteinizing hormone. *Neuroendocrinol*. 1989;50:229-35.

Makowei L. Untersuchungen zur Reduzierung der PMSG-Dosis im Rahmen der Ovulations-synchronisation und terminorientierten Besamung bei Jung- und Altsauen [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Karl-Marx-Univ Leipzig; 1988.

Mann E, Hennies M, Wallenhorst S, Holtz W. Entwicklung eines Enzymimmunoassays zur Bestimmung des PMSG-Verlaufs bei superovulierten Schweinen. *Reprod Dom Anim*. 1994;29:110. (Abstract).

Martínez de la Escalera G, Choi ALH, Weiner RI. Generation and synchronization of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulses: Intrinsic properties of the GT1-1 GnRH neuronal cell line. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:1852-5.

Marubayashi U, Yu WH, McCann SM. Median eminence lesions reveal separate hypothalamic control of pulsatile follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone release (44356). *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999;220:139-46.

Matsuo H, Baba Y, Nair RMG, Arimura A, Schally AV. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *J Urol.* 2002;167:1011-4.

Mattioli M, Conte F, Biacchessi D, Seren E. Episodic secretion of LH in the sow during the lactational anestrus and the subsequent resumption of the ovarian activity [Ritmi di secrezione dell'LH nella scrofa durante la lattazione e la ripresa dell'attività ciclica ovarica (ital)]. *Atti della Soc ital delle Sci vet.* 1985;39:124-6. (Abstract).

Mburu JN, Einarsson S, Dalin AM, Rodriguez-Martinez H. Ovulation as determined by transrectal ultrasonography in multiparous sows: Relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. *J Vet Med A.* 1995;42:285-92.

McCann SM, Karanth S, Mastronardi CA, Dees WL, Childs G, Miller B et al. Control of gonadotropin secretion by follicle-stimulating hormone-releasing factor, luteinizing hormone-releasing hormone, and leptin. *Arch Med Res.* 2001;32:476-85.

McCann SM, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, Rettori V, Yu WH. Hypothalamic control of gonadotropin secretion by LHRH, FSHRF, NO, cytokines, and leptin. *Domest Anim Endocrinol.* 1998;15:333-44.

McCann SM, Marubayashi U, Sun HQ, Yu WH. Control of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone release by hypothalamic peptides. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;687:55-9.

McCann SM, Taleisnik S, Friedman HM. LH-releasing activity in hypothalamic extracts (25864). *Proc Soc Exp Biol Med.* 1960;104:432-4.

McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. *Physiol Rev.* 1999;79:263-324.

Medan M, Shalaby AH, Sharawy S, Watanabe G, Taya K. Induction of estrus during the non-breeding season in egyptian baladi goats. *J Vet Med Sci.* 2002;64:83-5.

Méduri G, Charnaux N, Driancourt MA, Combettes L, Granet P, Vannier B et al. Follicle-stimulating hormone receptors in oocytes? *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2266-76.

Mehlhorn I, Schnurrbusch U, Rittenbach P, Elze K, Erices J, Freysoldt C. Untersuchungen zur Steigerung der Fruchtbarkeitsleistung bei Altsauen. 2. Mitteilung: Ergebnisse histologischer Untersuchungen über den Aufbau des Endometriums von Altsauen während des Zyklus. *Arch Exp Veterinärmed.* 1975;29:679-87.

Mező I, Lovas S, Pályi I, Vincze B, Kálnay A, Turi G et al. Synthesis of gonadotropin-releasing hormone III analogs. Structure-antitumor activity relationships. *J Med Chem.* 1997;40:3353-8.

Millar RP. GnRH II and type II GnRH receptors. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:35-43.

Millar R, Lowe S, Conklin D, Pawson A, Maudsley S, Troskie B et al. A novel mammalian receptor for the evolutionarily conserved type II GnRH. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98:9636-41.

Millar RP, Lu ZL, Pawson AJ, Flanagan CA, Morgan K, Maudsley SR. Gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocr Rev.* 2004;25:235-75.

Mizunuma H, Samson WK, Lumpkin MD, McCann SM. Evidence for an FSH-releasing factor in the posterior portion of the rat median eminence. *Life Sci.* 1983a;33:2003-9.

