

Kritische Bewertung praxisrelevanter Verfahren zur Ovulationsterminierung und Samenübertragung hinsichtlich endometrialer Reaktionen bei der Stute

H. Sieme¹, E. Klug² und H.-A. Schoon³

¹Nds. Landgestüt Celle, Celle

²Klinik für Pferde, Tierärztl. Hochschule Hannover

³Institut für Veterinär-Pathologie, Universität Leipzig

Zusammenfassung

Verfahren zur Ovulationsterminierung und Samenübertragung werden als Interventionsmöglichkeiten unter Praxisbedingungen einer kritischen Prüfung hinsichtlich ihrer fruchtbarkeitsrelevanten Wirkung unterzogen.

Daten zur Follikelwachstumsrate und Follikelkonsistenz östrischer Warmblutstuten in Verbindung mit sonographisch faßbaren Parametern (Follikelform, Relation zur Ovulationsgrube) liefern dem praktizierenden Tierarzt wertvolle Hinweise für die Ovulationsprognose. Im Rahmen der Samenübertragung ist die medikamentelle Ovulationsinduktion immer häufiger angezeigt; diese Verfahren versprechen bei Einhaltung der Behandlungsvoraussetzungen (Östrus und Follikeldurchmesser ≥ 40 mm; oder 3. Rossetag) gute Terminierungserfolge. Die intravenöse Applikation von 1500 I.E. hCG mit anschließender Frischsamenerstbesamung 24 Stunden post injectionem wird empfohlen.

Im Wesentlichen beeinflussen bei der Samenübertragung die einzelnen Komponenten des Inseminates – Spermien, Seminalplasma und Verdüner – auf unterschiedliche Weise Art und Ausmaß der endometrialen Reaktion. Die Intensität der endometrialen Reaktion ist abhängig von der Konfektionierungsform der Spermien (tiefgefroren > Frischsamen), der Spermienkonzentration und dem Volumen. Es ist zu vermuten, daß selektive Phagozytosemechanismen für strukturell und/oder funktionell differente Spermien bestehen. Über den Einsatz von Verdünnern sollte in Abhängigkeit vom Zeitraum der Samengewinnung bis zur Samenverwendung entschieden werden. Verfahren zur Spermienselektion sind geeignet verbesserte Fruchtbarkeitsresultate zu erzielen. Die Ermittlung der Ursachen reduzierter Erfolgsraten bei Einsatz von Tiefgefriersperma und der funktionellen Wirkungen equinen Seminalplasmas bedürfen weiterer Untersuchungen.

Schlüsselwörter: Stute, Ovulation, Samenübertragung, Endometrium, Spermien

Critical valuation of practical methodes to terme ovulation and A.I. in relation to endometrial reaction in the mare

Methodes to predict and induce ovulation as well as artificial insemination techniques will be proven in relation to endometrial reaction in the mare. Data concerning follicle growing-rate and consistency in estrous mares and sonographical findings (follicle shape, relation to ovulation fossa) could serve as reliable parameters for impending ovulation in the mare. In A.I.-programs inducing of ovulation is often indicated; those methodes expect practical effects to term ovulation if fundamental premises are observed (estrous and follicle diameter ≥ 40 mm; or 3rd day of estrous). Administration of 1,500 I.U. hCG intraveinously combined with first insemination 24 hours later with chilled semen is recommended. Essentially the individual components of the inseminate – spermatozoa, seminal plasma and extender – influence in a different manner character and degree of endometrial reaction. Intensity of endometrial reaction depends on kind of semen preservation (frozen > chilled), sperm concentration and volume. Possibly selective mechanism of phagozytosis for structural and/or functional different spermatozoa are existing. Choice of extender should be done in subject to the interval from semen collection until time of insemination. Methodes to select spermatozoa in vitro are suitable to improve fertility rates. Reasons of reduced fertility rates when frozen semen is used and mode of operation of equine seminal plasma are in need of further inquiry.

keywords: mare, ovulation, artificial insemination, endometrium, spermatozoa

Ovulationsterminierung

Die Vorprüfung der Stute zur Besamung (Follikelkontrolle) erfolgt nach Prüfung des Paarungsverhaltens am Hengst. Dieses ist ein bedeutsames diagnostisches Hilfsmittel zur Zyklusansprache und wirkt stimulierend auf das Endokrinum der Stute. Für den Besamungsbeauftragten ist aus haftungsrechtlichen Gründen die Prüfung des Paarungsverhaltens Voraussetzung bei der Vorprüfung auf Besamungstauglichkeit.

