

Atypische Graviditätsbefunde bei der Stute und ihre Beurteilung unter endokrinologischem Aspekt

B. Meinecke und H. Gips

Ambulatorische und Geburtshilfliche Veterinärklinik und Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dem Andenken Prof. Dr. Dr. h. c. mult. H. Tillmanns gewidmet.

Einleitung

Im Verlaufe der Frühgravidität der Stute ereignet sich eine Reihe von komplexen physiologischen Prozessen, die in der Etablierung der intakten fetomaternalen Einheit im dritten Graviditätsmonat münden. Diese physiologischen Abläufe umfassen die Erkennung der befruchteten Eizelle während des Tubentransportes, die Erhaltung der Corpus luteum-Funktion durch die Blockade des Luteolysins (14. bis 16. Zyklustag), die fetale Induktion der „endometrial cups“ (36. bis 38. Graviditätstag), die Entwicklung der akzessorischen Corpora lutea (40. bis 70. Graviditätstag) und die zunehmende Auffaltung und Verästlung der fetalen Membranoberfläche, die Voraussetzung für die feste Verbindung zwischen Fetus und Muttertier ist (60. bis 150. Graviditätstag).

Die effektivste Methode zur klinischen Verlaufskontrolle der Gravidität der Stute ist die wiederholte rektale Exploration des Reproduktionstraktes (18. bis 23., 40. bis 60. und 90. bis 100. Tag p. coh.). Eindeutige Befunde, die durch typische graviditätsbedingte Veränderungen am inneren Genitale hervorgerufen werden, erlauben dem Untersucher, eine unmittelbare Diagnose zu stellen. Atypische Befunde, die mit nahezu gleicher Frequenz wie typische Befunde auftreten, stellen den Tierarzt jedoch immer wieder vor schwierige Situationen, denn der Züchter, der durch die Paarungssaison gebunden ist, verlangt eine rasche Entscheidung, um gegebenenfalls durch die Induktion einer erneuten Rosse mit anschließender Paarung die Fertilitätsleistung der betreffenden Stute sicherzustellen.

Die indirekten Nachweise einer Gravidität über die Bestimmung des Progesterongehaltes im Blutplasma oder der Milch beziehungsweise über die PMSG-Bestimmung sind mit dem Nachteil verbunden, daß sich Pseudograviditäten (hohe Progesteronwerte) oder Fruchtresorptionen nach

Zusammenfassung

Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, hormonelle Parameter zu ermitteln, die in besonderer Weise geeignet sind, bei klinisch atypischen Befunden eine Differenzierung zwischen graviden und ingraviden Stuten zu ermöglichen. Hierzu wurden endokrinologische (Progesteron [P₄], Dehydroepiandrosteron [DHEA], Dehydroepiandrosteronsulfat [DHEAS], Östron [E₁], Östronsulfat [E₁S], Östradiol-17β [E₂], Östriol [E₃] und Cortisol sowie die Bindungskapazität des Transcortins) und klinische Parameter (rektaler und vaginaler Befund) von 23 graviden Stuten mit typischen und weiteren 26 Stuten mit atypischen Untersuchungsbefunden vergleichend analysiert. Bei 2 weiteren Tieren wurden zusätzlich durch tägliche Blutprobenentnahmen die Verlaufsprofile der Steroidhormone Pregnenolon (P₃), 17α-Hydroxypregnenolon (17α-OHP₃), P₄, 17α-Hydroxyprogesteron (17α-OHP₄), Androstendion (A), DHEA, DHEAS, Testosteron (T), E₁, E₁S und E₂ während der ersten 100 Tage einer Gravidität mit atypischen Untersuchungsbefunden – 1 Stute – und über 64 Tage einer Pseudogravidität (Luteostase) – 1 Stute – erstellt. Anhand der vorliegenden Ergebnisse erwies sich das E₁S in Kombination mit dem P₄- und dem MIP-Test als wertvoller Indikator, der nach dem 60. Graviditätstag eine Erkennung der intakten und gefährdeten Gravidität bzw. der zugrunde gehenden Trächtigkeit ermöglicht.

DHEA und DHEAS wiesen während der ersten 100 Graviditätstage und im Verlauf der Pseudogravidität eine mit der rektal ermittelten Follikeldynamik parallele Konzentrationserhöhung auf. Die im zweiten und letzten Drittel der Trächtigkeit steil ansteigenden Konzentration dieser beiden Steroidhormone sowie der nicht konjugierten Östrogene E₁, E₂, E₃ deuten auf ihren fetoplazentaren Ursprung und ihre mögliche klinische Verwendungsfähigkeit in diesen Graviditätsstadien hin.

Cortisol und die Bindungskapazität des Transcortins zeigten keinerlei charakteristische Veränderungen, die bei atypischen Befunden als Entscheidungskriterien herangezogen werden können.

Als besonders auffälliger Befund wird die Testosteronverlaufskurve während der ersten 100 Graviditätstage dargestellt und diskutiert.

Atypical Pregnancy Findings in the Mare and their Interpretation Under Endocrinological Aspects

The aim of the present paper was to determine hormonal parameters which are particularly qualified to distinguish pregnant from nonpregnant mares in cases of atypical clinical findings. The endocrinological characteristics (progesterone [P₄], dehydroepiandrosterone [DHEA], dehydroepiandrosterone sulphate [DHEAS], oestrone [E₁], oestrone sulphate [E₁S], oestradiol-17β [E₂], oestriol [E₃] and cortisol as well as the binding capacity of transcortin) and the clinical parameters (rectal and vaginal findings) of 23 pregnant mares showing typical clinical gestation signs were therefore compared with those of 26 mares presenting atypical clinical findings. In further 2 mares one exhibiting atypical clinical signs of pregnancy and the other a prolongation of the corpus luteum life-span (pseudopregnancy), the steroid hormone profile pregnenolone (P₃), 17α-hydroxypregnenolone (17α-OHP₃), P₄, 17α-hydroxyprogesterone (17α-OHP₄), androstendione (A), DHEA, DHEAS, testosterone (T), E₁, E₁S and E₂ were determined by daily blood plasma sampling during the first 100 days of pregnancy as well as in the course of 64 days of pseudopregnancy.

The present results indicate that the combined determination of E₁S and P₄ blood plasma concentrations together with the use of an immunological pregnancy test (MIP-Test) are particularly qualified to help the clinician to distinguish intact from endangered pregnancies (> Day 60).