Mizunuma H, Samson WK, Lumpkin MD, Moltz JH, Fawcett CP, McCann SM. Purification of a bioactive FSH-releasing factor (FSHRF). *Brain Res Bull.* 1983b;10:623-9.

Montaner AD, Park MK, Fischer WH, Craig AG, Chang JP, Somoza GM et al. Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone in the brain of a teleost, pejerrey. *Endocrinology.* 2001;142:1453-60.

Montaner AD, Somoza GM, King JA, Bianchini JJ, Bolis CG, Affanni JM. Chromatographic and immunological identification of GnRH (Gonadotropin-releasing hormone) variants. Occurrence of mammalian and a salmon-like GnRH in the forebrain of an eutherian mammal: *Hydrochaeris hydrochaeris (mammalia, rodentia)*. *Regul Pept.* 1998;73:197-204.

Mumford EL, Squires EL, Peterson KD, Nett TM, Jasko DJ. Effect of various doses of a gonadotropin-releasing hormone analogue on induction of ovulation in anestrous mares. *J Anim Sci.* 1994;72:178-83.

Murphy BD, Gévry N, Ruiz-Cortés T, Côté F, Downey BR, Sirois J. Formation and early development of the corpus luteum in pigs. *Reproduction Suppl.* 2001;58:47-63.

Neill JD. Minireview: GnRH and GnRH receptor genes in the human genome. *Endocrinology.* 2002;143:737-43.

Neill JD, Duck LW, Sellers JC, Musgrove LC. A gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor specific for GnRH II in primates. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;262:1012-8.

Neill JD, Musgrove LC, Duck, LW. Newly recognized GnRH receptors: Function and relative role. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15:383-92.

- Nissen AK, Soede NM, Hyttel P, Schmidt M, D'Hoore L. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows, as investigated by ultrasonography. *Theriogenology*. 1997;47:1571-82.
- Nisswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev*. 2000;80:1-29.
- Noack P. Untersuchung zur Steuerung der Brunst und Fruchtbarkeitsleistung bei Sauen in einem Schweinezuchtbetrieb. *Mh Veterinärmed*. 1972;27:534-7.
- Österlundh I, Holst H, Magnusson U. Hormonal and immunological changes in blood and mammary secretion in the sow at parturition. *Theriogenology*. 1998;50:465-77.
- Oesterreich D, Rommel P, Falge R. Superovulation und Embryonengewinnung bei Schlachtkühen. *Mh Veterinärmed*. 1986;41:583-5.
- Okubo K, Nagata S, Ko R, Kataoka H, Yoshiura Y, Mitani H et al. Identification and characterization of two distinct GnRH receptor subtypes in a teleost, the medaka *oryzias latipes*. *Endocrinology*. 2001;142:4729-39.
- Padmanabhan V, Brown MB, Dahl GE, Evans NP, Karsch FJ, Mauger DT et al. Neuroendocrine control of follicle-stimulating hormone (FSH) secretion: III. Is there a gonadotropin-releasing hormone-independent component of episodic FSH secretion in ovariectomized and luteal phase ewes? *Endocrinology*. 2003;144:1380-92.
- Padmanabhan V, McNeilly AS. Is there an FSH-releasing factor? *Reproduction*. 2001;121:21-30.
- Palmer WM, Teague HS, Venzke WG. Macroscopic observations on the reproductive tract of the sow during lactation and early postweaning. *J Anim Sci*. 1965;24:541-5.
- Parvizi N. Neuroendocrine regulation of gonadotropins in the male and the female. *Anim Reprod Sci*. 2000;60-61:31-47.
- Pate JL, Keyes PL. Immune cells in the corpus luteum: Friends or foes? *Reproduction*. 2001;122:665-76.
- Pati D, Habibi HR. Direct action of GnRH variants on goldfish oocyte meiosis and follicular steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2000;160:75-88.
- Pawson AJ, Morgan K, Maudsley SR, Millar RP. Type II gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-II) in reproductive biology. *Reproduction*. 2003;126:271-8.
- Perkins NR. Equine reproductive pharmacology. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 1999;15:687-704.