Als Verfahren zur prognostischen Terminierung des Ovulationstermins bei der Stute erwiesen sich Messungen der Körpertemperatur, der Herzfrequenz, des Zervikalschleimwiderstandes, des pH-Werts und die Vaginalzytologie (Bowen et al. 1987) sowie die sonographische Beurteilung

des endometrialen Ödems während der Rosse (Pycock et al. 1995) als ungeeignet. Periovulatorische Bestimmungen des LH-Verlaufs (Michel 1989) sowie ein bei der Stute meßbarer präovulatorischer Anstieg des Progesterons sind allenfalls retrospektiv nutzbar. Mögliche Korrelationen zwischen der postovulatorischen Blutung (Corpus hämorrhagicum) und der Gerinnungsdynamik (Haak 1987, Weitkamp 1990, Sieme 1989) erwiesen sich für eine prognostische Aussage ebenfalls als nicht praktikabel.

Im Rahmen der Ovulationsterminierung ist somit die frequente, systematische gynäkologische Untersuchung in Kombination mit der sonographischen Untersuchung durch den Tierarzt in praxi unabdingbar. Das Einsetzen der Ovula-

tion etwa 24 Stunden vor Rosseende ist zwar eine biologisch relativ verlässliche Größe, aufgrund extremer saisonaler und interindividueller Variationen der Rosseendauer zur Prädiktion des Ovulationstermins jedoch nicht nutzbar. Östrische Warmblutstuten entwickeln dominante Rossefollikel mit einem Durchmesser von 35–60mm, die Follikelwachstumsrate beträgt 3 mm pro Rossetag und nimmt mit Fortschreiten der Rosse signifikant ab; ca. 24 Stunden präovulationem sistiert das Follikelwachstum (Sieme 1989, Weitkamp 1990). Der Follikelturgor wechselt von prall fluktuierender in Ovulationsnähe zu weicher Fluktuation. Vereinzelt zeigen Stuten in Ovulationsnähe eine erhöhte Palpationssensibilität des Ovars (Weitkamp 1990).

Die sonographische Untersuchung liefert bei täglichen Verlaufuntersuchungen praktikable Hinweise für die Ovulationsprognose (Pierson und Ginther 1985). Wie in Tabelle 1 dargestellt, ist nach Will (1988) und Squires et al. (1988) mit fortschreitender Reifung des Follikels eine Zunahme der Echogenität der Follikelflüssigkeit sowie eine Zunahme der Follikelwanddicke nachweisbar. Die Ermittlung dieser Kriterien erfordert jedoch einen mindestens täglichen Untersuchungsrhythmus und eine aufwendige diagnostische Dokumentation. Zuverlässigere Hinweise auf die herannahende Ovulation bietet die Veränderung der Follikelform von zunächst rund zu rundoval bis polygonal. Ebenfalls gut geeignet als prognostisches Kriterium ist der sich „tränenförmig“ darstellbare Anschluß des dominanten Rossefollikels zur Ovulationsgrube; dieser Befund kann jedoch im Regelfall nur in zeitlich enger Beziehung zur Ovulation erhoben werden.

Tab. 1: Klinische und sonographische Charakteristik eines präovulatorischen Follikels bei Warmblutstuten.
Clinical and sonographical characteristics of a preovulatory follicle in the warm-blooded mare.