Increasing plasma concentrations of DHEA and DHEAS were found to coincide with ovarian follicular dynamic during the first 100 days of pregnancy and in the course of pseudopregnancy. The precipitous rising blood levels of DHEA and DHEAS as well as of the unconjugated oestrogens E₁, E₂, E₃ during late pregnancy indicates that these steroid hormones are of foeto-placental origin and can be used as indicators of fetus well-being in clinical diagnosis.

dem 40. Graviditätstag (PMSG-Test bleibt positiv trotz des Fruchunterganges) nicht von intakten Trächtigkeiten differenzieren lassen.

In neueren Untersuchungen ist diesem Problem mit Hilfe der Östronsulfatbestimmung im Blutplasma nachgegangen worden (Darenius et al., 1982; Kindahl et al., 1982; Hyland et al., 1984; Kasman et al., 1984). Im Verlaufe der Gravidität kann dieses Östrogen nur im Zusammenspiel von Fetus und Plazenta produziert werden, so daß Veränderungen des physiologischen Östronsulfatgehaltes einen Rückschluß auf die Intaktheit der Gravidität zulassen.

Differentialdiagnostisch muß jedoch hierbei berücksichtigt werden, daß die Östronsulfatblutkonzentrationen auch während der Rosse ansteigen und Werte erreichen, die den bis zum 50. Graviditätstag verzeichneten Werten gleichen (Hyland et al., 1984).

Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, endokrinologische Parameter zu ermitteln, die in besonderer Weise geeignet sind, bei atypischen klinischen Befunden eine Differenzierung zwischen graviden und ingravidem Stuten zu ermöglichen.

Material und Methode

Von 26 Stuten (20 Vollblut- und 6 Warmblutstuten), die atypische (untermaßige und/oder spindelförmige Fruchtanlage, divergierender rektaler und vaginaler Befund), und von weiteren 23 (21 Vollblut- und 2 Warmblutstuten), die typische Befunde während der Gravidität aufwiesen, wurden jeweils 20 ml heparinisierendes Blut (Monovette®, NH₄-Heparin, Fa. Sarstedt, Nümbrecht) aus der Vena jugularis entnommen, zentrifugiert (10 Min, 3000 g) und das Plasma bei -18 °C bis zur weiteren Analyse tiefgefroren.

Für Vergleichsuntersuchungen standen 2 Warmblutstuten zur Verfügung. Von einer dieser Stuten („Hessenperle“, 14 Jahre alt), die atypische Graviditätsbefunde aufwies (Verhaltensrosse am 15. Tag p. coh., fehlendes Sensibilisierungsphänomen vom 23. bis 31. Tag p. coh., untermaßige Fruchtanlage am 45. Tag p. coh.; typische Graviditätsbefunde wurden erst ab dem 82. Tag p. coh. ermittelt), wurde im Verlaufe der ersten 100 Tage der Gravidität und von der zweiten („Ninette“, 9 Jahre alt) während einer Luteostase (Pseudogravidität) täglich (zwischen 9 und 10 Uhr) eine Blutplasmaprobe gewonnen und, in gleicher Weise wie oben beschrieben, bis zur radioimmunologischen Untersuchung gelagert. Beide Stuten wurden regelmäßig in 2- bis 3tägigen Abständen rektal untersucht und mit einem Warmbluthengst abprobiert.

Radioimmunologische Hormonbestimmungen

In den Blutplasmaproben der beiden Warmblutstuten wurden folgende Hormone nach Extraktion (Wiederfindungsrate 80 bis 92 %), jedoch ohne Chromatographie, radioimmunologisch bestimmt: Pregnenolon (P₃), 17 α -Hydroxypregnenolon (17 α -OHP₃), Progesteron (P₄), 17 α -Hydroxyprogesteron (17 α -OHP₄), Androstendion (A), Dehydroepiandrosteron (DHEA), Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS), Testosteron (T), Östron (E₁), Östronsulfat (E₁S) und Östradiol-17 β (E₂).

Cortisol and the binding capacity of transcortin exhibited no characteristic changes which can be related to intact or endangered pregnancies.

As a particularly striking finding the pattern of T plasma concentrations during the first 100 days of gestation is described.

In den Plasmaproben der Vollblutstuten erfolgte die radioimmunologische Bestimmung von: P₄, DHEA, DHEAS, E₁, E₁S, E₂, Östriol (E₃) und Cortisol. Außerdem wurde die Bindungskapazität des cortisolbindenden Globulins (Transkortin, CBG-BK) ermittelt (Gips, 1983).

Einzelheiten über die verwendeten Antisera und Testbedingungen sind bereits beschrieben worden (Gips et al., 1979 und 1980; Gips, 1983; Meinecke-Tillmann et al., 1986). In der vorliegenden Studie variierten die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten zwischen 5,8 und 7,2 % bzw. zwischen 8,6 und 12,7 %.

Ergebnisse

1. Hormonprofil während der Gravidität bis zum 100. Tag („Hessenperle“)

Die Hormonprofile der Warmblutstute „Hessenperle“ sind in den Abb. 1, 2 und 3 dargestellt; hierbei wurde auf die Wiedergabe jener Hormone verzichtet, die keinerlei besondere Veränderungen aufwiesen.

Die P₄-Verlaufskurve zeigt bis zum 22. Tag post ovulationem (p. ov.) ein gleichmäßig hohes Niveau von Werten > 4 ng/ml, das nur am 15. Tag p. ov. durch eine P₄-Konzentration von 2,5 ng/ml unterbrochen wird. Ein ebenso gleichmäßiges Niveau, das bis zum 22. Tag p. ov. um den Wert von 1 ng/ml fluktuiert, weist P₅ auf. Vom 24. bis zum 100. Tag zeigen beide Hormone dagegen große tägliche Fluktuationen in ihren Plasmakonzentrationen, die beim P₄ Werte zwischen 0,2 und 6,5 und beim P₅ zwischen 0,8 und 12,0 ng/ml aufweisen (P₄, \bar{x} : 2,20 \pm 1,67, P₅, \bar{x} : 2,27 \pm 1,85 ng/ml, n = 76, 24. bis 100. Tag).

DHEA erreicht einen Tag vor der Ovulation einen ersten Spitzenwert (1340 pg/ml), fällt bis zum 3. Tag p. ov. auf ein niedriges Niveau ab, das um 100 pg/ml schwankt, und steigt dann erneut am 40. Tag steil auf Konzentrationen von 1400 bis 1600 pg/ml an. Zwischen dem 70. und 90. Tag sinkt die DHEA-Plasmakonzentration geringfügig auf Werte von 670 bis 1240 pg/ml ab, erreicht jedoch zwischen dem 90. und 100. Tag erneut Spitzenwerte um 1600 pg/ml. Die DHEAS-Konzentrationen (ng/ml) weisen im Verlaufe der ersten 100 Tage der Gravidität einen zur DHEA-Konzentration parallelen Verlauf auf, wobei sich jedoch größere tägliche Konzentrationsschwankungen ergeben.