Peter RE, Rao PDP, Baby SM, Illing N, Millar RP. Differential brain distribution of gonadotropin-releasing hormone receptors in the goldfish. *Gen Comp Endocrinol.* 2003;132:399-408.

Picton HM, Miller AT, Hunter MG. Effect of FSH infusion on follicle development in GnRH agonist-treated gilts. *J Reprod Fertil.* 1999;117:249-57.

Pimpinelli F, Parenti M, Guzzi F, Piva F, Hokfelt T, Maggi R. Presence of delta opioid receptors on a subset of hypothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurons. *Brain Res.* 2006;5:in press.

Pitzel L, Lüdemann S, Wuttke W. Secretion and gene expression of metalloproteinases and gene expression of their inhibitors in porcine corpora lutea at different stages of the luteal phase. *Biol Reprod.* 2000;62:1121-7.

Plischke C. Follikel- und Eizellreifung in der späten Follikelphase bei spontan und induziert ovulierenden Jungsauen [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztl Hochsch Hannover; 1998.

Plonait H. Fortpflanzungsphysiologie und Gynäkologie der Sau. In: Waldmann KH, Wendt M, Herausgeber. *Lehrbuch der Schweinekrankheiten.* 3. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag; 2001a. S. 399-469.

Plonait H. Geburt, Puerperium und perinatale Verluste. In: Waldmann KH, Wendt M, Herausgeber. *Lehrbuch der Schweinekrankheiten.* 3. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag; 2001b. S. 471-512.

Powell JFF, Reska-Skinner SM, Prakash MO, Fischer WH, Park M, Rivier JE et al. Two new forms of gonadotropin-releasing hormone in a protochordate and the evolutionary implications. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:10461-4.

Powell JFF, Zohar Y, Elizur A, Park M, Fischer WH, Craig AG et al. Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one species. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:12081-5.

Pusateri AE, Wilson ME, Diekman MA. Maternal recognition of pregnancy in swine. II. Plasma concentrations of progesterone and 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F₂ alpha during the estrous cycle and during short and long pseudopregnancy in gilts. *Biol Reprod.* 1996;55:590-7.

Raasch ML, Hühn U, Keil HW, Tschuschew P. Ergebnisse und Erfahrungen zur Ovulations-synchronisation bei Altsauen unter Einschluß des neuen Biotechnikums Gonavet® "Berlin-Chemie". *Tierzucht* 1988;42:266-8.

Raasch ML, Keil HW, Stahl U, Polten S. Untersuchungsergebnisse des Produktionsexperimentes zum Einsatz von Gonavet® „Berlin-Chemie“ bei der Ovulationssynchronisation von Altsauen. Tierzucht. 1989;43:266-7.

Rebers FEM, Bosma PT, van Dijk W, Goos HJT, Schulz RW. GnRH stimulates LH release directly via inositol phosphate and indirectly via cAMP in african catfish. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000;278:R1572-8.

Rettori V, Skelley CW, McCann SM, Dees WL. Detrimental effects of short-term ethanol exposure on reproductive function in the female rat. Biol Reprod. 1987;37:1089-96.

Richter W. Über einige Probleme der Gewinnung von Serum frühträchtiger Stuten für die PMSG-Produktion. Mh Veterinärmed. 1982;37:33-6.

Rippel RH, Moyer RH, Johnson ES, Mauer RE. Response of the ewe to synthetic gonadotropin releasing hormone. J Anim Sci. 1974;38:605-12.

Robison RR, White RB, Illing N, Troskie BE, Morley M, Millar RP et al. Gonadotropin-releasing hormone receptor in the teleost *haplochromis burtoni*: Structure, location, and function. Endocrinology. 2001;142:1737-43.

Rodriguez-Martinez H, Saravia F, Wallgren M, Tienthai P, Johannisson A, Vazquez JM et al. Boar spermatozoa in the oviduct. Theriogenology. 2005;63:514-35.

Roost H, Berseck G, Hühn U, Killus S. Untersuchungen über die Wirksamkeit unterschiedlicher PMSG-Dosierungen zur Brunststimulation von Altsauen in Schweinezuchtbetrieben mit duldungsorientierter Besamung. Mh Veterinärmed. 1982;37:500-4.