Parameter	Befund	Praxisrelevanz
Follikelkontrolle:		
Follikelgröße	35–60mm	+
Follikelwachstumsrate	3 mm/d bis 24h präov.	++
Follikelkonsistenz	Turgor ↓	++
Follikelsensibilität	zunehmend	+
Sonographie:		
Echogenit. der Follikelflkt.	↑	+
Follikelwanddicke	↑	+
Follikelform	rund → polygonal	+++
Relation zur Ov.-grube	„Tränenform“	+++

Direkte Interventionsmöglichkeiten

Bei der östrischen Stute stehen im wesentlichen 3 Präparategruppen zur Ovulationsinduktion zur Verfügung (Humanes Chorion Gonadotropin hCG, Gonadotropin-Releasinghormon GnRH, Prostaglandin-F2-alpha PGF_{2α}). Equine Hypophysen-

extrakte sind zur Auslösung der Superovulation im Rahmen des Embryotransfers das Mittel der Wahl (Squires et al. 1986). Aufwendige Herstellung sowie mangelnde Verfügbarkeit verhindern zur Zeit noch einen Einsatz zur Ovulationsinduktion. Unabdingbare Voraussetzungen für den Behandlungserfolg sind der Zeitpunkt der Behandlung sowie Art, Dosis und Applikationsform des Medikamentes. Im Schrifttum wird als Zeitpunkt das Erreichen einer Follikelgröße von mindestens 30–35mm angegeben (Palmer 1978, Squires und McKinnon 1987). Nach Untersuchungen von Lübbecke (1992), Meinert et al. (1993) und Schmit (1993) sowie den hier vorliegenden Daten sollte bei Warmblutstuten der Follikel eine Größe von ≥40 mm erreicht haben (Sieme und Klug 1996). Alternativ ist der dritte Rossetag zur Ovulationsinduktion zu empfehlen. Eine zu frühzeitige Intervention führt – vermutlich infolge zeitlicher Inkongruenz von Follikel- bzw. Oozytenreife und Zyklusstadium – zu mangelhaften Induktionserfolgen und schlechteren Fruchtbarkeitsresultaten.

GnRH-Analoga wirken via endogener LH-Sekretionsverstärkung; eine antigene Eigenschaft der Präparate ist aufgrund der geringen Molekülgröße (Deka- bzw. Nonapeptid) nicht zu erwarten. Entscheidend für den Behandlungserfolg ist hier die Applikationsform. Einzelinjektionen sind wirkungslos; multiple Injektionen sowie kontinuierliche bzw. pulsatile Infusionen mit Minipumpen sind zwar effektiv aber in praxi zu aufwendig (Johnson 1986). Als sehr effektiv hinsichtlich der Ovulationsinduktion erwiesen sich subkutan zu applizierende, kurzzeitwirksame GnRH-Analog-Implantate (Deslorelin®, Peptide Technology Ltd., Australien) (McKinnon et al. 1993, Schmit 1993, Biet 1993). Wirkungsverluste sind bei wiederholter Anwendung in aufeinander folgenden Rossen nicht zu erwarten (Lee et al. 1994, Wilhelm et al. 1994). Innerhalb 48 Stunden post implantationem – mit deutlicher Häufung zwischen 24 bis 48 Stunden – ist in über 90% der Fälle mit dem Eintritt der Ovulation zu rechnen (s. Tabelle 2). Bisher sind GnRH-Depotpräparate im deutschsprachigen Raum für das Pferd nicht zugelassen.

Nach wie vor ist daher hCG das Mittel der Wahl. Wie in Tabelle 2 dargestellt, lassen sich sehr gute Ovulationsinduktionserfolge erzielen. Innerhalb 48 Stunden post injectionem trat bei über 90% der Probanden die Ovulation ein; dabei fällt eine deutliche Häufung der Ovulationen im Zeitraum 36 bis 48 Stunden post injectionem bei Einsatz einer i.v Applikation von 1500 I.E. auf. Die Applikation von hCG führt zur Antikörperbildung, Kreuzreaktionen zum equinen LH oder eCG bestehen jedoch nicht (Roser et al. 1979). Wiederholungsbehandlungen in folgenden Rossen führen nicht zur Wirkungsbeeinträchtigung (Aé 1995, Bollwein et al. 1995). Bei Dosierungen über 4000 I.E. hCG wurden negative Auswirkungen auf das Fertilitätsergebnis beschrieben (Shilova et al. 1976).