E₁ und E₂ steigen während der Rosse bis zur Ovulation an und zeigen um den 15. Tag p. ov. (E₁) bzw. 18. Tag p. ov. (E₂) eine erneute Erhöhung der Plasmakonzentrationen. Während die E₂-Werte im weiteren Verlauf der Gravidität keine markanten Veränderungen aufweisen, beginnen die E₁-Blutplasmawerte ab dem 25. Tag p. ov. kontinuierlich anzusteigen, um zwischen dem 95. und 100. Tag Werte zwischen 100 und 160 pg/ml zu erreichen.

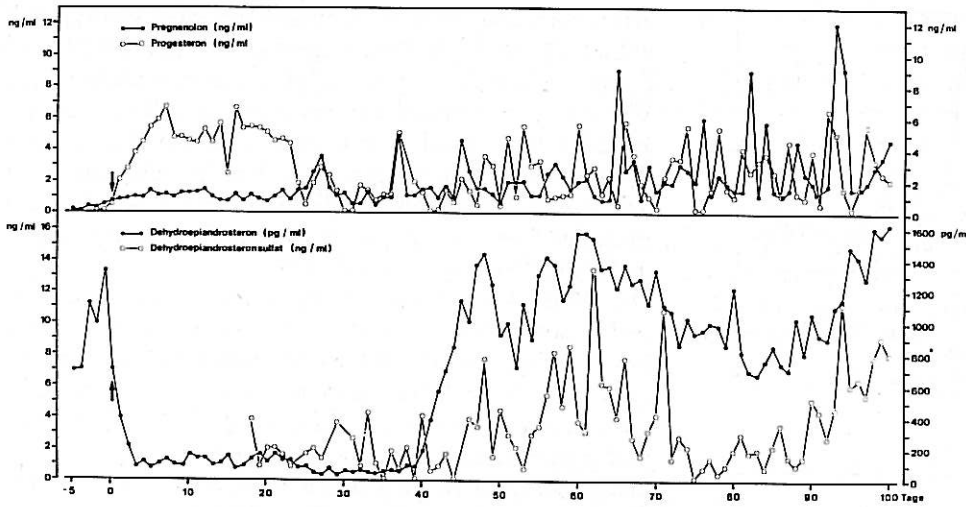


Abb. 1: Verlauf der peripheren Blutplasmakonzentration der Steroidhormone Pregnenolon, Progesteron, Dehydroepiandrosteron und Dehydroepiandrosteronsulfat während der ersten 100 Graviditätstage der Stute „Hessenperle“. Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0). Das Ausbleiben des Progesteronkonzentrationsanstieges nach dem 40. Tag deutet auf die fehlende Entwicklung der Corpora lutea accessoria hin.

Abb. 2: Verlauf der peripheren Blutplasmakonzentrationen der Steroidhormone Östron, Östronsulfat und Östradiol-17 β während der ersten 100 Graviditätstage der Stute „Hessenperle“. Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0). Die am 78. Tag steil ansteigenden Östronsulfatwerte deuten auf die Etablierung der fetoplazentaren Einheit hin.

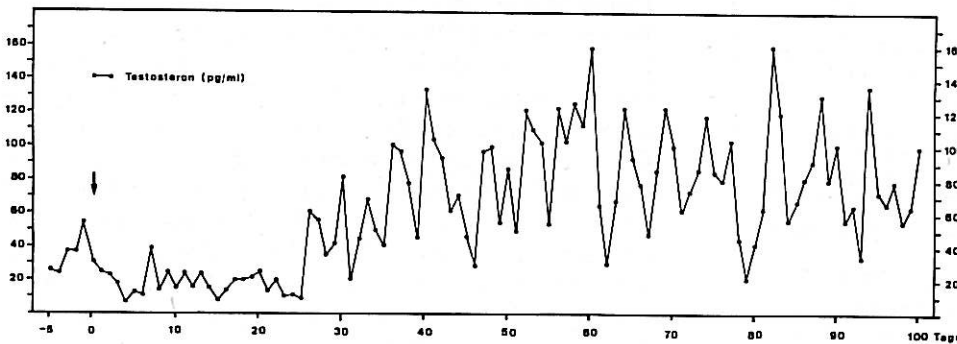
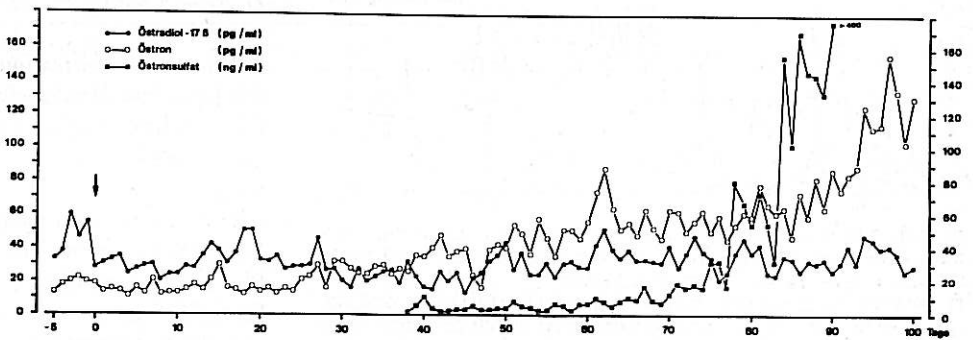


Abb. 3: Verlauf der peripheren Testosteronblutplasmakonzentrationen während der ersten 100 Graviditätstage der Stute „Hessenperle“. Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0). Der steile Anstieg am 26. Tag ist vermutlich embryonalen Ursprungs.

Die E₁-Sulfatkonzentrationen bleiben bis zum 38. Tag < 1 ng/ml (\bar{x} : 0,23 \pm 0,06 ng/ml, n = 20) und steigen bis zum 70. Tag ganz allmählich auf Konzentrationsbereiche um 20 ng/ml an. Am 78. Tag erfolgt ein steiler Anstieg auf 80 ng/ml, der nach einigen Fluktuationen 9 Tage später Werte von > 400 ng/ml erreicht, die bis zum Ende der Untersuchungsperiode nicht mehr unterschritten werden. Ein besonders auffälliges Verlaufprofil weist das T auf. Nach einem anfänglichen Anstieg der Blutplasmakonzentrationen während der Rosse (\bar{x} : 35,0 \pm 11,62 pg/ml, n = 6, Tage -5 bis 0) sinken die Werte auf ein niedriges Niveau ab, das bis zum 25. Tag p. ov. weitgehend konstant bleibt (\bar{x} : 18,7 \pm 6,57 pg/ml, n = 25, 1. bis 25. Tag). Am 26. Tag p. ov. erfolgt ein steiler Anstieg von 10 auf 60 pg/ml, und dieses hohe Niveau bleibt trotz großer täglicher Schwankungen bis zum 100. Tag p. ov. erhalten

(\bar{x} : 78,3 \pm 34,46 pg/ml, n = 75, 26. bis 100. Tag). Die hier dargestellte Gravidität der „Hessenperle“ entwickelte sich bis zum 321. Tag klinisch unauffällig. Am 322. Tag erfolgte die Spontangeburt eines toten Stutfohlens.