Sadow J, Enzmann F, Arimura A, Reding TW, Schally AV. Purification and characterisation of two porcine hypothalamic fractions with LH-releasing activity: Evidence for a single LH and FSH-releasing hormone. Acta Endocrinol. 1975;80:209-19.

Saoulidis KJ, Kyriakis SK, Samouilidis S, Tsinas A, Chitzios K. Ein Beitrag zur Brunstauslösung und erhöhter Fruchtbarkeit bei Zuchtsauen durch die Verabreichung gonadotroper Hormone (PMSG und hCG). Tierärztl Umschau. 1995;50:13-6.

Schally AV, Arimura A, Redding TW, Debeljuk L, Carter W, Dupont A et al. Re-examination of porcine and bovine hypothalamic fractions for additional luteinizing hormone and follicle stimulating hormone-releasing activities. Endocrinology. 1976;98:380-91.

Schally AV, Nair RMG, Redding TW, Arimura A. Isolation of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone-releasing hormone from porcine hypothalami. J Biol Chem. 1971; 246:7230-6.

Schams D, Kraetzel WD, Brem G, Graf F. Secretory pattern of metabolic hormones in the lactating sow. *Exp Clin Endocrinol.* 1994;102:439-47.

Schlegel W, Hühn U. Organisatorische Maßnahmen zur Erzielung hoher Fruchtbarkeitsleistungen bei Anwendung der künstlichen Besamung bei Schweinen im industriemäßig produzierenden Betrieb. *Mh Veterinärmed.* 1973;28:683-8.

Schlegel W, Sklenar V. Der Einfluß verschiedener Injektionszeiten und Dosierungen von Zyklusstartern auf das Fortpflanzungsgeschehen von Sauen nach 4wöchiger Säugezeit. *Tierzucht.* 1972;26:426-7.

Schlegel W, Wähner M. Zur Nutzung des induzierten bzw. 2. Östrus bei pubertätsinduzierten Jungsaunen. *Mh Veterinärmed.* 1980;35:661-4.

Schlegel W, Wähner M, Gleis M. Untersuchungen zur Dosierung von Gonavet® „Berlin-Chemie“ zur Ovulationsstimulation im Rahmen der Ovulationssynchronisation von Jungsaunen. *Mh Veterinärmed.* 1989;44:320-1.

Schlegel W, Wähner M, Heinze A. Untersuchungen zur Verringerung der PMS/HCG-Dosierung bei der biotechnischen Pubertätsinduktion von Jungsaunen zur Nutzung des zweiten Östrus. *Mh Veterinärmed.* 1979;34:187-8.

Schmidt A. Untersuchungen zur sonographischen Kontrolle von Ovarialzysten bei Zuchtsauen [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztl Hochsch Hannover; 1993.

Schnorr B. Embryologie der Haustiere. 2. Aufl. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag; 1989. S. 14-35.

Schnurrbusch U, Bergfeld J, Brüssow KP, Kaltoven U. Schema zur Ovarbeurteilung beim Schwein. *Mh Veterinärmed.* 1981;36:811-5.

Schnurrbusch U, Hühn U. Fortpflanzungssteuerung beim weiblichen Schwein. Jena, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1994.

Schnurrbusch U. Jungsaunen hormonell „unter die Arme greifen“. *DLZ.* 2003;2:126-31.

Schremmer H. Industriemäßige Schweineproduktion. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1975.

Schubert E, Herausgeber der deutschen Ausgabe. Wachstum, Stoffwechsel, Fortpflanzung, Immunsystem: Sexuelle Reaktion, Schwangerschaft, Geburt und Laktation. In: Schauf CL, Moffet DF, Moffet SB. *Medizinische Physiologie.* Berlin, New York: Walter de Gruyter; 1993. S. 618-39.

Schützler H. Probleme bei der Gewinnung gonadotroper Hormone von Stuten. Mh Veterinärmed. 1983;38:366-72.

Schulz M. Brunst- und Ovulationsstudien in einer Landrasse-Sauenherde; Wiederholbarkeit sowie Einfluss von spontaner und induzierter Ovulation auf die Fruchtbarkeitsergebnisse [Dissertation med. vet.]. Hannover: Tierärztl Hochsch Hannover; 1998.