PGF_{2α}-Analoga bewirken eine Freisetzung der Gonadotropine (FSH, LH) und wirken direkt auf die Follikelentwicklung. Hinsichtlich der Ovulationsterminierung erwies sich lediglich Luproliol als effektiv (Block 1995, Buß 1997). Bei Einsatz von Luproliol (s. Tab. 2) tritt jedoch im Vergleich zu hCG bzw. Deslorelin eine deutlich höhere Streuung sowie ein vermehrtes Auftreten von Ovulationen bis 24 Stunden post

injectionem auf. Dinoprost besitzt keine ausreichende ovulationsinduzierende Wirkung bei der Stute.

Bei Einhaltung der Behandlungsvoraussetzungen (s.o.) ist bei Einsatz von Deslorelin® oder hCG nicht mit dem vermehrten Auftreten von Doppelovulations- bzw. Zwillingsraten sowie mit reduzierten Trächtigkeitserfolgen zu rechnen (Aé 1995, Bollwein et al. 1995, Sieme und Klug 1996).

Tab. 2: Ovulationsinduktion bei 12h Untersuchungsintervall nach hormoneller Intervention bei östrischen Warmblutstuten mit Ausgangsfollikeln von 40mm.

Induction of ovulation after endocrinological intervention in oestrous mares with follicles diameter of 40mm

	n	Mittelwert	± SD
Deslorelin®	92	37,8 ^a	7,93
hCG (3000)	43	33,6 ^b	10,14
hCG (1500)	169	38,3 ^c	8,63
Dinoprost 5mg	11	50,5 ^d	23,56
Luprostiol 7,5mg	16	35,5 ^e	12,35
Luprostiol 15mg	17	35,8 ^f	20,46
Kontrolle	83	52,3 ^g	27,63

a,b,c : g = p ≤ 0,001 f,e : g = p ≤ 0,01 a,b : d = p ≤ 0,01
f,e : d = p ≤ 0,05

Besamungsterminierung bei induzierter Ovulation

Eine Abstimmung des optimalen Besamungszeitpunktes sollte hinsichtlich der Konservierungsform (Frisch-, TG-Sperma), des Behandlungsbeginns, des Medikamentes und sowie der Dosierung erfolgen.

Bei Einsatz von Frischsamen empfiehlt sich die Erstbesamung 24 Stunden post injectionem. Der Behandlungserfolg wird 48 Stunden post injectionem kontrolliert und dann ggf. über eine Nachbesamung entschieden. Bei Einsatz von TG-Sperma wird post injectionem ein 12stündiges Untersuchungsintervall empfohlen. Ist bis 36 Stunden post injectionem die Ovulation nicht eingetreten, sollte die Erstbesamung erfolgen und nach weiteren 12 Stunden nachkontrolliert werden. Buß (1997) erzielte nach Ovulationsinduktion mit 1500 I.E. hCG und Einsatz von TG-Sperma die besten Trächtigkeitserfolgen mittels Doppelbesamung nach 36 und 48 Stunden post injectionem. Ist eine unmittelbar präovulatorische Besamung aus Kostengründen zu riskant ist spätestens 24 Stunden post injectionem das Untersuchungsintervall auf 6 Stunden zu verkürzen, um unmittelbar postovulatorisch zu inseminieren.

Interaktion Inseminat und Endometrium

Jede Bedeckung oder Besamung impliziert eine endometriale Reaktion in Form einer – abhängig von der myo-

bzw. endometrialen Resistenz der Stute – transienten Endometritis.

Im Wesentlichen beeinflussen bei der Samenübertragung – hygienische Kautelen beim Besamungsvorgang vorausgesetzt – die einzelnen Komponenten des Inseminates Spermien, Seminalplasma und Verdünner auf unterschiedliche Weise Art und Ausmaß der endometrialen Reaktion.