2. Hormonprofil während der Pseudogravidität („Ninette“)
Die Hormonprofile der Warmblutstute „Ninette“ sind in den Abb. 4 bis 7 dargestellt, hierbei wurde ebenfalls auf die Wiedergabe jener Hormone verzichtet, die keinerlei besondere Veränderungen aufwiesen. Die Verlaufskurven von P₅ und P₄ sowie deren 17 α -hydroxylierten Metaboliten (17 α -OHP₅, 17 α -OHP₄) (Abb. 4 und 5) stimmen weitgehend überein. Die beginnende Luteolyse des Corpus luteum periodicum zeichnet sich durch den steilen P₄-Konzentrationsabfall am 17. Zyklustag ab (Abb. 5), dem einen Tag später ein ebenso rapider P₅-Kon-

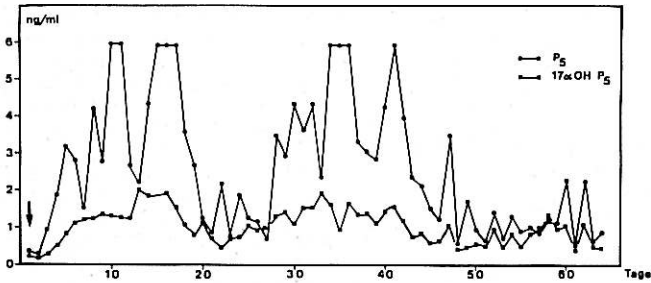


Abb. 4: Periphere Blutplasmakonzentrationen der Steroidhormone Pregnenolon und 17 α -Hydroxypregnenolon bei der Stute „Ninette“ im Verlaufe einer Luteostase (Pseudogravidität). Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0).

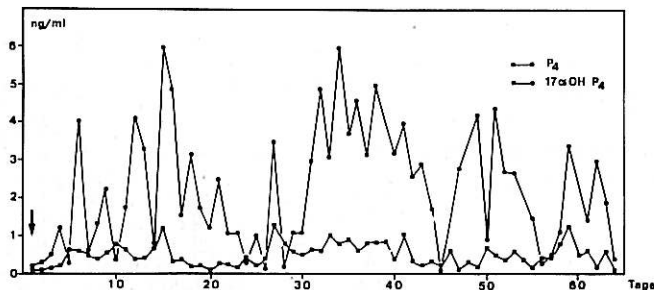


Abb. 5: Periphere Blutplasmakonzentrationen der Steroidhormone Progesteron und 17 α -Hydroxyprogesteron bei der Stute „Ninette“ im Verlaufe einer Luteostase (Pseudogravidität). Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0). Die unvollständige Luteolyse des Corpus luteum periodicum ist durch die relativ hohen (> 1 ng/ml) P₄-Werte ab dem 18. Tag gekennzeichnet.

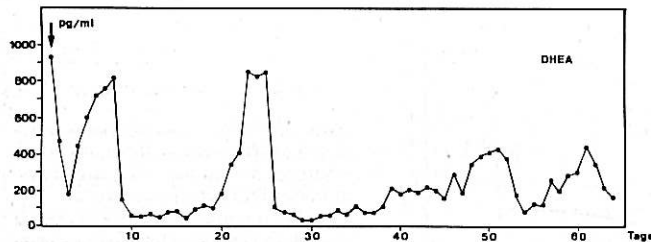


Abb. 6: Periphere Dehydroepiandrosteronblutplasmakonzentrationen (DHEA) bei der Stute „Ninette“ im Verlaufe einer Luteostase (Pseudogravidität). Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0). Die steil ansteigenden Konzentrationen zwischen dem 4. und 8. sowie dem 21. und 25. Tag fallen zeitlich mit der Präsenz großer (\varnothing > 3 cm) Follikel an den Ovarien zusammen.

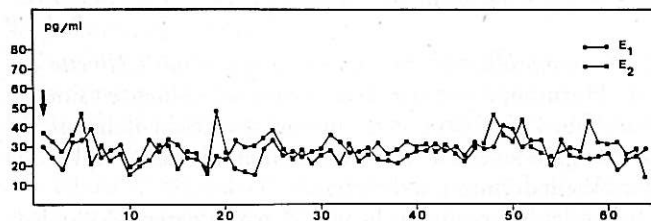


Abb. 7: Periphere Blutplasmakonzentrationen der Steroidhormone Östron und Östradiol-17 β bei der Stute „Ninette“ im Verlaufe einer Luteostase (Pseudogravidität). Der Pfeil kennzeichnet den Tag der Ovulation (Tag 0). Der nur schwach angedeutete Konzentrationsanstieg der beiden Östrogene in der Zeitspanne zwischen dem 4. und 8. sowie dem 21. und 25. Tag deutet auf die Entwicklung östrogeninaktiver Follikel (vgl. Abb. 6).

zentrationsabfall folgt. Allerdings bleibt die Luteolyse unvollständig, da beide Progesteronkonzentrationen (P₅ und P₄) im Verlaufe der folgenden Zyklustage durchschnittliche Werte von > 1 ng/ml aufweisen (P₅, \bar{x} : 1,40 \pm 0,58; P₄, \bar{x} : 1,20 \pm 0,72 ng/ml, n = 6, 21. bis 26. Tag). Die P₅- und P₄-Konzentrationen steigen nach dem 26. Tag erneut an und weisen neben großen täglichen Fluktuationen bis zum Ende der Untersuchung keine mehrtägige Zeitspanne auf, in der die Werte < 1 ng/ml sinken.

Die DHEA-Verlaufskurve (Abb. 6) zeigt zwischen dem 6. und 8. sowie dem 23. und 25. Tag Gipfelwerte (\bar{x} : 768,0 bzw. 841,0 pg/ml), die mit der ovariellen Aktivität parallel verlaufen. Zu beiden Zeitpunkten wurde bei der rektalen Untersuchung jeweils ein großer (\varnothing > 3 cm) Follikel nachgewiesen, der jedoch nicht ovulierte.