Schulz RW, Bosma PT, Zandbergen MA, van der Sanden MCA, van Dijk W, Peute J et al. Two gonadotropin-releasing hormones in the african catfish, *clarias gariepinus*: Localization, pituitary receptor binding, and gonadotropin release activity. Endocrinology. 1993;133:1569-77.

Schwartz NB, Rivier C, Rivier J, Vale WW. Effect of gonadotropin-releasing hormone antagonists on serum follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone under conditions of singular follicle-stimulating hormone secretion. Biol Reprod. 1985;32:391-8.

Schwerin C. SonoWinlite[®]-2000 digitale Bildarchivierung, Bedienungsanleitung. Berlin: MESO Ingenieurbüro Medizinische Software; 1998.

Sealfon SC, Weinstein H, Millar RP. Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotropin-releasing hormone receptor. Endocr Rev. 1997;18:180-205.

Sesti LAC, Britt JH. Secretion of gonadotropins and estimated releasable pools of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropins during establishment of suckling-induced inhibition of gonadotropin secretion in the sow. Biol Reprod. 1994;50:1078-86.

Shacham S, Harris D, Ben-Shlomo H, Cohen I, Bonfil D, Przeddecki F et al. Mechanism of GnRH receptor signaling on gonadotropin release and gene expression in pituitary gonadotrophs. Vitam Horm. 2001;63:63-90.

Shapiro DB. An overview of GnRH antagonists in infertility treatments. Fertil Steril. 2003;80 Suppl 1:S1-7.

Shaw HJ, Foxcroft GR. Relationships between LH, FSH and prolactin secretion and reproductive activity in the weaned sow. J Reprod Fertil. 1985;75:17-28.

Sherwood NM, Sower SA. A new family member for gonadotropin-releasing hormone. Neuropeptides. 1985;6:205-14.

Sherwood NM, Sower SA, Marshak DR, Fraser BA, Brownstein MJ. Primary structure of gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. J Biol Chem. 1986;261:4812-9.

Shi QJ, Lei ZM, Rao CV, Lin J. Novel role of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblasts. Endocrinology. 1993;132:1387-95.

Signoret JP. Das sexuelle Verhalten der Schweine. Dtsch tierärztl Wochenschr. 1970;77:132-4.

Siler-Khodr TM, Grayson M. Action of chicken II GnRH on the human placenta. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86:804-10.

Sobiraj A, Zaremba W. Erfahrungen mit der Anwendung des Ovsynch-Verfahrens. Das Gesunde Tier. 2000;1:6-9.

Soede NM. Boar stimuli around insemination affect reproductive processes in pigs: A review. Anim Reprod Sci. 1993;32:107-25.

Soede NM, Hazeleger W, Kemp B. Follicle size and the process of ovulation in sows as studied with ultrasound. Reprod Dom Anim. 1998;33:239-44.

Soede NM, Helmond FA, Kemp B. Periovulatory profiles of oestradiol, LH and progesterone in relation to oestrus and embryo mortality in multiparous sows using transrectal ultrasonography to detect ovulation. J Reprod Fertil. 1994;101:633-41.

Soede NM, Kemp B. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. J Reprod Fertil Suppl. 1997;52:91-103.

Soede NM, Langendijk P, Kemp B. Optimum strategies in artificial insemination, with emphasis on the timing relative to ovulation and the role of the boar. In: proceedings of the 17th Congress of the international pig veterinary society; 2002 Jun 2-5; Ames, Iowa, USA. Ames; 2002. Vol 1 p. 15-24.

Soede NM, Wetzels CCH, Zondag W, de Koning MAI, Kemp B. Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. J Reprod Fertil. 1995;104:99-106.

Somoza GM, Miranda LA, Strobl-Mazzulla P, Guilgur LG. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH): From fish to mammalian brains. Cell Mol Neurobiol. 2002;22:589-609.