Hengstspemien werden in großer Anzahl ejakuliert; dies hat seine Ursache darin, daß Hengstejakulate aus unterschiedlichen Spermienpopulationen zusammengesetzt sind. Diese Subpopulationen unterscheiden sich nicht nur hinsichtlich Motilität und Morphologie, sondern vor allem auch durch differente Befruchtungspotenz.

Der Spermientransport scheint bei der als „Uterusbesamer“ anzusehenden Spezies Pferd positiv korreliert mit der Spermienanzahl und der initialen Spermienmotilität (Parker et al. 1975). Bereits nach wenigen Minuten post inseminationem sind erste Spermien im Eileiter nachweisbar; nach 4 Stunden ist der Spermientransport abgeschlossen (Bader 1982). Als Ort der Spermienlagerung fungiert bei der Stute vermutlich der caudale Isthmus.

Für eine erfolgreiche Befruchtung ist die Anwesenheit akrosomintakter Spermatozoen erforderlich, da erst nach Bindung des Spermiums an die Eizelle die Akrosomenreaktion einsetzt (Töpfer-Petersen et al. 1995). Myometriale Kontraktionen sind die wesentliche Kraft zur Erreichung des Eileiters. Der Klärung bedarf jedoch noch, inwieweit bei der Spezies Pferd der Deckakt im Vergleich zur Samenübertragung unterschiedlich stark induktiv auf das Myometrium wirkt. Auch bleibt noch zu klären, ob und welche Bestandteile des Ejakulates positiv inotrope Wirkungen besitzen.

Die endometriale Reaktion nach Bedeckung oder Besamung wird wesentlich durch den Einstrom neutrophiler Granulozyten bestimmt. Neutrophile Granulozyten können bereits 30 Minuten nach Bedeckung oder Besamung nachgewiesen werden, über die intrauterine Persistenz gibt es unterschiedliche Angaben bis 48 Stunden (Katila 1995) und länger (Watson und Nikolakopoulos 1996). Nach Troedsson (1996) erfolgt der postinseminatorische Einstrom neutrophiler Granulozyten über eine Aktivierung des Komplementsystems. Dieser Mechanismus sei spezifisch für Spermien, während Seminalplasma in vitro hemmende Wirkung auf Chemotaxis und Migration neutrophiler Granulozyten ausübt.

In der Literatur gibt es Hinweise darauf, daß die Intensität der endometrialen Reaktion abhängig ist von der Konfektionierungsform der Spermien (tiefgefroren > Frischsamen), der Spermienkonzentration und des Volumens (Kotilainen et al. 1994, Troedsson 1996).

Es ist zu vermuten, daß selektive Phagozytosemechanismen für strukturell und/oder funktionell differente Spermien bestehen.

Die Hauptproteincomponenten im equinen Seminalplasma wurden hinsichtlich Struktur und Funktion von Calvete et al. (1994) untersucht. Claus et al. (1992) bestimmten den Gehalt an Östrogenen und Prostaglandin-F_{2α}.

Bei der Samenkonservierung ist nach Zentrifugation des Samens eine Retention von mindestens 5% Seminalplasma

für den Erhalt der Spermiovitalität essentiell (Ahlemeyer 1991). Nach Aurich et al. (1995) läßt sich durch Zusatz von Seminalplasma von Hengsten mit guter Spermientiefgefrierung das Auftauergebnis von Hengsten mit schlechter Tiefgefrierung verbessern.

Von interindividuellen Unterschieden in der spezifischen Zusammensetzung des Seminalplasmas berichten Schambony et al. (1997).

Hinsichtlich der Interaktion Seminalplasma und Endometrium konnte bei anderen Spezies eine positive Beeinflussung des Spermientransports nachgewiesen werden. Nach Troedsson (1996) wirkt equines Seminalplasma in vitro hemmend auf Chemotaxis und Migration neutrophiler Granulozyten.