Beide Östrogene (E₁, E₂) zeigen während der Pseudogravidität nur ganz geringe tägliche Fluktuationen (E₁, \bar{x} : 27,70 \pm 5,80; E₂, \bar{x} : 28,59 \pm 6,31 pg/ml, n = 64).

3. Hormonkonzentrationen im Blutplasma von Stuten mit typischem Untersuchungsbefund

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tab. 1 zusammengefasst.

Sämtliche Progesteronwerte liegen bei den Stuten mit typischem Untersuchungsbefund > 4 ng/ml. DHEA und DHEAS weisen mit zunehmender Graviditätsdauer höhere Plasmakonzentrationen auf, allerdings fluktuieren die DHEAS-Werte von Stute zu Stute sehr stark. Auch lässt sich dieses Hormon bei 5 von 10 Stuten, die vor dem 100. Graviditätstag untersucht wurden, nicht nachweisen. Ebenso wie das DHEA weisen auch die Östrogene (E₁, E₁S, E₂, E₃) mit fortschreitender Graviditätsdauer zunehmende Plasmakonzentrationen auf. Die E₁S-Werte liegen bei Stuten mit Zwillinggraviditäten bereits ab dem 38. Graviditätstag > 5 ng/ml, und bei jenen mit einer Einlingsgravidität weist die E₁S-Plasmakonzentration zwischen dem 59. und 108. Tag Werte von > 10 ng/ml auf. Deutliche Konzentrationserhöhungen auf > 100 ng/ml sind beim E₂ ab dem 120. und beim E₃ ab dem 167. Graviditätstag zu ermitteln. Das Cortisol und die Cortisolbindungskapazität bleiben im Verlauf der Trächtigkeit bis zum 247. Tag weitgehend unverändert.

4. Hormonkonzentration im Blutplasma von Stuten mit atypischem Untersuchungsbefund

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tab. 2 zusammengefasst.

Bei den Stuten mit atypischen Befunden variieren die P₄-Werte außerordentlich stark. In 6 Fällen liegt die P₄-Konzentration < 2 ng/ml, während alle übrigen Stuten (n = 20) Werte von > 3 ng/ml aufweisen. Bis auf 1 Tier, dessen DHEA-Plasmakonzentration 1,0 ng/ml beträgt, weisen alle übrigen Proben Werte von < 1 ng/ml auf. Bei 14 der 26 Patienten mit atypischem Untersuchungsbefund ließ sich kein DHEAS im Plasma nachweisen, während bei den verbleibenden 12 Stuten Konzentrationen von 1,0 bis 88,7 ng/ml nachgewiesen wurden.

Im Vergleich zu den Stuten mit intakter Gravidität weisen die mit atypischen Palpationsbefunden deutlich niedrigere

Tab. 1: Steroidhormonkonzentrationen im peripheren Venenplasma von Stuten mit typischem Untersuchungsbefund

Stute Lfd. Nr.	Graviditätstag	Prog. ng/ml	DHEA ng/ml	DHEAS ng/ml	E ₁ pg/ml	E ₁ S ng/ml	E ₂ pg/ml	E ₃ pg/ml	Cortisol ng/ml	CBG-BK µg/100 ml	Klinische Diagnose	Endokrinologische Diagnose	Ergebnis der Verlaufskontrolle
1	17	9,9	0,23	4,4	38	0,73	41	21	92,2	5,90	Zwillingsgravidität	gravid	erneute Paarung nach Rosseinduktion
2	25	6,8	0,12	*	19	0,51	22	15	128,6	3,65	gravid	gravid	termingerecht abgefohlt
3	38	10,2	0,28	1,7	37	8,37	34	24	93,4	4,90	Zwillingsgravidität	intakte Gravidität	erneute Paarung nach Rosseinduktion
4	46	12,1	0,30	*	45	11,47	37	19	55,9	3,42	Zwillingsgravidität	intakte Gravidität	erneute Paarung nach Rosseinduktion
5	59	21,3	0,55	*	67	12,46	60	22	42,0	5,35	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
6	77	18,9	0,36	*	42	34,99	39	30	102,7	4,68	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
7	86	8,3	0,50	*	63	75,09	42	14	144,3	5,08	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
8	89	22,3	0,48	4,7	51	19,28	30	14	52,8	5,26	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
9	90	28,1	0,94	5,4	88	13,10	24	29	55,4	2,86	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
10	94	4,1	1,69	60,4	144	118,21	43	16	10,5	2,53	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
11	102	27,7	0,99	4,1	78	54,21	45	15	197,5	5,49	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
12	107	4,8	0,75	4,1	83	226,21	46	24	31,4	0,79	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
13	107	22,9	1,59	6,1	38	3,53	37	12	64,6	2,39	gravid	gefährdete Gravidität	Abort 137. Tag
14	108	12,8	0,57	4,9	202	84,78	54	24	107,9	4,52	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
15	120	10,7	2,27	7,5	730	1370,31	101	25	47,5	1,71	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
16	123	6,7	2,34	22,1	574	1298,94	90	51	98,0	2,54	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
17	140	18,9	3,25	7,7	1421	1200,17	110	25	46,6	5,94	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
18	167	4,2	3,00	14,9	1378	1631,83	320	116	84,9	2,99	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
19	167	5,4	2,80	16,2	1342	2180,00	239	93	82,9	3,52	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
20	176	5,1	3,76	14,8	550	1747,30	203	63	40,8	2,13	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
21	179	8,7	3,01	29,5	1200	1340,20	224	159	27,0	3,43	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
22	182	31,7	2,21	16,0	707	458,0	101	49	37,2	2,95	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
23	247	5,7	3,77	22,6	1254	716,5	347	125	26,2	1,57	gravid	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt

* <40 pg/ml

Östrogenkonzentrationen auf. Hierbei erweist sich das Östronsulfat als besonders empfindlicher Indikator, denn in allen Fällen einer gefährdeten Trächtigkeit lag die E₁S-Konzentration wesentlich niedriger als die Vergleichswerte der entsprechenden Graviditätsstadien bei intakten Trächtigkeiten (vgl. Tab. 1 und 2).

Die Cortisol- und die CBG-BK-Konzentration lassen keinen Zusammenhang mit der Gefährdung der Gravidität bzw. mit dem Resorptionsgeschehen erkennen.

Diskussion

Bei den Stuten mit atypischem Untersuchungsbefund lagen die peripheren P₄-Konzentrationen lediglich in 5 von 26 Fällen < 1 ng/ml, so daß auf der Basis des niedrigen P₄-Wertes der Ausschluß einer bestehenden Gravidität nur in diesen wenigen Fällen möglich war. Im Gegensatz hierzu

wiesen die verbleibenden 21 Stuten mit atypischem Untersuchungsbefund P₄-Werte von 1,9 bis 31,6 ng/ml auf, die auf ein funktionelles Corpus luteum schließen lassen.