Somoza GM, Stéfano A, D'Eramo JL, Canosa LF, Fridman O. Immunoreactive GnRH suggesting a third form of GnRH in addition to cIIIGnRH and sGnRH in the brain and pituitary gland of *Prochilodus lineatus (characiformes)*. Gen Comp Endocrinol. 1994;94:44-52.

Sower SA, Chiang YC, Lovas S, Conlon JM. Primary structure and biological activity of a third gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. Endocrinology. 1993;132:1125-31.

Sower SA, King JA, Millar RP, Sherwood NM, Marshak DR. Comparative biological properties of lamprey gonadotropin-releasing hormone in vertebrates. Endocrinology. 1987;120:773-9.

- Stevenson JS, Cox NM, Britt JH. Role of the ovary in controlling luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, and prolactin secretion during and after lactation in pigs. *Biol Reprod.* 1981;24:341-53.
- Steверink DWB, Soede NM, Groenland GJR, van Schie FW, Noordhuizen JPTM, Kemp B. Duration of estrus in relation to reproduction results in pigs on commercial farms. *J Anim Sci.* 1999;77:801-9
- Straw BE, Dewey CE, Wilson MR. Differential diagnosis of swine diseases. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, editors: *Diseases of swine.* 8th ed. Oxford: Blackwell Science; 1999. p. 883-912.
- Svajgr AJ, Hays VW, Cromwell GL, Dutt RH. Effect of lactation duration on reproductive performance of sows. *J Anim Sci.* 1974;38:100-5.
- Temple JL, Millar RP, Rissman EF. An evolutionarily conserved form of gonadotropin-releasing hormone coordinates energy and reproductive behavior. *Endocrinology.* 2003;144:13-9.
- Terasawa E. Luteinizing Hormone-releasing hormone (LHRH) neurons: Mechanism of pulsatile LHRH release. *Vitam Horm.* 2001;63:91-129.
- Tiemann U. Das Gonadotropin im Serum trächtiger Stuten (Übersichtsreferat). *Mh Veterinärmed.* 1983;38:170-8.
- Tonetta SA, diZerega GS. Local regulatory factors controlling folliculogenesis in pigs. *J Reprod Fertil Suppl.* 1990;40:151-61.
- Triebler G, Thiede G. *Kleines abc – Schweine.* Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1966.
- Troskie B, Illing N, Rumbak E, Sun YM, Hapgood J, Sealon S et al. Identification of three putative GnRH Receptor subtypes in vertebrates. *Gen Comp Endocrinol.* 1998;112:296-302.
- Troskie B, King JA, Millar RP, Peng YY, Kim J, Figueras H et al. Chicken GnRH II-like peptides and GnRH receptor selective for chicken GnRH II in amphibian sympathetic ganglia. *Neuroendocrinol.* 1997;65:396-402.
- Tschinkel I. Untersuchungen zur Besamung der Schweine unter besonderer Berücksichtigung des Befruchtungserfolges und der Sexualeigenschaften [Dissertation agr.]. Jena: Friedrich-Schiller-Univ Jena; 1966.
- Twan WH, Hwang JS, Lee YH, Jeng SR, Yueh WS, Tung YH et al. The presence and ancestral role of gonadotropin-releasing hormone in the reproduction of scleractinian coral, *Euphyllia ancora.* *Endocrinology.* 2006;147:397-406.

Ulloa-Aguirre A, Stanislaus D, Arora V, Väänänen J, Brothers S, Janovick JA et al. The third intracellular loop of the rat gonadotropin-releasing hormone receptor couples the receptor to G_s- and G_{q/11}-mediated signal transduction pathways: Evidence from loop fragment transfection in GGH₃ cells. *Endocrinology*. 1998;139:2472-8.

Varley MA, Foxcroft GR. Endocrinology of the lactating and weaned sow. *J Reprod Fertil Suppl*. 1990;40:47-61.

Waberski D, Plischke C, Borchardt Neto G, Parvizi N, Claassen R, Mendonca Ferreira F et al. Time of ovulation in relation to endogenous or exogenous LH in spontaneous and induced ovulating pigs. *Reprod Dom Anim Suppl*. 1998;5:25. (Abstract).

Wähner M. Synchronisation von Zyklus und Ovulation beim Schwein. *Tierärztl Prax*. 2002;30(G):252-60.