Auf eine Interaktion Seminalplasma und Ovulationstermin weisen die Untersuchungen von Schröter (1997) hin.

Durch Zusatz eines Seminalplasmapools von einem fertilen bzw. einem subfertilen Hengst bei der Besamung von Warmblutstuten unterschieden sich die Befruchtungsergebnisse nicht signifikant (Beelmann 1994).

Zum Einfluß des Verdünners auf das Endometrium der Stute finden sich in der Literatur nur vereinzelte Hinweise. Es ist davon auszugehen, daß bei der Besamung die wesentliche Entzündungsreaktion durch Spermien induziert wird (Kotilainen et al. 1994, Troedsson 1996). Zu bedenken ist jedoch, daß herkömmliche Pferdesamenverdünner nicht unerhebliche Anteile an Fremdeiweiß (z.B. Magermilch, Eidotter) enthalten.

Besamungsmanagement und endometriale Reaktion

Aus den oben dargestellten Zusammenhängen ergeben sich für die Praxis der Samenübertragung folgende Empfehlungen.

In praxi wird im Regelfall die manuelle Samenübertragung angewandt; zu prüfen wäre, ob eine manuelle Massage im Bereich des äußeren Muttermundes vergleichsweise zum Deckakt annähernd vergleichbar induktiv auf das Myometrium wirkt.

Durch intracornuale Samendeponierung in das ipsilaterale Uterushorn sind nach Feo et al. (1992) bessere Befruchtungsergebnisse zu erzielen (Merkt und Krause 1966).

Die Wahl des Verdünnermediums sollte auf den Zeitraum zwischen Samenentnahme und Besamung abgestimmt werden. Die Übertragung unverdünnten Nativsamens ist unmittelbar nach der Samengewinnung durchzuführen. Erfolgt die Samenübertragung innerhalb der ersten 12 Stunden nach der Samengewinnung sind saline, fremdproteinfreie Verdünnermedien vorrangig einzusetzen. Der Einsatz von Frischsamen länger als 12 Stunden nach Gewinnung erfordert bislang noch kommerziell-erhältliche, fremdproteinhaltige Verdünnermedien und Lagerung des Samens bei +5° Celsius.

Ein von den Verfassern verfolgter Arbeitsschwerpunkt liegt in der Etablierung spezifischer Aufbereitungsverfahren zur Selektion hochmotiler, befruchtungskompetenter Spermien (Sieme et al. 1996). Solche Verfahren sind indiziert, da sie

vermutlich einen verbesserten Spermientransport und eine geringere endometriale Phagozytoseleistung intrauteriner Residualspermien bedingen.

Beim Einsatz von Tiefgefriersperma sind die Befruchtungsergebnisse nach wie vor vergleichsweise reduziert. Der Entzug von Seminalplasma bei der Tiefgefriersamenherstellung wird von Troedsson (1996) als mögliche Ursache angeführt. Auch könnten durch den Gefrierprozess bedingte Schädigungen akrosomaler Oberflächenstrukturen eine vorzeitige Erkennung durch das endometriale Abwehrsystem ermöglichen. Kotilainen et al. (1994) ermittelten nach Resuspension des aufgetauten Samens in Magermilchverdünner eine deutlich geringere Entzündungsreaktion als bei Einsatz nicht nachverdünnten Gefrierspermas.

Die Erforschung funktioneller Eigenschaften equinen Seminalplasmas hinsichtlich der Interaktion zum Endometrium (Troedsson 1996) sowie der Einsatz von Seminalplasma bei der Besamung (Beelmann 1993) bedarf weiterer Untersuchungen.