Aufgrund der großen Variation der P₄-Konzentrationen während der ersten 100 Trächtigkeitstage (Abb. 1) sowie des sehr ähnlichen Verlaufes bei einer Luteostase (Abb. 5) kann bei fraglichen Befunden und relativ hohem P₄-Niveau nicht entschieden werden, ob es sich um intakte, retardierte oder in Resorption befindliche Trächtigkeiten bzw. um Pseudograviditäten handelt.

Die stark fluktuierenden Progesteronkonzentrationen (P₅ und P₄) der Stute „Hessenperle“ zwischen dem 24. und 100. Graviditätstag belegen, daß das Pferd hinsichtlich der für die Aufrechterhaltung der Trächtigkeit notwendigen Progesteronkonzentrationen über einen weiten Spielraum verfügt. Einzelne Tageswerte von < 1 ng/ml müssen deshalb in dieser Zeitspanne vorsichtig beurteilt werden (Enbergs, 1986).

Tab. 2: Steroidhormonkonzentrationen im peripheren Venenplasma von Stuten mit atypischem Untersuchungsbefund

Stute Lfd. Nr.	Tage p. c.	Prog. ng/ml	DHEA ng/ml	DHEAS ng/ml	E ₁ pg/ml	E ₁ S ng/ml	E ₂ pg/ml	E ₃ pg/ml	Cortisol ng/ml	CBG-BK µg/100 ml	Klinische Diagnose	Endokrinologische Diagnose	Ergebnis der Verlaufskontrolle
24	18	0,8	0,63	*	20	1,64	41	19	50,9	6,69	in Rosse	ingravid	erneute Paarung nach Rosseinduktion
25	22	3,6	0,22	1,0	43	0,41	34	15	122,6	6,29	ingravid, post ovulationem	Progesterondominanz	erneute Paarung nach Rosseinduktion
26	22	11,9	0,23	35,9	55	**	45	11	168,4	6,29	Zwillingsgravidität eine Frucht in Resorption	Progesterondominanz	termingerecht abgefohlt (Einling)
27	23	6,8	0,20	8,3	47	0,68	37	18	73,6	6,15	untermaßige Fruchtanlage	Progesterondominanz	erneute Paarung nach Rosseinduktion
28	26	6,2	0,13	*	34	0,38	37	17	49,8	4,99	untermaßige Fruchtanlage	Progesterondominanz	umgeroßt
29	28	7,8	0,31	12,4	53	1,68	39	18	7,7	3,49	untermaßige Fruchtanlage	Progesterondominanz	erneute Paarung nach Rosseinduktion
30	32	15,0	0,11	*	24	0,24	24	19	25,0	2,54	Pseudogravidität nach Resorption	Progesterondominanz	erneute Paarung nach Rosseinduktion
31	40	19,5	0,30	*	32	0,55	40	11	111,6	7,08	untermaßige Fruchtanlage	Pseudogravidität	erneute Paarung nach Rosseinduktion
32	48	11,7	0,40	1,1	39	0,76	36	14	44,4	3,65	untermaßige Fruchtanlage, MIP positiv	in Resorption	erneute Paarung nach Rosseinduktion
33	52	31,6	0,25	88,7	48	3,45	42	20	24,3	2,93	in Resorption (MIP positiv)	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
34	53	14,6	0,17	*	32	0,94	35	75	82,5	6,19	ingravid (MIP positiv)	Pseudogravidität	erneute Paarung nach Rosseinduktion
35	59	0,1	0,66	6,3	24	1,17	34	24	57,8	3,53	in Resorption (Zwillinge?) (MIP positiv)	in Resorption	umgeroßt
36	63	7,4	0,41	*	35	3,01	42	17	96,1	8,08	untermaßige Fruchtanlage (MIP positiv)	gefährdete Gravidität	güst geblieben
37	64	7,9	0,17	*	27	12,87	36	16	102,0	4,64	untermaßige Fruchtanlage, in Resorption (MIP pos.)	intakte Gravidität	termingerecht abgefohlt
38	69	1,9	0,53	18,3	35	0,77	46	13	158,4	4,44	in Resorption (MIP positiv)	Pseudogravidität	güst geblieben
39	74	0,7	0,78	4,9	27	1,27	40	22	58,6	2,31	in Resorption (MIP positiv)	in Resorption	güst geblieben
40	75	31,6	0,48	6,0	56	5,26	43	16	119,4	2,84	untermaßige, spindelförmige Fruchtanlage	gefährdete Gravidität	güst geblieben
41	82	6,2	0,25	*	42	0,80	41	14	151,0	8,54	Pseudogravidität nach Resorption (MIP positiv)	Pseudogravidität	güst geblieben
42	82	0,4	0,70	1,2	57	0,66	54	15	41,5	3,07	Zwillingsgravidität, in Resorption (MIP positiv)	ingravid	güst geblieben
43	83	0,3	0,21	*	21	0,20	27	11	87,3	3,44	ingravid	ingravid	erneute Paarung nach Rosseinduktion
44	83	13,4	0,39	*	22	3,45	42	20	24,3	2,93	Pseudogravidität, nach Resorption (MIP positiv)	Pseudogravidität	güst geblieben
45	91	30,5	0,16	*	48	1,53	40	20	23,2	2,56	ingravid	Pseudogravidität	erneute Paarung nach Rosseinduktion
46	94	6,6	0,23	*	46	34,99	32	19	62,7	4,01	Zwillingsgrav. (MIP pos.) eine Frucht in Resorption	in Resorption	umgeroßt
47	133	7,9	1,00	19,1	83	23,22	41	29	43,7	4,23	Zwillingsgravidität eine Frucht in Resorption	in Resorption	güst geblieben
48	161	18,1	0,60	*	46	9,46	40	20	75,9	5,08	untermaßige Fruchtanlage, in Resorption	in Resorption	güst geblieben
49	226	8,3	0,23	*	37	0,31	45	12	111,6	8,69	ingravid	Pseudogravidität	güst geblieben

* < 40 pg/ml

** < 56 pg/ml

Weiterhin deutet der fehlende Progesteronanstieg zwischen dem 40. und 70. Graviditätstag bei dieser Stute auf die ausbleibende Entwicklung der akzessorischen Gelbkörper hin, obwohl die klinischen und die endokrinologischen Befunde (steiler Anstieg des DHEA und DHEAS, Anstieg des E_1 und E_2) die zeitgerechte Entwicklung von multiplen großen Follikeln anzeigen. Aus dieser Beobachtung sowie den von *Ginther* (1979) mitgeteilten Ergebnissen kann deshalb vermutet werden, daß das primäre Corpus luteum ausreichend Progesteron synthetisieren kann, um die Trächtigkeit bis zum Beginn der plazentaren Progesteronproduktion aufrechtzuerhalten.