Wähner M, Barton A, Jank W. Untersuchungen zum Brunstverhalten und zur Fruchtbarkeitsleistung von ovulationssynchronisierten Sauen unterschiedlicher Wurfnummern. *Tierzucht* 1988;42:279-80.

Wähner M, Schlegel W, Heinze A. Vergleichende Untersuchungen zu einigen Fruchtbarkeitsparametern im 1. und 2. Östrus nach biotechnischer Pubertätsinduktion von Jungsau. *Mh Veterinärmed*. 1981;36:446-8.

Wähner M, Schlegel W, Wierzbowski A, Heinze A. Untersuchungen zum Einsatz von FSH/HCG-Gemischen zur Pubertätsinduktion von Jungsau. *Mh Veterinärmed*. 1982;37:529-34.

Wang L, Bogerd J, Choi HS, Seong JY, Soh JM, Chun SY et al. Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:361-6.

Weber G. Die mobile ultrasonographische Trächtigkeitsdiagnostik – ein Erfahrungsbericht. In: *Tagungsband zum 8. Bernburger Biotechnik-Workshop – Trächtigkeit und Geburt beim Schwein*; 24. – 25. Mai 2002; Bernburg, Deutschland; 2002. S. 49-54.

Weesner GD, Becker BA, Matteri RL. Expression of luteinizing hormone-releasing hormone and its receptor in porcine immune tissues. *Life Sci*. 1997;61:1643-9.

Weitze KF, Wagner-Rietschel H, Waberski D, Richter L, Krieter J. The onset of heat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in AI timing in sows. *Reprod Dom Anim*. 1994;29:433-43.

Wenger T, Rettori V, Snyder GD, Dalterio S, McCann SM. Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol on the hypothalamic-pituitary control of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion in adult male rats. *Neuroendocrinology*. 1987;46:488-93.

- White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:305-9.
- White SA, Kasten TL, Bond CT, Adelman JP, Fernald RD. Three gonadotropin-releasing hormone genes in one organism suggest novel roles for an ancient peptide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:8363-7.
- Wiltbank MC. Improving reproductive efficiency in high producing dairy cattle. In: proceedings of the 20th Congress of the World Association for Buiatrics; 1998 Jul 6-10; Sydney, Australia. Hosted by the Australian Association of Cattle Veterinarians AACV Sydney; 1998. p. 571-83.
- Wong TT, Gothilf Y, Zmora N, Kight KE, Meiri I, Elizur A et al. Developmental expression of three forms of gonadotropin-releasing hormone and ontogeny of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in gilthead seabream (*sparus aurata*). *Biol Reprod*. 2004;71:1026-35.
- Wrathall AE. Reproductive failure in the pig: Diagnosis and control. *Vet Rec*. 1977;100:230-7.
- Wu MC, Hentzel MD, Dziuk PF. Relationships between uterine length and number of fetuses and prenatal mortality in pigs. *J Anim Sci*. 1987;65:762-70.
- Wuttke W, Spiess S, Knoke I, Pitzel L, Leonhardt S, Jarry H. Synergistic effects of prostaglandin F_{2α} and tumor necrosis factor to induce luteolysis in the pig. *Biol Reprod*. 1998;58:1310-5.
- Yahalom D, Chen A, Ben-Aroya N, Rahimipour S, Kaganovsky E, Okon E et al. The gonadotropin-releasing hormone family of neuropeptides in the brain of human, bovine and rat: Identification of a third isoform. *FEBS Lett*. 1999;463:289-94.
- Youson JH, Sower SA. Concentration of gonadotropin-releasing hormone in the brain during metamorphosis in the lamprey, *petromyzon marinus*. *J Exp Zool*. 1991;259:399-404.
- Youngquist RS, editor. Current therapy in large animal theriogenology. Philadelphia: Saunders; 1997.
- Yu WH, Arisawa M, Millar RP, McCann SM. Effects of the gonadotropin-releasing hormone associated peptides (GAP) on the release of luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) and prolactin (PRL) in vivo. *Peptides*. 1989;10:1133-8.
- Yu WH, Karanth S, Mastronardi CA, Sealson S, Dean C, Dees WL et al. Lamprey GnRH-III acts on its putative receptor via nitric oxide to release follicle-stimulating hormone specifically. *Exp Biol Med*. 2002;227:786-93.