Literatur

- Aé, S. (1995): Klinische und endokrinologische Untersuchungen zur Ovulationsinduktion bei der Stute. Leipzig, vet. Med. Diss.
- Ahlemeyer, B. (1991): Tiefgefrierkonservierung von Hengstisamen, Einfluß des Seminalplasmas auf Motilität und Kopfkappenintegrität der Samenzellen. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Aurich, J.E., A. Kühne, H. Hoppe und C. Aurich (1995): Effects of seminal plasma on stallion semen quality after cryopreservation. J. Reprod. Fert., Abstract Series 15, Abstract 93
- Bader, H. (1982): An investigation of sperm migration into the oviducts of the mare. J. Herod. Fert. 32, 59–64
- Beelmann, V. (1994): Auswirkungen von Seminalplasmazusatz auf die Vitalität von flüssigkonserviertem Hengstisperma. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Biet, K. (1993): Vorverlegung des Ovulationszeitpunktes der Stute mittels eines GnRH-Agonisten (Deslorelin-SRI). Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Block, K.L. (1995): Untersuchungen zur ovulationsauslösenden Wirkung von hCG (Ekluton 5000), Luprostiol (Pronilen), Dinoprost (Dinolytic) und eines GnRH-Analogs (Deslorelin) bei der Stute unter besonderer Berücksichtigung der gonadotropen Wirkung der PGF_{2α}-Präparate. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Bollwein, H., B. Graule, N. Scheifele und R. Stolla (1995): Ovulationsauslösung bei Stuten mit hCG; Einfluß wiederholter Anwendung und der Follikelgröße. Reprod. Dom. Anim. 139
- Bowen, J., D. Brooke and R. Forfa (1987): Electronic detection of estrus. Equine Vet. Data 8, 89–90
- Buß, A.C. (1997): Untersuchungen zur ovulationsterminierenden Wirkung von hCG, Deslorelin, Luprostiol und Dinoprost bei der Stute unter Berücksichtigung der Konzeptionsrate nach instrumenteller Samenübertragung in zeitlich definierter Abhängigkeit zur hormonellen Intervention. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Calvete, J.J., S. Nessau, K. Mann; L. Sanz, H. Sieme, E. Klug and E. Töpfer-Petersen (1994): Isolation and characterization of stallion seminal-plasma proteins. Reprod. Dom. Anim. 29, 411–426
- Claus, R., M.A. Dimmick, T. Gimenez and L.W. Hudson (1992): Estrogens and Prostaglandin F_{2α} in the semen and blood of stallions. Theriogenology 38, (4), 687–693
- Evans, J.W., C.M. Wingert, C. De Roshia and D.C. Holley (1976): Ovulation and equine body temperature and heart rate circadian rhythm. J. Interdiscipline, cycle Res. 7, 25–37
- Féo, J.C., E. Oba, R.C. Barnabe und J.R. Basile (1992): Artificial insemination in the Equine: Distribution of spermatozoa in the genital