Die Häufigkeit der spontan auftretenden Verlängerung der Corpus-luteum-Phase bei ingraviden Stuten wird mit etwa 25 % im Verlaufe einer Paarungssaison angegeben (*Allen*, 1978 und 1979). Diese relativ hohe Frequenz, die mit den eigenen Untersuchungen übereinstimmt, sowie die Beobachtung, daß der Nachweis von PMSG im Blut der fraglichen Stute auch dann positiv ausfällt, wenn die Frucht bereits resorbiert ist (*Allen*, 1978 und 1979), schränken die Brauchbarkeit dieser beiden endokrinologischen Parameter für den Kliniker ein.

Auch die kombinierte Bestimmung von P_5 und P_4 (Abb. 1 und 2) sowie der 17α -hydroxylierten Metaboliten verbessert die Aussagefähigkeit nicht.

DHEA und DHEAS (Abb. 1 und 2) weisen eine der ovariellen follikulären Aktivität parallele Verlaufskurve auf, wobei höchste Konzentrationen unmittelbar vor der Ovulation (*Rance et al.*, 1976; *Meinecke et al.*, 1986) und ab dem 45. Graviditätstag ermittelt wurden (Abb. 1; Tab. 1 und 2). Dieses schwach wirkende Androgen erlangt als Graviditätsparameter vor allem im zweiten Drittel der Trächtigkeit als fetales Substratsteroidhormon für die plazentare Östrogenbiosynthese Bedeutung (*Rance und Park*, 1978; *Pashen*, 1984), während es vor dem 100. Tag nur als Indikator der physiologischen Ovaraktivität herangezogen werden kann. Im Verlaufe der Pseudogravidität erwies sich die DHEA-Kurve als exakter Parameter für die rektal ermittelte Follikelaktivität, während die Östrogenkonzentrationen keine Follikelwachstumsvorgänge am Ovar der betreffenden Stute anzeigten (Abb. 6 und 7).

Von den in der vorliegenden Studie untersuchten Östrogenen muß dem E_1S bei atypischen Untersuchungsbefunden als Indikator eine besondere Bedeutung beigemessen werden, da sich anhand der E_1S -Werte eine Differenzierung zwischen einer intakten und gefährdeten Gravidität vornehmen läßt (Tab. 1 und 2). Als Beispiel sei die Stute Nr. 37 (64. Graviditätstag) in Tab. 2 angeführt, die aufgrund der klinischen Befunderhebung als „in Resorption“ eingestuft wurde, weil sie eine untermaßige Fruchtanlage aufwies. Die E_1S -Konzentration im peripheren Plasma dieser Stute entsprach mit 12,87 ng/ml vergleichbaren Werten intakter Graviditäten (Tab. 1; *Makawiti et al.*, 1983; *Terqui und Palmer*, 1979), und die erfolgreiche Beendigung dieser Trächtigkeit bestätigte zudem die endokrinologische Diagnose.

Der frühe Anstieg der peripheren E_1S -Konzentration > 1 ng/ml ereignete sich bei der als Verlaufskontrolle herangezogenen Warmblutstute „Hessenperle“ am 38. Tag.

Dieser Befund steht mit den Ergebnissen von *Terqui und Palmer* (1979) sowie jenen von *Kindahl et al.* (1982) im Einklang. Die zeitliche Koinzidenz des E_1S -Anstieges mit dem Beginn der fetomaternalen Kontaktaufnahme (endometrial cups) gibt dem Kliniker, neben dem PMSG-Nachweis, einen weiteren endokrinologischen Parameter an die Hand, der in unklaren Fällen zur Diagnose herangezogen werden kann. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die Quelle des ansteigenden E_1S um den 40. Graviditätstag vermutlich in den multiplen großen Follikeln, die sich zu diesem Zeitpunkt am Ovar der graviden Stute an bilden, zu sehen ist, da in den Studien von *Terqui und Palmer* (1979) erst am 56. Tag eine Östrogenproduktion der fetoplazentaren Einheit nachgewiesen werden konnte. Aus diesem Grund können die E_1S -Konzentrationen zwischen dem 40. und 60. Tag nur dann als Graviditätsindikatoren herangezogen werden, wenn der PMSG-Nachweis positiv ausfällt.

Ein Konzentrationsgrenzwert für das E_1S in der Zeitspanne zwischen dem 40. und 60. Tag läßt sich gegenwärtig noch nicht angeben, da die eigenen und die in der Literatur mitgeteilten Ergebnisse (*Darenius et al.*, 1982; *Kindahl et al.*, 1982; *Hyland et al.*, 1984; *Kasman et al.*, 1984) aufgrund der relativ geringen Tierzahl, der großen individuellen Variation der E_1S -Konzentrationen und der unterschiedlichen Empfindlichkeit der verwendeten Östronantikörper keine eindeutige Referenzwertbestimmung zulassen.

Die unkonjugierten Östrogene E_2 und E_3 wiesen erst nach dem 120. Graviditätstag ansteigende periphere Plasmakonzentrationen auf, so daß ihre mögliche klinische Bedeutung auf die letzten beiden Drittel der Trächtigkeit beschränkt bleibt.

Das Cortisol und die Bindungskapazität des Transcortins zeigten bei den untersuchten Stuten keine markanten Veränderungen. Sie eignen sich deshalb nicht als unterstützende Parameter bei fraglichen klinischen Untersuchungsbefunden.

Für die endokrinologische Bewertung der Stuten mit atypischen Graviditätsbefunden wurde aufgrund der vorliegenden Ergebnisse der in Tab. 3 angegebene Schlüssel herangezogen, bei dem neben dem Östronsulfat auch die Progesteronkonzentration (> 2 ng/ml = positives Graviditätskriterium) und das Ergebnis des PMSG-Nachweises (MIP-Test, BYK-Gulden, Konstanz) Berücksichtigung fanden.

Stuten mit fraglichen klinischen Befunden und peripheren E_1S -Konzentrationen, die um > 10 ng/ml geringer waren als die E_1S -Werte von vergleichbaren Stuten mit typischen Untersuchungsbefunden, wurden hierbei als ingravide eingestuft. Mit Hilfe dieses Bewertungsschemas konnten die

Progesteron	Östronsulfat	PMSG	Interpretation
+	+	+	intakte Gravidität
+	-	+	Pseudogravidität nach Resorption
+	-	-	Pseudogravidität
+	±	+	gefährdete Gravidität

Tab. 3: Kriterien für die endokrinologische Graviditätsdiagnose bei der Stute.