Yu WH, Karanth S, Sower SA, Parlow AF, McCann SM. The similarity of FSH-releasing factor to lamprey gonadotropin-releasing hormone III (I-GnRH-III) (44519). Proc Soc Exp Biol Med. 2000;224:87-92.

Yu WH, Karanth S, Walczewska A, Sower SA, McCann SM. A hypothalamic follicle-stimulating hormone-releasing decapeptide in the rat. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94:9499-503.

Yu WH, Millar RP, Milton SCF, Milton RCD, McCann SM. Selective FSH-releasing activity of [D-Trp⁹]GAP₁₋₁₃: Comparison with gonadotropin-releasing abilities of analogs of GAP and natural LHRHs. Brain Res Bull. 1990;25:867-73.

Yuan W, Connor ML, Buhr MM. Responsiveness of porcine large and small luteal cells to luteotropic or luteolytic hormones and cell morphologic changes during the estrous cycle and pregnancy. J Anim Sci. 1993;71:481-91.

Ziecik A, Krzymowska H, Tilton JE. Porcine LH levels during the estrous cycle, gestation, parturition and early lactation. J Anim Sci. 1982;54:1221-6.

Zohar Y, Elizur A, Sherwood NM, Powell JFF, Rivier JE, Zmora N. Gonadotropin-releasing activities of the three native forms of gonadotropin-releasing hormone present in the brain of gilthead seabream, *sparus aurata*. Gen Comp Endocrinol. 1995;97:289-99.

Zygmunt M, Herr F, Keller-Schoenwetter S, Kunzi-Rapp K, Münstedt K, Rao CV et al. Characterization of human chorionic gonadotropin as a novel angiogenic factor. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87:5290-6.

DANKSAGUNG

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Axel Sobiraj für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Ganz besonders danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Johannes Kauffold für die exzellente fachliche Unterstützung und seinen Rat, die ich jederzeit in Anspruch nehmen konnte.

Den Herren Priv. Doz. Dr. Dr. habil. Wolfgang Zaremba und Prof. Dr. habil. Uwe Hühn gilt mein herzlicher Dank für die vielen guten Ratschläge und fachlichen Anregungen.

Ich danke Frau Dr. Michaela Schulz, die mich trotz ihres erfüllten Berufsalltages in die Untersuchungstechnik mit dem Ultraschallgerät eingewiesen hat.

Den Mitarbeitern des Versuchsbetriebes, die mich für mehr als ein Jahr freundlich aufgenommen und stets sehr gut bei der Durchführung der Studie unterstützt haben, gilt mein herzlicher Dank.

Herrn Dr. Stephan Gutjahr (†) danke ich für die technische Unterstützung bei der Dokumentation der sonographischen Daten.

Für die Durchführung und die kompetente Hilfe bei der Interpretation der statistischen Berechnungen danke ich Herrn Andreas Richter von der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig.

Frau Christine Müller danke ich für die gewissenhafte orthographische Durchsicht der Arbeit.

Meinem Ehemann danke ich für den Mut, den er mir über die gesamte Dauer der Versuchsdurchführung und der Erstellung der Arbeit zugesprochen hat.

Besonders herzlich danke ich meinen Eltern für ihre Motivation. Ihre Ermutigung bei Fehlschlägen bedeutete mir jederzeit eine entscheidende Hilfe und Stütze.

Die Untersuchungen wurden im Rahmen des PROgramms „INNOvationskompetenz mittelständischer Unternehmen“ des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie gefördert. Hierfür möchte ich meinen herzlichen Dank aussprechen.

Umschlagfoto:

Dreidimensionales Rechenmodell des GnRH-Rezeptors mit GnRH. GnRH ist gelb dargestellt, mit Ausnahme von His² (*rot*) und Arg⁸ (*blau*). Die transmembranen Domänen des Rezeptors sind als grünes Band hervorgehoben. Aus Sealfon SC, Weinstein H, Millar RP. Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Endocrine Reviews* 1997;18(2):180-205.