- tract; a comparison of mares inseminated in the uterine body and the uterine horn ipsilateral to the ovulatory follicle. 12th Int. Congr. On Anim. Reprod., The Hague, Aug. 23rd – 27th 1992, pp 1545–1547
- Haak, T. (1987): Bestimmung von Hämokoagulationsparametern im Blut östrischer Stuten. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Johnson, A.L. (1986): Pulsatile administration of gonadotropin-releasing hormone advances ovulation in cycling mares. Biol. Reprod. 35, 1123–1130
- Katila, T. (1995): Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. Biol. Reprod. Mono. 1, 515–517
- Kotilainen, T., M. Huhtinen and T. Katila (1994): Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. Theriogenology 41, 629–636
- Lee, R.S., T. Gimenez and W. Jöchle (1994): Effects of deslorelin STI or placebo implants in estral mares on LH-secretion and on peripheral blood concentrations. Reprod. Dom. Anim. 29, 248
- Lübbecke, M. (1992): Untersuchungen zur Ovulationssynchronisation bei der Stute. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- McKinnon, A.O., A.M. Novellius, S. Tarrida del Marmpl Figuro, J. Skid-More, J.R. Vasey and T.E. Trigg (1993): Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue deslorelin. Equine vet. J. 25, 321–323
- Meinert, K., J.F.S. Silva, I. Kroetz, E. Klug, T.E. Trigg, H.O. Hoppen and W. Jöchle (1993): Advancing the time of ovulation in the mare with a short-term implant releasing the GnRH analogue deslorelin. Equine vet. J. 25 (1), 65–68
- Merk, H. und D. Krause (1966): Tiefgefrierspermaversuche mit Equidensperma unter Anwendung des sog. Pellet-Verfahrens. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 78, 127–129
- Michel, T. (1989): LH-Sekretionsdynamik im Zyklus der Stute. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Palmer, E. (1978): Control of the oestrous cycle of the mare. J. Reprod. Fertil. 54, 495–505
- Parker, W.G., J.J. Sullivan, and N.L. First (1975): Sperm transport and distribution in the mare. J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 63–66
- Pierson, R.A. and O.J. Ginther (1985): Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. Theriogenology 24, 359–368
- Schmit, A. (1993): Untersuchungen zur Wirkung des GnRH-Analogons Deslorelin auf den Ovulationszeitpunkt sowie auf den histomorphologischen Aufbau und die Östrogenrezeptorstruktur des Endometriums östrischer Stuten. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Schröter, N. (1997): Einfluß intrauteriner Applikation von PGF_{2α} und homologem Seminalplasma auf Ovulationszeitpunkt und Konzeptionsergebnis bei Warmblutstuten. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Shilova, A.V., E.M. Platov and S.G. Lebedev (1976): The use of human chorionic gonadotrophin for ovulation date regulations in mares. Internat. Congr. Anim. Reprod. Artific. Insem. 3, 204–207
- Sieme, H. (1989): Bestimmung von Hämokoagulationsparametern im Blut zyklischer Stuten. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Sieme, H. und E. Klug (1996): Spezielle Erfahrungen mit der gezielten Ovulationssteuerung bei der Stute zur Samenübertragung. Collegium veterinarium XXVI, 76–78
- Sieme, H., R. Petzoldt, G. Martinsson, H. Reifenrath, E. Klug and E. Töpfer-Petersen (1996): Filtration of stallion spermatozoa (glass wool sephadex, Leukosorb-membranes) and its application in semen preservation and artificial insemination. Symposium on Stallion Semen, Amersfoort-The Netherlands, March 7–8
- Squires, E.L. and A.O. McKinnon (1987): Hormone therapy for control of reproduction in mares and stallions. Vet. Clin. North Am.: Equine Pract. 3, 1, 81–99
- Squires, E.L., R.H. Garcia, O.J. Ginther, J.L. Voss and G.E. Seidel (1986): Comparison of equine pituitary extract and follicle stimulating hormone for superovulating mares. Theriogenology 26, 661
- Squires, E.L., R.K. Shideler and A.O. McKinnon (1988): Use of ultrasonography in reproductive management of mares. Theriogenology 29, (1), 55–70
- Töpfer-Petersen, E., J.J. Calvete, L. Sanz and F. Sinowatz (1995): Carbohydrate- and heparin-binding proteins in mammalian fertilization. Andrologiw 27, 303–324
- Troedsson, M.H.T. (1996): Sperm transport and survival in the female reproductive tract. In Proceedings: Symposium on Stallion Semen, Amersfoort-The Netherlands, March 7–8, 21
- Watson, E. and E. Nikolakopoulos (1996): Sperm longevity in the mares uterus. J. Equine Vet. Sci. 16, 390–392
- Weitkamp, K. (1990): Untersuchungen zur Prädiktion des Ovulationszeitpunktes bei der Stute. Hannover, Tierärztl. Hochsch. Diss.
- Wilhelm, K.M., J.K. Graham, E.L. Squires, T.E. Trigg and W. Jöchle (1994): Repeated use of deslorelin STI for acceleration of ovulation in mares without loss of effectiveness. Reprod. Dom. Anim. 29, 247
- Will, K. (1988): Ultraschalluntersuchungen zur Ovulationsdiagnose für die künstliche Besamung der Stute. München, Tierärztl. Hochsch. Diss.

Dr. Harald Sieme

Nds. Landgestüt Celle
Spörckenstr. 10
29221 Celle

Tel 05141 / 92940
Fax 05141 / 929431