Trächtigkeiten von 2 Stuten (Nr. 33 und 37; Tab. 2) mit atypischen klinischen Befunden als intakte Graviditäten bewertet werden, während bei einer Stute, die klinisch auffällig war (Nr. 13; Tab. 1), eine gefährdete Gravidität ermittelt werden konnte, die einen Monat später in einem Abort endete.

Der abrupte T-Konzentrationsanstieg am 26. Graviditätstag bei der Stute „Hessenperle“ bestätigt die Ergebnisse von *Silberzahn et al.* (1984) und muß aufgrund der bisher vorliegenden Resultate als positives Graviditätsanzeichen bewertet werden. Bei zyklierenden Stuten fluktuieren die peri-

pheren T-Plasmawerte in Konzentrationsbereichen zwischen 12 und 75 pg/ml, wobei steigende Konzentrationen um den Ovulationszeitpunkt und um den Beginn der Luteolyse festgestellt worden sind (*Silberzahn et al.*, 1978 und 1983; *Meinecke et al.*, 1986). Als Quelle eines solch frühen T-Anstieges, der zeitlich mit der E₁-Konzentrationszunahme zusammenfällt (Abb. 2 und 3), können sowohl der Embryo selbst als auch die mütterlichen Ovarien vermutet werden. Bis zur klinischen Nutzenanwendung dieses möglichen frühen Graviditätsindikators bedarf es jedoch noch eingehender Studien.

Literatur

- Allen, W. E.* (1978): Some Observations on Pseudopregnancy in Mares. *Br. Vet. J.* 134, 263-269.
- Allen, W. R.* (1979): Maternal Recognition of Pregnancy and Immunological Implications of Trophoblast-Endometrium Interactions in Equids. In: Ciba Foundation Symposium 64 (New Series), Excerpta Medica, Amsterdam, 323-352.
- Darenius, K., Kindabl, H., Knudsen, O., Madej, A., und Edqvist, L. E.* (1982): PMSG, Progesterone and Oestrone Sulphate During Normal Pregnancy and Early Fetal Death. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 625-626.
- Enbergs, H.* (1986): Zum Indikationsfeld des Progesterontests bei der Zuchtüberwachung von Stuten. *Prakt. Tierarzt* 67, 519-521.
- Gimther, O. J.* (1979): Reproductive Biology of the Mare. *McNaughton and Gunn, Inc., Ann Arbor, Michigan.*
- Gips, H.* (1983): Die Funktion der mütterlichen Nebennierenrinde in der Schwangerschaft und im Wochenbett. *Habilitationsschrift, Fachbereich Humanmedizin, Gießen.*
- Gips, H., Bailer, P., und Korte, K.* (1979): Problematik der Dextran-Aktivkohletrennung von freiem und gebundenem Steroid im direkten Progesteronradioimmunoassay ohne Chromatographie und Extraktion. *Arch. Gynecol.* 227, 71-81.
- Gips, H., Bailer, P., und Korte, K.* (1980): Placental Steroid Metabolism in a Case of Placental Sulfatase Deficiency. *J. Endocrinol. Invest.* 3, 51-58.
- Hyland, J. H., Wright, P. J., und Manning, S. J.* (1984): An Investigation of the Use of Plasma Oestrone Sulphate Concentrations for the Diagnosis of Pregnancy in Mares. *Aust. Vet. J.* 61, 123.
- Kasman, L. H., Lasley, B. L., Meagher, D. M., Couto, M., Alexander, S. L., und Hughes, J. P.* (1984): Changes of Circulating and Urinary Estrogen Levels in Mares from Early Pregnancy through Induced Abortion. *Biol. Reprod.* 30, Suppl. 1, 68.
- Kindabl, H., Knudsen, O., Madej, A., und Edqvist, L. E.* (1982): Progesterone, Prostaglandin F_{2α}, PMSG and Oestrone Sulphate During Early Pregnancy in the Mare. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 32, 353-359.
- Makawiti, D. W., Allen, W. E., und Kilpatrick, M. J.* (1983): Changes in Oestrone Concentrations in Peripheral Plasma of Pony Mares Associated with Follicular Growth, Ovulation and Early Pregnancy. *J. Reprod. Fert.* 68, 481-487.
- Meinecke, B., Gips, H., und Meinecke-Tillmann, S.* (1986): Progesterone, Androgen and Oestrogen Levels in Plasma and Ovarian Follicular Fluid During the Oestrous Cycle of the Mare. *Anim. Reprod. Sci.*, 12 (im Druck).
- Meinecke-Tillmann, S., Gips, H., Meinecke, B., und Finkenberger, A.* (1986): Concentrations of Oestrone Sulphate and Oestradiol-17β in the Peripheral Plasma of the Nanny Goat During the Oestrous Cycle, Gestation and Puerperium. *Zuchthyg.* 21, 207-213.
- Pashen, R. L.* (1984): Maternal and Foetal Endocrinology During Late Pregnancy and Parturition in the Mare. *Equine Vet. J.* 16, 233-238.
- Rance, T. A., Park, B. K., Rowe, P. H., und Dean, P. D. G.* (1976): A Pre-ovulatory Rise of Dehydroepiandrosterone in the Mare Measured by Radioimmunoassay. *J. Steroid. Biochem.* 7, 677-681.
- Rance, T. A., und Park, B. K.* (1978): The Measurement of Oestrone, Equilin and Dehydroepiandrosterone in the Peripheral Plasma of Pregnant Pony Mares by Radioimmunoassay. *J. Steroid. Biochem.* 9, 1065-1069.
- Silberzahn, P., Quincey, D., Rosier, C., und Leymarie, P.* (1978): Testosterone and Progesterone in Peripheral Plasma During the Oestrous Cycle of the Mare. *J. Reprod. Fert.* 53, 1-5.
- Silberzahn, P., Dehennin, L., Zwain, J. H., und Leymarie, P.* (1983): Identification and Measurement of Testosterone in Plasma and Follicular Fluid of the Mare, Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry Associated with Isotope Dilution. *J. Endocr.* 97, 51-56.
- Silberzahn, P., Zwain, I., und Martin, B.* (1984): Concentration Increase of Unbound Testosterone in Plasma of the Mare Throughout Pregnancy. *Endocrinology* 115, 416-419.
- Terqui, M., und Palmer, E.* (1979): Oestrogen Pattern During Early Pregnancy in the Mare. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 27, 441-446.

Dr. B. Meinecke
Ambulatorische u. Geburtshilfliche Tierklinik
Universität Gießen
Frankfurter Str. 106
6300 Gießen